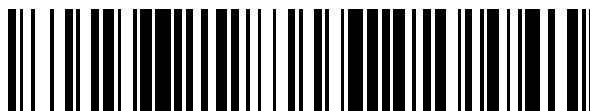


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 735 375**

51 Int. Cl.:

**C07D 498/14** (2006.01)

**A61K 31/5383** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.11.2015 PCT/EP2015/075749**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.05.2016 WO16071418**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.11.2015 E 15788447 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.05.2019 EP 3215513**

54 Título: **Derivados funcionalizados de morfolinil antraciclina**

30 Prioridad:

**05.11.2014 EP 14191952**

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

**18.12.2019**

73 Titular/es:

**NERVIANO MEDICAL SCIENCES S.R.L. (100.0%)  
Viale Pasteur, 10  
20014 Nerviano (MI), IT**

72 Inventor/es:

**BERIA, ITALO;  
CARUSO, MICHELE y  
LUPI, VITTORIA**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 735 375 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Derivados funcionalizados de morfolinil antraciclina

5 La presente invención se refiere a nuevos derivados funcionalizados de morfolinil antraciclina, a un proceso para su preparación, a composiciones farmacéuticas que los contienen y su uso en el tratamiento de enfermedades de proliferación celular anómala. Como ejemplo, los compuestos de la invención se pueden usar para tratar tumores. La invención también se refiere a su uso en la preparación de conjugados.

10 Las antraciclinas son compuestos antibióticos que poseen actividad citotóxica. Varios estudios han indicado que las antraciclinas pueden actuar matando células mediante un número de mecanismos diferentes que incluyen: 1) intercalación con el ADN de una célula, inhibiendo de este modo la síntesis de ácido nucleico dependiente de ADN; 2) producción de radicales libres los cuales reaccionan después con macromoléculas celulares para provocar daños en las células o 3) interacciones con la membrana celular [véase, p. ej., C. Peterson y col., "Transport and storage of Anthracycline in experimental systems and human leukemia" en *Anthracycline Antibiotics In Cancer Therapy* (1982), págs.132-146; y N.R. Bachur, "Free Radical Damage" id. págs. 97- 102]. Debido a su actividad citotóxica, las antraciclinas se han usado en el tratamiento de numerosos cánceres como leucemia, carcinoma de mama, carcinoma pulmonar, adenocarcinoma ovárico y sarcomas [véase p. ej., P.H- Wiernik, en *Anthracycline: Current Status And New Developments* (1980), pág. 11]. Las antraciclinas usadas normalmente incluyen doxorubicina, epirubicina, idarubicina y daunomicina.

En los últimos años se han sintetizado muchos derivados nuevos de antraciclina altamente citotóxicos.

20 Los derivados de antraciclina que poseen un anillo morfolino sustituido unido a la posición C-3' de la fracción azúcar ha mostrado una actividad antitumoral prometedora en los tumores murinos experimentales [véase: J. W. Lown, *Bioactive Molecules*, vol 6, (1988), págs. 55-101] y en ensayos clínicos en el tratamiento del carcinoma hepatocelular [véase: C. Sessa, O. Valota, C. Geroni, *Cardiovascular Toxicology*, vol. 7(2), (2007), págs. 75-79].

25 Nuevos derivados de morfolinil antraciclina en los cuales el anillo morfolino está unido con un átomo de oxígeno en la posición C-4' del residuo de azúcar se han dado a conocer como agentes antitumorales en la solicitud de patente internacional WO9802446 a nombre de Pharmacia & Upjohn SPA.

Los derivados de 4-amino y 4-fluoro antraciclina se han dado a conocer también como agentes antitumorales en las solicitudes de patente EP 288268 y EP 381989 a nombre de Farnitalia Carlo Erba Srl.

A pesar de los esfuerzos en la investigación contra el cáncer, éste sigue siendo un objetivo amenazador y esquivo, por lo que sigue habiendo la necesidad de agentes anticancerígenos.

30 Aunque estos compuestos pueden ser útiles en el tratamiento de neoplasmas y otros estados patológicos en los que una población de células seleccionada busca ser eliminada, su eficacia terapéutica a menudo está limitada por la toxicidad dependiente de la dosis asociada con su administración.

35 Las limitaciones en el uso en clínica de derivados de antraciclina incluyen la acumulación inadecuada en el tumor, cardiotoxicidad, tiempos de infusión prolongados, resistencia de células cancerígenas que sobre-expresan transportadores de membrana y efectos secundarios limitantes de la dosis como diarrea y supresión de la médula ósea (Int. J. Nanomedicine, 2007; 2(4): 567-83; Med. Sci. Monit. 2000; 6(2); Adriamycin Review, págs. 123-131, Mediokon, Bélgica; European Press, 1975; *Ann Intern Med.* 1982; 96(2): 133-139).

40 La conjugación farmacológica de fármacos citotóxicos con moléculas capaces de vehicular el fármaco, mejorando así la focalización en el tumor o capaces de modificar sus propiedades farmacocinéticas es una de las estrategias que se han llevado a cabo para solucionar los problemas mencionados anteriormente.

Los derivados de antraciclina conjugados se han revelado, por ejemplo, en la solicitud de patente internacional WO2009/099741 y en la WO2010/009124.

45 Se han descrito diferentes ejemplos de conjugación de fármacos citotóxicos con proteínas, péptidos, aptámeros, polímeros o nanopartículas, que permiten una mejor distribución en la diana, mejoran la solubilidad y en algunos casos, otras propiedades farmacocinéticas tales como un incremento de la vida media o la concentración local del fármaco y una mejora del rendimiento del mismo. De hecho, los conjugados resultantes presentan características mejoradas en términos de solubilidad, permeabilidad celular, ventana terapéutica *in vivo*, liberación controlada, capacidad de alcanzar la diana de acuerdo con la naturaleza de la molécula específica conjugada con el agente citotóxico, etc.

50 Por esta razón existe un incremento en la demanda de desarrollo de agentes citotóxicos funcionalizados adecuados para ser conjugados con diferentes tipos de moléculas.

El primer objeto de la presente invención es proporcionar derivados funcionalizados de antraciclina los cuales, aparte de mostrar actividad citotóxica, tienen elevada solubilidad de manera que mejoran las propiedades de formulación y/o farmacocinéticas/farmacodinámicas. Además, estos derivados funcionalizados de antraciclina también son apropiados

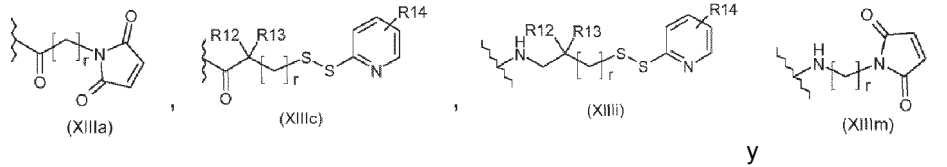
para ser conjugados.

La presente invención se refiere a derivados de morfolinil antraciclina de fórmula (I):



donde

5 **RM** es un radical seleccionado entre los grupos:



donde

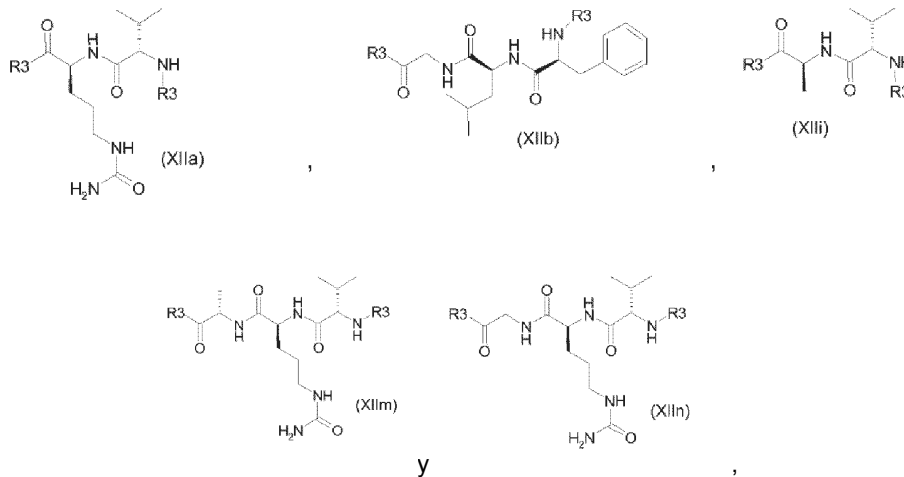
**r** es un número entero de 0 a 7;

**R12** y **R13** son, independientemente entre sí, hidrógeno o metilo, y

**R14** es hidrógeno;

la línea ondulada indica el punto de unión en el derivado de fórmula (I);

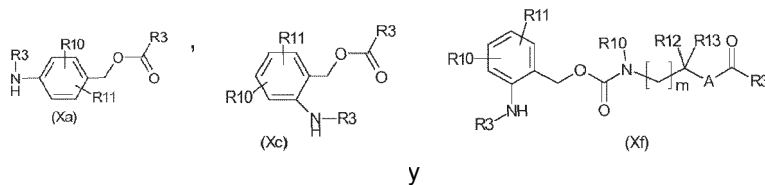
**Z** es nulo o un enlazador peptídico, no peptídico o híbrido -peptídico o no peptídico- seleccionado entre:



donde

uno de los dos sustituyentes **R3** es una unión a **Ant**, a **W** o a **L**, y el otro es nulo;

**W** es nulo o un grupo seleccionado entre:



donde

uno de los dos sustituyentes **R3** es una unión a **L**, o a **Ant** cuando **L** es nulo, y el otro es nulo;

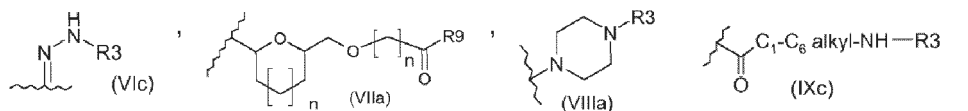
**R10** y **R11** son hidrógeno;

**m** es un número entero de 0 a 3

**A** es N-CH<sub>3</sub>; y

**R12** y **R13** son hidrógeno;

**L** es nulo o una fracción seleccionada entre:



y

donde

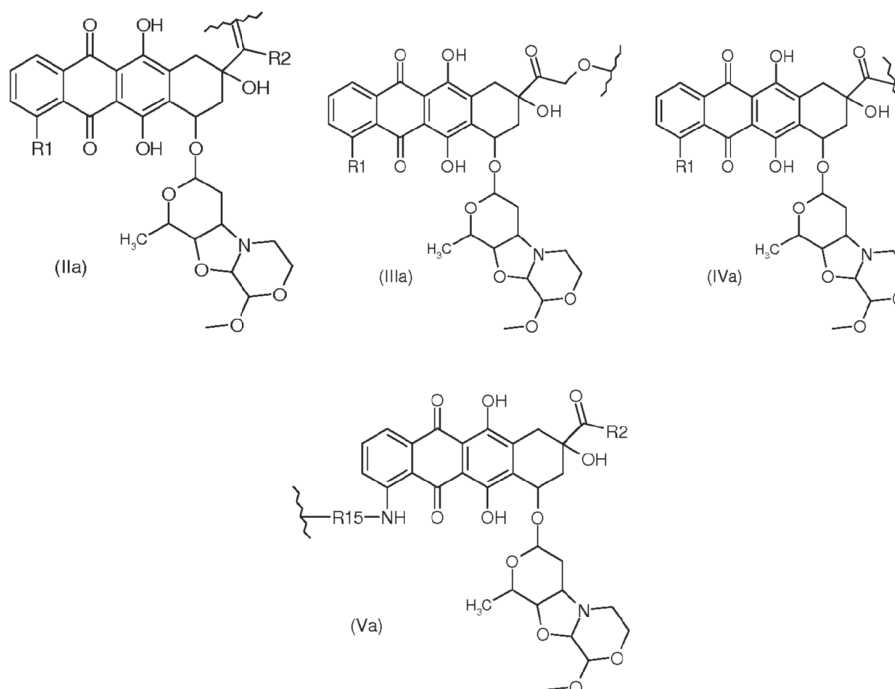
alquilo  $\text{C}_1\text{---C}_6$  es una cadena lineal o ramificada;

**R3** es nulo o hidrógeno, y la línea ondulada indica el punto de unión a **Ant**;

**R9** es nulo;

**n** es un número entero de 0 a 2;

**Ant** es una fracción antraciclina seleccionada entre las fórmulas (IIa), (IIIa), (IVa) y (Va):



donde la línea ondulada indica la unión

10 a la fracción **L**, o

al grupo **W**, o

al enlazador **Z**, o

al radical **RM**;

**R1** es  $\text{NH}_2$ ;

15 **R2** es metilo o hidroximetilo;

**R15** es nulo;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente divulgación también proporciona métodos para la síntesis de derivados de morfolinil antraciclina de fórmula (I), preparados mediante un proceso consistente en transformaciones sintéticas estándar, y sus isómeros, tautómeros, hidratos, solvatos, complejos, metabolitos, profármacos, portadores y N-óxidos.

La presente invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un derivado de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se define arriba y al menos un excipiente, portador y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un derivado de fórmula (I) y uno o varios agentes quimioterapéuticos.

La presente invención proporciona adicionalmente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un derivado de fórmula (I) en combinación con tratamientos anticancerígenos conocidos

como terapia de radiación o régimen de quimioterapia en combinación con agentes citoestáticos o citotóxicos, agentes tipo antibiótico, agentes alquilantes, agentes antimetabolito, agentes hormonales, agentes inmunológicos, agentes tipo interferón, inhibidores de la ciclooxigenasa (p. ej. inhibidores COX-2), inhibidores de matriz metaloproteasa, inhibidores de telomerasa, inhibidores de tirosina cinasa, agentes receptores del factor anti-crecimiento, agentes anti-HER2, agentes anti-EGFR, agentes anti-angiogénesis (p. ej. inhibidores de angiogénesis), inhibidores de farnesil transferasa, inhibidores de la ruta de transducción de la señal ras-raf, inhibidores del ciclo celular, inhibidores de otros cdk's, agentes ligantes de tubulina, inhibidores de topoisomerasa I, inhibidores de topoisomerasa II y similares.

Adicionalmente, la invención proporciona un producto que comprende un derivado de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o varios agentes quimioterapéuticos, como una preparación combinada para su empleo simultáneo, separado o secuencial en la terapia contra el cáncer.

Además, en otro aspecto la invención proporciona un derivado de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para el uso como un medicamento.

La presente invención también proporciona un derivado de fórmula (I) tal y como se define anteriormente, para el uso en un método para el tratamiento del cáncer, trastornos de proliferación celular e infecciones víricas.

Preferentemente, un derivado de fórmula (I) tal y como se define anteriormente, es para el uso en un método de tratamiento contra tipos específicos de cánceres, tales como, pero sin limitarse a: carcinomas, incluyendo vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, comprendiendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula biliar, ovario, páncreas, estómago, cérvix, tiroides, próstata y carcinoma de piel, comprendiendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de linaje linfoide, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no-Hodgkin, linfoma folicular y linfoma de Burkitt; tumores hematopoyéticos de linaje mieloide, incluyendo leucemia mielogénica aguda y crónica, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma y rhabdomyosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannoma; y otros tumores, incluyendo melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratinoxantoma, cáncer folicular de tiroides, sarcoma de Kaposi y mesotelioma.

Además, un derivado de fórmula (I) tal y como se define anteriormente es para el uso en un método para el tratamiento de trastornos de proliferación celular específicos tales como, por ejemplo, hiperplasia benigna de próstata, poliposis adenomatosa familiar (PAF), neurofibromatosis, psoriasis, proliferación de células vasculares lisas asociado con aterosclerosis, fibrosis pulmonar, artritis, glomerulonefritis y estenosis y restenosis post-quirúrgicas.

Adicionalmente, un derivado de fórmula (I) tal y como se define anteriormente se usa en un método para la inhibición de la angiogénesis y la metástasis tumoral, así como en un método de tratamiento del rechazo de trasplantes de órganos y la enfermedad de injerto contra huésped.

La presente invención proporciona un método para el tratamiento del cáncer, el cuál comprende la administración a un mamífero necesitado del mismo de una cantidad eficaz de un derivado de fórmula (I) tal y como se define anteriormente. El mamífero necesitado del mismo puede ser por ejemplo un humano.

Además, la invención proporciona el uso de un derivado de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal y como se define anteriormente, en la preparación de un medicamento para el tratamiento contra el cáncer.

Finalmente, la invención proporciona el uso de un derivado de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, tal y como se define anteriormente, en la preparación de conjugados.

A menos que se indique lo contrario, los términos y frases siguientes tal y como se usan aquí están destinados a tener los significados siguientes.

Con el término "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> lineal o ramificado", se indica cualquiera de los grupos como, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo.

Con el término "halógeno" se indica un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "arilo" tal y como se usa aquí se refiere a hidrocarburos carbocíclicos con fracciones de 1 a 2 anillos, bien fundidos o unidos entre sí mediante enlaces sencillos, donde al menos uno de los anillos es aromático. Son ejemplos de grupos arilo de acuerdo con la invención, por ejemplo, fenilo, bifenilo,  $\square$  o  $\square$ -naftilo, dihidronaftilo, y similares.

El término "grupo saliente" se refiere a un grupo que puede ser sustituido por otro grupo en una reacción de sustitución. Dichos grupos salientes son bien conocidos en la técnica y los ejemplos incluyen, si limitarse a ellos, haluros (flúor, cloro, bromo y yodo), azidas, sulfonatos (p. ej., un alcanosulfonato C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> opcionalmente sustituido, como metanosulfonato y trifluorometanosulfonato, o un alquilbencenosulfonato C<sub>7</sub>-C<sub>12</sub> opcionalmente sustituido, tal como *p*-toluenosulfonato), succinimida-N-óxido, *p*-nitrofenóxido, pentafluorofenóxido, tetrafluorofenóxido, carboxilatos, aminocarboxilatos (carbamatos) y alcoxicarboxilatos (carbonatos). Para las sustituciones en un carbono saturado, se prefieren haluros y sulfonatos como grupos salientes. Para las sustituciones en un carbono carbonilo, se pueden usar

como grupo saliente, por ejemplo, un haluro, succinimida-N-óxido, *p*-nitrofenóxido, pentafluorofenóxido, tetrafluorofenóxido, un carboxilato, o un alcóxicarboxilato (carbonato). El término “grupo saliente” se refiere también a un grupo que se elimina como consecuencia de una reacción de eliminación, p. ej. una reacción de cascada electrónica o una reacción de espirociclación. En este ejemplo, un haluro, un sulfonato, una azida, un aminocarboxilato (carbamato) o un alcóxicarboxilato (carbonato) se pueden usar por ejemplo como grupo saliente.

Es conocido por el experto en la materia que la transformación de un grupo funcional químico en otro puede requerir que uno o varios centros reactivos en el compuesto que contiene dicho grupo funcional tengan que protegerse para evitar reacciones secundarias indeseadas. La protección de dichos centros reactivos, y la posterior desprotección al final de las transformaciones sintéticas, se puede llevar a cabo siguiendo procedimientos estándar descritos en bibliografía (véase, por ejemplo, Green Theodora. W. y Wuts P. G. M. - Protective Groups in Organic Synthesis, tercera edición, John Wiley & Sons Inc., Nueva York (NY), 1999).

Por consiguiente, el término “grupo protector” se refiere a un grupo usado para proteger dichos centros reactivos en una síntesis química, por ejemplo, un grupo hidroxilo (-OH), un grupo amino (-NH), un grupo tiol (-SH), un grupo carbonilo (-C=O), un grupo carboxílico (-COOH). Son ejemplos de grupos protectores los indicados en la bibliografía (véase, por ejemplo, *ibídem*).

El término “grupo protector de nitrógeno” se refiere a un grupo que con el átomo de nitrógeno forma carbamatos, amidas, imidas cíclicas, *N*-alquil y *N*-aril aminas. Dichos grupos protectores son bien conocidos en la técnica (véase p. ej. *ibídem*). Son ejemplos no limitantes de los grupos protectores de carbamato, por ejemplo, metil y etilcarbamato, 9-fluorenilmetil carbamato (Fmoc), 2,2,2-tricloroetilcarbamato (Troc), *t*-butil carbamato (BOC), vinil carbamato (Voc), alil carbamato (Alloc), bencil carbamato (Cbz), *p*-nitrobencilo y similares. Son ejemplos no limitantes de amidas, por ejemplo, *N*-tricloroacetamida, *N*-trifluoroacetamida (TFA) y similares. Son ejemplos no limitantes de grupos protectores de imida cíclica, por ejemplo, *N*-ftalimida, *N*-ditiassuccinilimida (Dts) y similares. Son ejemplos no limitantes de grupos protectores de *N*-alquilo y *N*-arilo, por ejemplo, *N*-alilamina, *N*-bencilamina y similares.

El término “grupo protector de hidroxilo” se refiere a un grupo que con el átomo de oxígeno forma éteres, ésteres, acetales cíclicos o cetales. Dichos grupos protectores son bien conocidos en la técnica (véase p. ej. *ibídem*). Son ejemplos no limitantes de grupos protectores de éteres, por ejemplo, éteres de alquilo y éteres de bencilo, tales como éter de metoximetilo (MOM-OR), éter de tetrahidropiraniolo (THP-OR), éter de aliilo (Allyl-OR), éter de bencilo (Bn-OR), éter de trifenilmetilo (Tr-OR) y similares, o éteres de sililo, como éter de trimetilsililo (TMS-OR), éter de *t*-butildimetilsililo (TBS-OR o TBDMS-OR), éter de *t*-butildifenilsililo (TBDPS-OR) éter de difenilmetilsililo (DPMS-OR) y similares. Son ejemplos no limitantes de grupos protectores de ésteres, por ejemplo, trifluoroacetato, benzoato (Bz-OR) y carbonatos, tales como etilcarbonato y similares. Son ejemplos no limitantes de grupos protectores de acetales o cetales cíclicos, por ejemplo, metileno acetal, etilideno acetal, metoximetileno acetal y similares.

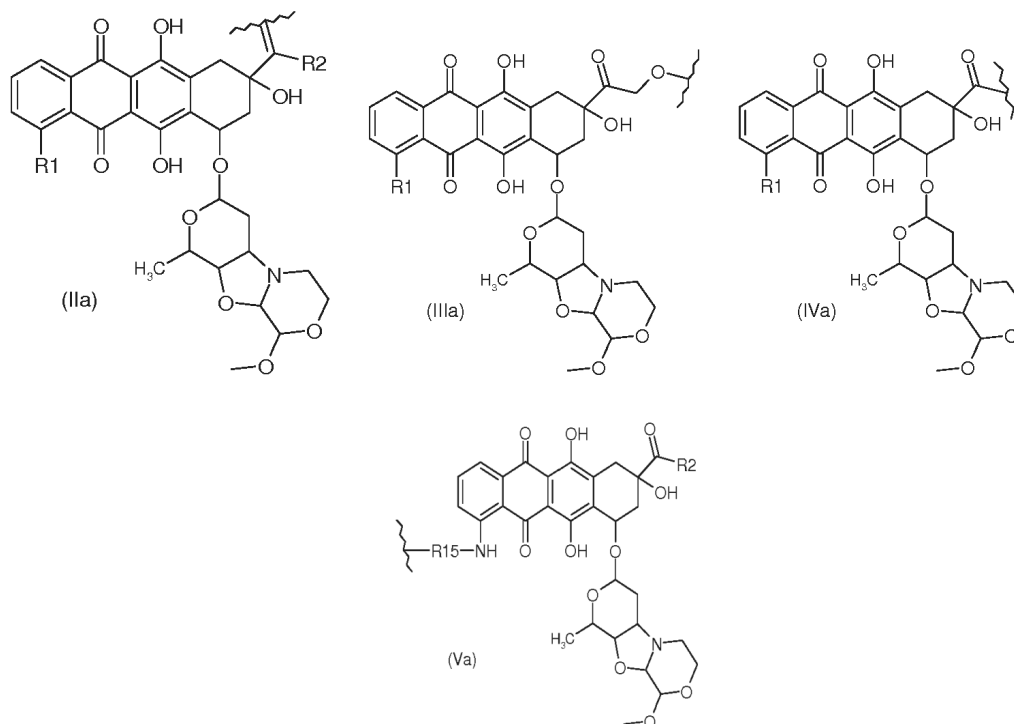
El término “éster activo” se refiere a un grupo funcional en el cual el grupo alcoxi de la fracción éster es un buen grupo saliente. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen, sin limitarse a, succinimida-N-óxido (ésteres NHS), *p*-nitrofenóxido, pentafluorofenóxido, tetrafluorofenóxido, 1-hidroxibenzotriazol y 1-hidroxi-7-azabenzotriazol, y grupos con capacidad saliente comparable. Los grupos alcoxi no sustituidos basados en alquilo, tales como metoxi, etoxi, isopropoxi y *t*-butoxi no se clasifican como buenos grupos salientes y por consiguiente los ésteres de metilo, etilo, isopropilo, y *t*-butilo no se consideran ésteres activos.

El término “grupo de extracción de electrones” se refiere a un grupo de átomos que extrae la densidad de electrones desde los átomos vecinos hacia él mismo, normalmente mediante efectos inductivos o de resonancia. Son ejemplos no limitantes, halógenos, grupo trifluorometilo, grupo nitro (NO<sub>2</sub>) y nitrilo (CN).

El término “nucleófilos” se refiere a moléculas que poseen un grupo nucleófilo. El término “grupo nucleófilo” se refiere a especies que donan un par de electrones a un grupo electrófilo para formar un enlace químico en una reacción química. Los ejemplos de dichos grupos nucleófilos incluyen, pero sin limitarse a ellos, halógenos, aminas, nitritos, azidas, hidroxilos, aniones alcóxido, aniones carboxilato, tioles, tiolatos, etc.

El término “grupo electrófilo” se refiere a especies que aceptan un par de electrones de un grupo nucleófilo para formar un enlace químico en una reacción química. Los ejemplos de dichos grupos electrófilos incluyen, pero sin limitarse a ellos, ésteres, aldehídos, amidas, cetonas, etc.

El término “aminoácido no natural” se refiere al D-estereoisómero del aminoácido natural (L-estereoisómero). Las fracciones antraciclina (**Ant**) de la invención son compuestos de fórmula (IIa), (IIIa), (IVa) y (Va) representados abajo:



donde **R1**, **R2** y **R15** son como se define arriba.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen también las sales con bases orgánicas o inorgánicas, p. ej. metales alcalinos o alcalinotérreos, especialmente hidróxidos, carbonatos o bicarbonatos de sodio, potasio, calcio, amonio o magnesio, aminas acíclicas o cíclicas.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen las sales con ácidos orgánicos o inorgánicos, p. ej., ácido nítrico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, perclórico, fosfórico, acético, trifluoroacético, propiónico, glicólico, fumárico, láctico, oxálico, malónico, málico, maleico, tartárico, cítrico, benzoico, cinámico, mandélico, metanosulfónico, isetiónico y salicílico.

Si un centro estereogénico u otra forma de un centro isomérico está presente en un compuesto de la presente invención, todas las formas de dicho isómero o isómeros, incluyendo enantiómeros y diastereómeros, están destinadas a cubrirse aquí. Los compuestos que contienen un centro estereogénico se pueden usar como una mezcla racémica, una mezcla enriquecida enantioméricamente, o la mezcla racémica se puede separar usando técnicas bien conocidas y se puede usar un enantiómero individual solo. En los casos en los que los compuestos tienen enlaces dobles carbono-carbono insaturados, tanto los isómeros cis (Z) como los trans (E) se encuentran dentro del alcance de esta invención.

En los casos en los que los compuestos pueden existir en formas tautoméricas, cada forma tautomérica se contempla como si se incluyera dentro de esta invención, tanto si existe en equilibrio o está predominantemente en una forma.

#### La fracción L

La fracción L, si está presente, es un grupo que puede ser escindido al someterlo a un proceso químico, fotoquímico, físico, biológico o enzimático o bajo ciertas condiciones. Una de estas condiciones puede ser, por ejemplo, someter un compuesto de la invención a un entorno acuoso que conduce a la hidrólisis de L, o someter un compuesto de la invención a un entorno que contiene un enzima que reconoce y escinde L, o someter un compuesto de la invención a condiciones reductoras, lo que conduce a la reducción y/o eliminación de L, o someter un compuesto de la invención a condiciones oxidantes, lo que conduce a la oxidación y/o eliminación de L, o poner un compuesto de la invención en contacto con radiación, p. ej., luz UV, lo que conduce a la escisión de L, o poner un compuesto de la invención en contacto con calor, lo que conduce a la escisión de L. Esta condición se puede conseguir directamente tras la administración de un compuesto de esta invención a un animal, p. ej. un mamífero, por ejemplo un humano, debido a la presencia de enzimas ubicuos en el sistema circulatorio. Alternativamente, dicha condición se puede cumplir cuando el compuesto localiza un objetivo específico subcelular, celular u orgánico, o un objetivo bacteriano, vírico o microbiano, por ejemplo por la presencia de factores internos (p. ej. enzimas específicos del objetivo o hipoxia) o la aplicación de factores externos (p. ej. radiación, campos magnéticos).

En una realización, L puede ser una fracción que se escinde mediante un enzima o condiciones hidrolíticas presentes

en la cercanía o dentro de las células objetivo en comparación con otras partes del cuerpo, o mediante un enzima o condiciones hidrolíticas presentes solo en la cercanía o dentro de las células objetivo. Es importante reconocer que si el sitio objetivo se logra únicamente en base a la transformación y/o escisión selectiva de dicha **L** en el sitio objetivo, la condición causante de la escisión debería ser preferentemente, al menos hasta cierto punto, el sitio específico de destino.

5

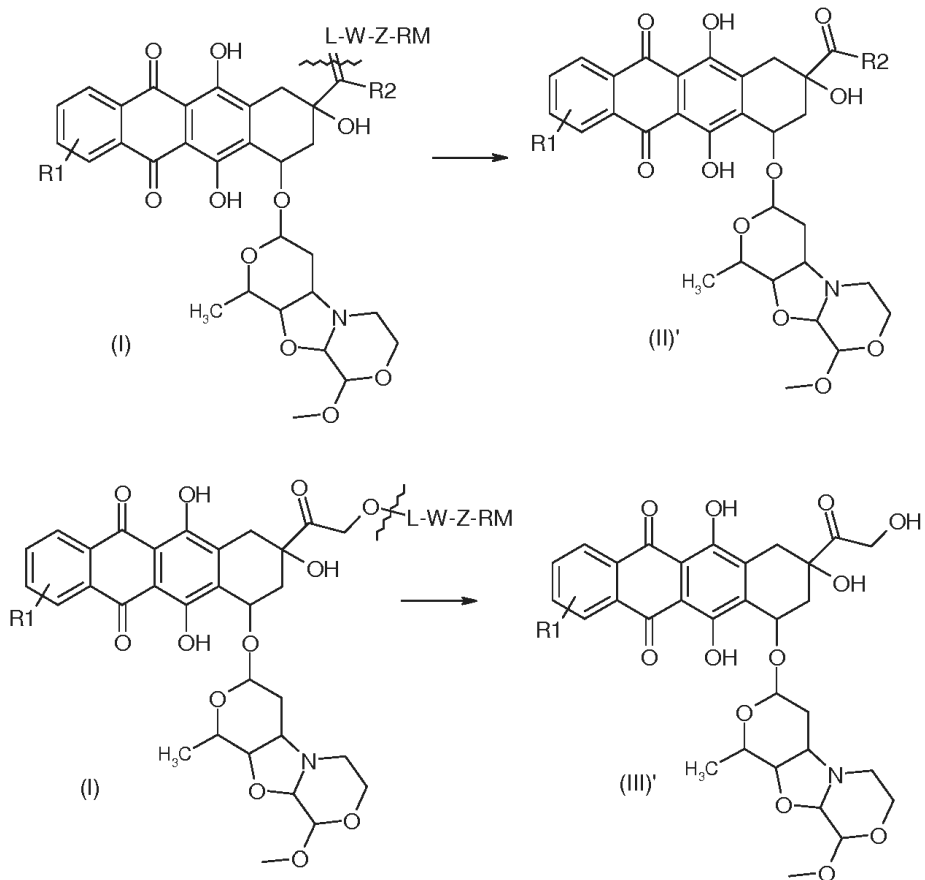
En una realización, la escisión de **L** se produce intracelularmente.

En otra realización, la escisión de **L** se produce extracelularmente.

