



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 295 004**

51 Int. Cl.:
C07K 5/06 (2006.01)
C07D 205/04 (2006.01)
C07D 207/10 (2006.01)
A61K 38/55 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **00902233 .6**
86 Fecha de presentación : **13.01.2000**
87 Número de publicación de la solicitud: **1150996**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **07.11.2001**

54 Título: **Nuevos derivados amidinobencilamínicos y su uso como inhibidores de trombina.**

30 Prioridad: **13.01.1999 SE 9900071**
22.11.1999 SE 9904228

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.04.2008

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.04.2008

73 Titular/es: **AstraZeneca AB.**
151 85 Södertälje, SE

72 Inventor/es: **Inghardt, Tord y**
Nyström, Jan-Erik

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 295 004 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

Nuevos derivados amidinobencilamínicos y su uso como inhibidores de trombina.

5 Campo de la invención

Esta invención se refiere a nuevos compuestos farmacéuticamente útiles, en particular a compuestos que son, o son profármacos de, inhibidores competitivos de serina-proteasas semejantes a la tripsina, especialmente trombina, a su uso como medicamentos, a composiciones farmacéuticas que los contienen y a vías de síntesis para su producción.

10 Antecedentes

La coagulación de la sangre es el proceso fundamental implicado tanto en la hemostasis (es decir, la prevención de pérdida de sangre por un vaso lesionado) como en la trombosis (es decir, la formación de un coágulo de sangre en un vaso sanguíneo, conluciendo a veces a la obstrucción del vaso).

La coagulación es el resultado de una serie compleja de reacciones enzimáticas. Una de las últimas etapas en esta serie de reacciones es la conversión de la proenzima protrombina en la enzima activa trombina.

Se sabe que la trombina desempeña un papel fundamental en la coagulación. Activa las plaquetas, conduciendo a la agregación plaquetaria, convierte el fibrinógeno en monómeros de fibrina, que se polimerizan espontáneamente en polímeros de fibrina, y activa el factor XIII, que a su vez reticula los polímeros para formar fibrina insoluble. Adicionalmente, la trombina activa el factor V y el factor VIII, conduciendo a una generación de trombina por "retroalimentación positiva", a partir de la protrombina.

Sería de esperar que, inhibiendo la agregación de las plaquetas y la formación y reticulación de fibrina, los inhibidores eficaces de la trombina mostrasen actividad antitrombótica. Además, sería de esperar que la actividad antitrombótica se potenciase por inhibición eficaz del mecanismo de retroalimentación positiva.

Además, se sabe que la administración de profármacos de inhibidores de trombina puede dar lugar a mejoras en:

- a) ciertas propiedades farmacocinéticas después de la administración de, y
- b) la prevalencia de ciertos efectos secundarios asociados con, esos inhibidores.

35 Técnica anterior

El desarrollo inicial de inhibidores de bajo peso molecular de trombina ha sido descrito por Claesson en Blood Coagul. Fibrinol. (1994) 5, 411.

Blombäck *et al.* (en J. Clin. Lab. Invest. 24, suplemento 107, 59, (1969)) dieron a conocer inhibidores de trombina basados en la secuencia de aminoácidos situada alrededor del sitio de escisión de la cadena A α del fibrinógeno. De las secuencias de aminoácidos expuestas, estos autores sugerían que la secuencia tripeptídica Phe-Val-Arg (P9-P2-P1, a la que se hace referencia en lo sucesivo como la secuencia P3-P2-P1) sería el inhibidor más eficaz.

Los inhibidores de trombina basados en derivados de dipeptidilo con una α,ω -aminoalquil-guanidina en la posición P1 se conocen desde la patente U.S. n° 4.346.078 y la Solicitud de Patente Internacional WO 93/11152. Se han dado a conocer también derivados de dipeptidilo similares, estructuralmente afines. Por ejemplo, la Solicitud de Patente Internacional WO 94/29336 describe compuestos que tienen, por ejemplo, aminometil-benzamidas, aminoalquil-amidinas cíclicas y aminoalquil-guanidinas cíclicas en la posición P1 (la Solicitud de Patente Internacional WO 97/23499 describe profármacos de algunos de estos compuestos); la Solicitud de Patente Europea 0 648 780 describe compuestos con, por ejemplo, aminoalquil-guanidinas cíclicas en la posición P1.

Inhibidores de trombina basados en derivados de peptidilo, que tienen también aminoalquil-guanidinas cíclicas (por ejemplo, 3- o 4-aminometil-1-amidinopiperidina) en la posición P1, se conocen desde las Solicitudes de Patentes Europeas 0 468 231, 0 559 046 y 0 641 779.

Inhibidores de trombina basados en derivados de tripeptidilo con arginaldehído en la posición P1 se describieron por primera vez en la Solicitud de Patente Europea 0 185 390.

En fecha más reciente, se han dado a conocer derivados de peptidilo basados en arginaldehído, modificados en la posición P3. Por ejemplo, la Solicitud de Patente Internacional WO 93/18060 describe hidroxí-ácidos, la Solicitud de Patente Europea 0 526 877 des-aminoácidos, y la Solicitud de Patente Europea 0 542 525 ácidos O-metil-mandélicos en la posición P3.

Se conocen también inhibidores de serina proteasas (por ejemplo, trombina) basados en cetonas electrófilas en la posición P1. Por ejemplo, la Solicitud de Patente Europea 0 195 212 describe α -cetoésteres y amidas de peptidilo, la Solicitud de Patente Europea 0 362 002 fluoroalquilamido-cetonas, la Solicitud de Patente Europea 0 364 344

ES 2 295 004 T3

compuestos α,β,δ -trictónicos, y la Solicitud de Patente Europea 0 530 167 derivados de arginina con α -alcoxicetonas en la posición P1.

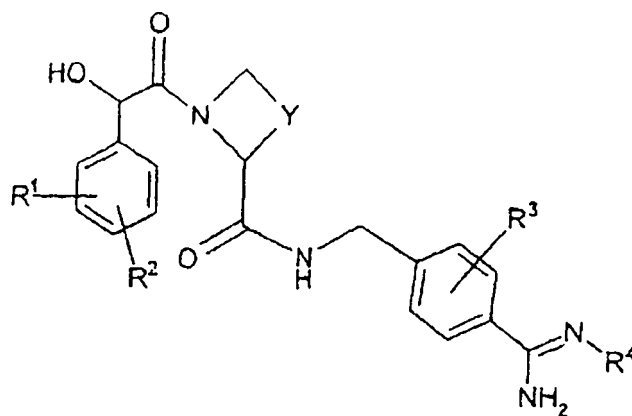
Otros inhibidores, estructuralmente diferentes, de serina proteasas semejantes a la tripsina, basados en derivados de ácido borónico C-terminales de arginina y sus análogos de isotiouronio, son conocidos desde la Solicitud de Patente Europea 0 293 881.

En fecha más reciente, en la Solicitud de Patente Europea 0 669 317 y en las Solicitudes de Patentes Internacionales WO 95/35309, WO 95/23609, WO 96/25426, WO 97/02284, WO 97/46577, WO 96/32110, WO 96/31504, WO 96/03374, WO 98/06740 y WO 97/49404, se han descrito inhibidores de trombina basados en derivados de peptidilo.

Sin embargo, persiste la necesidad de inhibidores eficaces de serina proteasas semejantes a la tripsina, tales como trombina. También existe la necesidad de compuestos que al mismo tiempo estén biodisponibles por vía oral y sean selectivos inhibiendo la trombina con respecto a otras serina proteasas, en particular aquellas implicadas en la hemostasis. Sería de esperar que los compuestos que exhiben actividad inhibidora competitiva con respecto a la trombina sean especialmente útiles como anticoagulantes y, por lo tanto, en el tratamiento terapéutico de la trombosis y trastornos afines.

Descripción de la invención

De acuerdo con la invención, se proporciona un compuesto de fórmula I,



en la que

R^1 representa un sustituyente $N(R^5)R^6$ o $S(O)_mR^7$;

R^2 y R^3 representan independientemente un sustituyente opcional seleccionado de halo, alquilo C_{1-4} o alcoxi C_{1-4} , estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos con halo;

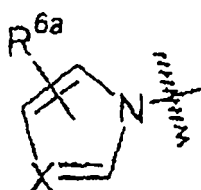
Y representa alquileno C_{1-3} , opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-4} , metileno, =O o hidroxilo;

R^4 representa H, OH, OR^{8a} , $C(O)OR^{8b}$ o R^{8c} ;

R^5 representa alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con halo, o, junto con R^6 y el átomo de nitrógeno al que están unidos R^5 y R^6 , representa un anillo de 3 a 7 miembros que contiene nitrógeno, anillo el cual incluye opcionalmente un átomo de oxígeno y/o está opcionalmente sustituido con un grupo =O;

R^6 representa alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con halo, $C(O)R^9$, o, junto con R^5 y el átomo de nitrógeno al que están unidos R^5 y R^6 , representa un anillo de 3 a 7 miembros que contiene nitrógeno, anillo el cual incluye opcionalmente un átomo de oxígeno y/o está opcionalmente sustituido con un grupo =O;

o el grupo $N(R^5)R^6$ representa el fragmento estructural Ia,



ES 2 295 004 T3

R^{6a} representa uno o más sustituyentes opcionales seleccionados de halo, alquilo C₁₋₄ y alcoxi C₁₋₄, estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos con halo;

X representa CH o N;

m representa 0, 1 ó 2;

R⁷ representa H, NH₂ o alquilo C₁₋₆;

R^{8a} y R^{8b} representan independientemente alquilo C₁₋₁₀, alquil C₁₋₃-fenilo o arilo C₆₋₁₀, o R^{8a} representa C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R¹¹, C(R^{10a})(R^{10b})N(H)C(O)OR¹² o C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R¹²;

R^{8c} representa C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R¹¹, C(R^{10a})(R^{10b})N(H)C(O)OR¹² o C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R¹²;

R^{10a} y R^{10b} representan independientemente, en cada caso, H o alquilo C₁₋₄;

R¹¹ representa, en cada caso, arilo C₆₋₁₀, OR¹² o alquilo C₁₋₇, estando este último grupo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de OH, CO₂H y arilo C₆₋₁₀;

R¹² representa, en cada caso, arilo C₆₋₁₀ o alquilo C₁₋₆, estando este último grupo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de OH, CO₂H y arilo C₆₋₁₀;

R⁹ representa alquilo C₁₋₈, Het¹, arilo C₆₋₁₀ o alquilo C₁₋₄ sustituido con arilo C₆₋₁₀; y

Het¹ representa un anillo heterocíclico de 4 a 12 miembros, anillo el cual contiene uno o más heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y/o azufre, y anillo el cual puede estar totalmente saturado, parcialmente saturado o puede ser aromático, y/u opcionalmente puede ser monocíclico, bicíclico y/o puede estar benzocondensado; en el que cada grupo arilo/fenilo y grupo Het¹ identificados anteriormente están opcionalmente sustituido con uno o más grupo halo, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄, estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos a su vez con uno o más grupos halo; cada grupo arilo representa fenilo o naftilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, con la condición de que:

(a) cuando m represente 1 ó 2, entonces R⁷ no represente H; y

(b) cuando m represente 0, entonces R⁷ no represente NH₂;

compuestos los cuales se denominan aquí en lo sucesivo como “los compuestos de la invención”.

Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácidos inorgánicos (por ejemplo, haluro de hidrógeno) y de ácidos orgánicos (por ejemplo, ácido acético, metanosulfónico o trifluoroacético).