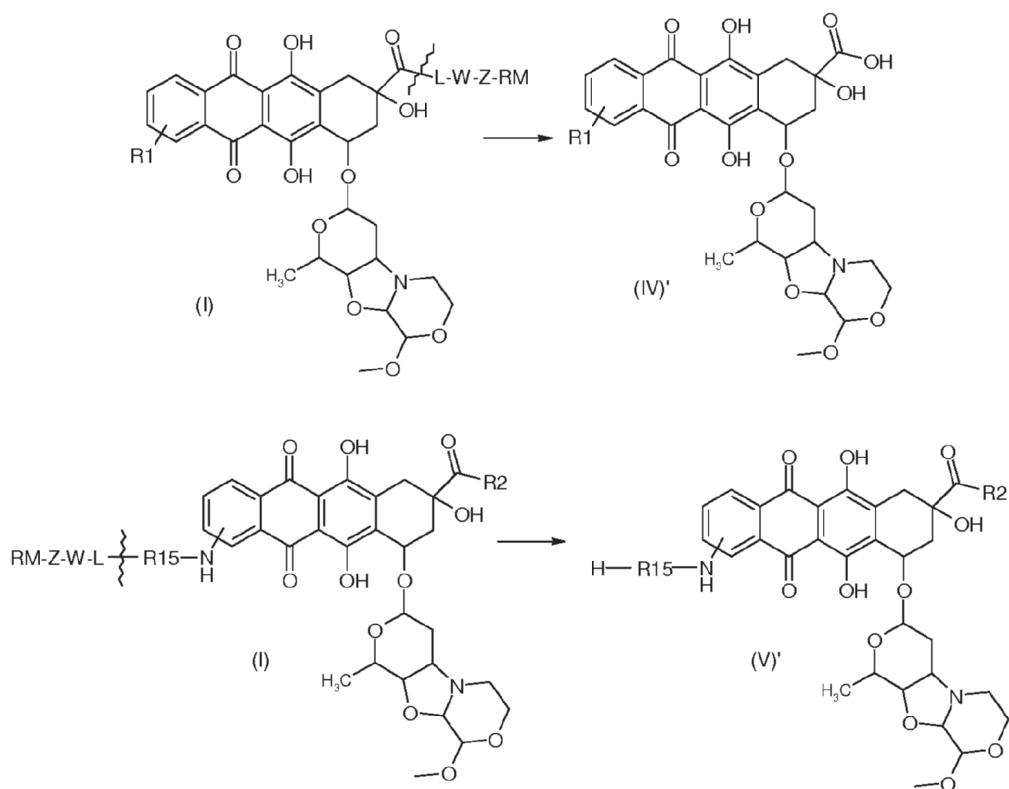
En otra realización, la escisión de **L** se produce mediante un enzima intracelular ubicuo.

La escisión del enlace **Ant-L** da como resultado la liberación de antraciclina de fórmula (II)', (III)', (IV)' o (V)', como se indica abajo:

10



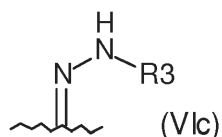




donde los sustituyentes R1 o H-R15-NH- están en posición 4 de la fracción antraciclina y R2 es como se define arriba.

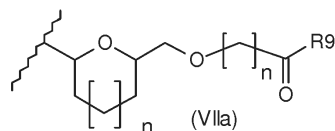
5 En una realización preferida, **L** puede ser una fracción que se puede escindir mediante enzimas ubicuos, p. ej. esterasas que están presentes en el sistema circulatorio o enzimas intracelulares, tales como por ejemplo proteasas y fosfatasas, o mediante hidrólisis controlada por pH. De este modo **L** puede formar, junto con el átomo de conexión, una amida, amina, éster, éter, o enlace hidrazona que puede escindirse *in vivo*.

En una realización más preferida, cuando **Ant** tiene la fórmula (IIa), **L** es nulo o un grupo (VIc):



10 donde:  
**R3** es nulo o hidrógeno, y la línea ondulada indica el punto de unión a **Ant**.

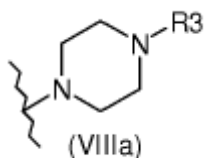
En otra realización más preferida donde **Ant** es un compuesto de fórmula (IIIa), **L** es nulo o un grupo (VIIa):



donde:

15 **R9** es nulo;  
**n** es un número entero de 0 a 2, y  
la línea ondulada indica el punto de unión a **Ant**.

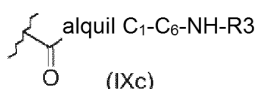
En otra realización más preferida donde **Ant** es un compuesto de fórmula (IVa), **L** es nulo o un grupo de fórmula (VIIIa):



donde

**R3** es como se define arriba y la línea ondulada indica el punto de unión a **Ant**.

En otra realización más preferida donde **Ant** es un compuesto de fórmula (Va), **L** es nulo o un grupo (IXc):



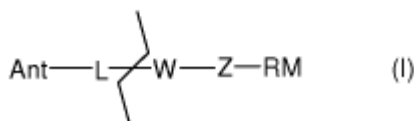
5

donde:

alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> es una cadena lineal o ramificada, **R3** es nulo o hidrógeno y la línea ondulada indica el punto de unión a **Ant**.

El grupo **W**

- 10 El grupo **W**, si está presente, es un grupo que en un compuesto de fórmula (I) une de forma estable la fracción **L** con la otra parte del derivado de fórmula (I) (**Z-RM**). El enlace entre **L** y **W**, o entre **W** y **Ant** cuando **L** es nulo, puede volverse lábil tras la activación por un proceso químico, fotoquímico, físico, biológico o enzimático, al producirse o bajo ciertas condiciones, como se describe arriba, conduciendo opcionalmente a la liberación de las fracciones correspondientes:



15

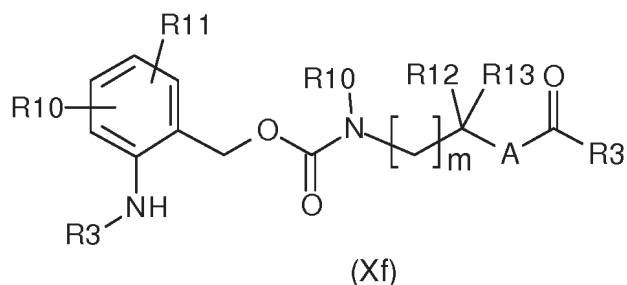
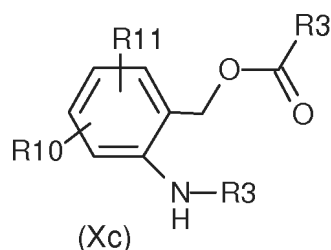
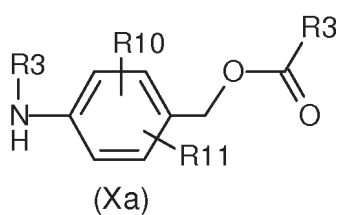
Se puede incorporar un grupo **W** en un compuesto de fórmula (I), por ejemplo para mejorar la solubilidad o para mejorar el espacio entre la fracción antraciclina y el radical **RM**; además, dicho grupo **W** puede modular la reactividad de **RM** frente a nucleófilos.

- 20 Las fracciones apropiadas como grupo **W** son conocidas por el experto en la materia (véanse, por ejemplo, las descritas en los documentos WO2002/083180 y WO2004/043493); o aquellas descritas en *Tranoy-Opalinski, A. y col., Anticancer Agents in Medicinal Chemistry, 2008, 8, 618-637*, Ahmed Alouane y col. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2015, 54, 7492-7509. Otros ejemplos de estos grupos incluyen, sin limitarse a los mismos, amidas del ácido 4-aminobutírico opcionalmente sustituidas, sistemas de anillos biciclo[2.2.1] y biciclo[2.2.2] sustituidos apropiadamente o amidas del ácido 2-aminofenilpropiónico [véanse los documentos WO 2005/079398, WO 2005/105154 y WO 2006/012527; Greenwald, R.B., y col., *Adv. Drug Delivery Rev.* 2003, 55, 217-250; Kingsbury, W.D., y col., *J. Med. Chem.* 1984, 27, 1447-1451].

25

En una realización preferida, **W** puede formar, junto con el/los átomo(s) de conexión, un enlace carbonato, carbamato, urea, éster, o amida, que puede escindir-se opcionalmente tras la activación.

**W** es nulo o un grupo seleccionado entre las fórmulas (Xa), (Xc) y (Xf):

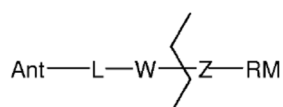


donde

- uno de los dos sustituyentes **R3** es una unión a **L**, o a **Ant** cuando **L** es nulo, y el otro es nulo;  
**R10** y **R11** son hidrógeno;  
**m** es un número entero de 0 a 3;  
**A** es N-CH<sub>3</sub>; y  
**R12** y **R13** son hidrógeno.

El enlazador Z

El enlazador **Z**, si está presente, puede ser peptídico (**Z1**), no peptídico (**Z2**) o híbrido (**Z3**), donde dicho enlazador híbrido es peptídico y no peptídico; en un compuesto de fórmula (I) dicho enlazador **Z** puede escindirse mediante un proceso químico, fotoquímico, físico, biológico o enzimático, al producirse o bajo ciertas condiciones, como se describe arriba, conduciendo opcionalmente a la liberación de las fracciones correspondientes (véanse p. ej. Dubowchik G. M. y col., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 8, **1998**, 3347-3352; Burke P. J. y col., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 19, **2009**, 2650-2653):



La unión entre **Z** y la fracción **Ant-L-W**, **Ant-L** (cuando **W** es nulo) o **Ant** (cuando **L** y **W** son ambos nulos), puede volverse lábil tras la activación por un proceso químico, fotoquímico, físico, biológico o enzimático, al producirse o bajo ciertas condiciones, como se describe arriba, conduciendo opcionalmente a la liberación de las fracciones correspondientes.

El enlace entre **Z** y el/los átomo(s) de conexión puede formar un grupo carbonato, carbamato, urea, éster, amida, tioamida o disulfuro.

El enlazador **Z** puede ser lineal o ramificado.

En una realización **Z** es nulo.

En otra realización **Z** es un enlazador peptídico **Z1** que puede escindirse mediante una enzima proteolítica, plasmina, una catepsina,  $\beta$ -glucuronidasa, una galactosidasa, antígeno específico de próstata (PSA), activador de plasminógeno tipo uroquinasa (u-PA) o un miembro de la familia de las metaloproteinasas de matriz.

En otra realización **Z** es un enlazador no peptídico **Z2** que puede contener una o varias fracciones no peptídicas solubles en agua. En este caso el enlazador contribuye a la solubilidad en agua de un compuesto de fórmula (I). En otras realización **Z2** es un enlazador no peptídico que puede contener una o varias fracciones no peptídicas que reduce(n) la agregación de un compuesto de fórmula (I) el cual puede o puede no ser una fracción/fracciones que también incrementa(n) la solubilidad en agua de un compuesto de fórmula (I).

Por ejemplo, los enlazadores **Z2** no peptídicos solubles en agua pueden contener una fracción oligoetilenglicol o polietilenglicol o un derivado de la misma.

5 En otra realización, **Z** es un enlazador híbrido **Z3** que puede contener tanto residuos peptídicos como no peptídicos de fórmula general **Z1-Z2**, donde **Z1** y **Z2** son independientemente un enlazador peptídico o un enlazador no peptídico. Los enlazadores híbridos pueden contribuir a la solubilidad del compuesto de fórmula (I) y/o pueden ser un sustrato que puede escindirse mediante enzimas proteolíticas, por ejemplo mediante un miembro de la familia de las metaloproteinasas de matriz.

En una realización preferida, **Z1** es un aminoácido individual, un dipéptido, un tripéptido, un tetrapéptido, o una fracción oligopéptido, que comprende L-aminoácidos naturales, D-aminoácidos no naturales, aminoácidos sintéticos, o cualquier combinación de los mismos, en la que uno de los residuos aminoácido C-terminal o N-terminal está unido a **Ant**, a **W** o a **L**, y el otro residuo aminoácido se une opcionalmente a **RM**.

10 En una realización más preferida **Z1** es un dipéptido o un tripéptido, unido vía su extremo C a **W**, o a **L** cuando **W** es nulo, o a **Ant** cuando **W** y **L** son ambos nulos.

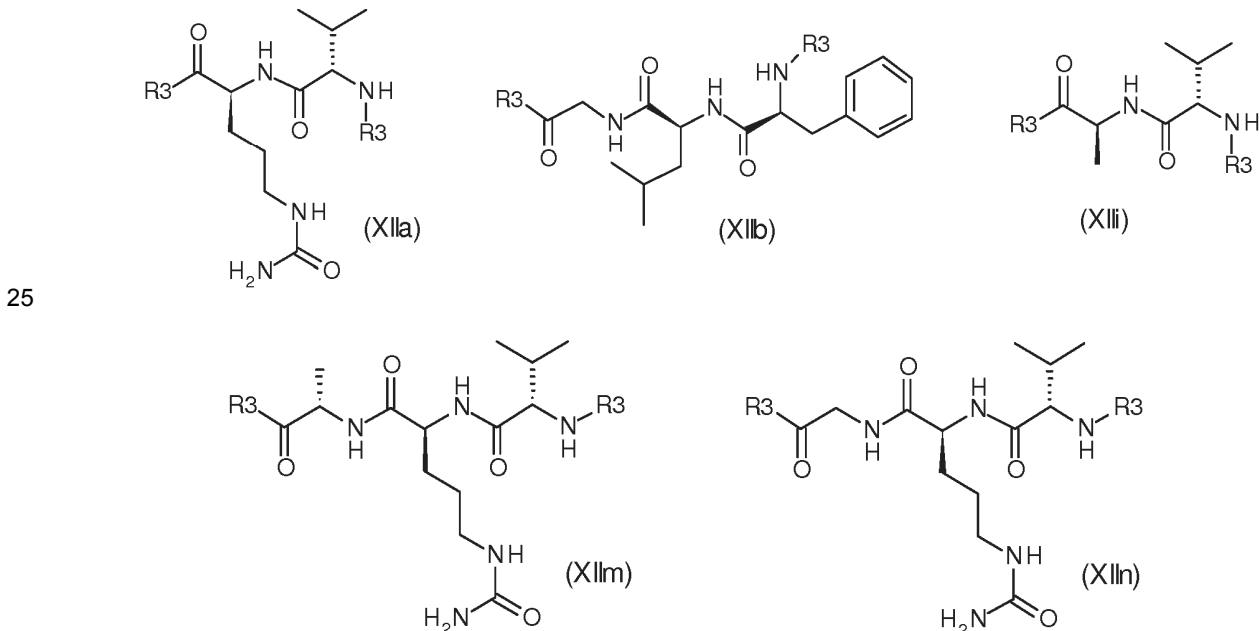
En otra realización más preferida, el residuo aminoácido C-terminal del dipéptido o del tripéptido se selecciona entre glicina, leucina, alanina, arginina y citrulina; y el residuo aminoácido N-terminal se selecciona entre cualquier aminoácido natural o no natural; preferentemente, en el caso del tripéptido, el residuo aminoácido central se selecciona entre alanina, valina, leucina, isoleucina, metionina, fenilalanina, citrulina y prolina.

15 En otra realización más preferida **Z1** comprende un pentapéptido, donde el aminoácido C-terminal se selecciona entre cualquier aminoácido natural o no natural y el residuo aminoácido N-terminal es ácido 6-aminohexanoico.

En una realización preferida, **Z2** puede contener una fracción oligoetilenglicol o polietilenglicol o un derivado de la misma.

20 En una realización preferida, **Z3** es una fracción híbrida que comprende una fracción peptídica **Z1**, donde **Z1** es un aminoácido individual, un dipéptido, un tripéptido un tetrapéptido, que comprende L-aminoácidos naturales y D-aminoácidos no naturales; y una fracción no peptídica **Z2**, donde **Z2** es una fracción oligoetilenglicol o polietilenglicol o un derivado de la misma.

En otra realización preferida **Z** se selecciona entre las fórmulas siguientes:



donde uno de los dos sustituyentes **R3** es una unión a **Ant**, a **W** o a **L**, y el otro es nulo.

**El radical RM**

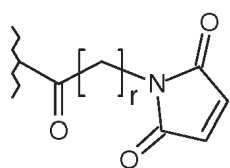
30 La fracción **RM**, si está presente, es un grupo electrófilo que puede reaccionar con nucleófilos, es decir, moléculas que poseen un grupo nucleófilo, bajo condiciones relativamente suaves y sin la necesidad de funcionalización previa del radical **RM**, requiriendo dicha reacción entre dicho radical **RM** y dicho nucleófilo solamente de la aplicación de uno o varios agentes seleccionados del grupo consistente en calor, presión, un catalizador, un ácido y una base.

El enlace entre **RM** y **Z**, o entre **RM** y **W** (cuando **Z** es nulo), o entre **RM** y **L** (cuando **W** y **Z** son ambos nulos), o entre **RM** y **Ant** (cuando **L**, **W** y **Z** son todos nulos), pueden escindirse mediante un proceso químico, fotoquímico, físico, biológico o enzimático, al producirse o bajo ciertas condiciones, como se describe arriba, conduciendo opcionalmente a la liberación de las fracciones correspondientes.

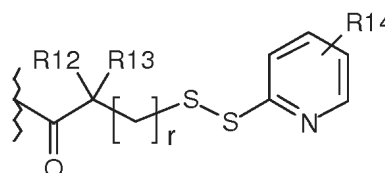
- 5 Por consiguiente, cuando está presente la fracción **RM**, un compuesto de fórmula (I) conjuga con diferentes tipos de nucleófilos. Cuando **RM** es nulo, un compuesto de fórmula (I) conjuga con diferentes tipos de electrófilos, es decir, moléculas que poseen un grupo electrófilo, a través de uno o varios de los grupos nucleófilos que están presentes en la(s) fracción(es) **L**, **W**, y/o **Z**, p. ej. grupos amina, tiol y alcohol.

- 10 Los ejemplos de fracciones reactivas incluyen, sin limitarse a ellos, haluro de carbamoilo, haluro de acilo, éster activado, anhídrido, □-haloacetilo, □-haloacetamida, maleimida, isocianato, isotiocianato, disulfuro, tiol, hidrazina, hidrazida, cloruro de sulfonilo, aldehído, metil cetona, vinil sulfona, halometilo, y metil sulfonato.

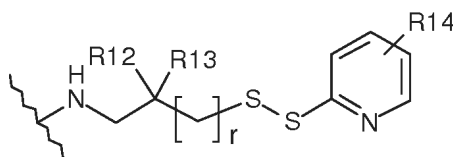
En una realización preferida de la invención, cuando el grupo nucleófilo del nucleófilo, con el cual puede reaccionar **RM**, es NH, NH<sub>2</sub>, SH o OH, **RM** es nulo o seleccionado entre las fórmulas siguientes:



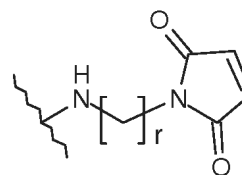
(XIIIa)



(XIIIc)



(XIIIi)

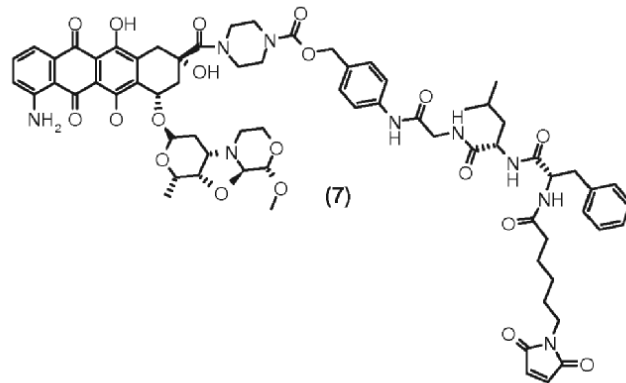
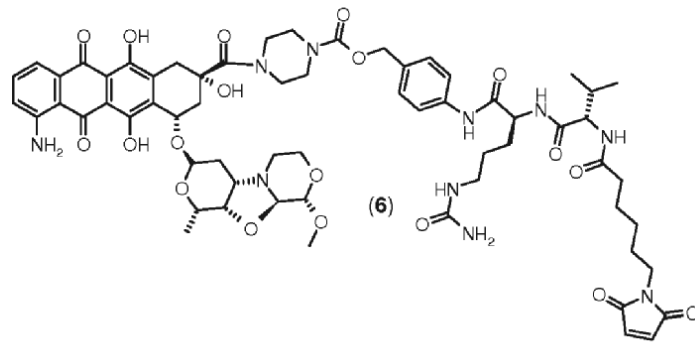
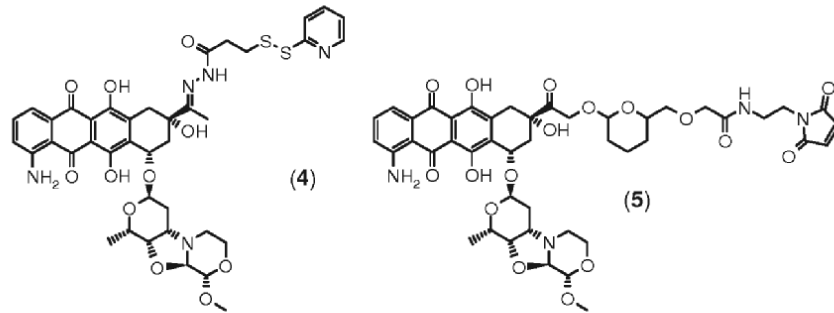
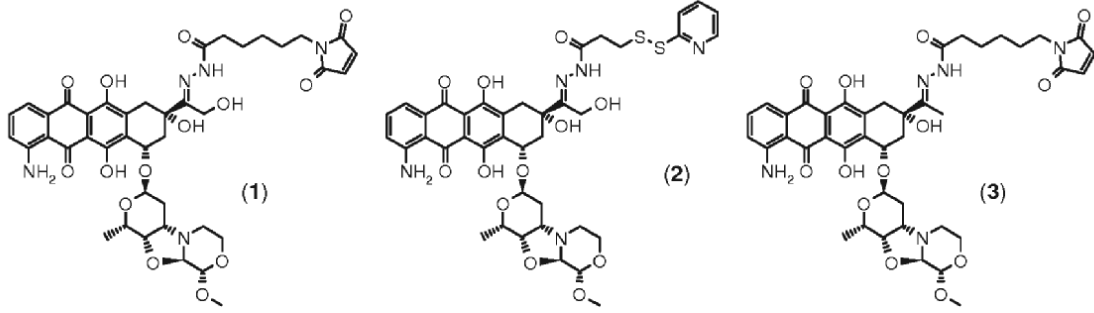


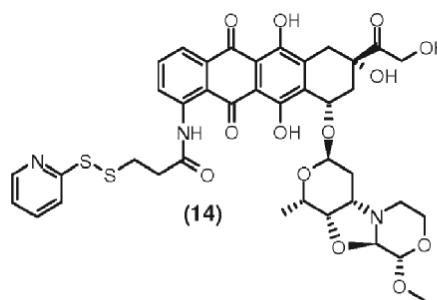
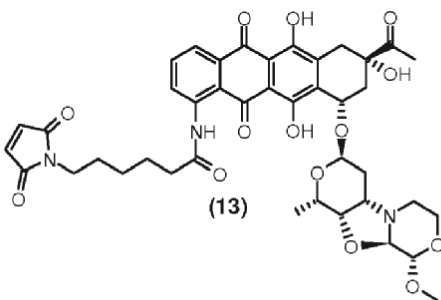
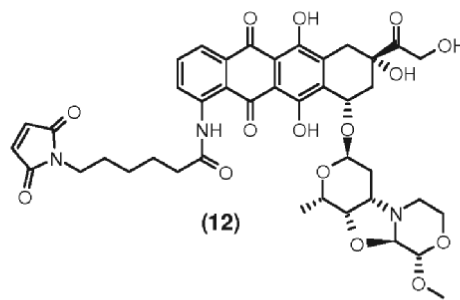
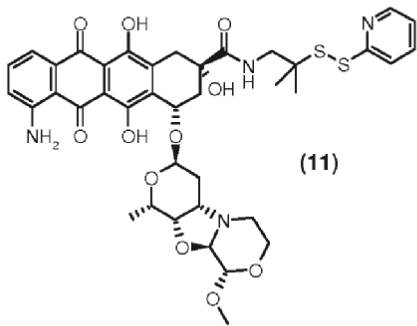
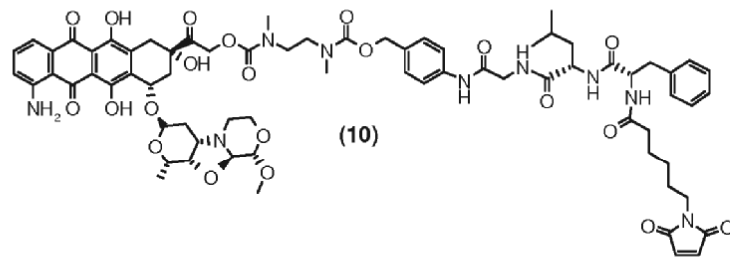
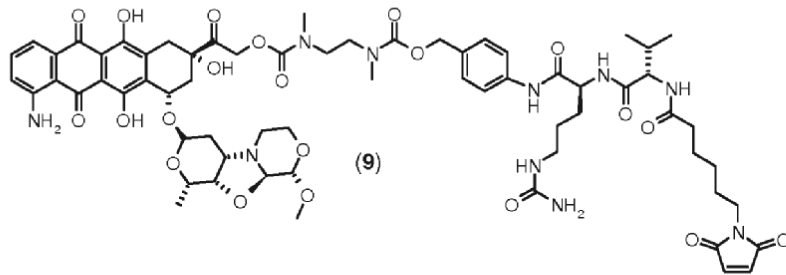
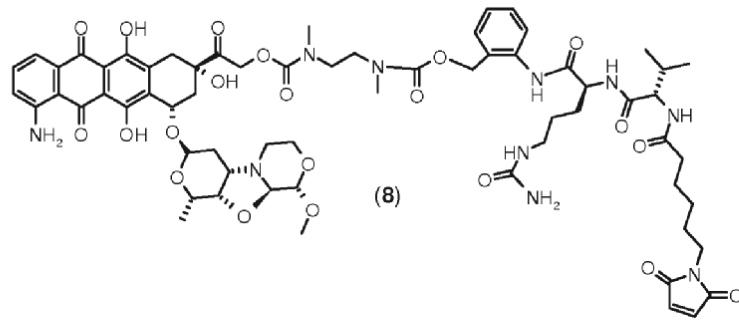
(XIII m)

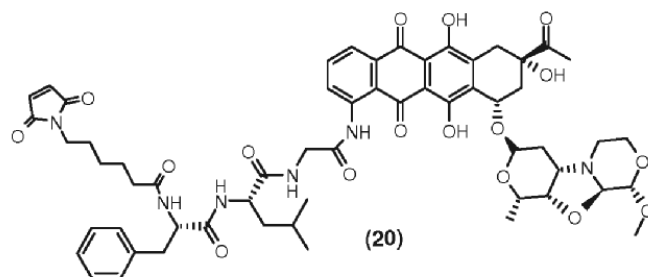
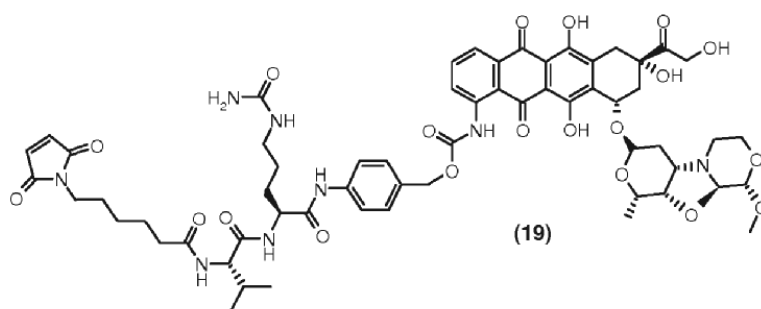
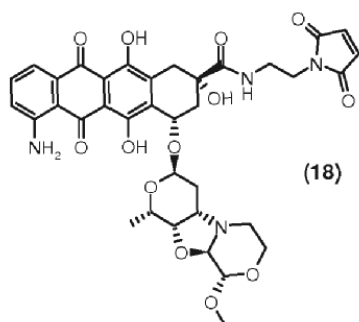
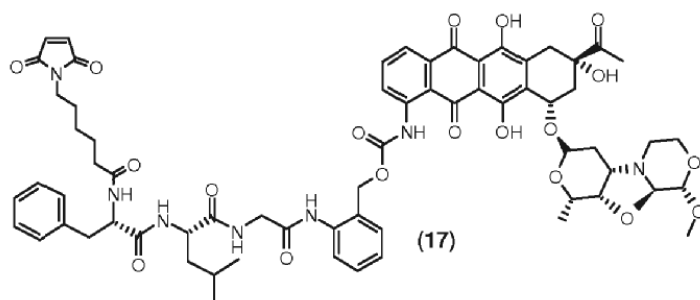
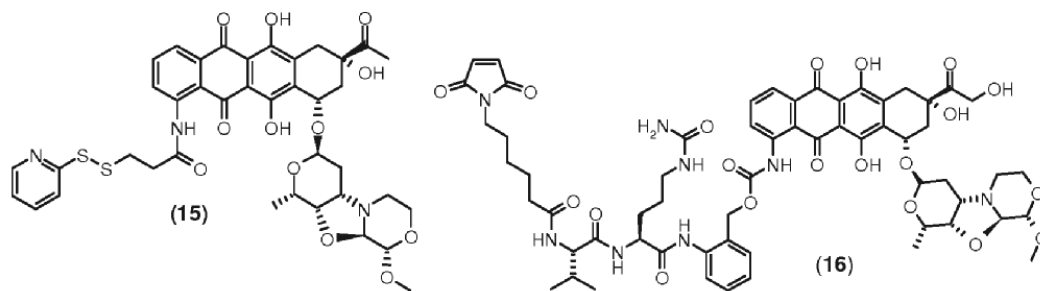
- 15 donde **R14** es hidrógeno;  
 r es un número entero de 0 a 7; **R12** y **R13** son, cada uno independientemente, hidrógeno o metilo, y la línea ondulada indica el punto de unión del derivado de fórmula (I).

- 20 A partir de todo lo anterior, se debe tener en cuenta que un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I) puede ser escindido en todos los enlaces de fracciones enlazadoras **L**, **W**, **Z** y **RM**, liberando las mencionadas antraciclinas de fórmula (II)', (III)', (IV)' o (V)'.

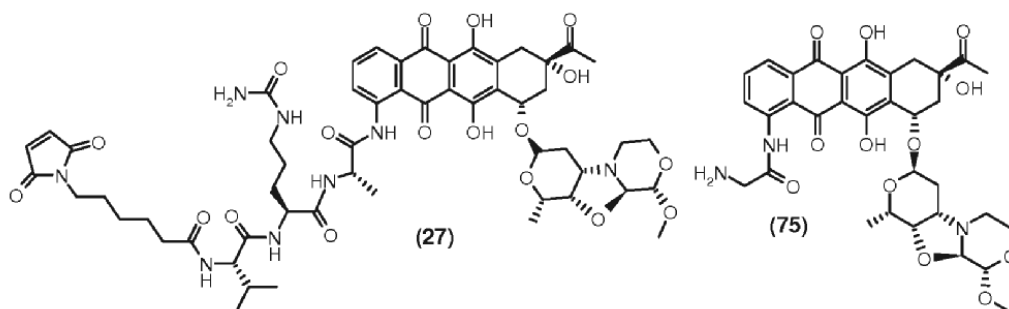
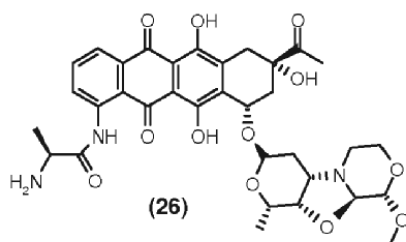
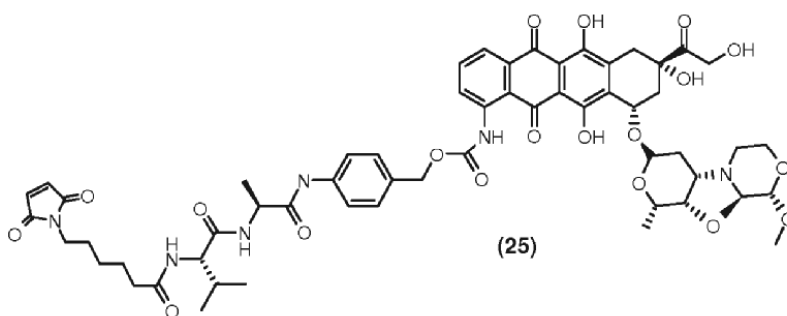
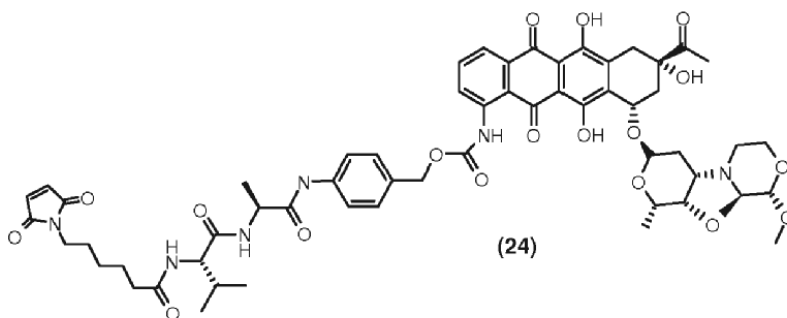
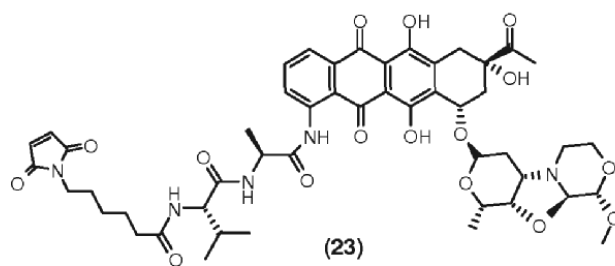
Los compuestos preferidos, específicos, no limitantes (comp.) de fórmula (I) de la presente invención, opcionalmente en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, se seleccionan del grupo consistente en los compuestos siguientes **(1)-(20)**, **(23)-(27)**, **(75)-(78)**:

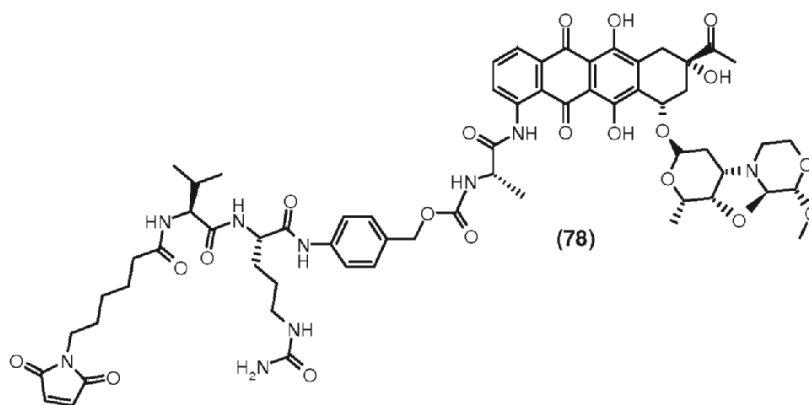
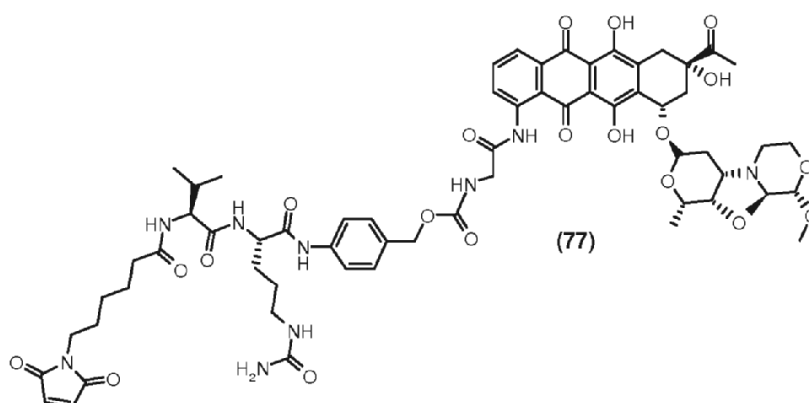
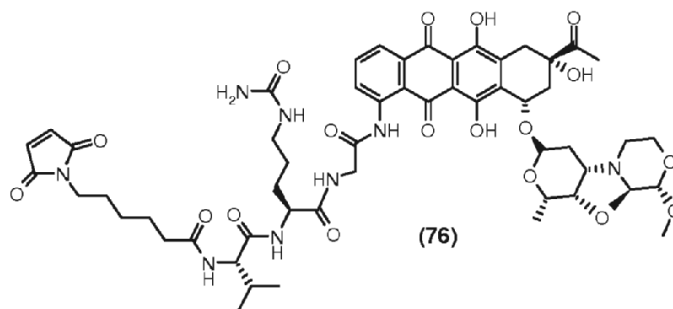












Para referencia a cualquier compuesto específico de fórmula (I) de la invención, opcionalmente en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, véanse la sección experimental y las reivindicaciones.