Los compuestos de la invención pueden mostrar tautomería. Todas las formas tautómeras y sus mezclas están incluidas dentro del alcance de la invención. Las formas tautómeras particulares que se pueden mencionar incluyen aquellas conectadas con la posición del doble enlace en la funcionalidad de amidina en el compuesto de fórmula I, y la posición del sustituyente R⁴, cuando este no represente H.

Los compuestos de fórmula I también contienen al menos dos átomos de carbono asimétricos, y por lo tanto exhiben isomería óptica y/o diastereoisomería. Todos los diastereoisómeros se pueden separar usando técnicas convencionales, por ejemplo cromatografía o cristalización fraccionada. Los diversos estereoisómeros se pueden aislar por separación de una mezcla racémica u otra mezcla de los compuestos, usando técnicas convencionales, por ejemplo cristalización fraccionada o HPLC. Alternativamente, los isómeros ópticos deseados se pueden obtener por reacción de los materiales de partida ópticamente activos apropiados, en condiciones que no provoquen racemización o epimerización, o por derivatización, por ejemplo con un ácido homoquiral, seguida de la separación de los derivados diastereoisómeros por medios convencionales (por ejemplo, HPLC, cromatografía sobre sílice). Todos los estereoisómeros están incluidos dentro del alcance de la invención.

Como se usa aquí, el término “arilo” incluye fenilo, naftilo.

Los grupos alquilo que R², R³, R⁵, R⁶, R^{6a}, R⁷, R^{8a}, R^{8b}, R⁹, R^{10a}, R^{10b}, R¹¹ y R¹² pueden representar, y con los cuales pueden estar sustituidos los grupos Y y arilo/fenilo y Het¹; los grupos alcoxi que R², R³ y R^{6a} pueden representar, y con los cuales pueden estar sustituidos los grupos arilo/fenilo y Het¹; la parte alquílica de los grupos alquilfenilo o alquilarilo que R^{8a}, R^{8b}, R⁹, R¹¹ y R¹² pueden representar; y los grupos alquilénicos que Y puede representar, pueden, cuando hay suficiente número de átomos de carbono, ser lineales o ramificados, pueden estar saturados o insaturados, pueden ser cíclicos, acíclicos o parte cíclicos/acíclicos, y/o pueden estar opcionalmente interrumpidos por un átomo de O. La persona experta apreciará que cuando los grupos alquilo que R², R³, R⁵, R⁶, R^{6a}, R⁷, R^{8a}, R^{8b}, R⁹, R^{10a}, R^{10b}, R¹¹ y R¹² pueden representar, y con los cuales pueden estar sustituidos los grupos Y y arilo/fenilo y Het¹, son cíclicos y están interrumpidos por oxígeno, entonces pueden representar heterociclos que contienen oxígeno, tales como tetrahidrofurano o (cuando sea apropiado) tetrahidropirano.

ES 2 295 004 T3

Los grupos halo que R², R³ y R^{6a} pueden representar, y con los cuales pueden estar sustituidos los grupos R², R³, R⁵, R⁶, R^{6a} y arilo/fenilo y Het¹, incluyen fluoro, cloro, bromo y yodo.

Las abreviaturas se enumeran al final de esta memoria descriptiva.

5 Cuando R⁵ y R⁶, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, representan un anillo de 3 a 7 miembros que contiene nitrógeno (por ejemplo, pirrolidina), anillo el cual incluye opcionalmente un átomo de oxígeno y/o está sustituido con un grupo =O, el anillo está sustituido preferiblemente en un átomo de carbono que está en posición α con respecto al átomo de nitrógeno. Para evitar dudas, el átomo de nitrógeno al que están unidos R⁵ y R⁶ es el átomo de nitrógeno que debe estar presente en el anillo.

Los compuestos de la invención que se pueden mencionar incluyen aquellos en los que:

15 R² y R³ representan independientemente un sustituyente opcional seleccionado de halo o alquilo C₁₋₄ (opcionalmente sustituido con halo);

R⁵ representa alquilo C₁₋₆, o, junto con R⁶ y el átomo de nitrógeno al que están unidos R⁵ y R⁶, representa un anillo de 3 a 7 miembros que contiene nitrógeno, opcionalmente sustituido con un grupo =O;

20 R⁶ representa alquilo C₁₋₆, C(O)R⁹, o, junto con R⁵ y el átomo de nitrógeno al que están unidos R⁵ y R⁶, representa un anillo de 3 a 7 miembros que contiene nitrógeno, opcionalmente sustituido con un grupo =O;

25 cuando R⁴ representa OR^{8a} o C(O)OR^{8b}, R^{8a} y R^{8b} representan independientemente, en cada caso, alquilo C₁₋₁₀, alquilfenilo C₁₋₃ o arilo C₆₋₁₀, estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos con uno o más grupos halo, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄;

R⁹ representa alquilo C₁₋₆; y

todos los otros sustituyentes son de otro modo como se definen aquí anteriormente.

30 Otros compuestos de la invención que se pueden mencionar incluyen aquellos en los que R⁴ no representa R^{8c}.

Compuestos preferidos de la invención incluyen aquellos en los que:

35 R² representa alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄, lineales o ramificados, ambos opcionalmente sustituidos con halo, o halo (por ejemplo, cloro);

R³ está ausente, o representa alquilo C₁₋₄ lineal o ramificado, o halo;

40 R⁵ representa alquilo C₁₋₆ lineal, ramificado o cíclico, o, junto con R⁶ y el átomo de nitrógeno al que están unidos R⁵ y R⁶, representa un anillo de 4 a 6 miembros que contiene nitrógeno, opcionalmente sustituido con un grupo =O;

45 R⁶ representa alquilo C₁₋₆ lineal, ramificado o cíclico, C(O)-alquilo C₁₋₆, o, junto con R⁵ y el átomo de nitrógeno al que están unidos R⁵ y R⁶, representa un anillo de 4 a 6 miembros que contiene nitrógeno, opcionalmente sustituido con un grupo =O;

R⁷ representa alquilo C₁₋₆ lineal, ramificado o cíclico;

50 Y representa CH₂ o (CH₂)₂.

55 Cuando R⁴ representa OR^{8a}, los compuestos preferidos de la invención incluyen aquellos en los que R^{8a} representa alquilo C₁₋₆ lineal o ramificado, alquilo cíclico C₄₋₅, estando estos dos últimos grupos opcionalmente interrumpidos con oxígeno, o fenilo o alquilfenilo C₁₋₂ (por ejemplo, bencilo), estando la parte fenólica de estos dos últimos grupos opcionalmente sustituida con uno o más grupos halo, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄, estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos a su vez con uno o dos o más grupos halo, o R^{8a} representa CH₂OC(O)R¹¹, en el que R¹¹ representa fenilo, alquilo C₁₋₆ lineal, ramificado o cíclico, estando este último grupo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de OH, CO₂H y fenilo, u OR¹², en el que R¹² representa fenilo o alquilo C₁₋₆ lineal, ramificado o cíclico, estando este último grupo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de OH, CO₂H y fenilo.

60 Cuando R⁴ representa C(O)OR^{8b}, los compuestos preferidos de la invención incluyen aquellos en los que R^{8b} representa alquilfenilo C₁₋₂ lineal o ramificado o fenilo, estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos con uno o más grupos halo, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄, estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos a su vez con uno o dos o más grupos halo.

65 Los compuestos preferidos de la invención incluyen aquellos en los que R¹ está unido al anillo fenílico en la posición 3, con relación al grupo -CH(OH)- al que también está unido el anillo fenílico. El sustituyente opcional R²

ES 2 295 004 T3

está unido preferiblemente al anillo fenílico en la posición 5, con relación al grupo -CH(OH)- al que también está unido el anillo fenílico.

5 Cuando el grupo $N(R^5)R^6$ representa un fragmento estructural Ia, el fragmento está preferiblemente no sustituido.

Compuestos más preferidos de la invención incluyen aquellos en los que:

R^1 representa $N(R^5)R^6$;

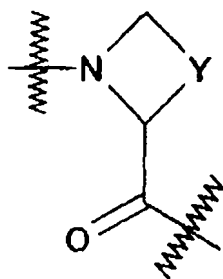
10 R^3 está ausente, o, si está presente, representa metilo o cloro, preferiblemente en la posición 2 con relación al grupo -CH₂- al que también está unido el anillo fenílico;

R^{8a} representa alquilo C₁₋₄ lineal o ramificado (opcionalmente interrumpido con oxígeno) o alquilo cíclico C₄₋₅ interrumpido con oxígeno;

15 R^5 representa alquilo C₁₋₄, o, junto con R^6 y el átomo de nitrógeno al que están unidos R^5 y R^6 , representa un anillo de 5 ó 6 miembros que contiene nitrógeno, opcionalmente sustituido con un grupo =O;

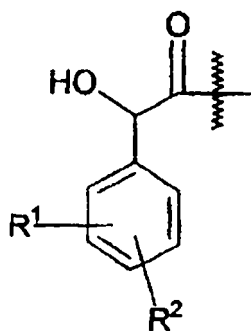
20 R^6 representa alquilo C₁₋₄ (por ejemplo, metilo), C(O)-alquilo C₁₋₆ (por ejemplo, C(O)-alquilo C₁₋₄), o, junto con R^5 y el átomo de nitrógeno al que están unidos R^5 y R^6 , representa un anillo de 5 ó 6 miembros que contiene nitrógeno, opcionalmente sustituido con un grupo =O.

Se prefieren los compuestos de fórmula I en los cuales el fragmento



está en la configuración S.

40 Se prefieren los compuestos de fórmula I en los cuales el fragmento



está en la configuración R.

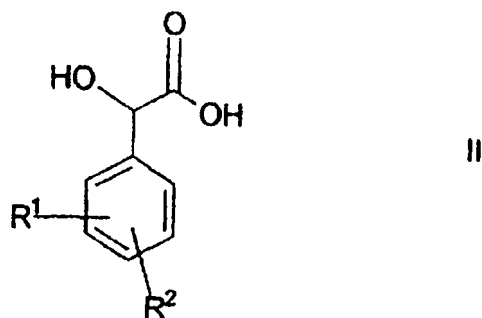
60 Las líneas onduladas en los enlaces, en los dos fragmentos anteriores, significan las posiciones de enlace de los fragmentos.

Compuestos preferidos de fórmula I incluyen los compuestos de los Ejemplos descritos en lo sucesivo.

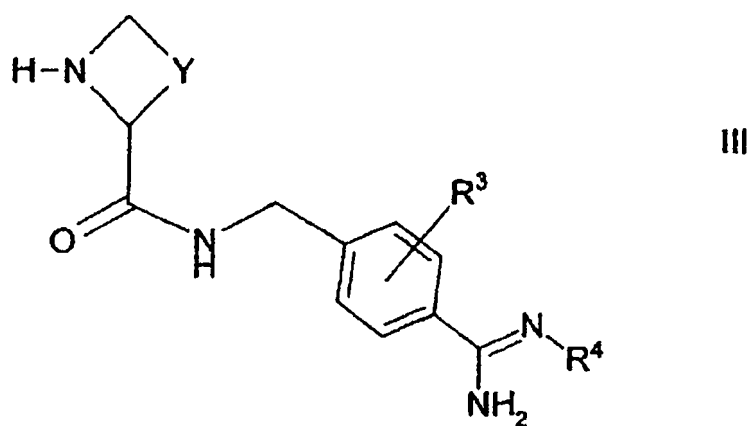
65 Preparación

De acuerdo con la invención, se proporciona también un procedimiento para la preparación de compuestos de fórmula I, que comprende:

(i) acoplar un compuesto de fórmula II,

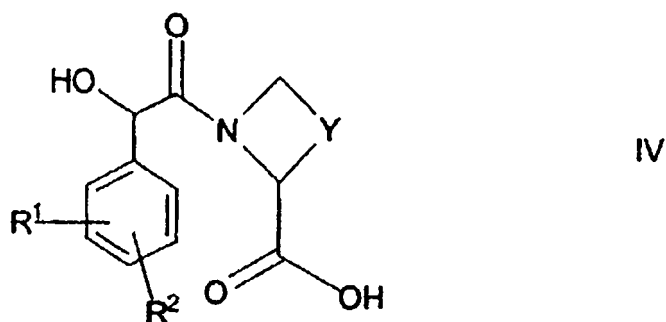


en la que R¹ y R² son como se definen anteriormente en esta memoria, con un compuesto de fórmula III,

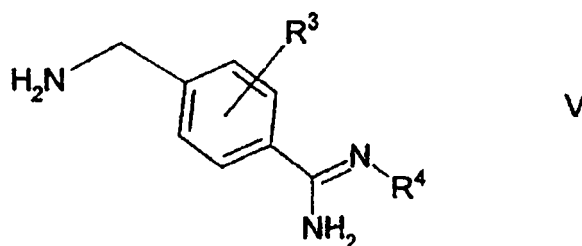


en la que Y, R³ y R⁴ son como se definen anteriormente en esta memoria, por ejemplo en presencia de un agente de acoplamiento (por ejemplo, EDC, DCC, HBTU, HATU, TBTU, PyBOP o cloruro de oxalilo en DMF), una base apropiada (por ejemplo, piridina, 2,4,6-trimetilpiridina, 2,4,6-colidina, DMAP, TEA o DIPEA) y un disolvente orgánico adecuado (por ejemplo, diclorometano, acetonitrilo o DMF);

(ii) acoplar un compuesto de fórmula IV,



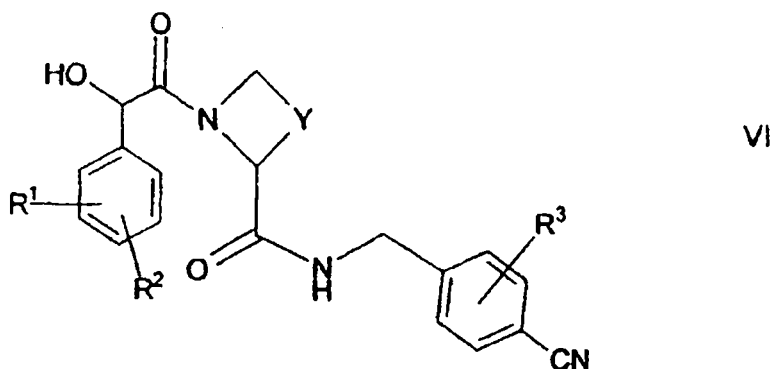
en la que R¹, R² e Y son como se definen anteriormente en esta memoria, con un compuesto de fórmula V,



ES 2 295 004 T3

en la que R^3 y R^4 son como se definen anteriormente en esta memoria, por ejemplo en presencia de un sistema de acoplamiento (por ejemplo, cloruro de oxalilo en DMF, EDC, DCC, HBTU, HATU, PyBOP o TBTU), una base apropiada (por ejemplo, piridina, 2,4,6-trimetilpiridina, DMAP, TEA, 2,4,6-colidina o DIPEA) y un disolvente orgánico adecuado (por ejemplo, diclorometano, acetonitrilo o DMF);

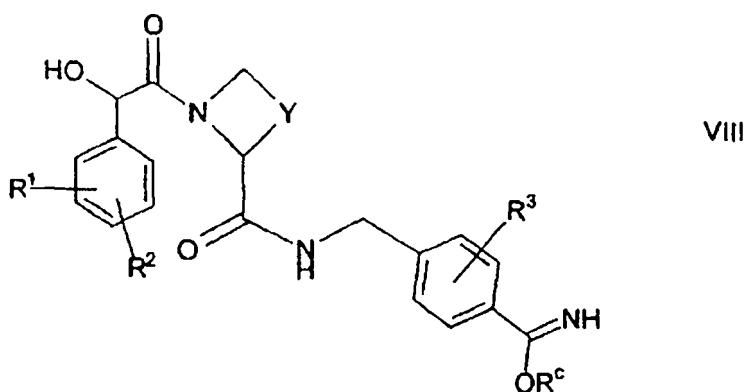
- (iii) para compuestos de fórmula I en la que R^4 representa OH u OR^{8a} , hacer reaccionar un compuesto de fórmula VI,



en la que R^1 , R^2 , Y y R^3 son como se definen anteriormente en esta memoria, con un compuesto de fórmula VII,



en la que R^a representa H o R^{8a} , y R^{8a} es como se define aquí anteriormente, por ejemplo a una temperatura entre 40 y 60°C, en presencia de una base adecuada (por ejemplo TEA) y un disolvente orgánico apropiado (por ejemplo, THF, CH_3CN , DMF o DMSO), opcionalmente pretratando el compuesto de fórmula VI con HCl gaseoso, en presencia de un alcohol de alquilo inferior (por ejemplo, de alquilo de C_{1-6}) (por ejemplo, etanol) a, por ejemplo, 0°C, para formar un compuesto de fórmula VIII,



en la que R^c representa alquilo inferior (por ejemplo, C_{1-6}), tal como etilo, y R^1 , R^2 , Y y R^3 son como se definen anteriormente en esta memoria, compuesto el cual se puede aislar si se desea;