- 5 La presente invención proporciona también un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (I) como se define arriba, mediante el uso de las rutas de reacción y esquemas sintéticos descritos abajo, empleando las técnicas disponibles en la técnica y los materiales de partida fácilmente disponibles. La preparación de ciertas realizaciones de la presente invención se describe en los ejemplos siguientes, pero los expertos en la materia reconocerán que las preparaciones descritas pueden adaptarse fácilmente para preparar otras realizaciones de la presente invención. Por ejemplo, la síntesis de compuestos no ejemplificados de acuerdo con la invención se puede llevar a cabo mediante
- 10 modificaciones evidentes para los expertos en la materia, por ejemplo protegiendo apropiadamente los grupos interferentes, cambiando a otros reactivos apropiados conocidos en la técnica, o realizando modificaciones rutinarias de las condiciones de reacción. Alternativamente, otras reacciones referidas aquí o conocidas en la técnica se reconocerán como adaptables para la preparación de otros compuestos de la invención.

#### Métodos de síntesis

- 15 Los derivados de fórmula (I) se pueden preparar mediante diversas rutas, empleando reacciones químicas orgánicas, condiciones y reactivos conocidos por los expertos en la materia. Los derivados de fórmula (I) se pueden preparar mediante acoplamiento de cada fracción, bien en modo secuencial, p. ej. añadiendo cada fracción una a una, o en

modo concurrente, p. ej. formando intermedios avanzados y finalmente acoplándolos para obtener los derivados deseados.

Las reacciones de acoplamiento incluyen ejemplos no limitantes tales como:

- 5 (1) reacción de un grupo nucleófilo o un grupo electrófilo de una antraciclina de fórmula (II)', (III)', (IV)' y (V)' con un reactivo **L** bivalente, para formar un intermedio **Ant-L** vía un enlace covalente, opcionalmente seguido de reacción con un reactivo bivalente **W**, para formar un intermedio **Ant-L-W** vía un enlace covalente, opcionalmente seguido de reacción con un reactivo bivalente **Z**, para formar un intermedio **Ant-L-Z** vía un enlace covalente, y finalmente seguido opcionalmente de reacción con un radical **RM** para formar el derivado de morfolinil antraciclina funcionalizado final (I);
- 10 (2) reacción de un grupo nucleófilo o un grupo electrófilo de una antraciclina de fórmula (II)', (III)', (IV)' y (V)' con un reactivo **L-W-Z** bivalente, para formar un intermedio **Ant-L-W-Z** vía un enlace covalente, seguido de reacción con un radical **RM** para formar el derivado de morfolinil antraciclina funcionalizado final (I);
- (3) reacción de un grupo nucleófilo o un grupo electrófilo de una antraciclina de fórmula (II)', (III)', (IV)' y (V)' con un reactivo **L-W-Z-RM**, para formar el derivado de morfolinil antraciclina funcionalizado final (I).
- 15 Los derivados funcionalizados (I) pueden conjugarse después con una variedad de proteínas, fracciones de fármacos, péptidos, aptámeros, polímeros o nanopartículas para preparar compuestos fármaco-conjugados.

Los grupos nucleófilos o intermedios incluyen, si limitarse a ellos: (i) grupos amina N-terminal, (ii) grupos amina de cadena lateral, p. ej. lisina, (iii) grupos tiol de cadena lateral, p. ej. cisteína, (iv) grupos hidroxilo. Estos grupos son capaces de reaccionar con grupos electrófilos o fracciones enlazador y reactivos enlazador, incluyendo: (i) ésteres activos como ésteres NHS (N-hidroxisuccinimida), ésteres HOBt, haloformatos, y haluros de ácido; (ii) haluros de alquilo y bencilo como haloacetamidas; (iii) grupos aldehídos, cetonas, carboxilo y maleimida.

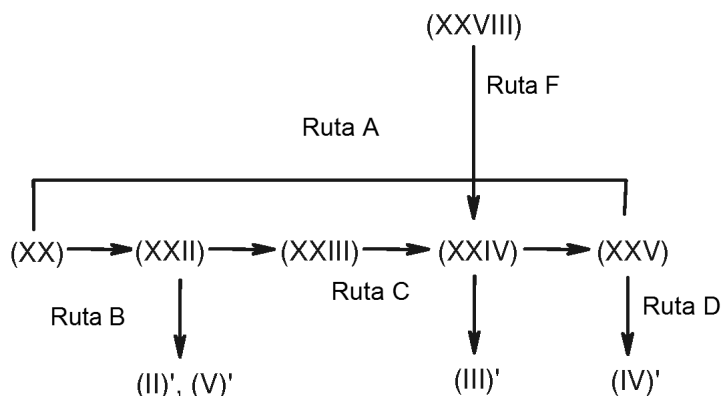
20

#### Preparación de antraciclinas de fórmula (II)', (III)', (IV)' y (V)'

En todos los esquemas de reacción mostrados a continuación, los sustituyentes **R1** o **H-R15-NH-** están en posición 4 de la fracción antraciclina.

25 Las antraciclinas de fórmula (II)', (III)', (IV)' y (V)', las cuales reaccionan en la preparación de derivados de fórmula (I), se pueden preparar de acuerdo con cualquiera de las rutas alternativas resumidas en el **Esquema X** inferior; también se resumen en el **Esquema X** la preparación del compuesto intermedio de fórmula (XXIV) de acuerdo con la **Ruta F** y la preparación del compuesto de material de partida de fórmula (XX) de acuerdo con la **Ruta G**.

#### Esquema X

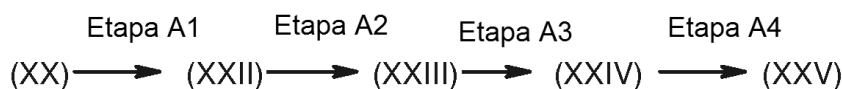


30

#### Ruta A

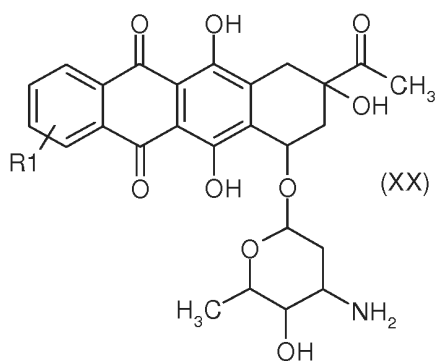
Un compuesto intermedio de fórmula (XXV), donde **R1** es **NH<sub>2</sub>**, se prepara como se resume en el **Esquema A** inferior.

#### Esquema A

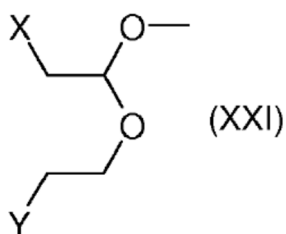


35 En consecuencia, un proceso de la presente invención comprende las etapas siguientes:

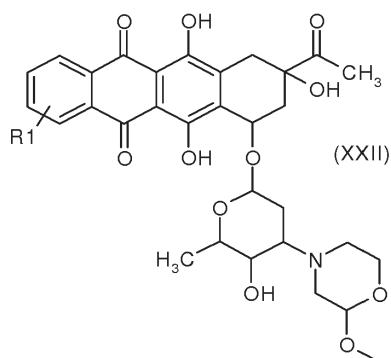
**A1)** reacción de un compuesto de fórmula (XX)



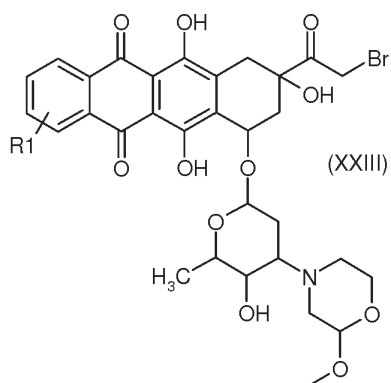
donde **R1** es como se define arriba;  
con un compuesto de fórmula (XXI)



- 5 donde **X** e **Y** son, iguales o diferentes, grupos saliente, preferentemente halógenos;  
**A2**) reacción del compuesto resultante de fórmula (XXII)

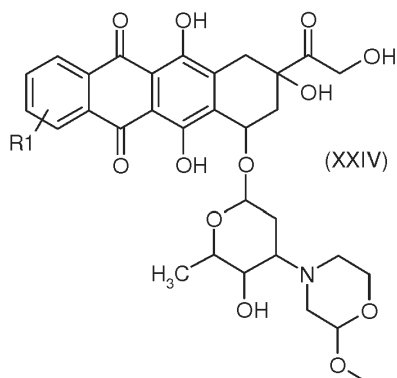


- 10 donde **R1** es como se define arriba;  
con etilortoformiato y bromo, añadiendo después HBr;  
**A3**) reacción del compuesto resultante de fórmula (XXIII)



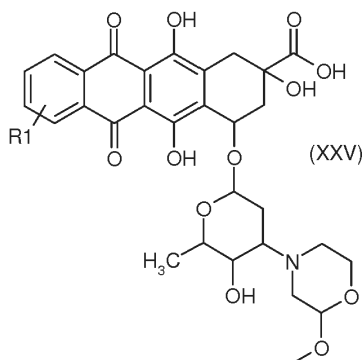
donde **R1** es como se define arriba,  
con un agente formilante;

**A4)** oxidación del compuesto resultante de fórmula (XXIV)



5 donde **R1** es como se define arriba;

**A5)** reacción del compuesto resultante de fórmula (XXV)



donde **R1** es como se define arriba.

10 De acuerdo con la **Etapas A1)** la reacción del compuesto de fórmula (XX) con el compuesto de fórmula (XXI) se lleva a cabo en un disolvente orgánico, preferentemente DMF, a temperatura ambiente, siguiendo procedimientos bien conocidos indicados en la técnica (véase por ejemplo el documento WO91/09046).

De acuerdo con la **Etapas A2)** la reacción del compuesto de fórmula (XXII) con etilortoformiato y bromo y después con HBr se lleva a cabo en dos etapas siguiendo procedimientos bien conocidos indicados en la técnica (véanse por ejemplo Doxorubicina Anticancer Antibiotics Vol. 17, 1981, pág. 168; F. Arcamone y col. *J. Med. Chem.* 1974, 17, pág. 335).

De acuerdo con la **Etapas A3)** la reacción para obtener el compuesto de fórmula (XXIV) se lleva a cabo siguiendo procedimientos bien conocidos indicados en la técnica (véanse por ejemplo Doxorubicina Anticancer Antibiotics Vol. 17, 1981, pág. 168; documento US3803124). Un ejemplo que no pretende limitar el método es la reacción del compuesto de fórmula (XXIII) con formiato sódico. La reacción se lleva a cabo en CH<sub>3</sub>CN o acetona o una mezcla de los mismos, a una temperatura en el intervalo entre unos 20°C hasta reflujo y durante un tiempo en el intervalo entre 30 minutos hasta 24 horas.

De acuerdo con la **Etapas A4)** la oxidación del compuesto de fórmula (XXIV) se lleva a cabo con un reactivo oxidante, preferentemente NaIO<sub>4</sub>. La reacción se lleva a cabo en MeOH o agua o una mezcla de los mismos, a una temperatura en el intervalo entre unos 20°C hasta reflujo y durante un tiempo en el intervalo entre 30 minutos hasta 24 horas.

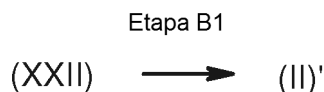
De acuerdo con las **Etapas A6a)** y **A6b)** la reacción del compuesto de fórmula (XXVI) primero con DMDO y después la reacción del compuesto resultante de fórmula (XXVII) con cloruro cianúrico o con una sal de hierro(II) se lleva a cabo siguiendo procedimientos bien conocidos indicados en la técnica (véanse p. ej. los documentos GB2296495A; WO2012073217; WO9802446). La eliminación de los grupos protectores de nitrógeno y/o hidroxilo, si es necesaria, se lleva a cabo siguiendo procedimientos bien conocidos indicados en la técnica (véase p. ej. Protective Groups in Organic

Synthesis; Theodora W. Green, Peter G. M. Wuts 4ª edición).

Ruta B

Un compuesto de fórmula (II)', como se define arriba, donde **R1** es -NH<sub>2</sub>; y **R2** es metilo, se prepara como se resumen en el **Esquema B** inferior.

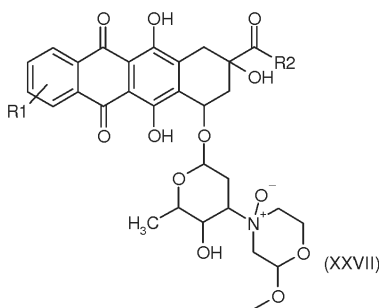
5 **Esquema B**



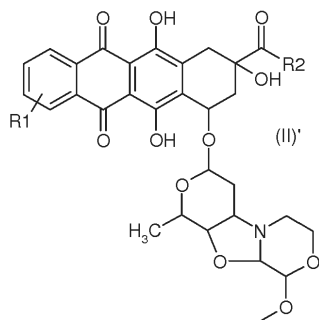
En consecuencia, un proceso de la presente invención comprende la etapa siguiente:

**B1)** reacción del compuesto de fórmula (XXII) como se define en la **Ruta A**, bajo las condiciones siguientes:

- 10 **B1a)** primero con DMDO;  
**B1b)** después tratando el compuesto resultante de fórmula (XXVII)



donde **R1** y **R2** son como se define arriba, con cloruro cianúrico o con una sal de hierro(II), y finalmente, si se desea, eliminando el/los grupo(s) protectores de nitrógeno y/o hidroxilo para obtener un compuesto de fórmula (II)'



- 15 donde **R1** y **R2** son como se define arriba;  
 convirtiendo opcionalmente un primer compuesto de fórmula (II)' como se define arriba en un segundo compuesto de fórmula (II)' mediante reacciones químicas conocidas; y/o, si se desea, convirtiendo un compuesto de fórmula (II)' en una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o convirtiendo una sal en un compuesto libre de fórmula (II)'.

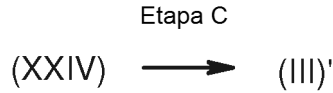
- 20 Se observa que cuando **R1** es -NH<sub>2</sub>, un derivado de fórmula (II)' corresponde a un derivado de fórmula (V)', por consiguiente la preparación descrita arriba está destinada a referirse también a la preparación de un derivado de fórmula (V)'.

- 25 De acuerdo con la etapa **B1)** la reacción se lleva a cabo respectivamente como se describe arriba bajo las **etapas A6a)** y **A6b)**. De acuerdo con las **etapas B1a)** y **B1b)** la reacción del compuesto de fórmula (XXII) primero con DMDO y después la reacción del compuesto resultante de fórmula (XXVII) con cloruro cianúrico o con una sal de hierro(II) se lleva a cabo siguiendo procedimientos bien conocidos indicados en la técnica (véanse p. ej. los documentos GB2296495A; WO2012073217; WO9802446). La eliminación de los grupos protectores de nitrógeno y/o hidroxilo, si es necesaria, se lleva a cabo siguiendo procedimientos bien conocidos indicados en la técnica (véase p. ej. Protective Groups in Organic Synthesis; Theodora W. Green, Peter G. M. Wuts 4ª edición).

Ruta C

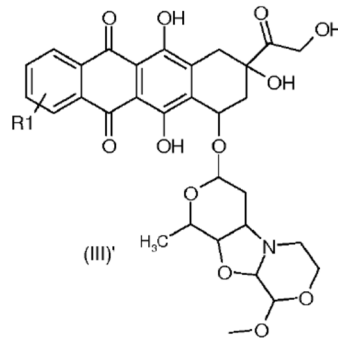
Un compuesto de fórmula (III)', donde **R1** es -NH<sub>2</sub>; se prepara como se resumen en el **Esquema C** inferior.

**Esquema C**



5

En consecuencia, un proceso de la presente invención comprende la etapa siguiente: **C)** reacción del compuesto de fórmula (XXIV) como se define en la **Ruta A**, bajo las mismas condiciones indicadas arriba bajo las etapas **B1a)** y **B1b)**, para obtener un compuesto de fórmula (III)'



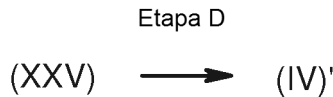
10

donde **R1** es como se define arriba.

Ruta D

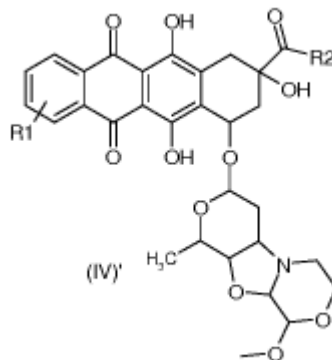
Un compuesto de fórmula (IV)', donde **R1** es -NH<sub>2</sub>; y **R2** es hidroxilo, se prepara como se resumen en el **Esquema D** inferior.

15 **Esquema D**



En consecuencia, un proceso de la presente invención comprende la etapa siguiente: **D)** reacción del compuesto de fórmula (XXV) como se define en la **Ruta A**, bajo las mismas condiciones indicadas arriba bajo las etapas **B1a)** y **B1b)**, para obtener un compuesto de fórmula (IV)'

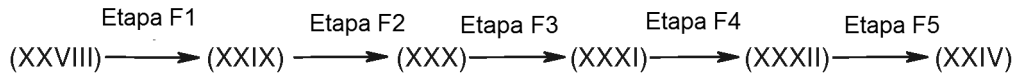
20



donde **R1** es como se define arriba y **R2** es hidroxilo.

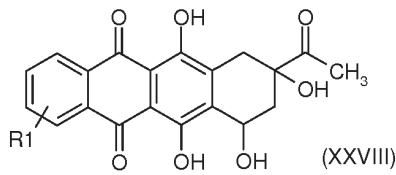
**Ruta F**

El derivado de fórmula (XXIV) como se define en la **Ruta A** se prepara alternativamente de acuerdo con el **Esquema F** inferior.



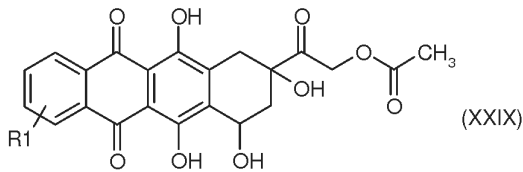
5 En consecuencia, un proceso de la presente invención comprende las etapas siguientes:

**F1)** reacción del compuesto de fórmula (XXVIII)



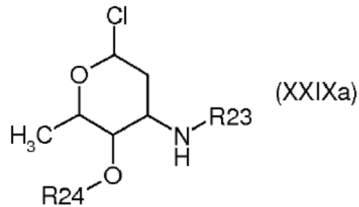
donde **R1** es -NH<sub>2</sub>, con bromo y acetato potásico;

**F2)** reacción del compuesto resultante de fórmula (XXIX)



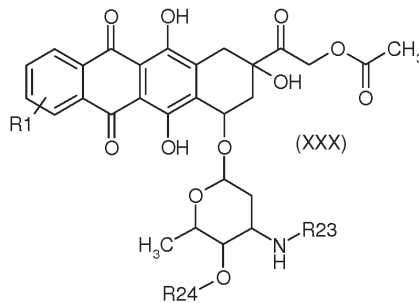
10

donde **R1** es como se define arriba, con el azúcar de fórmula (XXIXa)



donde **R23** y **R24** son independientemente hidrógeno o un grupo protector de nitrógeno o hidroxilo apropiado, como p. ej. trifluoroacetilo o bencilo;

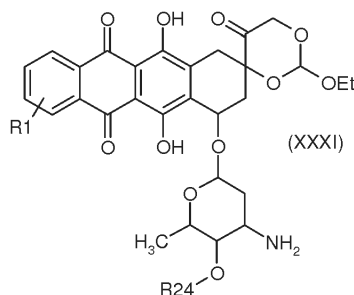
15 **F3)** reacción del compuesto resultante de fórmula (XXX)



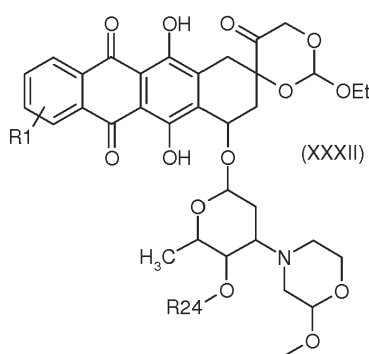
donde **R1**, **R23** y **R24** son como se define arriba, con etilortoformiato y *p*-toluensulfonato de piridinio (PPTS);

**F4)** reacción del compuesto resultante de fórmula (XXXI)





donde **R1** y **R24** son como se define arriba, con el compuesto de fórmula (XXI) como se define arriba; **F5)** desprotección del compuesto resultante de fórmula (XXXII)



5 donde **R1** y **R24** son como se define arriba, para rendir el compuesto de fórmula (XXIV) como se define arriba.

De acuerdo con la **etapa F1)** la reacción se lleva a cabo en un disolvente orgánico preferentemente acetona o dioxano, a una temperatura en el intervalo entre 20°C hasta reflujo durante un tiempo en el intervalo entre unos 30 minutos hasta unas 24 horas.

10 De acuerdo con la **etapa F2)** la reacción de glicosilación del compuesto de fórmula (XXIX) se lleva a cabo en presencia de trifluorometanosulfonato de plata siguiendo procedimientos bien conocidos indicados en la técnica (véanse por ejemplo los documentos GB2225781; GB2215332A)

15 De acuerdo con la **etapa F3)** la reacción para obtener el compuesto de fórmula (XXXI) se lleva a cabo haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (XXX) con etilortoformiato y PPTS. La reacción se lleva a cabo en un disolvente orgánico, preferentemente DCM, a una temperatura en el intervalo entre 0°C hasta reflujo y durante un tiempo en el intervalo entre unos 30 minutos hasta unas 24 horas. De acuerdo con la **etapa F4)** la reacción se lleva a cabo como se describe arriba bajo la etapa A1.

De acuerdo con la **etapa F5)** la eliminación del grupo protector de hidroxilo se lleva a cabo siguiendo procedimientos bien conocidos indicados en la técnica (véase p. ej. Protective Groups in Organic Synthesis; Theodora W. Green, Peter G. M. Wuts 4ª edición).

20 Las antraciclina de fórmula (II)', (III)', (IV)' y (V)' reaccionan entonces con reactivos apropiados para preparar los derivados de morfolinil antraciclina funcionalizados finales de fórmula (I). Dichos reactivos pueden ser, p. ej., **L**, **L-W**, **L-W-Z**, **L-W-Z-RM**, etc. dependiendo de si se usa un método de síntesis secuencial o concurrente para unir las fracciones para obtener los derivados finales de fórmula (I).

Los compuestos de fórmula (XXVIII) se pueden preparar como se describe en la solicitud de patente EP288268.

25 Los compuestos de fórmula (XXI), (XXIXa) bien están disponibles comercialmente o se pueden preparar con métodos conocidos.

30 A partir de todo lo anterior, es evidente para el experto en la materia que para preparar los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con cualquiera de las variantes de proceso mencionadas anteriormente, los grupos funcionales opcionales dentro de los materiales de partida o los intermedios de los mismos, que pueden dar lugar a reacciones secundarias indeseadas, necesitan ser protegidos adecuadamente de acuerdo con técnicas convencionales. Asimismo, la conversión de estos últimos en los compuestos libres desprotegidos puede llevarse a cabo de acuerdo con procedimientos conocidos.

Como ya se podrá apreciar, si los compuestos de fórmula (I) preparados de acuerdo con el proceso descrito arriba se obtienen como mezcla de isómeros, su separación en los isómeros individuales de fórmula (I) usando técnicas convencionales se encuentra dentro del alcance de la presente invención.

### FARMACOLOGÍA

- 5 Los nuevos derivados de morfolinil antraciclina de la presente invención son compuestos funcionalizados útiles como agentes antitumorales o útiles para ser conjugados con proteínas, péptidos, aptámeros, polímeros o nanopartículas.

Un mamífero, p.ej. un humano o animal, puede ser tratado, por tanto, mediante un método que comprende la administración al mismo de una cantidad farmacéuticamente efectiva de un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I). La condición del humano o animal puede ser aliviada o mejorada de esta forma.

- 10 La evaluación de la citotoxicidad de los compuestos de fórmula (I) se evaluó tal y como se describe a continuación.

#### Ensayo de proliferación celular *in vitro*

- 15 Líneas celulares de cáncer humano se sembraron en placas de 384 pocillos blancos (1250 células/pocillo) en medio completo (RPMI1640 o EMEM más suero fetal bovino 10%) y se trató con los compuestos disueltos en DMSO 0,1%, 24 h después de la siembra. Las células se incubaron a 37 °C y CO<sub>2</sub> al 5% y tras 72 h se procesaron las placas utilizando el ensayo CellTiter-Glo (Promega) siguiendo las instrucciones del fabricante.

- 20 CellTiter-Glo es un método homogéneo basado en la cuantificación del ATP presente, un indicador de células metabólicamente activas. Se cuantificó el ATP utilizando un sistema basado en luciferasa y D-luciferina resultando en la generación de luz. Brevemente, se añaden 25 µL/pocillo de la solución reactiva a cada pocillo, después de 5 minutos de agitación, las microplacas se leen mediante un luminómetro. La señal luminiscente es proporcional al número de células vivas presentes en el cultivo.

Las curvas de respuesta a la dosis se generaron mediante la interpolación de una función sigmoide de 8 puntos de concentración y la actividad antiproliferativa de los compuestos se reportó como la concentración media máxima inhibidora (IC<sub>50</sub>).

- 25 Particularmente, la citotoxicidad que puede ser liberada de los compuestos (21), (22) y (26) representados a continuación, de un compuesto de fórmula (I), ha sido evaluada (Tabla 1):

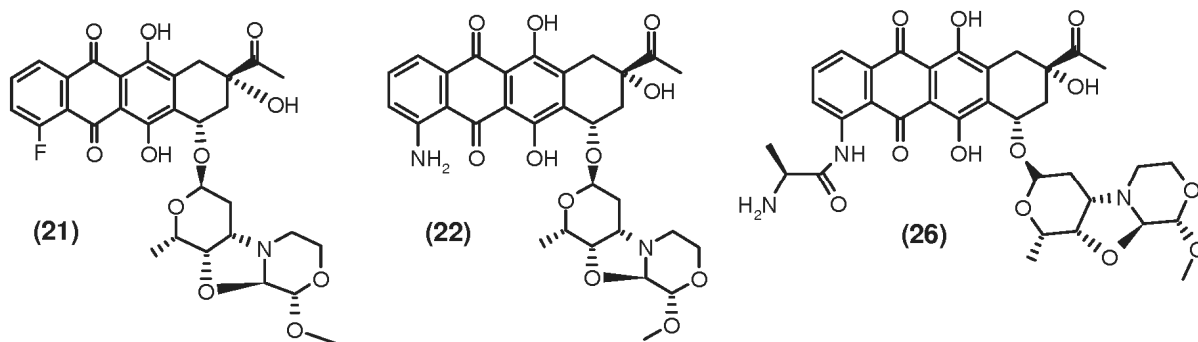


Tabla 1

Línea Celular	Línea Celular IC <sub>50</sub> nM						
	A2780	HCC1954	HCT-116	HELA	MCF7	MDA-MB_213	MDA-MB468
Comp. 21	0,032	0,377	0,146	0,349	3,52	0,306	0,072
Comp. 22	0,044	0,549	0,2	0,7	0,668	0,538	0,313
Comp. 26	1,2	4,8	1,1	3,5	3,8	nd	2,3

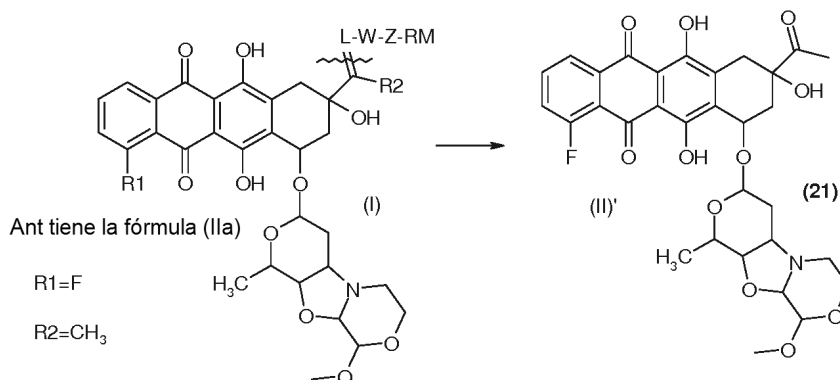
- 30 Estos derivados están abarcados respectivamente por la fórmula (II)' (compuesto (21), donde R1 es flúor y R2 es metilo; compuesto (22), donde R1 es amino y R2 es metilo) y por la fórmula (V)' (compuesto (22), donde R2 es metilo y R15 es nulo; compuesto (26), donde R2 es metilo y R15 es -NR7-alkilcarbonilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>\*, con R7 siendo hidrógeno y alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> siendo -(S)CH(CH<sub>3</sub>)-).

Tal y como puede apreciar el experto en la materia a partir de los datos farmacológicos anteriores, estos compuestos representativos (21), (22) y (26) son particularmente beneficiosos en terapia antitumoral.

Estos compuestos son ejemplos no limitantes de antraciclinas las cuales pueden ser liberadas *in vivo* mediante derivados de fórmula (I).

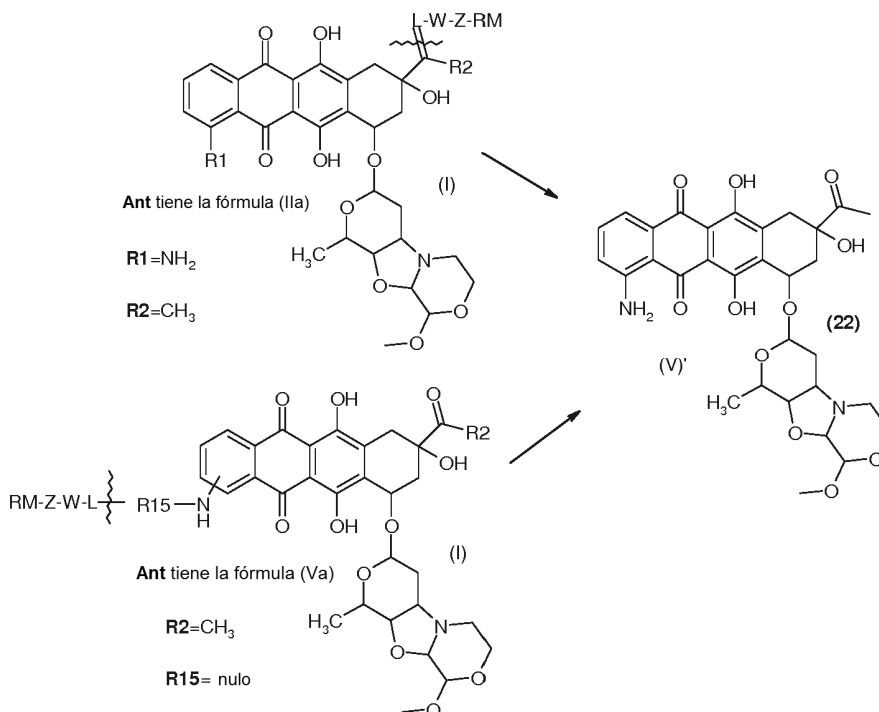
- 5 Como ejemplo, en el caso del compuesto (21), se espera que pueda ser liberado mediante un derivado de fórmula (I), donde **Ant** tiene la fórmula (IIa), R1 es flúor y R2 es metilo, como se representa en el **Esquema 1**:

**Esquema 1**



- 10 Como ejemplo adicional, en el caso del compuesto (22), se espera que pueda ser liberado mediante un derivado de fórmula (I), donde **Ant** tiene la fórmula (IIa), R1 es amino y R2 es metilo, o mediante un derivado de fórmula (I), donde **Ant** tiene la fórmula (Va), R2 es metilo y R15 es nulo, como se representa en el **Esquema 2**:

**Esquema 2**



- 15 Los compuestos de fórmula (I) de la presente invención pueden ser administrados bien como agentes individuales o, alternativamente, en combinación con tratamientos anticancerígenos conocidos tales como terapia radioactiva o régimen de quimioterapia, en combinación con agentes citoestáticos o citotóxicos, agentes tipo antibiótico, agentes alquilantes, agentes antimetabolito, agentes hormonales, agentes inmunológicos, agentes tipo interferón, inhibidores de ciclooxigenasa (p.ej. inhibidores COX-2), inhibidores de la matriz metaloproteasa, inhibidores de telomerasa, inhibidores de tirosina cinasa, agentes receptores del factor anti-crecimiento, agentes anti-HER, agentes anti-EGFR,
- 20 agentes anti-angiogénesis (p.ej. inhibidores de la angiogénesis), inhibidores de farnesil-transferasa, inhibidores de la

ruta de transducción de la señal ras-raf, inhibidores del ciclo celular, otros inhibidores cdk, agentes ligantes de la tubulina, inhibidores de la topoisomerasa I, inhibidores de la topoisomerasa II, y similares.