- (iv) para compuestos de fórmula I en la que R^4 representa OH u OR^{8a} , hacer reaccionar un compuesto que corresponde a un compuesto de fórmula I, en la que está presente un grupo protector $C(O)OR^{b1}$ en lugar de R^4 , en el que R^{b1} representa un grupo tal como 2-trimetilsililetilo, alquilo C_{1-6} o alquilfenilo (por ejemplo, bencilo), con un compuesto de fórmula VII como se define aquí anteriormente, por ejemplo en condiciones de reacción similares a las descritas aquí anteriormente para la preparación de compuestos de fórmula I (etapa (iii)) (la persona experta apreciará que, en tal reacción, el derivado amidínico doblemente protegido (es decir, protegido con $C(O)OR^{b1}$ y OR^a) se puede aislar, en algunos casos, si se desea, y el grupo $C(O)OR^{b1}$ se puede eliminar entonces usando técnicas convencionales);

ES 2 295 004 T3

- (v) para compuestos de fórmula I en la que R⁴ representa C(O)OR^{8b}, hacer reaccionar un compuesto de fórmula I en la que R⁴ representa H con un compuesto de fórmula IX,



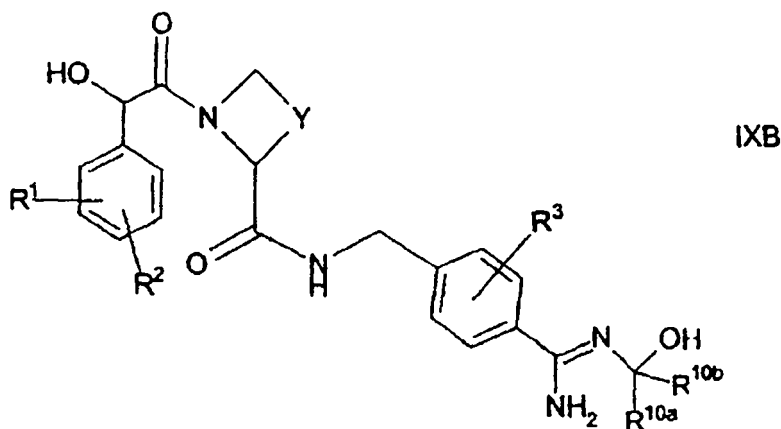
en la que L¹ representa un grupo saliente adecuado, tal como halo o *p*-nitrofenoxi, y R^{8b} es como se define aquí anteriormente, por ejemplo 0°C en presencia de una base adecuada (por ejemplo, NaOH) y un disolvente orgánico apropiado (por ejemplo, THF) y/o agua;

- (vi) para compuestos de fórmula I en la que R⁴ representa OR^{8a}, hacer reaccionar un compuesto correspondiente de fórmula I, en la que R⁴ representa OH, con un compuesto de fórmula IXA,



en la que R^{8a} y L¹ son como se definen aquí anteriormente, por ejemplo a una temperatura entre 0°C y la temperatura de reflujo, opcionalmente en presencia de un disolvente apropiado (por ejemplo, DCM, THF, MeCN o DMF) y una base adecuada (por ejemplo, Et₃N o piridina);

- (vii) para compuestos de fórmula I en la que R⁴ representa R^{8c}, en la que R^{8c} representa C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R¹¹ o C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R¹², hacer reaccionar un compuesto correspondiente de fórmula IXB,



en la que R¹, R², Y, R³, R^{10a} y R^{10b} son como se definen anteriormente en esta memoria, con un compuesto de fórmula IXC,



en la que R¹³ representa R¹¹ o N(H)R¹², y L¹, R¹¹ y R¹² son como se definen aquí anteriormente, por ejemplo en condiciones descritas aquí anteriormente (etapa (vi) del procedimiento);

- (viii) para compuestos de fórmula I en la que R⁴ representa R^{8c}, hacer reaccionar un compuesto correspondiente de fórmula I, en la que R⁴ representa H, con un compuesto de fórmula IXD,



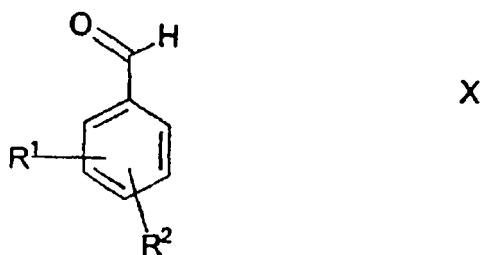
en la que R¹⁴ representa OC(O)R¹¹, NHC(O)OR¹² o OC(O)N(H)R¹², y L¹, R^{10a}, R^{10b}, R¹¹ y R¹² son como se definen aquí anteriormente, por ejemplo en condiciones descritas aquí anteriormente (etapa (vi) del procedimiento);

para compuestos de fórmula I en la que R¹ incluye un grupo S(O) o un grupo S(O)₂, oxidar un compuesto correspondiente de fórmula I, en la que R¹ incluye un grupo S, en presencia de una cantidad apropiada de un agente oxidante adecuado (por ejemplo, *m*CPBA o peroximonosulfato de potasio) y un disolvente orgánico apropiado (por ejemplo, CH₂Cl₂, metanol, agua o sus mezclas (por ejemplo, metanol/agua)).

Los compuestos de fórmula II están disponibles utilizando técnicas conocidas y/o estándar.