5 Si se formula como una dosis fija, dicha combinación de productos emplea compuestos de esta invención dentro de los rangos de dosificación descritos más adelante y los otros agentes farmacéuticamente activos dentro de los rangos de dosis aprobados.

Los compuestos de fórmula (I) se pueden usar secuencialmente con agentes anticáncer conocidos cuando una formulación combinación en inapropiada.

10 Los compuestos de fórmula (I) de la presente invención, adecuados para la administración a mamíferos, p.ej. humanos, pueden ser administrados mediante las vías habituales y sus niveles de dosificación dependerán de la edad, el peso, las condiciones del paciente y la vía de administración.

15 Por ejemplo, una dosificación adecuada adoptada para administración oral de un compuesto de fórmula (I) puede oscilar entre 1 a 300 mg por dosis, desde 1 a 5 veces diarias. Los compuestos de la invención pueden ser administrados en diferentes formas de dosificación, p.ej. oralmente, en la forma de tabletas, capsulas, tabletas con recubrimiento de film o azúcar, soluciones líquidas o suspensiones; rectalmente en la forma de supositorios; parenteralmente, p.ej. subcutáneamente, intramuscularmente, o mediante inyección o infusión intravenosa y/o intratecal y/o intraespinal.

La presente invención también incluye composiciones farmacéuticas incluyendo el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos en asociación con un excipiente farmacéuticamente aceptable, el cuál puede ser un portador o un diluyente.

20 Las composiciones farmacéuticas conteniendo los compuestos de la invención se preparan usualmente siguiendo métodos convencionales y se administran en una forma farmacéuticamente adecuada. Por ejemplo, las formas orales sólidas pueden contener, junto con el compuesto activo, diluyentes, p. ej. lactosa, dextrosa, sacarosa, celulosa, almidón de maíz o patata; lubricantes, p.ej. sílice, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio o calcio, y/o glicoles de polietileno; agentes ligantes, p.ej. almidones, goma arábica, gelatina de metilcelulosa, carboximetilcelulosa o polivinil pirrolidona; agentes desintegrantes, p.ej. almidón, ácido algínico, alginatos o almidón glicolato de sodio; mezclas efervescentes; colorantes; edulcorantes; agentes humectantes, como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos; y, en general, sustancias no-tóxicas y farmacológicamente inactivas utilizadas en formulaciones farmacéuticas. Estas preparaciones farmacéuticas pueden ser manufacturadas de forma conocida, por ejemplo, mediante procesos de mezcla, granulación, de preparación de comprimidos, grajeado, o recubrimiento de película.

30 Las dispersiones líquidas para administración oral pueden ser, por ejemplo, jarabes, emulsiones y suspensiones. A modo de ejemplo, los jarabes pueden contener, como portador, sacarosa o sacarosa con glicerina y/o manitol y sorbitol.

35 Las suspensiones y las emulsiones pueden contener, como ejemplo de portadores, goma natural, agar, alginato de sodio, pectina, metilcelulosa, carboximetilcelulosa o alcohol polivinílico. La suspensión o soluciones para inyecciones intramusculares pueden contener, junto con el compuesto activo, un portador farmacéuticamente aceptable, p.ej. agua estéril, aceite de oliva, oleato de etilo, glicoles, p.ej. propilenglicol, y, si se desea, una cantidad adecuada de clorhidrato de lidocaína. Las soluciones para inyección o infusión intravenosa pueden contener, como portador, agua estéril o preferiblemente pueden estar en la forma de soluciones acuosas, isotónicas, salinas estériles o pueden contener propilenglicol como portador. Los supositorios pueden contener, junto con el compuesto activo, una sal farmacéuticamente aceptable, p.ej. manteca de cacao, polietilenglicol, un surfactante éster de ácido graso de polioxietilensorbitan o lecitina.

40 Con el objetivo de ilustrar mejor la presente invención, sin que suponga ninguna limitación a la misma, se presentan los siguientes ejemplos.

### **PARTE EXPERIMENTAL**

45 La preparación sintética de algunos derivados de morfolinil antraciclina de fórmula (I) de la invención se describe en los siguientes ejemplos. Los compuestos de la presente invención, preparados de acuerdo con los siguientes ejemplos, fueron caracterizados mediante  $^1\text{H-RMN}$  y/o datos de masa exacta ESI(+).

Los espectros de  $^1\text{H-RMN}$  fueron tomados a temperatura constante de 28 °C en un espectrómetro Varian INOVA 400 operando a 400,50 MHz y equipado con una sonda PFG de detección indirecta de 5 mm en el eje z ( $^1\text{H}\{^{15}\text{N-}^{31}\text{P}\}$ ).

50 Los desplazamientos químicos se referenciaron con respecto a las señales residuales del disolvente (DMSO- $d_6$ : 2,50 ppm para  $^1\text{H}$ , donde no se especifique de otra forma). Los datos se divulgan tal y como sigue: desplazamiento químico ( $\delta$ ), multiplicidad (s = singulete, d = doblete, t = triplete, q = cuarteto, br.s. = singulete ancho, td = triplete de dobletes, dd = doblete de dobletes, ddd = doblete de dobletes de dobletes, m = multiplete, spt = septeto), constantes de acoplamiento (J, Hz) y número de protones.

Los datos de masa exacta ESI(+) se obtuvieron con un espectrómetro de masas Waters Q-ToF Ultima directamente conectado con un sistema de micro-HPLC Agilent 1100 tal y como se describió previamente (M. Colombo, F. Riccardi-Sirtori, V. Rizzo, *Rapid Commun. Mass Spectrom.* 2004, 18, 511-517).

- 5 En los ejemplos que siguen, así como a través de su aplicación, las siguientes abreviaturas tienen los siguientes significados. Si no se definen, los términos tienen los significados generalmente aceptados.

ABREVIATURAS	
DCC	<i>N,N'</i> -diciclohexilcarbodiimida
DCM	diclorometano
DIPEA	<i>N,N'</i> -diisopropiletilamina
DMDO	dimetildioxirano
DMF	<i>N,N'</i> -dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
Et <sub>2</sub> O	éter dietílico
AcOEt	acetato de etilo
EtOH	etanol
HCl	ácido clorhídrico
HOBt	1H-benzotriazol-1-ol
MeOH	metanol
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	sulfato de sodio
NaHCO <sub>3</sub>	bicarbonato de sodio
NaOH	hidróxido sódico
PPTS	<i>p</i> -toluensulfonato de piridinio
TEA	triethylamina
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano

#### Ejemplo (A)

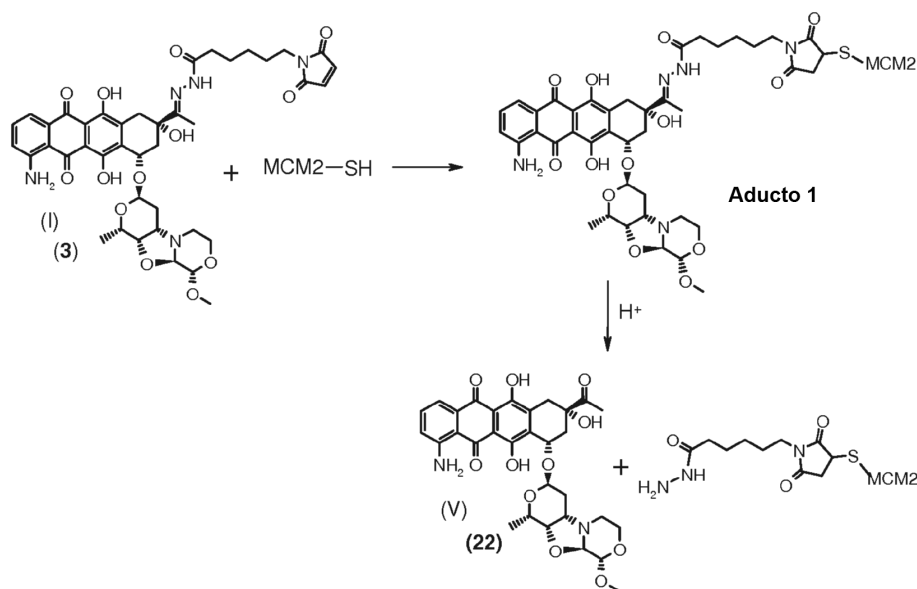
##### Preparación de conjugados con la proteína MCM2

10 1,5 mg (0,045  $\mu$ mol) de la proteína MCM2 (correspondiendo a los residuos 10-294 de la secuencia de longitud completa, ver Ishimi et al., 2001 *Journal Biological Chemistry*, vol. 276, páginas 42744-42752) se disolvieron en 0,5 mL de solución salina de tampón fosfato (pH 7,2), se ajustó el pH a 8,5 mediante la adición de 55  $\mu$ L de NaHCO<sub>3</sub> (pH 8,5) y se añadieron 0,040 – 0,080  $\mu$ mol de un derivado de fórmula (I) mediante una disolución en DMSO de 10 mg/mL. Se incubó la reacción durante 1 hora a temperatura ambiente y entonces se desalinizó la mezcla de reacción en una columna NAP-10 condicionada con una solución salina de tampón fosfato, se recogieron y juntaron las fracciones conteniendo la proteína.

15 El conjugado de MCM2 así obtenido se caracterizó mediante análisis de espectrometría de masas HPLC/ESI o Q-ToF2/nanoESI siguiendo los procedimientos siguientes.

##### Procedimiento A

20 El conjugado MCM2-Comp. (3) (**Aducto 1**), obtenido como se describe previamente, se incubó en condiciones ácidas (pH 3) para de esta forma hidrolizar el enlace de hidrazona y así liberar el derivado de antraciclina (**22**) y el residuo de enlazador MCM2.



Se analizó la muestra y los productos caracterizados mediante análisis HPLC/MS utilizando un gradiente lineal de 5 – 100% en B (solvente A: 0,05% TFA en agua; solvente B: 0,05% TFA en acetonitrilo) como eluyente. La detección se llevó a cabo mediante el registro de la señal UV a 220 nm mediante un sistema de matriz de diodo y la señal m/z mediante el cuadrupolo MSD en el rango de adquisición 600-2000. Los espectros de masas de la integración de la señal m/z bajo los picos de proteína se deconvolucionaron utilizando el algoritmo de Agilent Chemstation para obtener la masa correspondiente de las proteínas con una precisión de ~100 ppm (**Fig. 1-4**).

La **Fig. 1** muestra el perfil de HPLC del **Aducto 1**, representando del tiempo (min) en el eje x y la absorción UV @ 220 nm (mAU) en el eje y.

La **Fig. 2** muestra el cromatograma de corriente iónica total del **Aducto 1**, representando del tiempo (min) en el eje x y la intensidad expresada como conteo por segundo (cps) en el eje y.

La **Fig. 3** muestra el espectro MS deconvolucionado del pico cromatográfico a 15,2 min del cromatograma de corriente iónica total del **Aducto 1**, mostrado en la **Fig. 2**, correspondiendo al residuo enlazador MCM2 (peso molecular esperado 33282 Da; peso molecular observado 33283 Da); el peso molecular se representa en el eje x mientras que la intensidad expresada como conteo por segundo (cps) se representa en el eje y.

La **Fig. 4** muestra el espectro de masas del pico cromatográfico a 13 min del comp. **22** mostrado en la **Fig. 2** (esperado m/z 611 Da; observado m/z 611,2 Da); el peso molecular (m/z) se representa en el eje x mientras que la intensidad expresada como conteo por segundo (cps) se representa en el eje y.

#### Procedimiento B

La caracterización del **Aducto 1** se llevó a cabo mediante el análisis MS en condiciones de pH neutro, utilizando tampón de acetato amónico 100 mM a pH 7. La muestra se inyectó directamente en un espectrómetro de masas Q-ToF2 (Micromass, UK), equipado con una fuente de nanoESI, utilizando un flujo de 0,5  $\mu$ L/min; el voltaje de capilaridad se ajustó a 2 KV y la señal MS se recogió en el rango de 500-3000 m/z (**Fig. 6A-6B**).

Se utilizó MCM2 como estándar para ajustar los parámetros instrumentales apropiados. Se inyectó la muestra en el espectrómetro de masas (**Fig. 5A-5B**). Los espectros de masas se deconvolucionaron utilizando el algoritmo MaxEnt1 del software MassLynx 4.0 para obtener el peso molecular de la correspondiente especie proteínica con una precisión ~100 ppm.

La **Fig. 5A** muestra el espectro de masas del estándar de proteína MCM2; el peso molecular (m/z) se representa en el eje x mientras que la intensidad se expresa como conteo por segundo (cps) representada en el eje y.

La **Fig. 5B** muestra el espectro de masas deconvolucionado del estándar de proteína MCM2 (peso molecular esperado 33507 Da; observado 33056 Da); el peso molecular se representa en el eje x mientras que la intensidad expresada como conteo por segundo (cps) se representa en el eje y.

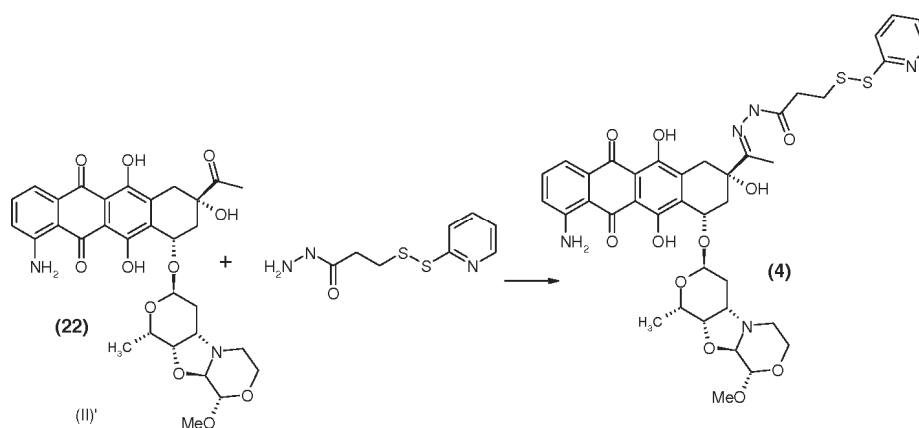
La **Fig. 6A** muestra el espectro de masas de la muestra; el peso molecular (m/z) se representa en el eje x mientras que la intensidad expresada como conteo por segundo (cps) se representa en el eje y.

La **Fig. 6B** muestra el espectro de masas deconvolucionado de la muestra (peso molecular esperado 33874 Da; observado 33873 Da); también se detectaron trazas de la especie enlazador MCM2 (peso molecular esperado 33282 Da; observado 33282 Da); el peso molecular se representa en el eje x mientras que la intensidad se expresa como conteo por segundo (cps) y se representa en el eje y.

#### Ejemplo (B)

**Preparación de los conjugados con cisteína**

5 Reaccionaron 2 nmol de cisteína (Cys, MW 121 Da) con 2 nmol de un derivado funcionalizado de fórmula (I), se incubó la reacción durante 1 h a 21 °C en presencia de un tampón borato 50 mM pH 8, DTPA (ácido dietilén triamin pentaacético) 2 mM, NaCl 50 mM, obteniendo el conjugado final. Se analizó entonces el conjugado mediante HPLC/ESI-MS utilizando un método de HPLC en fase reversa (columna PLRP-S 1000A 8  $\mu$ M 150  $\times$  2,1 mm) en un instrumento HPLC Agilent 1100 acoplado con un detector de espectrometría de masas de cuadrupolo simple Agilent 1946 con una fuente ortogonal ESI.

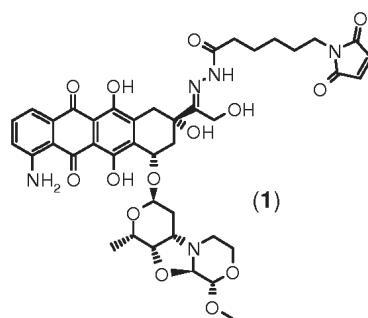
**Ejemplo 1**Síntesis del comp. (4)

10

## Etapa 1

15 Una solución de hidrazida de ácido 3-(2-piridiltio)propiónico HCl (41,5 mg) en metanol anhidro (5 mL) se añadió al compuesto (II)' (comp. **22**, ver **Ejemplo 6**) (50 mg). Se agitó la solución en la oscuridad a temperatura ambiente durante 20 horas. Se monitorizó el curso de la reacción mediante HPLC-MS en fase reversa. Después de este periodo se evaporó el disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía de columna flash (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) en gel de sílice (230-400 mesh), proporcionando el compuesto (**4**).  
MS (ESI): 822 [M+H]<sup>+</sup>.

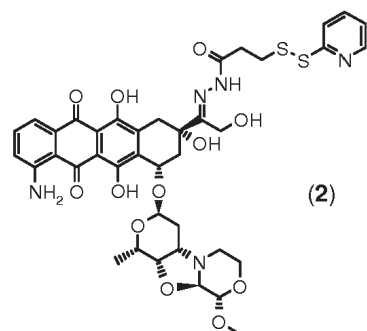
Mediante procedimientos análogos y utilizando los productos de partida adecuados, se prepararon los siguientes compuestos:



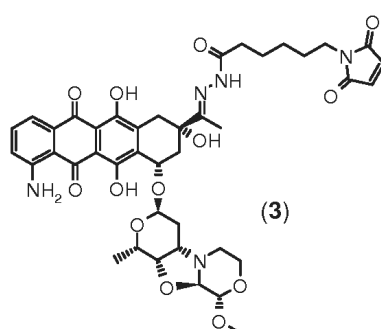
20

MS (ESI): 838 [M+H]<sup>+</sup>.

25 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CH<sub>3</sub>CN-*d*<sub>3</sub>, temp 60 °C)  $\delta$  ppm 1,25 – 1,40 (m, 2H), 1,32 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,49 – 1,66 (m, 4H), 1,60 – 1,71 (m, 1H), 1,85 – 1,93 (m, 1H), 2,22 – 2,33 (m, 1H), 2,40 – 2,56 (m, 3H), 2,70 – 2,82 (m, 2H), 3,05 – 3,15 (m, 2H), 3,40 (s, 3H), 3,40 – 3,45 (m, 3H), 3,53 – 3,60 (m, 1H), 3,75 – 3,83 (m, 1H), 4,02 (dd, *J* = 1,5, 6,8 Hz, 1H), 4,07 – 4,23 (m, 3H), 4,21 (br.s., 1H), 4,32 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 4,51 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 5,15 – 5,24 (m, 1H), 5,39 – 5,41 (m, 1H), 6,69 (s, 2H), 7,16 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,22 (br.s., 2H), 7,54 (dd, *J* = 6,7, 8,4 Hz, 1H), 7,64 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 8,45 (br.s., 1H), 13,45 (s, 1H), 13,82 (s, 1H).



MS (ESI): 834 [M+H]<sup>+</sup>.



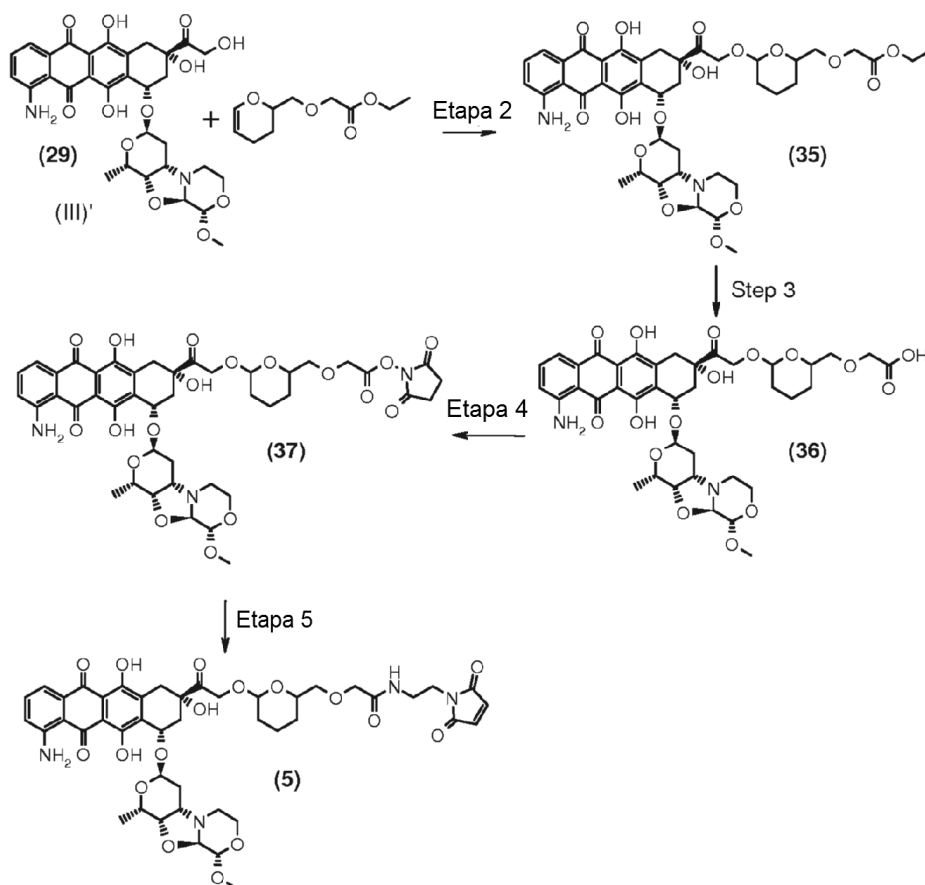
MS (ESI): 818 [M+H]<sup>+</sup>.

- 5 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, ACETONITRILLO-*d*<sub>3</sub>, temp 60 °C) δ ppm 1,25 – 1,35 (m, 2H), 1,31 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,49 – 1,66 (m, 4H), 1,70 – 1,77 (m, 1H), 1,85 – 1,93 (m, 1H), 1,98 (s, 3H), 2,22 – 2,33 (m, 1H), 2,35 – 2,56 (m, 3H), 2,70 – 2,82 (m, 2H), 3,05 – 3,20 (m, 2H), 3,40 (s, 3H), 3,40 – 3,48 (m, 3H), 3,53 – 3,60 (m, 1H), 3,74 – 3,80 (m, 1H), 4,03 (dd, *J* = 1,5, 6,8 Hz, 1H), 4,07 – 4,13 (m, 1H), 4,21 (br.s., 1H), 4,30 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 4,56 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 5,15 – 5,24 (m, 1H), 5,36 – 5,40 (m, 1H), 6,69 (s, 2H), 7,16 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 7,21 (br.s., 2H), 7,54 (dd, *J* = 6,7, 8,4 Hz, 1H), 7,64 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 8,41 (br.s., 1H), 13,46 (s, 1H), 13,81 (s, 1H).
- 10

### Ejemplo 2a

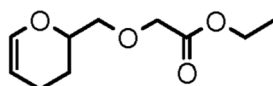
Síntesis de comp. (5)





## Etapa 1

Síntesis del intermedio: (3,4-dihidro-2H-piran-2-ilmetoxi)acetato de etilo



- 5 En un matraz de fondo redondo seco bajo atmósfera de argón se lavó tres veces hidruro sódico 60% (240 mg, 6,0 mmol) con n-pentano anhidro. Se enfrió a 0 °C una solución de 2-hidroximetil-3,4-dihidro-2H-piran (570,8 mg, 5 mmol) en tetrahidrofurano (10 mL) y se añadió entonces el NaH. Se agitó la mezcla de reacción a 0 °C hasta que finalizó la generación de hidrógeno. Se añadió una solución de bromoacetato de etilo (1253 mg, 7,5 mmol) en tetrahidrofurano (6 mL) a la mezcla de reacción y se continuó la agitación a temperatura ambiente hasta la desaparición del alcohol inicial (análisis de capa fina). Después de enfriar, se añadió H<sub>2</sub>O, y se evaporó el disolvente bajo presión reducida. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna flash (AcOEt/hexano = 1:12) en gel de sílice (230 – 400 mesh), proporcionando 626 mg (rendimiento 57%) de (3,4-dihidro-2H-piran-2-ilmetoxi)acetato de etilo como un aceite incoloro.
- 10 <sup>1</sup>H RMN (401 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,18 – 1,23 (m, 3H), 3,55 – 3,59 (m, 2H), 3,93 (m, *J* = 10,08, 5,11, 5,11, 2,38 Hz, 1H), 4,13 (q, *J* = 7,07 Hz, 2H), 4,14 (s, 2H), 4,67 (dddd, *J* = 6,14, 4,83, 2,56, 1,34 Hz, 1H), 6,36 (dt, *J* = 6,13, 1,75 Hz, 1H).
- 15

## Etapa 2

Síntesis del intermedio (35)

- A una solución del compuesto de fórmula (III)' (comp. 29, ver **Ejemplo 6**) (50 mg) en 4 mL de diclorometano seco bajo atmósfera de argón se añadieron (3,4-dihidro-2H-piran-2-ilmetoxi)acetato de etilo de la Etapa 1 (118,5 mg) y ácido p-toluenosulfónico anhidro (22,3 mg, 0,12 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 horas hasta que no se detectó producto de partida (análisis por capa fina, MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>). Se añadió bicarbonato de sodio acuoso 10% a la mezcla de reacción y se extrajo la fase acuosa con diclorometano (4 × 20 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con sulfato sódico anhidro, se filtró y evaporó bajo vacío. Se purificó el residuo
- 20

mediante cromatografía de columna flash (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) en gel de sílice (230 – 400 mesh), proporcionando el intermedio (**35**) como una mezcla de cuatro diastereoisómeros.

MS (ESI): 827 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Etapa 3

##### 5 Síntesis del intermedio ácido (**36**)

El éster etílico del intermedio (**35**) obtenido de la etapa 2 (40 mg) se enfrió a 0 °C, se trató con hidróxido sódico acuoso 0,1 N (1,5 mL) bajo argón. Se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 2 horas. El curso de la reacción se siguió mediante HPLC-MS en fase reversa. Después de esto, se llevó la mezcla de reacción a pH ≥ 8 con una solución acuosa al 10% de ácido acético y se extrajo con *n*-butanol saturado con agua (8 × 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con sulfato sódico anhidro, se filtró y se eliminó el disolvente bajo vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna flash (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) en gel de sílice (230 – 400 mesh), proporcionando el intermedio (**35**) como una mezcla diastereoisómerica.

10

MS (ESI): 799 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Etapa 4

##### 15 Síntesis del intermedio (**37**)

A una solución del intermedio (**36**) obtenido de la etapa 3 del procedimiento (2 mg) en diclorometano seco (1 mL) enfriado a 0 °C, se añadieron N-hidroxisuccinimida (1 mg) y N,N'-diciclohexilcarbodiimida (1 mg). Se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 2,5 h, hasta la desaparición del producto de partida (análisis HPLC-MS). Se evaporó el disolvente bajo vacío y se trató el residuo con éter etílico (2 × 4 mL). Se agitó la suspensión durante 10 minutos, se retiró el sólido mediante filtración y se concentró la solución orgánica bajo vacío, proporcionando 2 mg del intermedio (**37**) como una mezcla de diastereoisómeros.

20

MS (ESI): 896 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Etapa 5

El comp. (**5**) del título

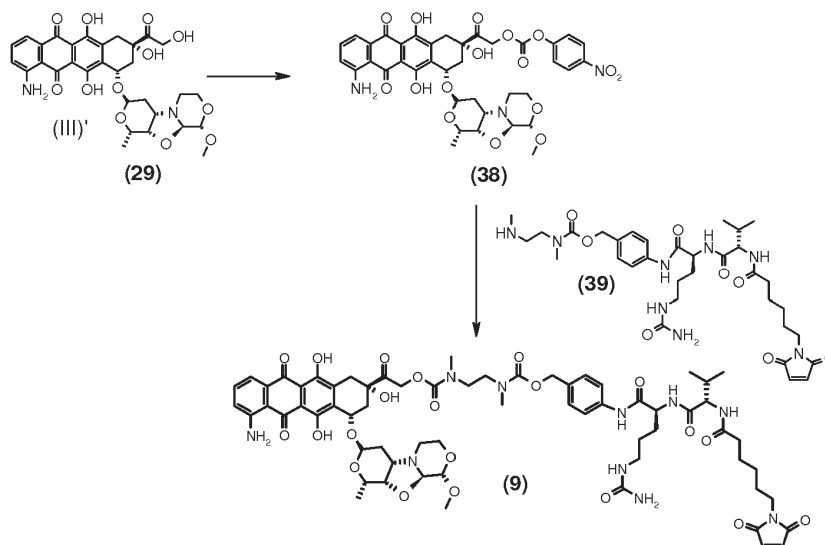
25 A una solución de (**37**) obtenido a partir de la etapa 4 del procedimiento (1 mg) en diclorometano seco (100 µL), se añadió sal de trifluoroacetato de N-(2-aminoetil)maleimida (2 eq). Se agitó la solución a temperatura ambiente durante 4 horas hasta que no se detectó producto de partida (análisis HPLC-MS), y se evaporó el disolvente bajo vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna flash (MeOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) en gel de sílice (230 – 400 mesh), proporcionando el compuesto (**5**) como una mezcla de diastereoisómeros.

30

MS (ESI): 921 [M+H]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 2b

#### Síntesis del comp. (**9**)

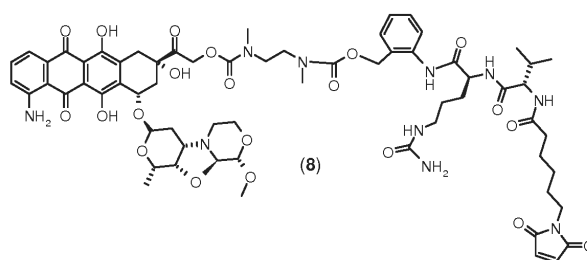


Una solución del compuesto (III)' (comp. **29**, ver **Ejemplo 6**) (10 mg), bis(4-nitrofenil) carbonato (22 mg) y trietilamina

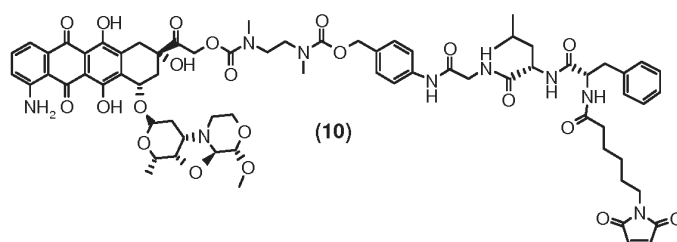
(0,021 mL) en 1 mL de DCM seco y 1 mL de THF seco se agitó bajo atmósfera de nitrógeno durante 6 horas. Se evaporaron los disolventes y se trató el residuo con éter dietílico. Se filtró el precipitado resultante (**38**), se lavó con éter dietílico y se secó bajo vacío. Este compuesto se disolvió en DCM seco (2 mL con un 10% de DMF seco) y se añadieron clorhidrato de *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*<sup>5</sup>-carbamoyl-*N*-{4-[(metil[2-(metilamino)etil]carbamoyl]oxi)metil]fenil}-*L*-ornitina (30 mg, 0,04 mmol) y trietilamina (0,016 mL, 0,11 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante una noche bajo atmósfera de nitrógeno, se evaporaron los disolventes y se obtuvo el compuesto del título (**9**) después de purificar mediante cromatografía de columna (DCM/MeOH).

MS (ESI): 1339 [M+H]<sup>+</sup>.

- 10 Mediante procedimientos análogos y utilizando los productos de partida adecuados se prepararon los siguientes compuestos:



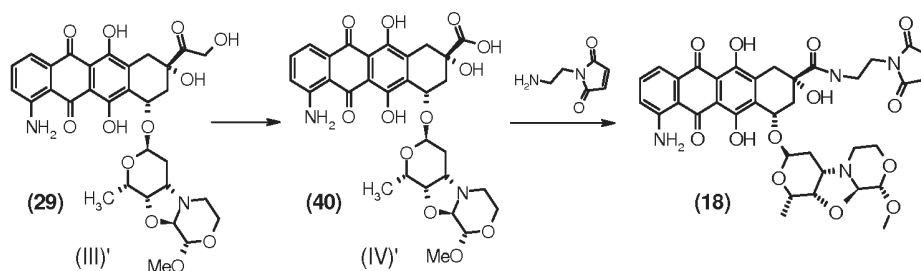
MS (ESI): 1339 [M+H]<sup>+</sup>.



- 15 MS (ESI): 1400 [M+H]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 3

#### Preparación del comp. (**18**)



#### Etapa 1

- 20 Preparación del intermedio (**40**)

A una solución del compuesto (III)' (comp. **29**, ver **Ejemplo 6**) en 3 mL de metanol y 2 mL de H<sub>2</sub>O, se añadió una solución de NaIO<sub>4</sub> (5,1 mg, 0,0238 mmol) en 1 mL de H<sub>2</sub>O. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas hasta que no se detectó producto de partida (análisis de CCF y HPLC). Se eliminaron los disolventes bajo presión reducida y el ácido crudo (**40**) se utilizó en el siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

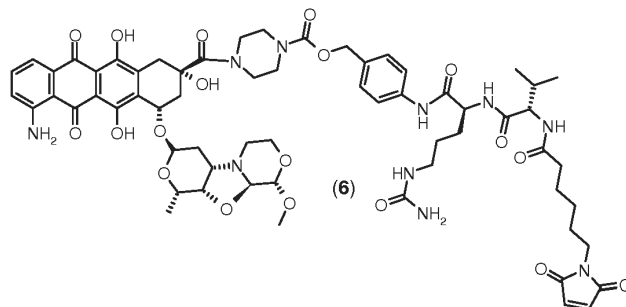
- 25 MS (ESI): 613 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Etapa 2

El comp. **(18)** del título

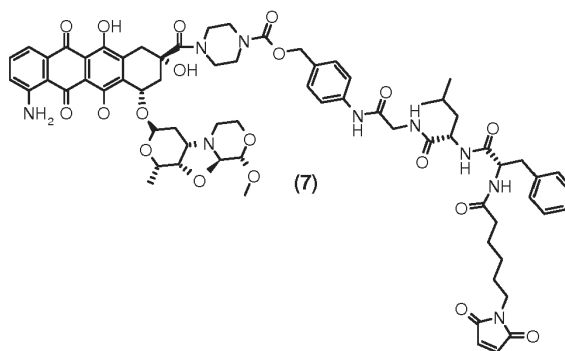
Se añadieron trietilamina anhidro (2,2 mg), TBTU (4,4 mg) y sal de trifluoroacetato de N-(2-aminoetil)maleimida (3,6 mg) a una solución del intermedio crudo **(40)** (4,4 mg) en diclorometano anhidro (1,5 mL) bajo atmósfera de argón. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 min hasta la desaparición del producto de partida (análisis HPLC-MS). Se evaporó el disolvente bajo vacío y el residuo se purificó entonces mediante cromatografía de columna flash (EtOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) en gel de sílice (230 – 400 mesh) proporcionando el compuesto del título **(18)**.  
MS (ESI): 735 [M+H]<sup>+</sup>.

Mediante procedimientos análogos y utilizando los productos de partida adecuados se prepararon los siguientes compuestos:

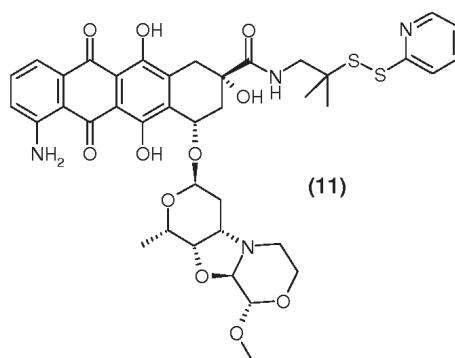


10

MS (ESI): 1279 [M+H]<sup>+</sup>.



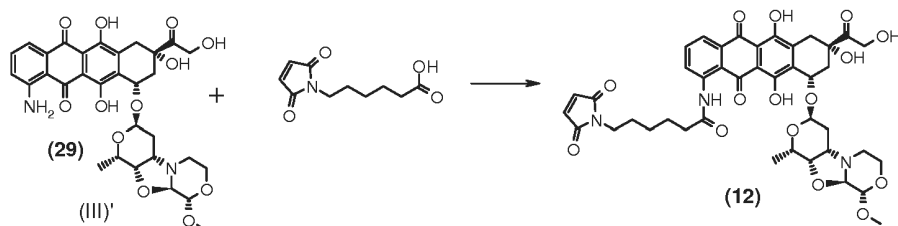
MS (ESI): 1340 [M+H]<sup>+</sup>.



15 MS (ESI): 809 [M+H]<sup>+</sup>.

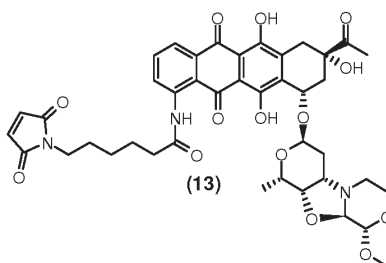
#### Ejemplo 4a

Síntesis del comp. **(12)**

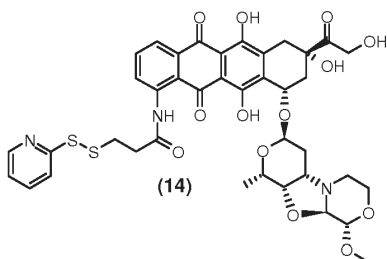


5 A una solución del intermedio crudo (III)' (comp. **29**, ver **Ejemplo 6**, 4,4 mg) en diclorometano anhidro (1,5 mL) bajo atmósfera de argón, se añadieron trietilamina anhidro (1,5 mg), TBTU (2,7 mg) y 1-[6-[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]-6-oxohexil]-1*H*-pirrol-2,5-diona (1,8 mg). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 min, hasta la desaparición del producto de partida (análisis HPLC-MS). Se evaporó el disolvente bajo vacío y se purificó el residuo entonces mediante cromatografía de columna flash (EtOH:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) en gel de sílice (230 – 400 mesh), proporcionando el compuesto del título (**12**).  
MS (ESI): 820 [M+H]<sup>+</sup>.

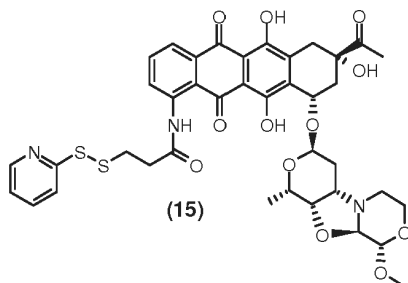
10 Mediante procedimientos análogos y utilizando productos de partida adecuados se prepararon los siguientes compuestos:



MS (ESI): 804 [M+H]<sup>+</sup>.

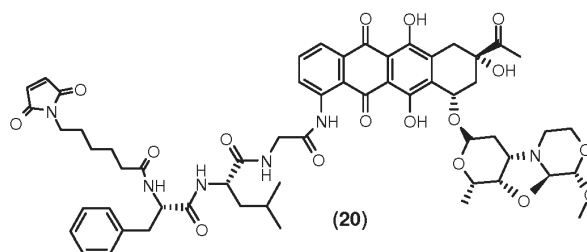


MS (ESI): 824 [M+H]<sup>+</sup>.



15

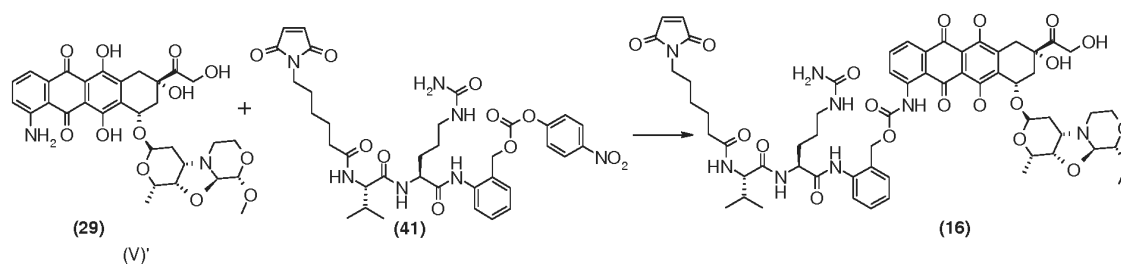
MS (ESI): 808 [M+H]<sup>+</sup>.



MS (ESI): 1121 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 4b

#### Síntesis del comp. (16)



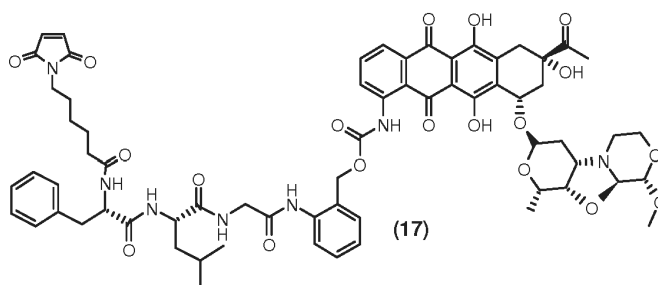
5

10

Una solución del compuesto (V)' (comp. **29**, ver **Ejemplo 6**, 10 mg) se disolvió en DCM seco (2 mL) con un 10% de DMF seco y se añadió *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*<sup>3</sup>-carbamoil-*N*-[2-(((4-nitrofenoxi)carbonil)oxi)metil)fenil]-*L*-ornitinamida (**41**) (preparada como se divulga en los documentos EP0624377A2 y EP2357006A2, 15 mg) y trietilamina (0,0033 mL). La mezcla de reacción se agitó durante una noche bajo atmósfera de nitrógeno, se evaporaron los disolventes y se obtuvo el compuesto del título (**16**) después de purificar mediante cromatografía columna (DCM/MeOH).

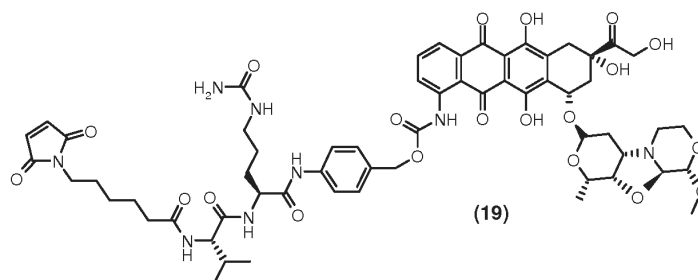
MS (ESI): 1225 [M+H]<sup>+</sup>.

Mediante procedimientos análogos y utilizando productos de partida adecuados se prepararon los siguientes compuestos:

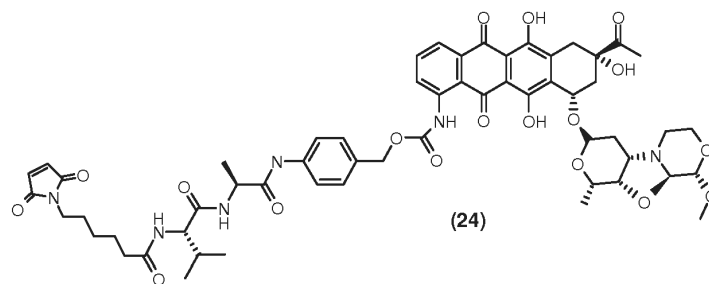


15

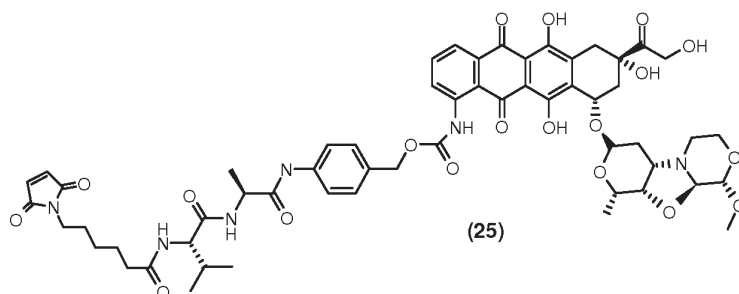
MS (ESI): 1270 [M+H]<sup>+</sup>.



MS (ESI): 1225 [M+H]<sup>+</sup>.



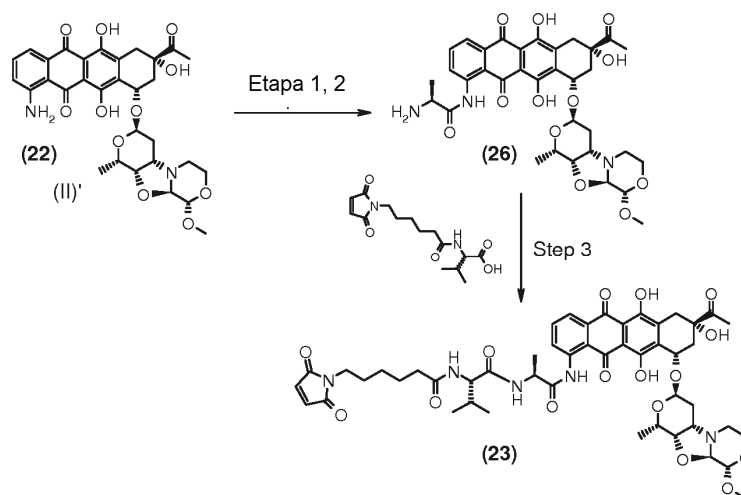
MS (ESI): 1123 [M+H]<sup>+</sup>.



MS (ESI): 1139 [M+H]<sup>+</sup>.

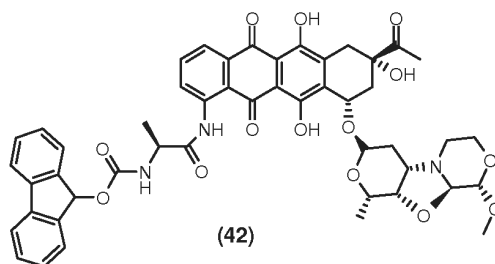
## 5 Ejemplo 4b

### Síntesis del comp. (23)



### Etapa 1

10 Síntesis del intermedio: 9*H*-fluoren-9-ilmetil [(2*S*)-1-[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-10-[[[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi]-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]amino]-1-oxopropan-2-il]carbamato (comp. 42)

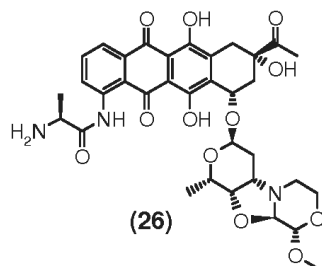


5 En un matraz seco de fondo redondo se trató con SOCl<sub>2</sub> (190 mg, 1,61 mmol) una solución de Fmoc-L-Alanina (50 mg, 1,6 mmol) en 9 mL de diclorometano seco y la mezcla de reacción se llevó a refluxo durante 2 horas bajo atmósfera de argón. Se eliminaron el disolvente y el exceso de SOCl<sub>2</sub> bajo vacío para rendir el intermedio crudo 9*H*-fluoren-9-ilmetil [(2*S*)-1-cloro-1-oxopropan-2-il]carbamato.

10 A una solución de un compuesto (II)' (comp. **22**, ver **Ejemplo 6**) (10 mg, 0,0164 mmol) en 5 mL de diclorometano seco bajo atmósfera de argón, se añadieron 9*H*-fluoren-9-ilmetil [(2*S*)-1-cloro-1-oxopropan-2-il]carbamato (30 mg, 0,091 mmol) y 5 mL de solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, hasta que no se detectó el producto de partida (análisis de CCF, AcOEt/tolueno). Se separó la fase orgánica, se lavó con agua y se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Se evaporó el disolvente bajo vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía flash (eluyente: AcOEt/tolueno = 4/6) en gel de sílice (230 – 400 mesh) proporcionando el compuesto (**42**) (7,2 mg, cera roja).  
MS (ESI): 904 [M+H]<sup>+</sup>.

Etapa 2

15 Síntesis del comp. (**26**)



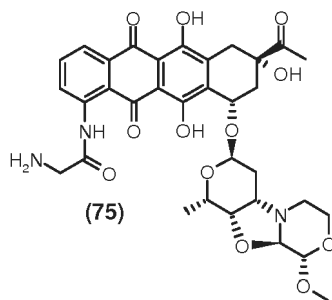
20 El intermedio 9*H*-fluoren-9-ilmetil [(2*S*)-1-[[[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-10-[[[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi]-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]amino]-1-oxopropan-2-il]carbamato (**42**) obtenido de la etapa 1 (7,2 mg, 0,008) se disolvió en diclorometano seco (1,5 mL) y se trató con piperidina (20,4 mg, 0,24 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 4 horas hasta la desaparición del producto de partida (análisis HPLC-MS). Se diluyó la mezcla de reacción con diclorometano y se lavó con agua. Se secaron las fases orgánicas con sulfato sódico anhidro y se evaporó el disolvente bajo vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna flash (eluyente: AcOEt/tolueno = 4/6; entonces EtOH/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 1/1) en gel de sílice (230 – 400 mesh), proporcionando el compuesto (**26**) (2,5 mg, cera roja).  
MS (ESI): 682 [M+H]<sup>+</sup>.

25 <sup>1</sup>H RMN (401 MHz, CH<sub>3</sub>CN-*d*<sub>3</sub>) δ ppm 1,29 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,38 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,64 – 1,74 (m, 1H), 1,86 – 1,91 (m, 1H), 2,02 – 2,07 (m, 1H), 2,35 (s, 3H), 2,38 – 2,48 (m, 1H), 2,68 – 2,81 (m, 2H), 2,93 – 3,14 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,44 – 3,48 (m, 1H), 3,54 – 3,60 (m, 1H), 3,64 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,71 – 3,79 (m, 1H), 4,01 – 4,06 (m, 1H), 4,07 – 4,13 (m, 1H), 4,27 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 4,55 (d, *J* = 2,7 Hz, 1H), 5,19 – 5,24 (m, 1H), 5,35 – 5,40 (m, 1H), 7,86 (dd, *J* = 7,8, 8,5 Hz, 1H), 8,10 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 9,23 (d, *J* = 8,5 Hz, 1H).

Mediante procedimientos análogos y utilizando productos de partida apropiados se prepararon los siguientes compuestos:

35 *N*-[[[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-10-[[[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi]-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]glicinamida (comp. **75**)





MS (ESI): 668 [M+H]<sup>+</sup>.

Etapa 3

El comp. del título (**23**)

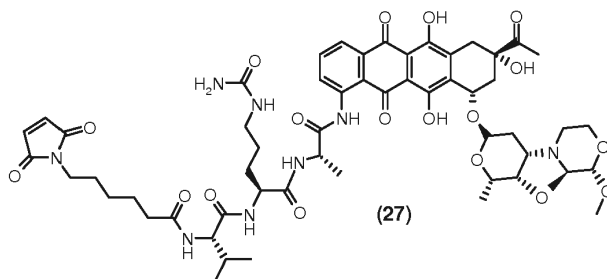
5 A una solución del comp. (**26**) (1,8 mg, 0,00264 mmol) obtenido de la etapa 3 en diclorometano seco (3 mL), se añadieron *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valina (4,9 mg, 0,016 mmol) y *O*-(Benzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio tetrafluoroborato (5,1 mg, 0,016 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas hasta la desaparición del producto de partida (análisis HPLC-MS). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 20 horas hasta la desaparición del producto de partida (análisis HPLC-MS).

10 Se diluyó la mezcla de reacción con diclorometano y se lavó con agua. Se secaron las fases orgánicas con sulfato sódico anhidro y se evaporó el disolvente bajo vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de columna flash (eluyente: AcOEt/tolueno = 4/6) en gel de sílice (230 – 400 mesh), proporcionando el compuesto (**23**) (1,9 mg, resina roja).

MS (ESI): 974 [M+H]<sup>+</sup>.

15 Mediante procedimientos análogos y utilizando productos de partida adecuados se prepararon los siguientes compuestos:

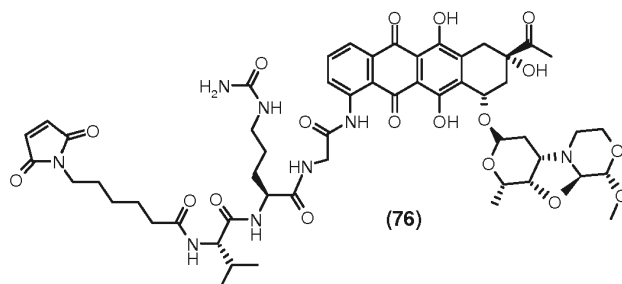
*N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*<sup>5</sup>-carbamoil-*L*-ornitil-*N*-[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-10-[[[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi]-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-*L*-alaninamida (comp. **27**)



20

MS (ESI): 1131 [M+H]<sup>+</sup>.

*N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*<sup>5</sup>-carbamoil-*L*-ornitil-*N*-[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-10-[[[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi]-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-*L*-glicinamida (comp. **76**)

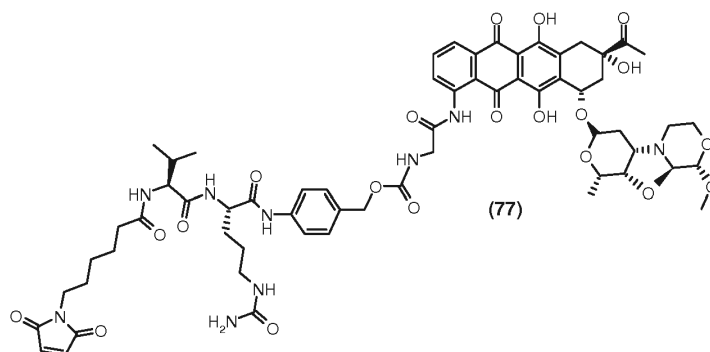


25

MS (ESI): 1117 [M+H]<sup>+</sup>.

*N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*-[4-({[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-10-  
5,7,8,9,10,12-hexahidrotetraceno-1-il]amino}-2-oxoetil)carbamoil]oxi]metil]fenil]-*N*<sup>5</sup>-carbamoil-*L*-ornitinamida (comp. **77**)

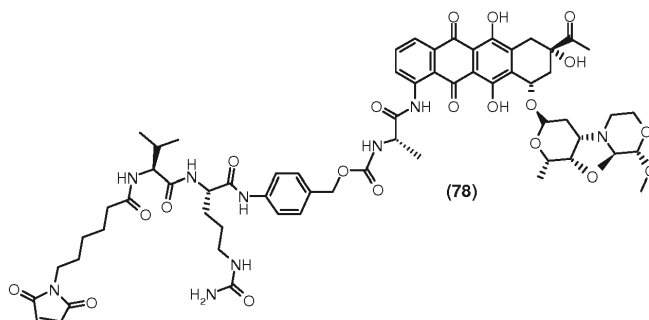
5



MS (ESI): 1266 [M+H]<sup>+</sup>.

*N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*-[4-({[(2*S*)-1-({[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-10-  
10,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetraceno-1-il]amino}-1-oxopropan-2-il]carbamoil]oxi]metil]fenil]-*N*<sup>5</sup>-carbamoil-*L*-  
ornitinamida (comp. **78**)

10

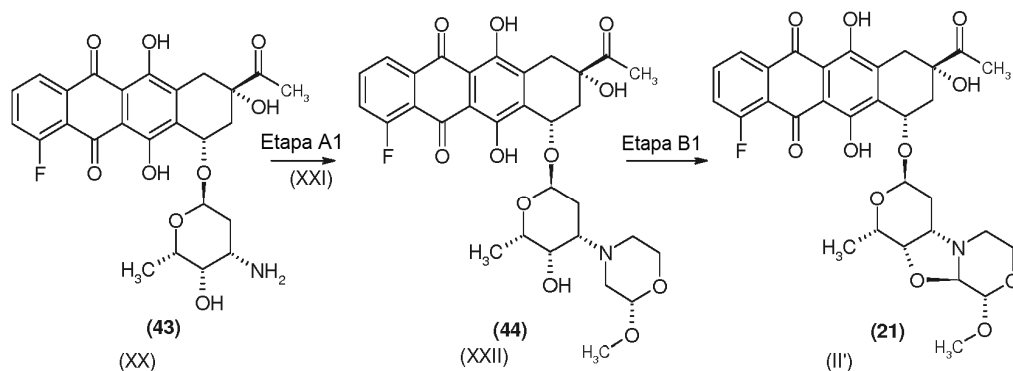


MS (ESI): 1280 [M+H]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 15

15 Etapa A1, Etapa B1 (de acuerdo con A6a y A6b)

(8*S*,10*S*)-8-acetil-1-fluoro-6,8,11-trihidroxi-10-{{[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi}-7,8,9,10-tetrahidrotetraceno-5,12-diona (comp. **21**)



## Etapa A1

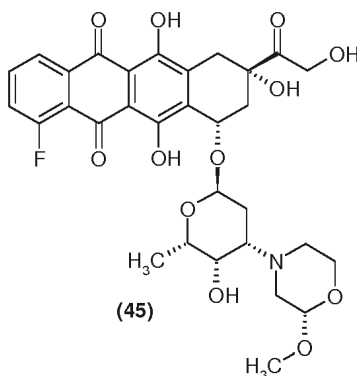
(1S,3S)-3-acetil-10-fluoro-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracén-1-il-2,3,6-tridesoxi-3-[(2S)-2-metoximorfolin-4-il]- $\beta$ -L-*lixo*-hexopiranosido [(XXII)] (comp. **44**)

5 Se disolvió (1S,3S)-3-acetil-10-fluoro-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracén-1-il-3-amino-2,3,6-tridesoxi- $\beta$ -L-*lixo*-hexopiranosido (70,0 mg, 0,136 mmol) [preparado tal y como se divulga en WO90/09392] en DMF seco (3 mL); se añadieron una solución de diisopropiltilamina (106 mg, 0,82 mmol) en DMF seco (2 mL) y una solución de (1S)-2-yodo-1-(2-yodoetoxi)-1-metoxietano (XXI) (965 mg, 2,71 mmol) en DMF seco (10 mL). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente en la oscuridad durante 48 horas hasta que no se detectó producto de partida (análisis HPLC). La mezcla de reacción se diluyó entonces con DCM y se lavó con agua. La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se evaporó el disolvente bajo vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía flash (eluyente: EtOH/DCM; 0,2/9,8) en gel de sílice (230 – 400 mesh) proporcionando el producto deseado (**44**) (35 mg, cera roja).

10 MS (ESI): 616 [M+H]<sup>+</sup>.  
<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*)  $\delta$  ppm 1,39 (d, *J* = 6,71 Hz, 3H), 1,78 – 1,85 (m, 2H), 2,09 – 2,14 (m, 1H), 2,46 – 2,56 (m, 3H), 2,61 (dd, *J* = 11,41, 3,97 Hz, 1H), 3,03 (d, *J* = 19,04 Hz, 1H), 3,27 (dd, *J* = 19,10, 1,77 Hz, 1H), 3,40 (s, 3H), 3,57 (ddd, *J* = 11,57, 5,34, 3,11 Hz, 1H), 3,70 (s, 1H), 3,92 – 3,99 (m, 1H), 4,04 (q, *J* = 6,47 Hz, 1H), 4,48 – 4,52 (m, 1H), 4,67 (s, 1H), 5,28 – 5,30 (m, 1H), 5,56 (br.s., 1H), 7,54 (dd, *J* = 10,44, 8,48 Hz, 1H), 7,83 (td, *J* = 7,97, 4,58 Hz, 1H), 8,25 (d, *J* = 7,69 Hz, 1H), 13,31 (s, 1H), 13,72 (s, 1H).

Mediante un procedimiento análogo se preparó el siguiente compuesto:

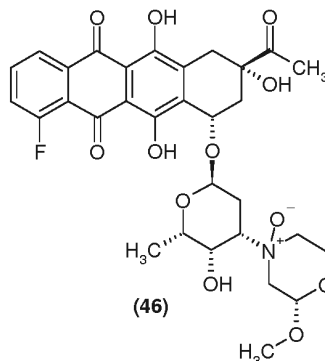
20 (1S,3S)-10-fluoro-3,5,12-trihidroxi-3-(hidroxiacetil)-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracén-1-il 2,3,6-tridesoxi-3-[(2S)-2-metoximorfolin-4-il]- $\beta$ -L-*lixo*-hexapiranosido [(XXII)] (comp. **45**)



MS (ESI): 632 [M+H]<sup>+</sup>.

## Etapa B1 (A6a)

25 (1S,3S)-3-acetil-10-fluoro-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracén-1-il (3 $\xi$ )-2,3,6-tridesoxi-3-[(2S)-2-metoxi-4-oxidomorfolin-4-il]- $\beta$ -L-*treo*-hexapiranosido [(XXII)] (comp. **46**)



30 (1S,3S)-3-acetil-10-fluoro-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracén-1-il 2,3,6-tridesoxi-3-[(2S)-2-metoximorfolin-4-il]- $\beta$ -L-*lixo*-hexapiranosido (28 mg, 0,045 mmol) [preparado tal y como se explica en el etapa A1] se disolvió en DCM (3,0 mL). Se trató la solución con solución 0,1 M de DMDO en acetona (0,8 mL) a temperatura ambiente durante 30 minutos hasta que no se detectó producto de partida (análisis HPLC). Se concentró entonces la mezcla de reacción a sequedad bajo vacío, proporcionando el intermedio deseado (**46**) (cera roja, 24,1 mg).

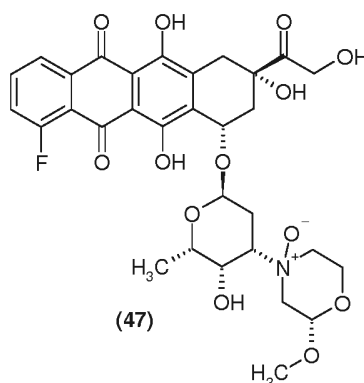
MS (ESI): 632 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CHCl<sub>3</sub>-d) δ ppm 1,23 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,96 – 2,00 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 2,35 (m, 3H), 2,33 – 2,38 (m, 1H), 2,56 – 2,64 (m, 2H), 2,94 – 3,00 (m, 1H), 3,07 – 3,12 (m, 1H), 3,13 – 3,16 (m, 1H), 3,23 – 3,29 (m, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,38 – 3,46 (m, 2H), 3,86 – 3,95 (m, 1H), 3,99 (q, *J* = 6,7 Hz, 1H), 4,14 (s, 1H) 4,22 – 4,29 (m, 1H) 4,32 (br.s., 1H) 4,91 (dd, *J* = 8,1, 2,3 Hz, 1H) 5,20 (dd, *J* = 4,6, 1,9 Hz, 1H) 5,60 (d, *J* = 3,9 Hz, 1H) 7,62 (dd, *J*<sub>HH</sub>=8,3, *J*<sub>HF</sub>=10,8 Hz, 1 H) 7,91 (m, 1H) 8,20 (d, *J*<sub>HH</sub>=7,7 Hz, 1H) 13,26 (br. S., 1H) 13,69 (br. S., 1H)

5

Mediante un procedimiento análogo se prepara el compuesto siguiente:

(1*S*,3*S*)-10-fluoro-3,5,12-trihidroxi-3-(hidroxiacetil)-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il (3ξ)-2,3,6-tridesoxi-3-[(2*S*)-2-metoxi-4-oxidomorfolin-4-il]-β-L-*treo*-hexapiranosido [(XXII)] (comp. **47**)

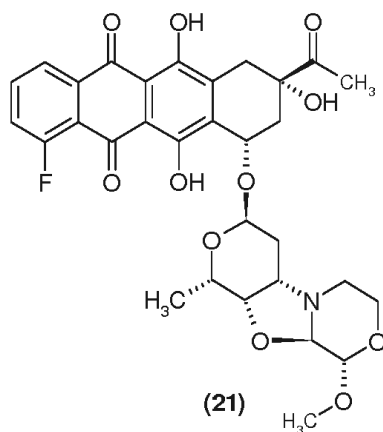


10

MS (ESI): 648 [M+H]<sup>+</sup>.

Etapa B1 (A6b)

El comp. (**21**) del título



15 A una solución del compuesto (1*S*,3*S*)-3-acetil-10-fluoro-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il (3ξ)-2,3,6-tridesoxi-3-[(2*S*)-2-metoxi-4-oxidomorfolin-4-il]-β-L-*treo*-hexapiranosido [(XXII)] (20 mg, 0,032 mmol) en 5,0 mL de CH<sub>3</sub>CN seco, se añadieron K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (13,2 mg, 0,096 mmol) y cloruro cianúrico (11,8 mg, 0,064 mmol). Se agitó la mezcla de reacción vigorosamente en la oscuridad a temperatura ambiente durante 20 minutos hasta que no se detectó producto de partida. Se añadió entonces a la mezcla de reacción una solución de 3-amino-1,2-propanodiol

20 (17,5 mg, 0,192 mmol) en agua (0,84 mL) y se extrajo la fase acuosa con DCM (4 × 10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se evaporaron bajo vacío. Se purificó el crudo mediante cromatografía de columna flash (AcOEt/tolueno; 4/6) en gel de sílice (230 – 400 mesh), proporcionando 7,0 mg del compuesto del título (**21**) como un sólido rojo.

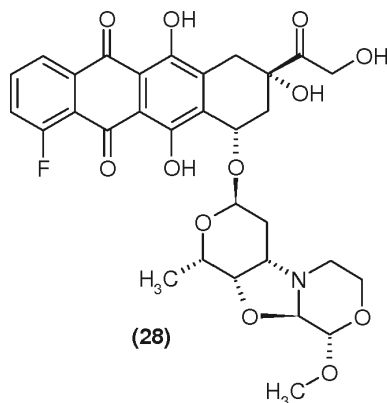
MS (ESI): 614 [M+H]<sup>+</sup>.