ES 2 295 004 T3

Por ejemplo, los compuestos de fórmula II se pueden preparar haciendo reaccionar un aldehído de fórmula X,



10

15

en la que R¹ y R² son como se definen aquí anteriormente, con:

- (a) un compuesto de fórmula XI,

20



XI

25

en la que R'' representa H o (CH₃)₃Si, por ejemplo a temperatura ambiente, o elevada, (por ejemplo, por debajo de 100°C), en presencia de un disolvente orgánico adecuado (por ejemplo, cloroformo o cloruro de metileno), y, si es necesario, en presencia de una base adecuada (por ejemplo, TEA) y/o un sistema catalítico adecuado (por ejemplo, cloruro de bencilamonio o yoduro de zinc), seguido de la hidrólisis en condiciones que son bien conocidas por los expertos en la técnica (por ejemplo, como se describe en lo sucesivo);

30

- (b) NaCN o KCN, por ejemplo en presencia de NaHSO₃ y agua, seguido de la hidrólisis;

35

- (c) cloroformo, por ejemplo a temperatura elevada (por ejemplo, por encima de la temperatura ambiente, pero por debajo de 100°C), en presencia de un disolvente orgánico adecuado (por ejemplo, cloroformo), y, si es necesario, en presencia de un sistema catalítico adecuado (por ejemplo, cloruro de bencilamonio), seguido del hidrólisis;

40

- (d) un compuesto de fórmula XII,



XII

45

en la que M representa Mg o Li, seguido de la escisión oxidativa (por ejemplo, ozonolisis o catalizada por osmio o rutenio) en condiciones que son bien conocidas por los expertos en la técnica; o

- (e) tris(metiltio)metano, en condiciones que son bien conocidas por los expertos en la técnica, seguido de la hidrólisis en presencia de, por ejemplo, HgO y HBF₄.

50

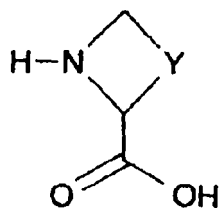
Las formas enantiómeras de los compuestos de fórmula II (es decir, aquellos compuestos que tienen configuraciones diferentes de los sustituyentes alrededor del átomo de carbono en α con respecto al grupo CO₂H) se pueden separar mediante una etapa de formación de derivados enantioespecífica. Esto se puede lograr, por ejemplo, mediante un procedimiento enzimático. Tales procedimientos enzimáticos incluyen, por ejemplo, la transesterificación del grupo α-OH a una temperatura entre la temperatura ambiente y la temperatura de reflujo (por ejemplo, a una temperatura entre 45 y 55°C), en presencia de una enzima adecuada (por ejemplo, Lipase PS Amano), un éster apropiado (por ejemplo, acetato de vinilo) y un disolvente adecuado (por ejemplo, metil-*tert*-butil-éter). El isómero derivatizado se puede separar entonces del isómero sin reaccionar, mediante técnicas convencionales de separación (por ejemplo, cromatografía).

60

Los grupos añadidos a los compuestos de fórmula II en tal etapa de derivatización se pueden eliminar antes de que tenga lugar cualquier reacción posterior, o bien en cualquier etapa posterior en la síntesis de los compuestos de fórmula I. Los grupos adicionales se pueden eliminar usando técnicas convencionales (por ejemplo, para ésteres del grupo α-OH, hidrólisis en condiciones conocidas por los expertos en la técnica (por ejemplo, a una temperatura entre la temperatura ambiente y la temperatura de reflujo, en presencia de una base adecuada (por ejemplo, NaOH) y un disolvente apropiado (por ejemplo, MeOH, agua o sus mezclas))).

65

Los compuestos de fórmula III se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula XIII

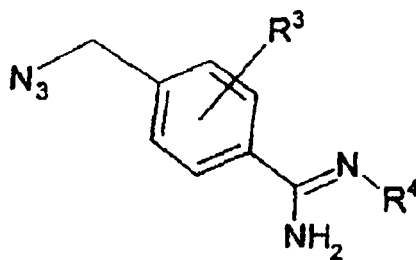


XIII

en la que Y es como se define anteriormente en esta memoria, con un compuesto de fórmula V como se define anteriormente en esta memoria, por ejemplo en condiciones tales como las descritas anteriormente en esta memoria para la síntesis de compuestos de fórmula I (véanse, por ejemplo, las etapas (i) y (ii) del procedimiento).

Los compuestos de fórmula IV están fácilmente disponibles usando técnicas conocidas. Por ejemplo, los compuestos de fórmula IV se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula II como se define anteriormente en esta memoria con un compuesto de fórmula XIII como se define anteriormente en esta memoria, por ejemplo en condiciones tales como las descritas anteriormente en esta memoria para la síntesis de compuestos de fórmula I (véanse, por ejemplo, las etapas (i) y (ii) del procedimiento).

Los compuestos de fórmula V son conocidos en la bibliografía, y/o se pueden preparar usando técnicas conocidas. Por ejemplo, los compuestos de fórmula V se pueden preparar reduciendo un compuesto de fórmula XIV,



XIV

en la que R^3 y R^4 son como se definen aquí anteriormente, en condiciones que son bien conocidas por los expertos en la técnica.

Los compuestos de fórmula VI se pueden preparar según técnicas de acoplamiento de péptidos, por ejemplo de manera análoga a los métodos descritos aquí anteriormente para compuestos de fórmula I (véanse, por ejemplo, las etapas (i) y (ii) del procedimiento). Si se desea, los compuestos de fórmula VIII también se pueden preparar de esta manera.

Los compuestos de fórmula IXB se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto correspondiente de fórmula I, en la que R^4 representa H, con un exceso de un compuesto de fórmula IVA,

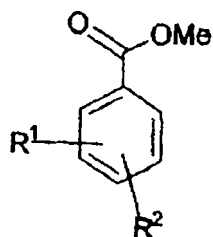


XIVA

en la que R^{10a} y R^{10b} son como se definen aquí anteriormente, por ejemplo en condiciones conocidas por los expertos en la técnica.

Los compuestos de fórmula X están comercialmente disponibles, son bien conocidos en la bibliografía, o están disponibles usando técnicas conocidas y/o estándar.