25 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CH<sub>3</sub>CN-*d*<sub>3</sub>) δ ppm 1,29 (d, *J* = 6,6 H, 3H), 1,68 – 1,73 (m, 1H), 1,86 – 1,91 (m, 1H), 2,05 (dd, *J* = 14,8, 4,3 Hz, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,42 – 2,47 (m, 1H), 2,67 – 2,81 (m, 2H), 2,93 – 2,98 (m, 1H), 3,05 – 3,11 (m, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,42 – 3,47 (m, 1H), 3,52 – 3,58 (m, 1H), 3,71 – 3,76 (m, 1H), 4,03 (dd, *J* = 7,1, 1,8 Hz, 1H), 4,06 – 4,12 (m,

1H), 4,26 (d,  $J = 2,8$  Hz, 1H), 4,53 (d,  $J = 2,8$  Hz, 1H), 4,54 (s, 1H), 5,20 (dd,  $J = 4,3, 2,1$  Hz, 1H), 5,35 (t,  $J = 5,5$  Hz, 1H), 7,60 (dd,  $J_{HH} = 8,3, J_{HF} = 11,6$  Hz, 1H), 7,89 (m, 1H), 8,19 (dd,  $J_{HH} = 7,7, J_{HF} = 0,8$  Hz, 1H), 13,25 (br.s., 1H), 13,61 (br.s., 1H)

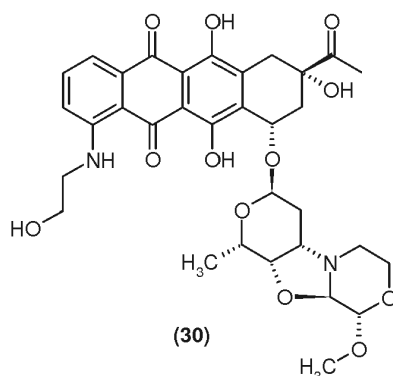
Análogamente pero utilizando el producto de partida adecuado se prepararon los siguientes compuestos:

- 5 (8*S*,10*S*)-1-fluoro-6,8,11-trihidroxi-8-(hidroxiacetil)-10-[[[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi]-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona (comp. **28**)



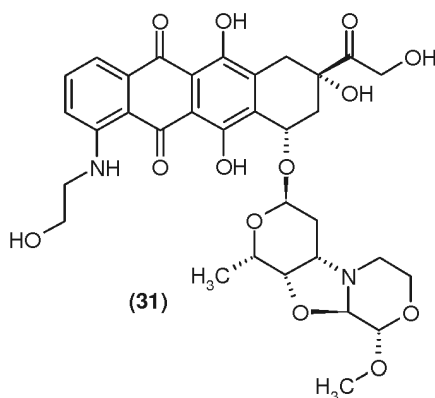
MS (ESI): 630 [M+H]<sup>+</sup>.

- 10 (8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-1-[(2-hidroxi-etil)amino]-10-[[[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi]-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona (comp. **30**)



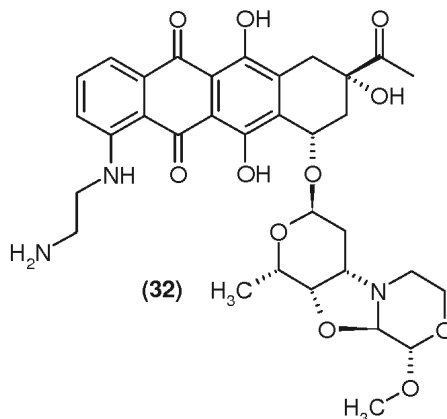
MS (ESI): 655 [M+H]<sup>+</sup>.

- 15 (8*S*,10*S*)-6,8,11-trihidroxi-8-(hidroxiacetil)-1-[(2-hidroxi-etil)amino]-10-[[[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi]-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona (comp. **31**)



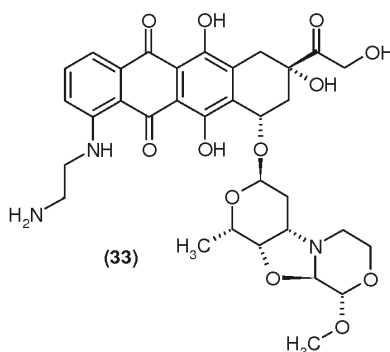
MS (ESI): 671 [M+H]<sup>+</sup>.

(8S,10S)-8-acetil-1-[(2-aminoetil)amino]-6,8,11-trihidroxi-10-[[[(1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1H-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-c][1,4]oxazin-3-il]oxi]-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona (comp. **32**)



5 MS (ESI): 654 [M+H]<sup>+</sup>.

(8S,10S)-1-[(2-aminoetil)amino]-6,8,11-trihidroxi-8-(hidroxiacetil)-10-[[[(1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1H-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-c][1,4]oxazin-3-il]oxi]-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona (comp. **33**)

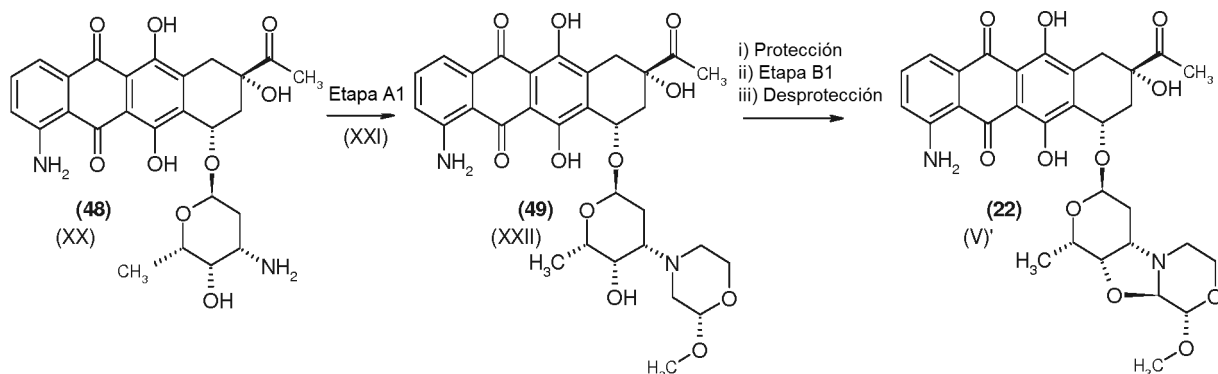


10 MS (ESI): 670 [M+H]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 6

Etapa A1, Etapa B1 (de acuerdo con A6a y A6b)

(8S,10S)-8-acetil-1-amino-6,8,11-trihidroxi-10-[[[(1S,3R,4aS,9S,9aR,10aS)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1H-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-c][1,4]oxazin-3-il]oxi]-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona [(II)'] (comp. **22**)



Etapa A1

(1S,3S)-3-acetil-10-amino-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il 2,3,6-tridesoxi-3-[(2S)-2-metoximorfolin-4-il]- $\beta$ -L-*lixo*-hexapiranósido [(XXII)] (comp. **49**)

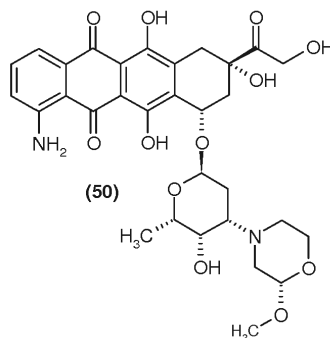
5 Se disolvió (1S,3S)-3-acetil-10-amino-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il 3-amino-2,3,6-tridesoxi- $\beta$ -L-*lixo*-hexapiranósido (165,0 mg, 0,322 mmol) (comp. **48**, preparado como se describe en el **Ejemplo 7**) en DMF seco (3,0 mL); se añadieron una solución de diisopropiletamina (221 mg, 1,71 mmol) en DMF seco (3 mL) y una solución de (1S)-2-yodo-1-(2-yodoetoxi)-1-metoxietano (XXI) (2,0 g, 5,64 mmol) en DMF seco (10 mL). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente en la oscuridad durante 48 horas hasta que no se detectó producto de partida (análisis HPLC). Se diluyó entonces la mezcla de reacción con DCM y se lavó con agua. Se secó la fase orgánica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se evaporó el disolvente bajo vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía flash (eluyente: EtOH/DCM; 0,2/9,8) en gel de sílice (230 – 400 mesh) proporcionando el producto deseado (**49**) (105 mg, sólido rojo).

MS (ESI): 613 [M+H]<sup>+</sup>.

15 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CH<sub>3</sub>CN-*d*<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 1,22 – 1,28 (m, 3H), 1,65 – 1,83 (m, 2H), 2,30 – 2,36 (m, 4H), 2,40 (dd, *J* = 11,22, 4,94 Hz, 3H), 2,46 – 2,54 (m, 2H), 2,87 – 2,96 (m, 1H), 3,04 – 3,11 (m, 1H), 3,32 (s, 3H), 3,50 (ddd, *J* = 11,34, 6,51, 2,83 Hz, 1H), 3,65 (br.s., 1H), 3,77 – 3,89 (m, 1H), 4,04 (d, *J* = 6,51 Hz, 1H), 4,44 (dd, *J* = 4,63, 2,41 Hz, 1H), 5,16 (d, *J* = 1,99 Hz, 1H), 5,43 – 5,47 (m, 1H), 7,12 – 7,16 (m, 1H), 7,24 (br.s., 1H), 7,50 – 7,55 (m, 1H), 7,58 – 7,61 (m, 1H).

Mediante un procedimiento análogo se prepararon los siguientes compuestos:

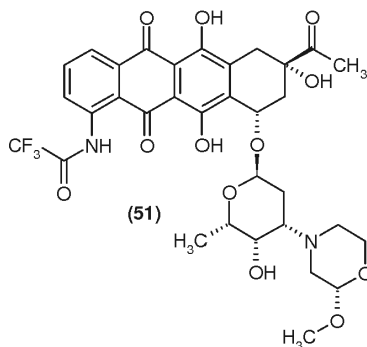
20 (1S,3S)-10-amino-3,5,12-trihidroxi-3-(hidroxiacetil)-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il 2,3,6-tridesoxi-3-[(2S)-2-metoximorfolin-4-il]- $\beta$ -L-*lixo*-hexapiranósido (comp. **50**)



MS (ESI): 629 [M+H]<sup>+</sup>.

Protección

25 *N*-[(8S,10S)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-5,12-dioxo-10-((2,3,6-tridesoxi-3-[(2S)-2-metoximorfolin-4-il]- $\beta$ -L-*lixo*-hexopiranosil)oxi)-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (comp. **51**)



30 Se disolvió (1S,3S)-3-acetil-10-amino-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il 2,3,6-tridesoxi-3-[(2S)-2-metoximorfolin-4-il]- $\beta$ -L-*lixo*-hexapiranósido (**49**) (80,0 mg, 0,130 mmol) en DCM seco (11 mL) y se añadió ácido trifluoroacético anhidro (27,30 mg, 1,3 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos hasta que no se detectó producto de partida (análisis HPLC). La mezcla de reacción se diluyó entonces con DCM y se lavó con solución acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (3 × 10 mL), y a continuación con agua (1 × 10

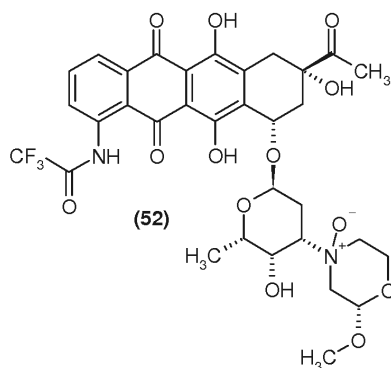
mL). Se secó la fase orgánica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se evaporó el disolvente bajo vacío y se obtuvo el residuo que se trató con MeOH (10 mL) a temperatura ambiente durante 15 minutos y se evaporó entonces bajo vacío proporcionando el producto deseado (**51**) (77,0 mg, cera roja).

MS (ESI): 709 [M+H]<sup>+</sup>.

- 5 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CH<sub>3</sub>CN-*d*<sub>3</sub>) δ ppm 1,25 (d, *J* = 6,59 Hz, 3H), 1,76 (dd, *J* = 8,68, 2,61 Hz, 2H), 2,27 – 2,45 (m, 8H), 2,52 (t, *J* = 10,99 Hz, 2H), 2,96 – 3,03 (m, 1H), 3,08 – 3,15 (m, 1H), 3,30 – 3,33 (m, 3H), 3,50 (ddd, *J* = 11,27, 6,57, 2,61 Hz, 1H), 3,66 (br.s., 1H), 3,79 – 3,87 (m, 1H), 4,05 (q, *J* = 6,62 Hz, 1H), 4,44 (dd, *J* = 4,70, 2,35 Hz, 1H), 5,17 (d, *J* = 2,27 Hz, 1H), 5,45 (s, 1H), 7,97 (t, *J* = 8,15 Hz, 1H), 8,24 (d, *J* = 7,50 Hz, 1H), 8,99 (d, *J* = 8,18 Hz, 1H).

#### Etapa B1 (A6a)

- 10 *N*-[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-5,12-dioxo-10-((3*ε*)-2,3,6-tridesoxi-3-[(2*S*)-2-metoxi-4-oxidomorfolin-4-il]- $\square$ -*L*-treo-hexopiranosil)oxi)-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida [(XXII)] (comp. **52**)



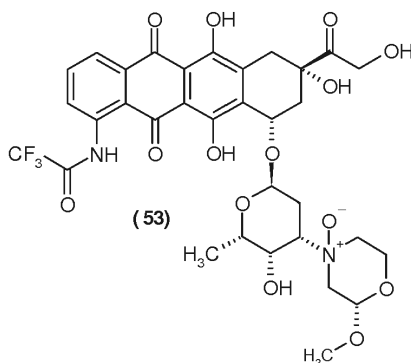
- 15 *N*-[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-5,12-dioxo-10-((2,3,6-tridesoxi-3-[(2*S*)-2-metoximorfolin-4-il]- $\square$ -*L*-lixo-hexopiranosil)oxi)-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (**51**) (72,0 mg, 0,102 mmol) se disolvió en DCM (6,4 mL). Se trató la solución con DMDO en acetona 0,1 M (1,7 mL) a temperatura ambiente durante 30 minutos hasta que no se detectó producto de partida (análisis HPLC). La mezcla de reacción se concentró entonces hasta sequedad bajo vacío, proporcionando el intermedio deseado (**52**) (cera roja, 73,0 mg).

MS (ESI): 725 [M+H]<sup>+</sup>.

- 20 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CH<sub>3</sub>CN-*d*<sub>3</sub>) δ ppm 1,23 (d, *J* = 6,51 Hz, 3H), 2,32 – 2,39 (m, 4H), 2,57 (d, *J* = 4,54 Hz, 1H), 2,74 (d, *J* = 11,65 Hz, 1H), 2,96 – 3,02 (m, 1H), 3,08 – 3,15 (m, 1H), 3,25 – 3,45 (m, 7H), 3,57 (br.s., 1H), 3,92 (d, *J* = 12,79 Hz, 1H), 4,04 (d, *J* = 6,88 Hz, 1H), 4,18 (s, 1H), 4,21 – 4,28 (m, 1H), 4,92 (dd, *J* = 8,21, 2,08 Hz, 1H), 5,19 (d, *J* = 2,19 Hz, 1H), 5,61 (d, *J* = 3,71 Hz, 1H), 7,97 (t, *J* = 8,10 Hz, 1H), 8,23 (d, *J* = 7,64 Hz, 1H), 8,98 (d, *J* = 8,32 Hz, 1H).

Mediante un procedimiento análogo se puede preparar el siguiente compuesto:

- 25 *N*-[(8*S*,10*S*)-6,8,11-trihidroxi-8-hidroxiacetil-5,12-dioxo-10-((3*ε*)-2,3,6-tridesoxi-3-[(2*S*)-2-metoxi-4-oxidomorfolin-4-il]- $\square$ -*L*-treo-hexopiranosil)oxi)-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (comp. **53**)

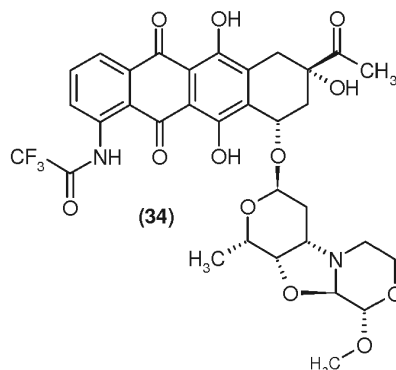


MS (ESI): 725 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Etapa B1 (A6b)

- 30 *N*-[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-10-[[[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi)-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (comp. **34**)





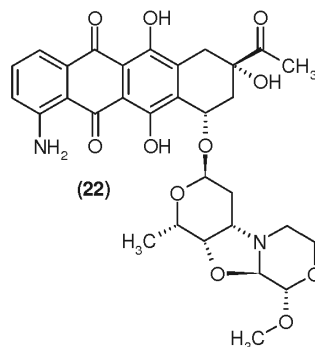
A una solución del compuesto *N*-[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-5,12-dioxo-10-((3*ξ*)-2,3,6-tridesoxi-3-[(2*S*)-2-metoxi-4-oxidomorfolin-4-il]- $\alpha$ -*L*-*treo*-hexopiranosil)oxi)-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (**52**) (60,0 mg, 0,083 mmol) en 13 mL de CH<sub>3</sub>CN seco, se añadieron K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (34,4 mg, 0,249 mmol) y cloruro cianúrico (30,6 mg, 0,166 mmol). Se agitó vigorosamente la mezcla de reacción en la oscuridad a temperatura ambiente durante 15 minutos hasta que no se detectó producto de partida. Se añadió entonces una solución de 3-amino-1,2-propanodiol (45,3 mg, 0,5 mmol) en agua (0,22 mL) y se extrajo la fase acuosa con DCM (4 × 10 mL). Se secaron las fases orgánicas combinadas con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y evaporaron bajo vacío. Se purificó el crudo mediante cromatografía de columna flash (AcOEt/tolueno; 4/6) en gel de sílice (230 – 400 mesh), proporcionando 12,0 mg del compuesto (**34**) como un sólido rojo.

MS (ESI): 707 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CH<sub>3</sub>CN-*d*<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 1,29 (d, *J* = 6,58 Hz, 4H), 1,70 (d, *J* = 15,21 Hz, 1H), 1,90 (d, *J* = 15,59 Hz, 2H), 2,04 – 2,08 (m, 2H), 2,45 (d, *J* = 14,98 Hz, 1H), 2,69 – 2,76 (m, 1H), 2,77 – 2,83 (m, 1H), 2,97 (s, 1H), 3,08 – 3,14 (m, 2H), 3,38 (s, 4H), 3,45 (d, *J* = 6,88 Hz, 2H), 3,56 (d, *J* = 5,22 Hz, 2H), 3,74 (s, 1H), 4,04 (d, *J* = 1,89 Hz, 2H), 4,09 (d, *J* = 6,88 Hz, 1H), 4,26 (d, *J* = 2,72 Hz, 1H), 4,52 – 4,54 (m, 2H), 5,22 (br.s., 1H), 5,36 (t, *J* = 5,60 Hz, 1H), 7,98 (t, *J* = 8,06 Hz, 1H), 8,26 (d, *J* = 7,87 Hz, 1H), 9,00 (d, *J* = 8,10 Hz, 1H).

#### Desprotección

El compuesto del título (**22**)



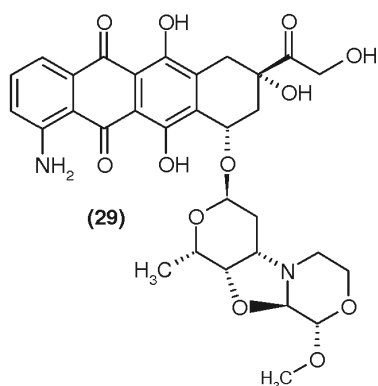
El intermedio (**34**) *N*-[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-10-((1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il)oxi)-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (4,8 mg, 0,00679 mmol) se enfrió a 0 °C y se añadió solución acuosa de NaOH 0,1 N (0,5 mL). Se agitó la mezcla de reacción en la oscuridad a 0 °C durante 15 minutos hasta que no se detectó producto de partida. Se diluyó la mezcla de reacción con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM (4 × 5 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaCl (1 × 10 mL), se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y evaporaron bajo vacío, proporcionando 4,0 mg del compuesto del título como un sólido rojo.

MS (ESI): 611 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CH<sub>3</sub>CN-*d*<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 1,70 (dt, *J* = 15,06, 5,82 Hz, 2H), 1,87 (dt, *J* = 15,17, 5,54 Hz, 1H), 2,34 (s, 3H), 2,43 (d, *J* = 14,41 Hz, 1H), 2,68 – 2,81 (m, 2H), 2,91 – 2,96 (m, 1H), 3,07 (d, *J* = 18,66 Hz, 1H), 3,37 (s, 3H), 3,44 (q, *J* = 5,87 Hz, 1H), 3,51 – 3,61 (m, 2H), 3,74 (ddd, *J* = 11,63, 8,25, 2,96 Hz, 1H), 4,01 – 4,04 (m, 1H), 4,06 – 4,13 (m, 1H), 4,26 (d, *J* = 2,66 Hz, 1H), 4,54 (d, *J* = 2,58 Hz, 1H), 5,21 (br.s., 1H), 5,37 (t, *J* = 5,61 Hz, 1H), 7,16 (d, *J* = 8,57 Hz, 1H), 7,54 (t, *J* = 7,89 Hz, 1H), 7,62 (d, *J* = 7,06 Hz, 1H).

Análogamente, pero utilizando el producto de partida adecuado, se preparó el siguiente compuesto:

*N*-[(8*S*,10*S*)-1-amino-6,8,11-trihidroxi-10-[[[(1*S*,3*R*,4*aS*,9*S*,9*aR*,10*aS*)-9-metoxi-1-metiloctahidro-1*H*-pirano[4',3':4,5][1,3]oxazolo[2,3-*c*][1,4]oxazin-3-il]oxi]-7,8,9,10-tetrahidrotetraceno-5,12-diona (comp. **29**)

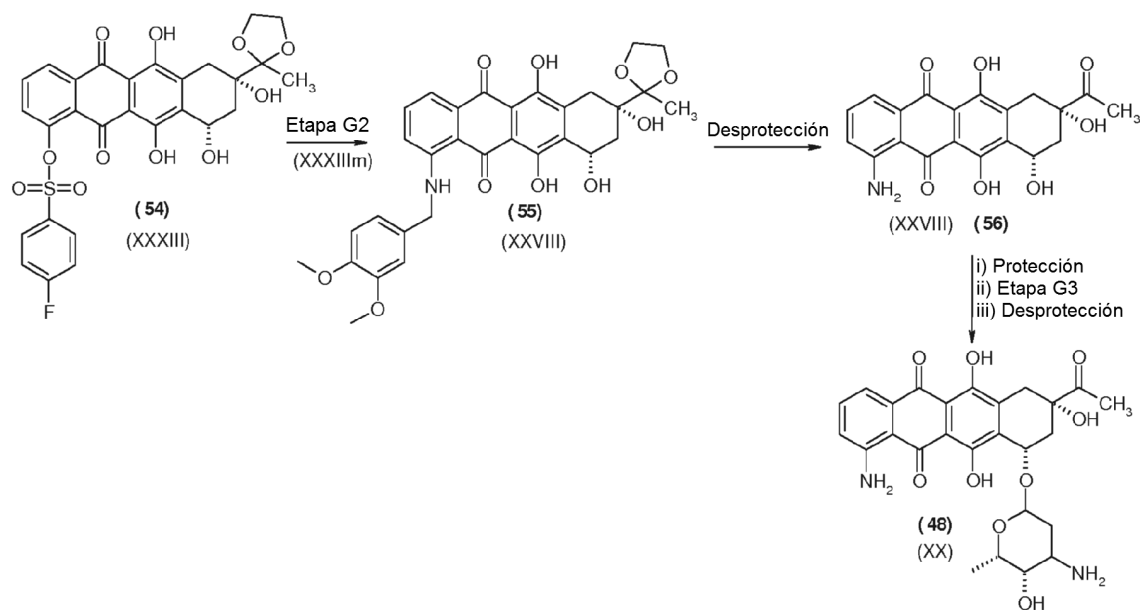


MS (ESI): 627 [M+H]<sup>+</sup>.

## 5 Ejemplo 7

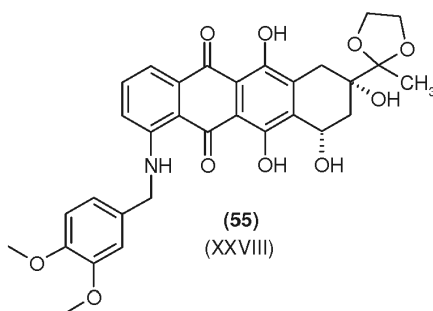
Etapa G2. Desprotección. Protección. Etapa G3. Desprotección

(1*S*,3*S*)-3-acetil-10-amino-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetraceno-1-il 3-amino-2,3,6-tridesoxi-L-lixo-hexopiranosido (XX) (comp. **48**)



## 10 Etapa G2

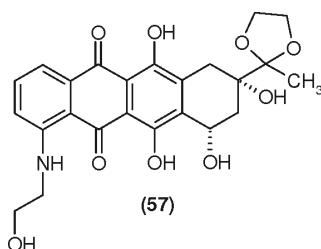
Síntesis del intermedio (8*S*,10*S*)-1-[(3,4-dimetoxibencil)amino]-6,8,10,11-tetrahidroxi-8-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-7,8,9,10-tetrahidrotetraceno-5,12-diona (XXVIII) (comp. **55**)



5 A una solución de (8S,10S)-6,8,10,11-tetrahidroxi-8-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il-4-fluorobencensulfonato (**54**) (400 mg, 0,682 mmol) [preparado tal y como se refiere en el documento GB2215332] en THF (10 mL), se añadió 3,4-dimetoxibencilamina (0,532 mg, 3,1 mmol). Se calentó la solución de 60 °C y se agitó durante 24 horas en la oscuridad. Se eliminó entonces parcialmente el disolvente bajo vacío, se recogió el precipitado violeta mediante filtración, se lavó con THF (3 mL) y entonces con Et<sub>2</sub>O (10 mL). El sólido se secó finalmente en estufa bajo vacío a 30 °C para rendir el intermedio del título (**55**) (188 mg, rendimiento 48%).

Análogamente, pero utilizando las aminas adecuadas, se prepararon los siguientes compuestos:

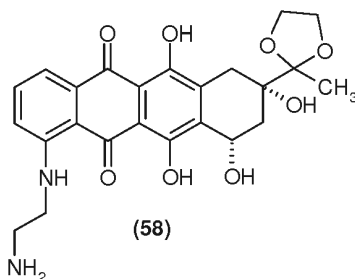
10 (8S,10S)-6,8,10,11-tetrahidroxi-1-[(2-hidroxietil)amino]-8-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona (comp. **57**)



MS (ESI): 472 [M+H]<sup>+</sup>.

15 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,33 (s, 3H), 1,82 (dd, *J* = 14,3, 4,3 Hz, 1H), 2,20 (d, *J* = 14,3 Hz, 1H), 2,67 (d, *J* = 18,7 Hz, 1H), 3,10 (d, *J* = 18,7 Hz, 1H), 3,45 – 3,49 (m, 2H), 3,68 – 3,72 (m, 2H), 3,92 – 4,01 (m, 4H), 5,00 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 5,05 – 5,11 (m, 1H), 5,35 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 5,44 (s, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,70 (dd, *J* = 8,7, 6,8 Hz, 1H), 9,61 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 13,52 (br.s., 1H), 13,74 (br.s., 1H).

(8S,10S)-1-[(2-aminoetil)amino]-6,8,10,11-tetrahidroxi-8-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona (comp. **58**)



20

MS (ESI): 471 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Desprotección

Síntesis del intermedio (8S,10S)-8-acetil-1-amino-6,8,10,11-tetrahidroxi-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona (XXVIII) (comp. **56**)

25 Se añadieron (8S,10S)-1-[(3,4-dimetoxibencil)amino]-6,8,10,11-tetrahidroxi-8-(2-metil-1,3-dioxolan-2-il)-7,8,9,10-tetrahidrotetracen-5,12-diona (**55**) (133 mg, 0,230 mmol) y dos gotas de anisol a ácido trifluoroacético frío (2 mL). Se

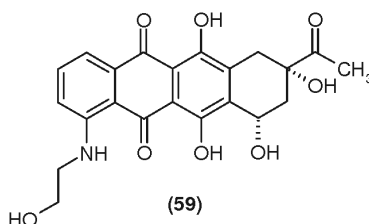
agitó la solución a 5 °C durante 20 min y luego a temperatura ambiente durante 2 horas hasta que no se detectó producto de partida. Se diluyó la reacción con agua (5 mL), se neutralizó entonces con solución de NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo la fase acuosa con DCM (3 × 50 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron, se evaporó el disolvente bajo vacío y se trató el crudo con Et<sub>2</sub>O (10 mL). El precipitado violeta oscuro se recogió mediante filtración y se secó en estufa bajo vacío a 30 °C para rendir el intermedio deseado (82 mg, rendimiento 93%).

MS (ESI): 384 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,99 (dd, *J* = 14,4, 4,6 Hz, 1H), 2,13 – 2,19 (m, 1H), 2,30 (m, 1H), 2,88 – 2,95 (m, 1H), 2,98 – 3,05 (m, 1H), 5,07 (m, 1H), 5,29 (br.s., 1H), 6,07 (s, 1H), 7,24 (dd, *J* = 8,3, 1,1 Hz, 1H), 7,51 (dd, *J* = 7,3, 1,1 Hz, 1H), 7,55 – 7,60 (m, 1H), 8,05 (br.s., 2H), 13,49 (br.s., 1H), 13,85 (br.s., 1H).

Análogamente, pero utilizando el producto de partida adecuado, se prepararon los siguientes compuestos:

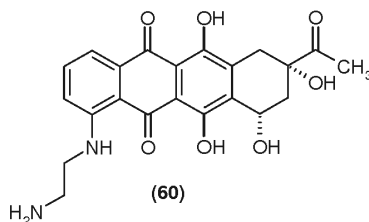
(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,10,11-tetrahidroxi-1-[(2-hidroxietil)amino]-7,8,9,10-tetrahidrotetracén-5,12-diona (comp. **59**)



MS (ESI): 428 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,98 (dd, *J* = 14,2, 4,6 Hz, 1H), 2,16 (d, *J* = 14,2 Hz, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,88 – 2,94 (m, 1H), 2,98 – 3,04 (m, 1H), 3,46 – 3,49 (m, 2H), 3,68 – 3,72 (m, 2H), 5,01 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 5,05 – 5,10 (m, 1H), 5,30 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 6,10 (s, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,70 (dd, *J* = 8,7, 7,1 Hz, 1H), 9,62 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 13,47 (br.s., 1H), 13,76 (br.s., 1H).

(8*S*,10*S*)-8-acetil-1-[(2-aminoetil)amino]-6,8,10,11-tetrahidroxi-7,8,9,10-tetrahidrotetracén-5,12-diona (comp. **60**)

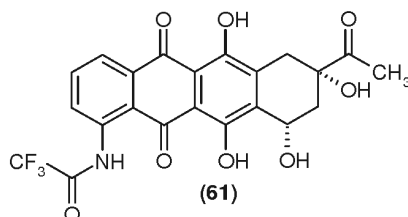


MS (ESI): 427 [M+H]<sup>+</sup>.

<sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,97 (dd, *J* = 14,2, 4,6 Hz, 1H), 2,14 (d, *J* = 14,2 Hz, 1H), 2,31 (s, 3H), 2,88 – 2,94 (m, 1H), 2,98 – 3,04 (m, 1H), 3,05 – 3,22 (m, 4H), 5,05 – 5,10 (m, 1H), 5,30 (d, *J* = 6,7 Hz, 1H), 6,10 (s, 1H), 7,35 (d, *J* = 8,7 Hz, 1H), 7,54 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,70 (dd, *J* = 8,7, 7,1 Hz, 1H), 9,60 (t, *J* = 5,1 Hz, 1H), 13,46 (br.s., 1H), 13,76 (br.s., 1H).

### Protección

Síntesis del intermedio *N*-[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,10,11-tetrahidroxi-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracén-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (comp. **61**)



El intermedio (8*S*,10*S*)-8-acetil-1-amino-6,8,10,11-tetrahidroxi-7,8,9,10-tetrahidrotetracén-5,12-diona (**56**) (600 mg, 1,56 mmol) se disolvió en DCM seco (120 mL) y se añadió anhídrido trifluoroacético (1,2 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en la oscuridad durante 5 minutos hasta que no se detectó producto de partida (análisis HPLC). La mezcla de reacción se diluyó entonces con DCM (100 mL) y se lavó con solución acuosa saturada

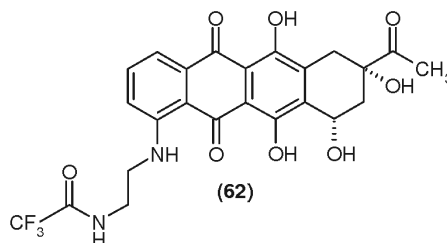
de NaHCO<sub>3</sub> (3 × 100 mL) y luego con agua (1 × 100 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se eliminó el disolvente bajo vacío. El residuo así obtenido se purificó mediante cromatografía flash (eluyente: CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>/DCM; 0,3/9,7) en gel de sílice (230 – 400 mesh) proporcionando el producto deseado (494,1 mg, sólido rojo).

MS (ESI): 480 [M+H]<sup>+</sup>.

- 5 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CHCl<sub>3</sub>-*d*) δ ppm 2,22 (dd, *J* = 14,5, 4,9 Hz, 1H), 2,36 – 2,41 (m, 1H), 2,45 (s, 3H), 3,01 (d, *J* = 18,7 Hz, 1H), 3,23 (dd, *J* = 18,7, 2,2 Hz, 1H), 3,81 (d, *J* = 5,2 Hz, 1H), 4,54 (s, 1H), 7,93 (dd, *J* = 8,4, 7,7 Hz, 1H), 8,29 (dd, *J* = 7,7, 1,1 Hz, 1H), 9,12 (dd, *J* = 8,4, 1,1 Hz, 1H), 13,29 (br.s., 1H), 13,29 (s, 1H), 13,46 (s, 1H).

Análogamente, mediante el empleo del producto de partida adecuado, se preparó el siguiente compuesto:

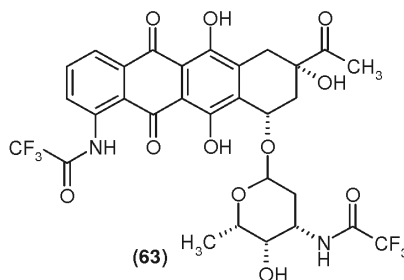
- 10 *N*-(2-[[[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,10,11-tetrahidroxi-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]amino]etil)-2,2,2-trifluoroacetamida (comp. **62**)



MS (ESI): 523 [M+H]<sup>+</sup>.

### Etapa G3

- 15 Síntesis de *N*-[[[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-5,12-dioxo-10-({2,3,6-tridesoxi-3-[(trifluoroacetil)amino]-*L*-*ix*o-hexopiranosil]oxi)-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (comp. **63**)



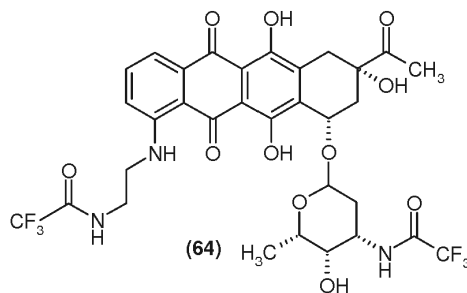
- 20 En un matraz de fondo redondo de tres bocas bajo atmósfera de argón se disolvió en DCM seco (110 mL) el intermedio *N*-[[[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,10,11-tetrahidroxi-5,12-dioxo-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (**61**) (480,0 mg, 1,0 mmol) y se añadió tamiz molecular en polvo (4 Å, 20,0 mg). Se enfrió la mezcla de reacción a 10 °C; se añadieron simultáneamente una solución de trifluorometanosulfato de plata (334,0 mg, 1,3 mmol) en Et<sub>2</sub>O seco (15 mL) y una solución de cloruro de 2,3,6-tridesoxi-4-*O*-(trifluoroacetil)-3-[(trifluoroacetil)amino]-*δ*-*L*-*ix*o-hexopiranosil en DCM seco (15 mL). Se enfrió la mezcla de reacción a 10 °C en la oscuridad durante 45 minutos hasta que no se detectó producto de partida (análisis HPLC). Se añadió solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (50 mL) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 minutos, y entonces se filtró a través de un relleno de celite. La fase orgánica se separó, se lavó y se secó Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro. Se eliminó el disolvente bajo vacío, y se purificó el residuo mediante cromatografía flash (eluyente: CH<sub>3</sub>COCH<sub>3</sub>; 0,5/9,5) en gel de sílice (230 – 400 mesh) proporcionando el producto deseado (320 mg, sólido rojo).

MS (ESI): 705 [M+H]<sup>+</sup>.

- 30 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, CH<sub>3</sub>CN-*d*<sub>3</sub>) δ ppm 1,22 (d, *J* = 6,47 Hz, 3H), 1,77 (dd, *J* = 13,18, 4,64 Hz, 1H), 2,00 (td, *J* = 13,15, 3,97 Hz, 1H), 2,10 (d, *J* = 10,13 Hz, 1H), 2,33 – 2,35 (m, 1H), 2,87 – 3,00 (m, 1H), 3,01 – 3,13 (m, 1H), 3,22 (br.s., 1H), 3,61 (br.s., 1H), 4,09 – 4,16 (m, 1H), 4,22 (q, *J* = 6,47 Hz, 1H), 4,29 (s, 1H), 5,10 (br.s., 1H), 5,40 (d, *J* = 3,54 Hz, 1H), 7,32 (d, *J* = 7,81 Hz, 1H), 7,89 (t, *J* = 7,63 Hz, 1H), 8,11 (d, *J* = 7,08 Hz, 1H), 8,89 (d, *J* = 8,30 Hz, 1H), 13,08 (br.s., 2H).

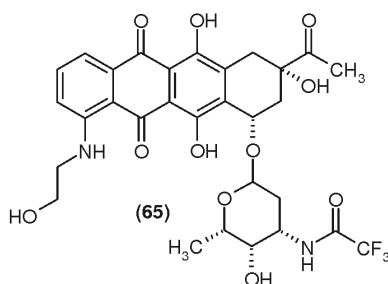
Análogamente, mediante el empleo del producto de partida adecuado, se prepararon los siguientes compuestos:

- 35 *N*-(2-[[[(8*S*,10*S*)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-5,12-dioxo-10-({2,3,6-tridesoxi-3-[(trifluoroacetil)amino]-*L*-*ix*o-hexopiranosil]oxi)-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetracen-1-il]amino]etil)-2,2,2-trifluoroacetamida (comp. **64**)



MS (ESI): 748 [M+H]<sup>+</sup>.

(1S,3S)-3-acetil-3,5,12-trihidroxi-10-[(2-hidroxi)etil]-amino]-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetraceno-1-il 2,3,6-tridesoxi-3-[(trifluoroacetil)amino]-L-*lixo*-hexopiranosido (comp. **65**)



5

MS (ESI): 653 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Desprotección

El comp. del título (**48**)

10 El intermedio *N*-[(8S,10S)-8-acetil-6,8,11-trihidroxi-5,12-dioxo-10-({2,3,6-tridesoxi-3-[(trifluoroacetil)amino]-*a*-L-*lixo*-hexopiranosil}oxi)-5,7,8,9,10,12-hexahidrotetraceno-1-il]-2,2,2-trifluoroacetamida (**63**) (340,2 mg, 0,432 mmol) se enfrió a 0 °C bajo argón y se trató con solución acuosa de NaOH 0,1 N (12 mL). La mezcla de reacción se agitó en la oscuridad durante 1 hora hasta que no se detectó producto de partida (análisis HPLC). La mezcla de reacción se diluyó entonces con DCM (50 mL), se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> (3 × 30 mL), luego con agua (1 × 10 mL) y finalmente con solución saturada de NaCl (1 × 30 mL). Se secó la fase orgánica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se eliminó el disolvente bajo vacío proporcionando el producto deseado (180,0 mg, sólido rojo).

15

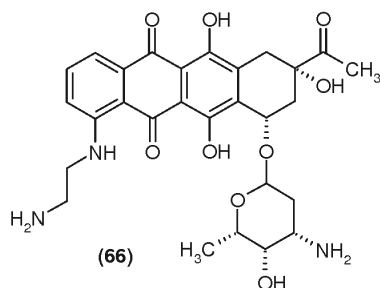
MS (ESI): 513 [M+H]<sup>+</sup>.

20 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,14 (d, *J* = 6,52 Hz, 2H), 1,47 (dd, *J* = 12,61, 4,33 Hz, 1H), 1,60 (d, *J* = 3,30 Hz, 1H), 2,06 – 2,21 (m, 2H), 2,24 – 2,27 (m, 3H), 2,86 (d, *J* = 12,58 Hz, 1H), 2,88 – 3,01 (m, 2H), 3,28 (br.s., 1H), 4,09 (d, *J* = 6,29 Hz, 1H), 4,45 (br.s., 1H), 4,94 (t, *J* = 4,22 Hz, 1H), 5,19 (d, *J* = 3,53 Hz, 1H), 5,44 (s, 1H), 7,24 (d, *J* = 8,28 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 7,13 Hz, 1H), 7,51 – 7,52 (m, 0H), 7,55 – 7,59 (m, 1H), 8,06 (br.s., 2H).

20

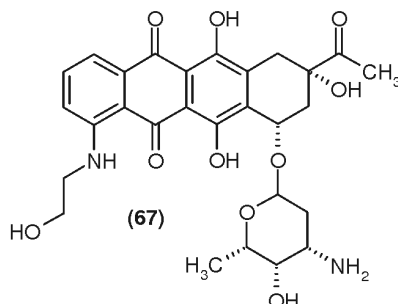
Análogamente, mediante el empleo del producto de partida adecuado, se prepararon los siguientes compuestos:

(1S,3S)-3-acetil-10-[(2-amino)etil]amino]-3,5,12-trihidroxi-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetraceno-1-il 3-amino-2,3,6-tridesoxi-L-*lixo*-hexopiranosido (comp. **66**)



MS (ESI): 556 [M+H]<sup>+</sup>.

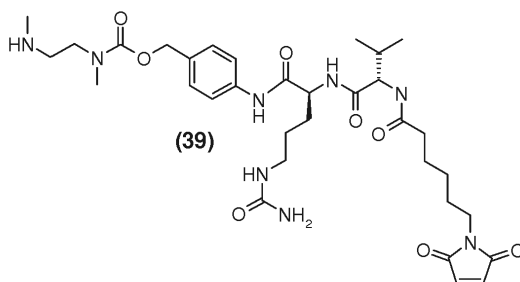
(1S,3S)-3-acetil-3,5,12-trihidroxi-10-[(2-hidroxi)etil]amino]-6,11-dioxo-1,2,3,4,6,11-hexahidrotetracen-1-il 3-amino-2,3,6-tridesoxi-L-lixo-hexopiranosido (comp. **67**)



5 MS (ESI): 557 [M+H]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 8

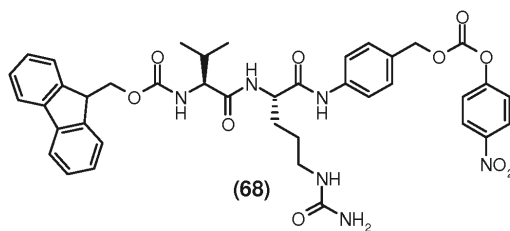
Preparación del intermedio Clorhidrato de *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N<sup>5</sup>-carbamoil-N-[4-[(metil[2-(metilamino)etil]carbamoil]oxi)metil]fenil]-L-ornitinamida (comp. **39**)



10 Etapa a

Se disolvieron *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-valil-N<sup>5</sup>-carbamoil-N-[4-(hidroximetil)fenil]-L-ornitinamida (1,3 g, 2,16 mmol) (preparado tal y como se describe en el documento EP0624377A2) y bis(4-nitrofenil)carbonato (1,32 g, 4,34 mmol) en 6 mL de DMF seco bajo atmósfera de nitrógeno, se añadió DIPEA (0,75 mL, 4,35 mmol) y se agitó la solución resultante una hora a temperatura ambiente. Se añadió éter dietílico (120 mL), se filtró el precipitado resultante, se lavó con éter dietílico y se secó bajo vacío proporcionando *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-valil-N<sup>5</sup>-carbamoil-N-[4-[(4-nitrofenoxi)carbonil]oxi]metil]fenil]-L-ornitinamida (**68**) (1,47 g, 89% rendimiento).

15



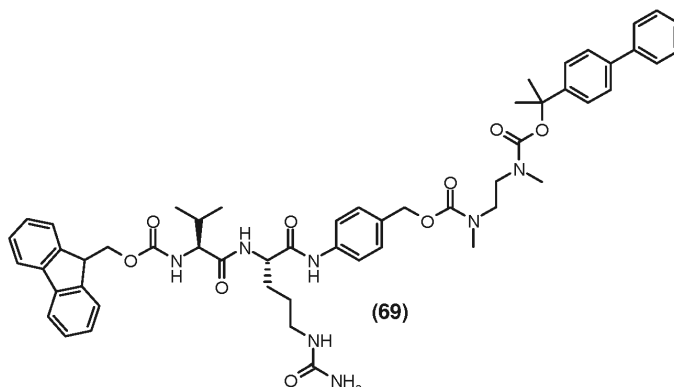
MS (ESI): 767 [M+H]<sup>+</sup>.

20 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 0,86 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 0,88 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,30 – 1,52 (m, 2H), 1,60 (m, 1H), 1,69 (m, 1H), 1,99 (m, 1H), 2,90 – 3,10 (m, 2H), 3,93 (dd, *J* = 8,9, 7,0 Hz, 1H), 4,14 – 4,34 (m, 3H), 4,42 (m, 1H), 5,24 (s, 2H), 5,39 (s, 2H), 5,97 (t, *J* = 5,5 Hz, 1H), 7,32 (m, 2H), 7,42 (m, 5H), 7,55 (m, 2H), 7,65 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,74 (t, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,88 (d, *J* = 7,6 Hz, 2H), 8,12 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 8,31 (m, 2H), 10,12 (s, 1H)

Etapa b

25 *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-valil-N<sup>5</sup>-carbamoil-N-[4-[(4-nitrofenoxi)carbonil]oxi]metil]fenil]-L-ornitinamida (310 mg, 0,404 mmol) y 2-(bifenil-4-il)propan-2-il metil[2-(metilamino)etil]carbamoilato (**68**) (132 mg, 0,404 mmol) se disolvieron en DMF seco (6 mL) y se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 3 horas. Se evaporó el disolvente y el crudo resultante producido se purificó mediante cromatografía de columna (DCM/EtOH =

9/1) proporcionando *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*L*-valil-*N*-{4-[10-(bifenil-4-il)-4,7,10-trimetil-3,8-dioxo-2,9-dioxa-4,7-diazaundec-1-il]fenil}-*N*<sup>5</sup>-carbamoil-*L*-ornitinamida (**69**) (200 mg, 52% rendimiento).

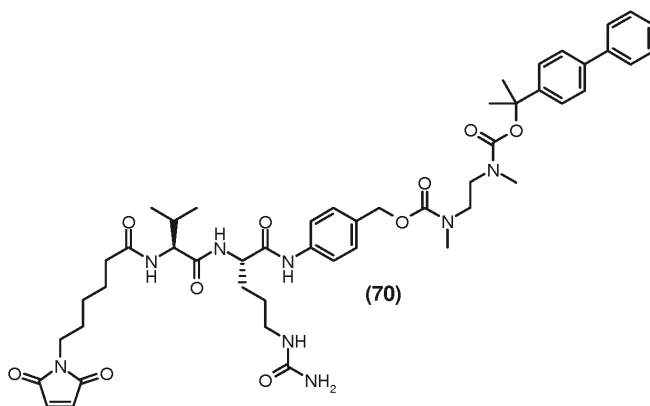


MS (ESI): 954 [M+H]<sup>+</sup>.

- 5 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 0,86 (m, 6H), 1,21 – 1,64 (m, 4H), 1,69 (s, 6H), 2,00 (m, 1H), 2,62 – 3,08 (m, 10H), 3,44 (m, 2H), 3,93 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,22 (m, 1H), 4,94 – 5,03 (m, 2H), 5,39 (s, 2H), 5,96 (m, 1H), 7,25 – 7,46 (m, 11H), 7,45 – 7,66 (m, 6H), 7,74 (m, 2H), 7,89 (m, 2H), 8,11 (br.s., 1H), 10,06 (br.s., 1H)

Etapa c

- 10 A una solución de *N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*L*-valil-*N*-{4-[10-(bifenil-4-il)-4,7,10-trimetil-3,8-dioxo-2,9-dioxa-4,7-diazaundec-1-il]fenil}-*N*<sup>5</sup>-carbamoil-*L*-ornitinamida (**69**) (200 mg, 0,21 mmol) en DMF seco (6 mL) se añadió piperidina (0,105 mL, 1 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se concentró a sequedad para proporcionar el crudo *L*-valil-*N*-{4-[10-(bifenil-4-il)-4,7,10-trimetil-3,8-dioxo-2,9-dioxa-4,7-diazaundec-1-il]fenil}-*N*<sup>5</sup>-carbamoil-*L*-ornitinamida que se utilizó sin purificación adicional. El crudo del intermedio se disolvió en DCM seco (6 mL) y se añadieron 1-[6[(2,5-dioxopirrolidin-1-il)oxi]-6-oxohexil]-1*H*-pirrol-2,5-diona (130 mg, 0,42 mmol) y trietilamina (0,088 mL, 0,63 mmol). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche, se evaporaron los disolventes y se purificó el residuo mediante cromatografía de columna (DCM/EtOH = 10/1) proporcionando *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1*H*-pirrol-1-il)hexanoil]-*L*-valil-*N*-{4-[10-(bifenil-4-il)-4,7,10-trimetil-3,8-dioxo-2,9-dioxa-4,7-diazaundec-1-il]fenil}-*N*<sup>5</sup>-carbamoil-*L*-ornitinamida (**70**) (150 mg, 77% rendimiento).



- 20 MS (ESI): 925 [M+H]<sup>+</sup>.

- 25 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 0,81 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 0,84 (d, *J* = 6,7 Hz, 3H), 1,18 (m, 2H), 1,36 (m, 1H), 1,40 – 1,52 (m, 6H), 1,60 (m, 1H), 1,69 (s, 6H), 1,97 (m, 1H), 2,08 – 2,23 (m, 2H), 2,63 – 2,96 (m, 8H), 2,90 (m, 1H), 3,01 (m, 1H), 3,23 – 3,34 (m, 2H), 3,36 (m, 2H), 3,45 (m, 2H), 4,19 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,38 (m, 1H), 4,95 – 5,05 (m, 2H), 5,40 (s, 2H), 5,97 (d, *J* = 5,6 Hz, 1H), 6,99 (s, 2H), 7,25 – 7,41 (m, 5H), 7,45 (m, 2H), 7,53 – 7,66 (m, 6H), 7,80 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 7,80 (d, *J* = 9 Hz, 1H), 8,08 (d, *J* = 7,0 Hz, 1H), 9,99 (m, 1H), 10,76 (br.s., 1H).

Etapa e

El intermedio del título (**39**)

*N*-[(9*H*-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-*L*-valil-*N*-{4-[10-(bifenil-4-il)-4,7,10-trimetil-3,8-dioxo-2,9-dioxa-4,7-diazaundec-1-il]fenil}-*N*<sup>5</sup>-carbamoil-*L*-ornitinamida (50 mg, 0,054 mmol) se disolvió en 5 mL de THF seco y se añadió ácido clorhídrico

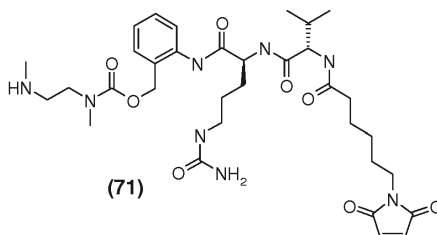


(4M en dioxano, 0,3 mL). Se agitó la solución durante 3 minutos. El precipitado resultante se filtró, se lavó con THF y se secó bajo vacío para proporcionar el compuesto del título (XX)' (36 mg, 92% rendimiento).

MS (ESI): 687 [M+H]<sup>+</sup>.

5 <sup>1</sup>H RMN (500 MHz, metanol-*d*<sub>4</sub>) δ ppm 0,97 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,98 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,31 (m, 2H), 1,54 – 1,67 (m, 6H), 1,76 (m, 1H), 1,89 (m, 1H), 2,08 (m, 1H), 2,28 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 2,64 – 2,75 (m, 3H), 2,98 (s, 3H), 3,11 (m, 1H), 3,20 (m, 3H), 3,48 (t, *J* = 7,1 Hz, 2H), 3,61 (t, *J* = 5,7 Hz, 2H), 4,14 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,50 (dd, *J* = 9,1, 4,9 Hz, 1H), 5,11 (s, 2H), 6,79 (s, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,60 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H).

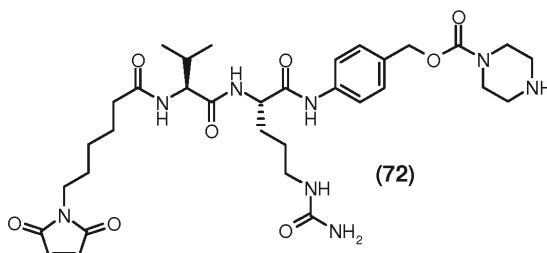
Mediante procedimientos análogos y utilizando productos de partida adecuados se prepararon los siguientes compuestos:



MS (ESI): 687 [M+H]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 9

Preparación de N-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N<sup>5</sup>-carbamoil-N-4-[[piperazin-1-ilcarbonyl]oxi]metil]fenil)-L-ornitinamida (comp. **72**)



#### Etapas

*N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-4-[[4-(terc-butoxicarbonyl)piperazin-1-il]carbonyl]oxi]metil]fenil)-N<sup>5</sup>-carbamoil-L-ornitinamida

20 *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N<sup>5</sup>-carbamoil-N-4-[[4-(4-nitrofenoxi)carbonyl]oxi]metil]fenil)-L-ornitinamida (preparado tal y como se describe en los documentos EP0624377A2 y EP23570062A2, 30 mg, 0,041 mmol) se hizo reaccionar con piperazin-1-carboxilato de terc-butilo (5,3 mg, 0,0287 mmol) en DMSO anhidro bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla de reacción durante 1 hora hasta la desaparición del producto de partida (análisis HPLC-MS). Se añadió entonces éter dietílico (80 mL) a la mezcla de reacción y el precipitado así obtenido se recogió mediante filtración para dar *N*-[6-(2,5-dioxo-2,5-dihidro-1H-pirrol-1-il)hexanoil]-L-valil-N-4-[[4-(terc-butoxicarbonyl)piperazin-1-il]carbonyl]oxi]metil]fenil)-N<sup>5</sup>-carbamoil-L-ornitinamida como un sólido amarillo, se aislaron 22,0 mg que se utilizó en el siguiente etapa sin purificación adicional.

MS (ESI): 785 [M+H]<sup>+</sup>.

#### Etapas

El comp. del título (**72**)

30 El intermedio de la etapa 1 (22,0 mg) se trató con ácido trifluoroacético (327 mg, 2,87 mmol) en diclorometano anhidro (0,12 mL). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 15 minutos hasta la desaparición del producto de partida (análisis HPLC-MS). Después de esto se trató la mezcla de reacción con éter dietílico (20 mL) y el residuo así obtenido se lavó con éter dietílico (2 × 10 mL): el compuesto (**72**) se aisló de esta forma y se utilizó sin purificación adicional para la preparación del comp. (**6**) siguiendo el procedimiento descrito en el **Ejemplo 3**.

35 MS (ESI): 685 [M+H]<sup>+</sup>.

REIVINDICACIONES

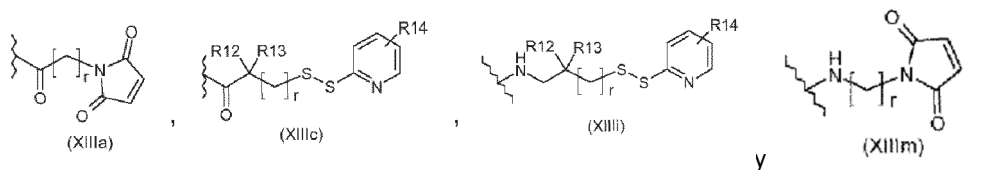
1. Un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I)



donde

5 **RM** es un radical seleccionado entre los grupos:

Filtración vascular de la retina (intensidad en la lesión con láser)



donde

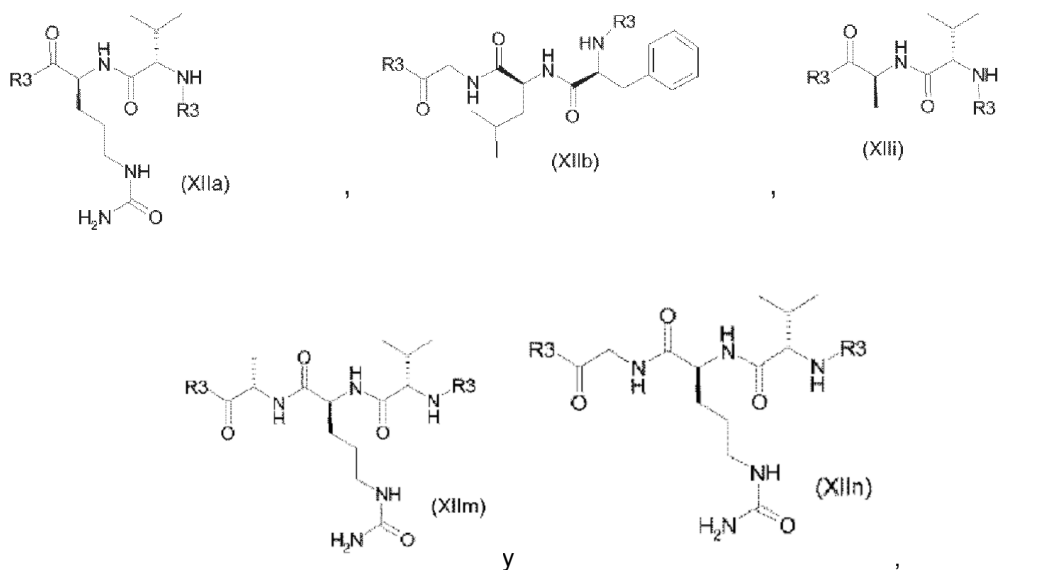
**r** es un número entero de 0 a 7;

10 **R12** y **R13** son, independientemente entre sí, hidrógeno o metilo, y

**R14** es hidrógeno;

la línea ondulada indica el punto de unión en el derivado de fórmula (I);

**Z** es nulo o un enlazador peptídico, no peptídico o híbrido -peptídico o no peptídico- seleccionado entre:

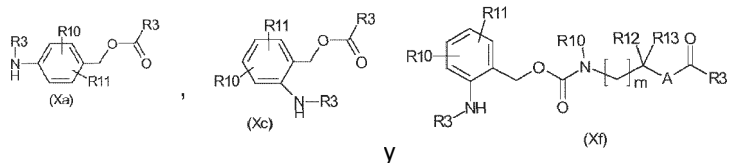


15

donde

uno de los dos sustituyentes **R3** es una unión a **Ant**, a **W** o a **L**, y el otro es nulo;

**W** es nulo o un grupo seleccionado entre:



20

donde

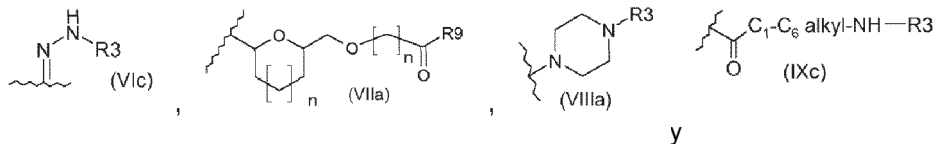
uno de los dos sustituyentes **R3** es una unión a **L**, o a **Ant** cuando **L** es nulo, y el otro es nulo;

**R10** y **R11** son hidrógeno;

**m** es un número entero de 0 a 3;

A es N-CH<sub>3</sub>; y  
**R12** y **R13** son hidrógeno;

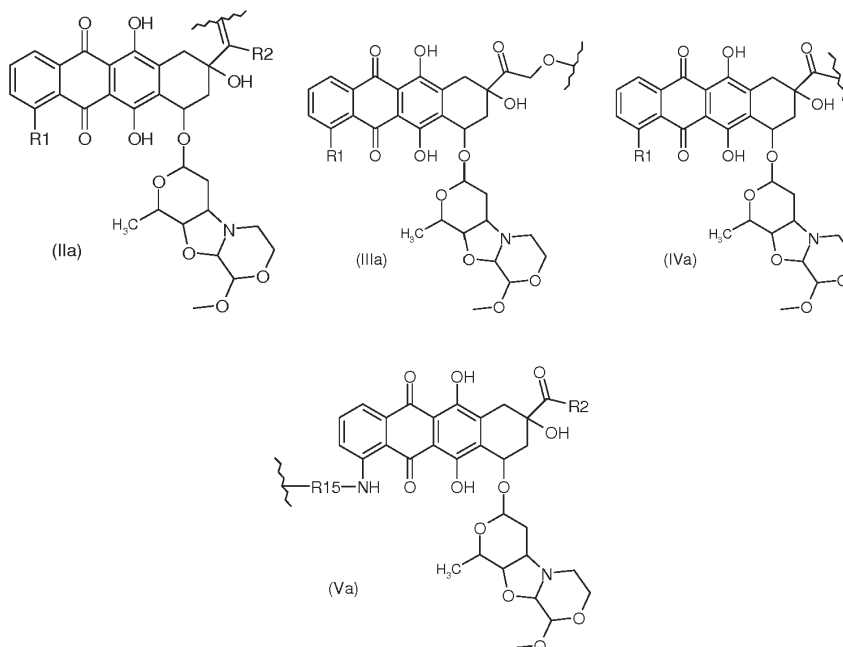
**L** es nulo o una fracción seleccionada entre:



5 donde

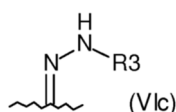
alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> es una cadena lineal o ramificada;  
**R3** es nulo o hidrógeno, y la línea ondulada indica el punto de unión a **Ant**;  
**R9** es nulo;  
**n** es un número entero de 0 a 2;

10 **Ant** es una fracción antraciclina seleccionada entre las fórmulas (IIa), (IIIa), (IVa) y (Va):



15 donde la línea ondulada indica la unión  
 a la fracción **L**, o  
 al grupo **W**, o  
 al enlazador **Z**, o  
 al radical **RM**;  
**R1** es NH<sub>2</sub>;  
**R2** es metilo o hidroximetilo;  
**R15** es nulo;  
 20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I), de acuerdo con la reivindicación 1, donde la fracción antraciclina (**Ant**) tiene la fórmula (IIa), **L** es nulo o un grupo de fórmula (VIc):

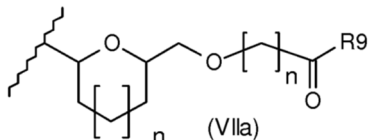


donde:

25 **R3** es nulo, y

la línea ondulada indica el punto de unión a **Ant**;  
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I), de acuerdo con la reivindicación 1, donde la fracción antraciclina (**Ant**) tiene la fórmula (IIIa) y **L** es nulo o un grupo de fórmula (VIIa):



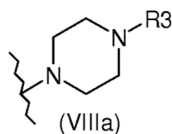
5

donde:

**R9** es nulo;  
**n** es un número entero de 0 a 2, y  
la línea ondulada indica el punto de unión a **Ant**;  
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10

4. Un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I), de acuerdo con la reivindicación 1, donde la fracción antraciclina (**Ant**) tiene la fórmula (IVa) y **L** es nulo o un grupo de fórmula (VIIIa):

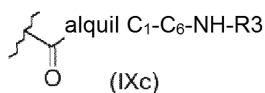


donde:

**R3** es nulo, y  
la línea ondulada indica el punto de unión a **Ant**;  
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

5. Un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I), de acuerdo con la reivindicación 1, donde la fracción antraciclina (**Ant**) tiene la fórmula (Va) y **L** es nulo o un grupo de fórmula (IXc):



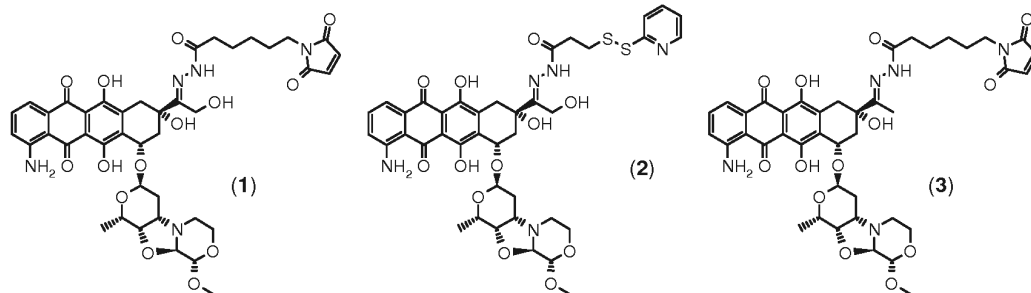
20

donde:

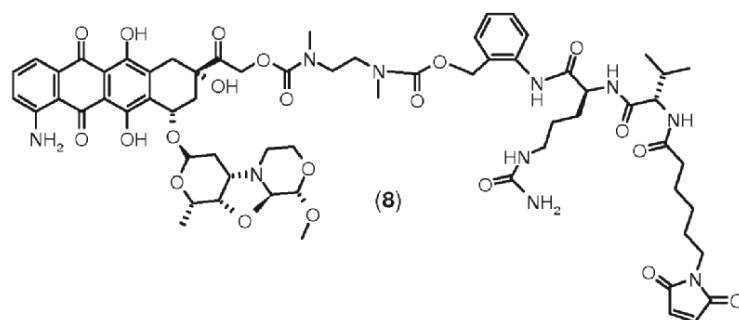
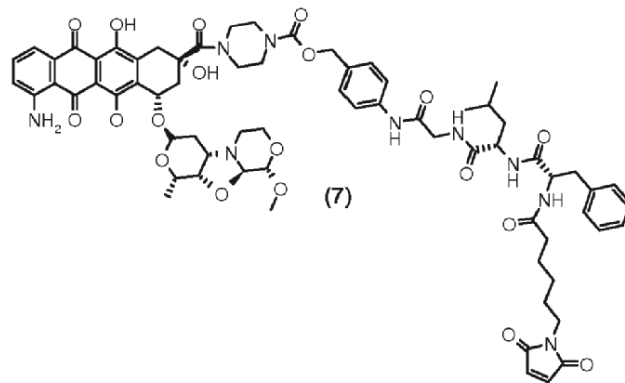
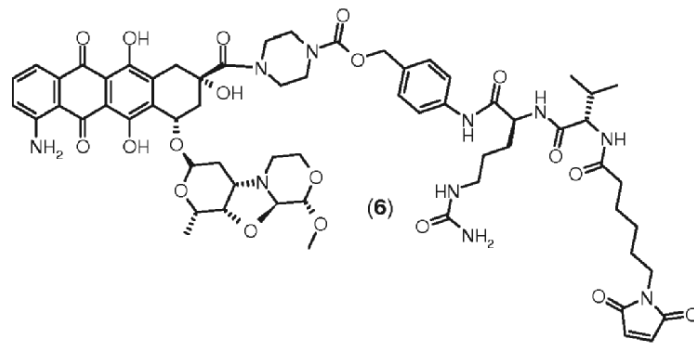
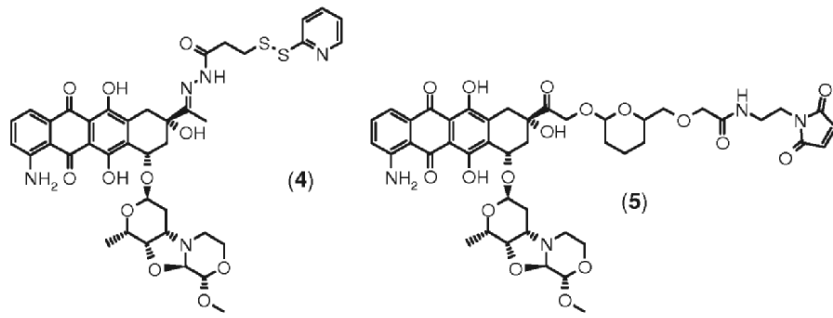
alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> es una cadena lineal o ramificada,  
**R3** es nulo o hidrógeno, y  
la línea ondulada indica el punto de unión a **Ant**;  
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

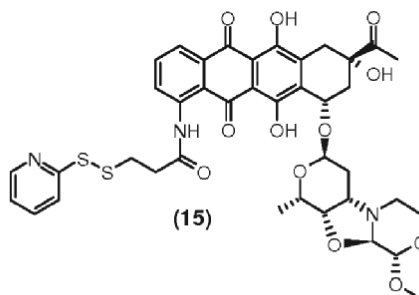
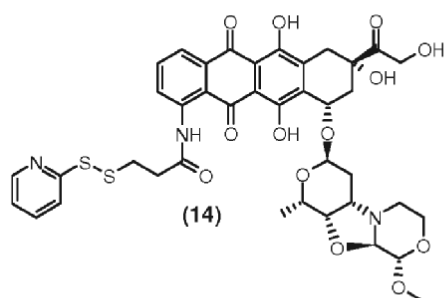
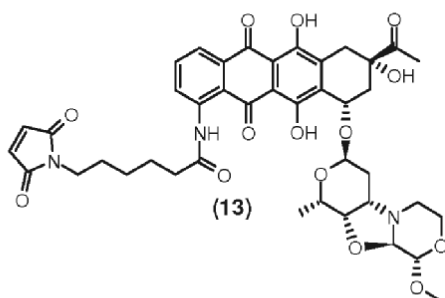
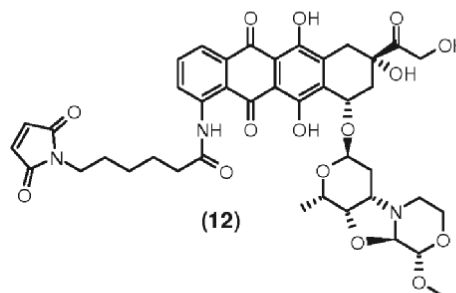
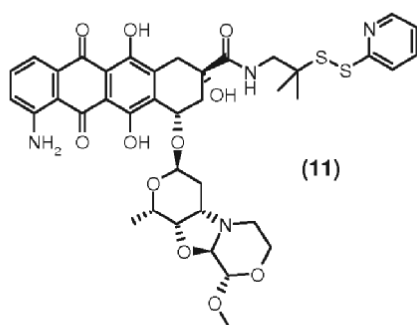
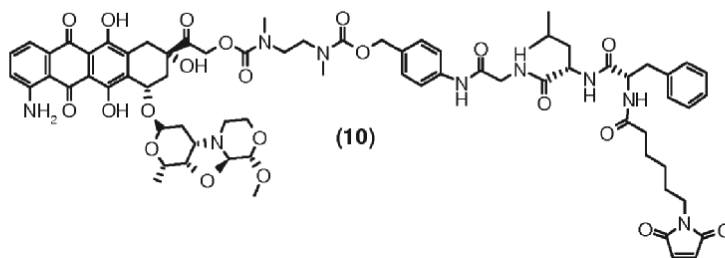
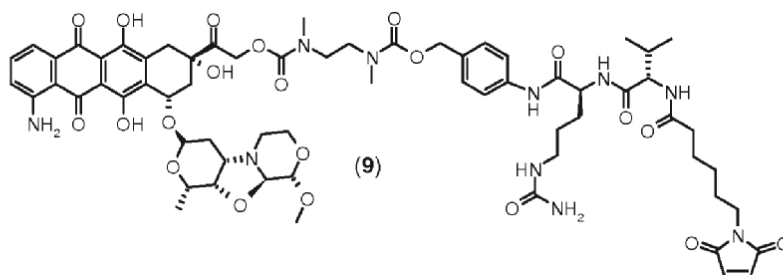
25

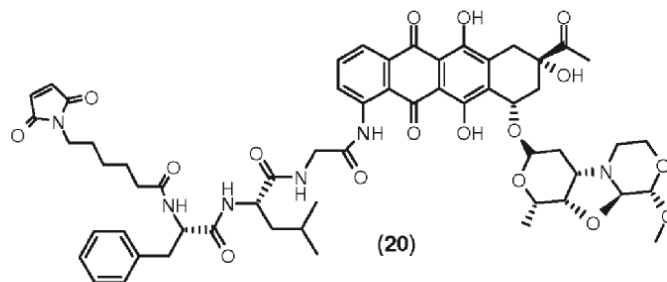
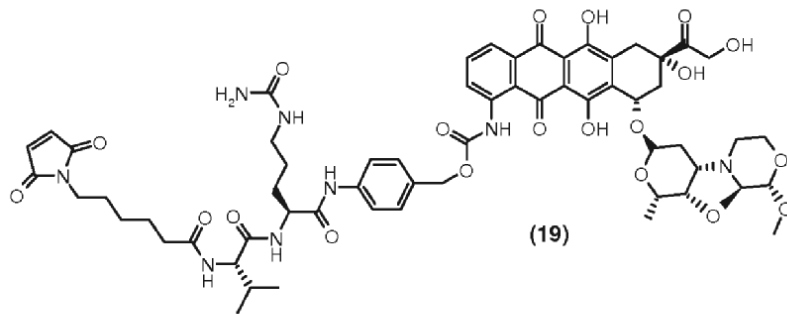
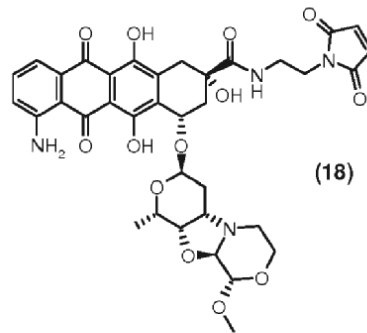
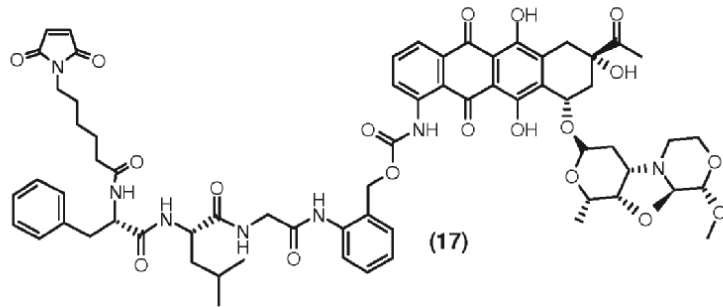
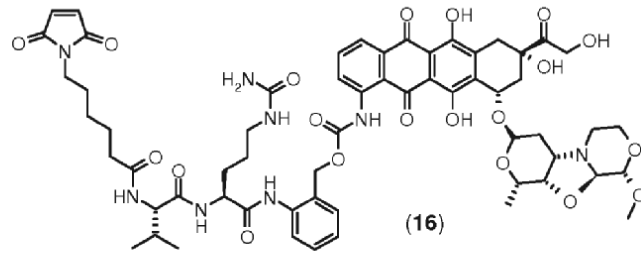
6. Un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, el cual se selecciona del grupo consistente en los compuestos siguientes (1)-(20), (23)-(27), (75)-(78):

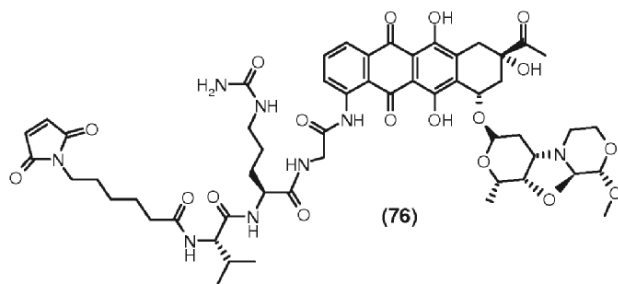
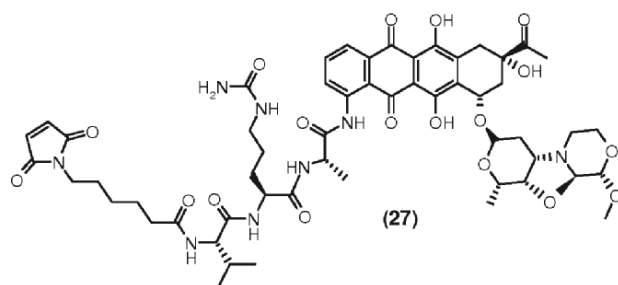
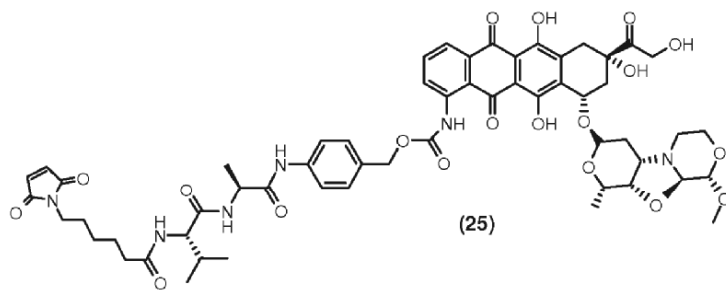
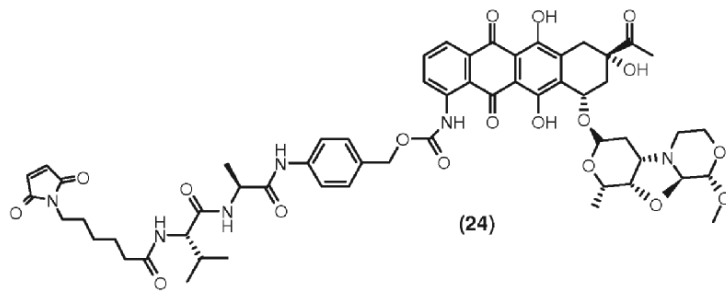
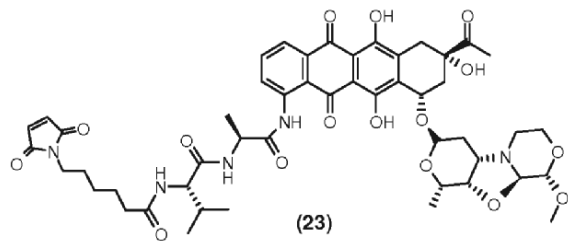


30

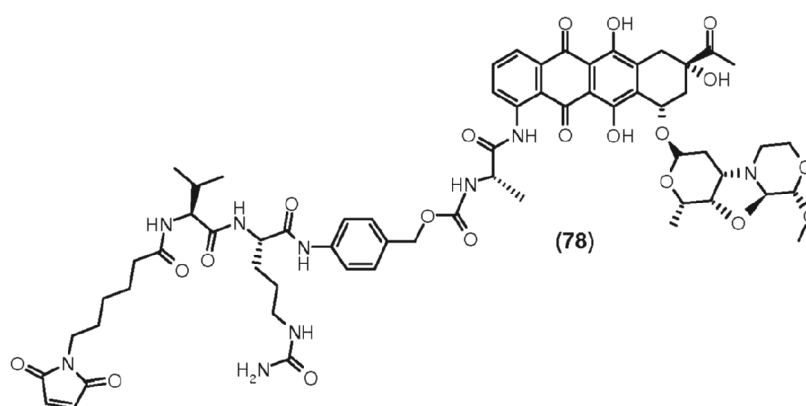
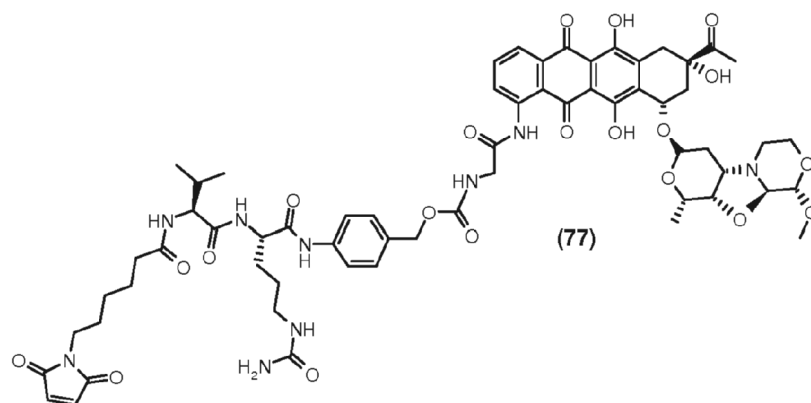












7. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, y al menos un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 5 8. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7 que comprende además uno o varios agentes quimioterapéuticos.
9. Un producto que comprende un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, y uno o varios agentes quimioterapéuticos, como una preparación combinada para el uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento contra el cáncer.
- 10 10. Un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, para el uso como un medicamento.
11. Un derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, para el uso en un método de tratamiento contra el cáncer.
12. Un derivado de morfolinil antraciclina para el uso de acuerdo con la reivindicación 11, caracterizado porque el cáncer se selecciona del grupo consistente en carcinomas, incluyendo vejiga, mama, colon, riñón, hígado, pulmón, comprendiendo cáncer de pulmón de células pequeñas, esófago, vesícula biliar, ovario, páncreas, estómago, cervix, tiroides, próstata y carcinoma de piel, comprendiendo carcinoma de células escamosas; tumores hematopoyéticos de linaje linfóide, incluyendo leucemia, leucemia linfocítica aguda, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de células B, linfoma de células T, linfoma de Hodgkin, linfoma no-Hodgkin, linfoma folicular y linfoma de Burkitt; tumores hematopoyéticos de linaje mieloide, incluyendo leucemia mielogénica aguda y crónica, síndrome mielodisplásico y leucemia promielocítica; tumores de origen mesenquimal, incluyendo fibrosarcoma y rabdomiosarcoma; tumores del sistema nervioso central y periférico, incluyendo astrocitoma, neuroblastoma, glioma y schwannoma; y otros tumores, incluyendo melanoma, seminoma, teratocarcinoma, osteosarcoma, xeroderma pigmentoso, queratoxantoma, cáncer folicular de tiroides, sarcoma de Kaposi y mesotelioma.
- 15 20 25 13. Uso del derivado de morfolinil antraciclina de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en la reivindicación 1, en la preparación de conjugados.

Fig. 1

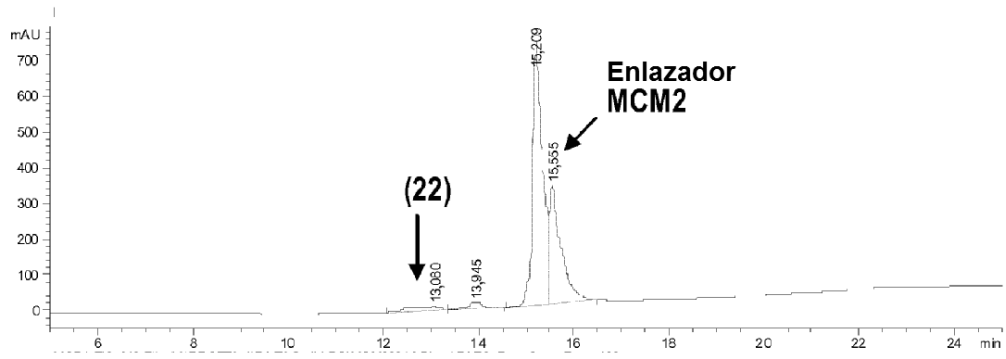


Fig. 2

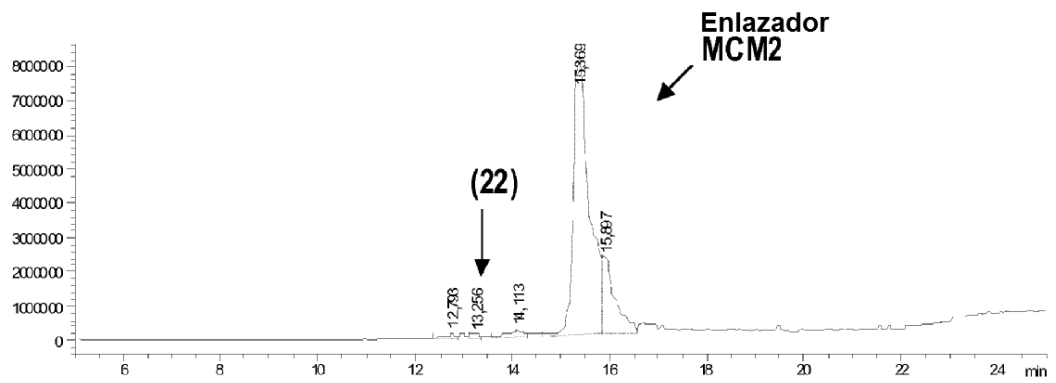


Fig. 3

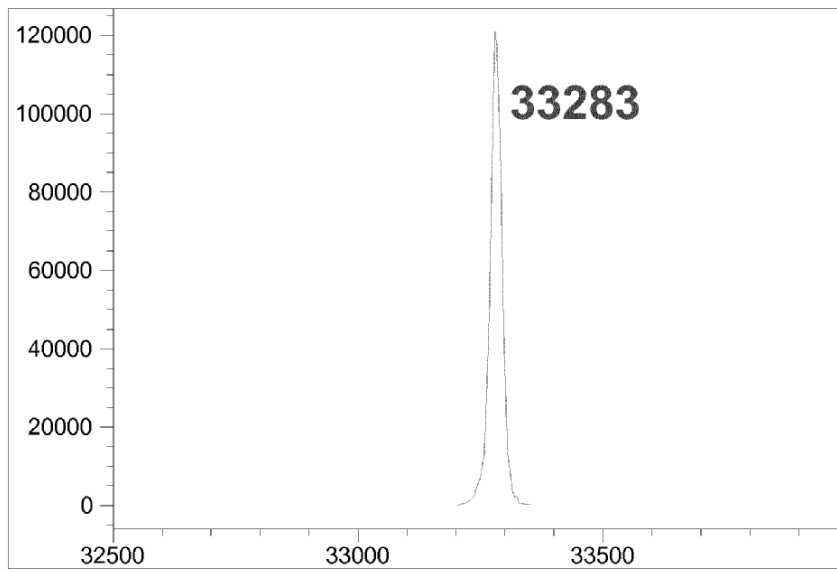


Fig. 4

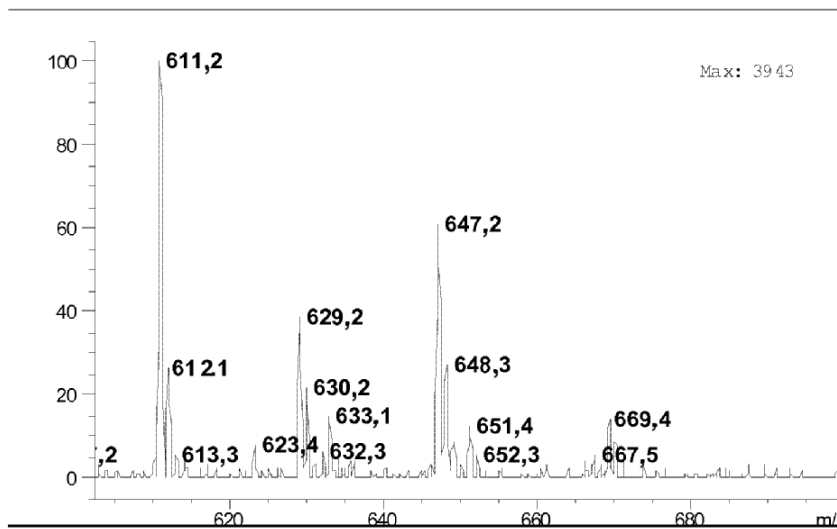
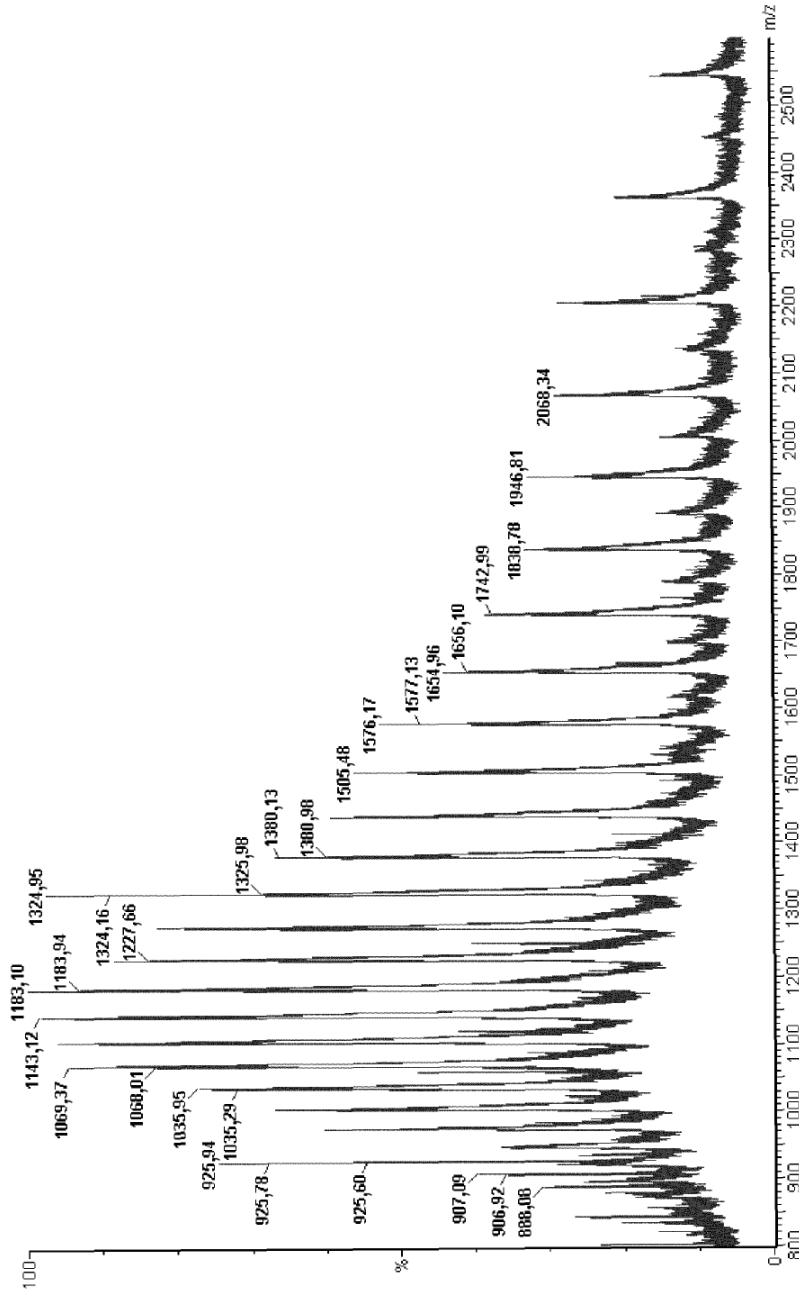
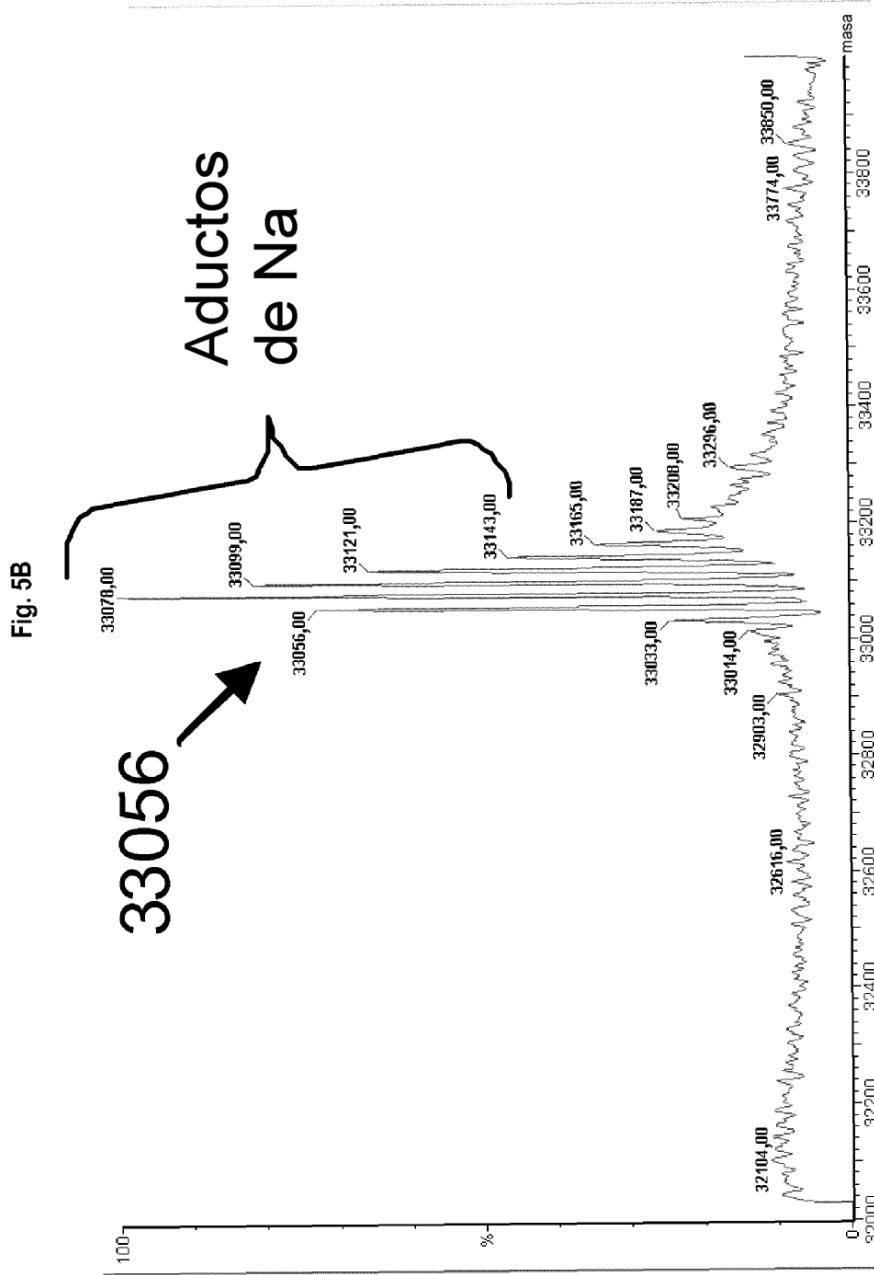


Fig. 5A

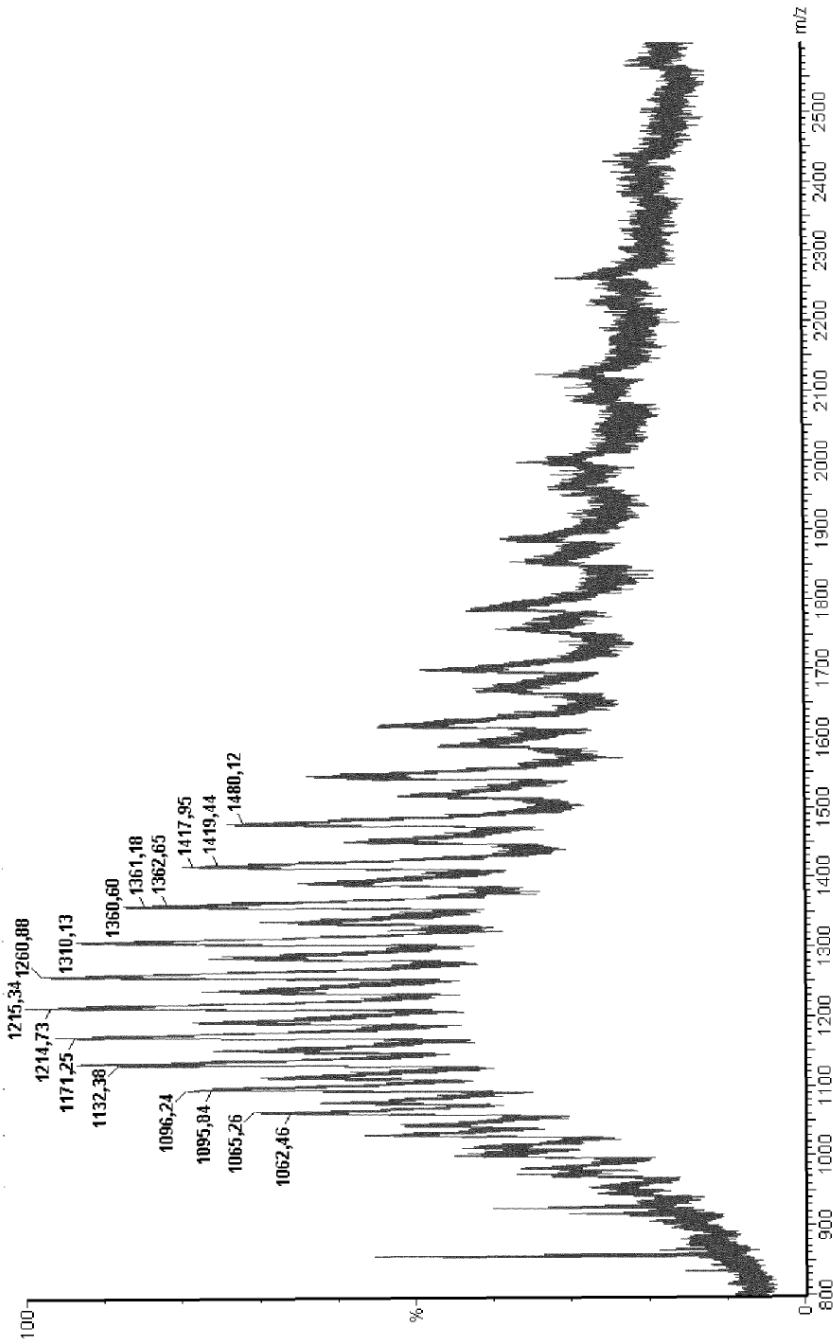


# Espectro MS



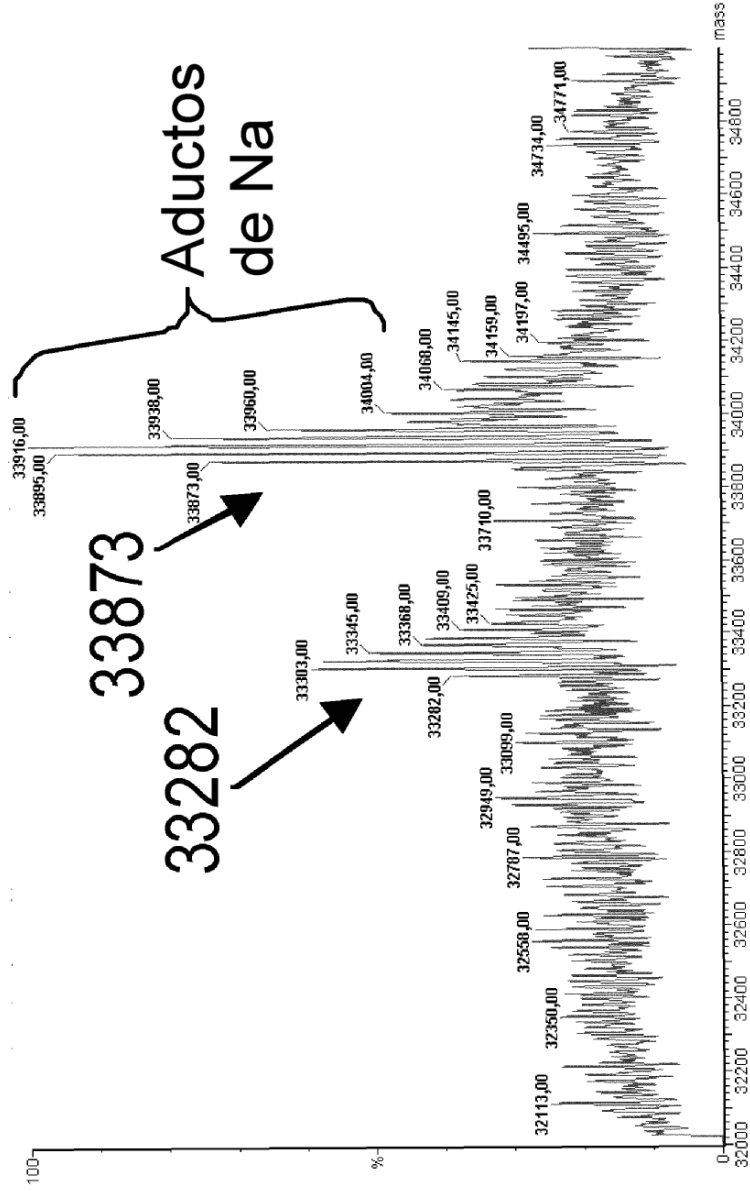
# Espectro deconvolucionado

Fig. 6A



# Espectro MS

Fig. 6B



# Espectro deconvolucionado