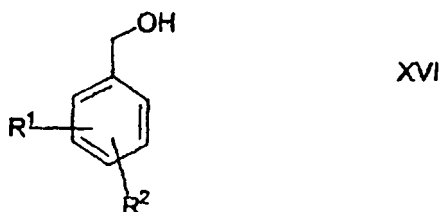
Por ejemplo, los compuestos de fórmula X se pueden preparar reduciendo un compuesto de fórmula XV,



XV

en la que R^1 y R^2 son como se definen aquí anteriormente, en presencia de un agente reductor adecuado (por ejemplo, DIBAL-H).

Como alternativa, los compuestos de fórmula X se pueden preparar oxidando un compuesto de fórmula XVI,



en la que R¹ y R² son como se definen aquí anteriormente, en presencia de un agente oxidante adecuado (por ejemplo, clorocromato de piridinio o una combinación de DMSO y cloruro de oxalilo).

15 Los compuestos de fórmulas II, IV, VI, VIII, X, XV y XVI, en las que R¹ incluye un grupo S(O) o un grupo S(O)₂, se pueden preparar oxidando un compuesto correspondiente de fórmula II, IV, VI, VIII, X, XV o XVI (según sea apropiado), en las que R¹ incluye un grupo S, por ejemplo como se describe aquí anteriormente.

20 Los compuestos de fórmulas VII, IX, IXA, IXC, IXD, XI, XII, XIII, XIV, XIVA, XV y XVI, y sus derivados, están comercialmente disponibles, son conocidos en la bibliografía, o se pueden obtener por analogía con los procedimientos descritos aquí, o mediante procedimientos sintéticos convencionales, según técnicas estándar, a partir de materiales de partida fácilmente disponibles, usando reactivos y condiciones de reacción apropiados (por ejemplo, como se describe aquí en lo sucesivo).

25 Los sustituyentes en el anillo o anillos aromáticos y/o no aromáticos, carbocíclicos y heterocíclicos, en los compuestos de fórmulas I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX, IXA, IXB, IXC, IXD, X, XIII, XIV, XV y XVI, se pueden introducir y/o interconvertir usando técnicas bien conocidas por los expertos en la técnica. Por ejemplo, el nitro se puede reducir a amino, el amino se puede alquilar o acilar para dar alquil- y/o acilamino, el amino se puede convertir en pirrolo (por condensación con un 2,5-dimetoxitetrahydrofurano en presencia de un catalizador, tal como pentóxido de fósforo), el amino se puede convertir (*vía* diazotación) en halo o (por ejemplo, mediante la reacción con un compuesto 1,4- o 1,5-dihaloalquilado o un β- o γ-haloéster) en un anillo que contiene nitrógeno (opcionalmente sustituido con un grupo =O), el yodo se puede convertir en heterociclos que contienen nitrógeno (por ejemplo imidazolilo y piperidinilo, por tratamiento con imidazol o piperidina en condiciones de Buchwald), el hidroxilo nitrogenado se puede alquilar para dar alcoxi, el alcoxi se puede hidrolizar a hidroxilo, los alquenos se pueden hidrogenar a alcanos, el halo se puede hidrogenar a H, etc. A este respecto, los compuestos de fórmula XV, en la que R¹ representa -N(CH₃)₂, y R² representa cloro o metilo, se pueden obtener a partir de ésteres metílicos de ácidos benzoicos yodo-cloro o yodo-metil disustituidos, comercialmente disponibles, usando aminación catalizada por Pd, por ejemplo como se describe por Wolfe *et al* en Tetrahedron Lett. 38, 6367 (1997), seguido de la aminación reductora (por ejemplo usando HCHO y un agente reductor tal como Na(CN)BH₃ o una combinación de óxido de Pt(IV) e hidrógeno), o la alquilación (por ejemplo usando MeI y una base apropiada), de la anilina resultante. Los compuestos de fórmula XV en la que R¹ representa -S(O)_mCH₃ (en el que m es como se define aquí anteriormente) y R² representa cloro o metilo se pueden obtener a partir de la anilina resultante descrita anteriormente (o a partir del ácido benzoico correspondiente) *vía* diazotación, seguido del tratamiento de la sal de diazonio con etilxantato de potasio, y después la hidrólisis del intermedio, para dar el tiofenol correspondiente, por ejemplo como se describe por Tarbell *et al* en "Organic Synthesis", Coll. Vol. III, p 809-11 (1955). El tiofenol resultante se puede alquilar entonces (por ejemplo usando un yoduro de alquilo apropiado, en presencia de una base adecuada en EtOH), y después (si es necesario) se puede oxidar para formar la sulfona o el sulfóxido (por ejemplo usando *m*CPBA en CH₂Cl₂ o peroximonosulfato de potasio en metanol/agua).

50 Los compuestos de fórmula I se pueden aislar a partir de sus mezclas de reacción usando técnicas convencionales.

Los expertos en la técnica apreciarán que, en los procesos descritos anteriormente, los grupos funcionales de los compuestos intermedios pueden precisar ser protegidos por medio de grupos protectores.

55 Los grupos funcionales que es deseable proteger incluyen hidroxilo, amino, aldehído, ácido 2-hidroxicarboxílico y ácido carboxílico. Los grupos protectores adecuados para hidroxilo incluyen grupos trialkilsililo o diarilalkilsililo (por ejemplo *t*-butildimetilsililo, *t*-butildifenilsililo o trimetilsililo) y tetrahidropirano. Los grupos protectores adecuados para ácido carboxílico incluyen ésteres de alquilo C₁₋₆ o bencílicos. Los grupos protectores adecuados para amino y amidino incluyen *t*-butiloxycarbonilo, benciloxycarbonilo o 2-trimetilsililetoxycarbonilo (Teoc). Los nitrógenos amidínicos también pueden ser protegidos por grupos hidroxilo o alcoxi, y pueden ser mono- o diprotegidos. Los aldehídos se pueden proteger como acetales, haciéndolos reaccionar con, por ejemplo, etilenglicol. Los ácidos 2-hidroxicarboxílicos se pueden proteger condensándolos, por ejemplo, con acetona.

65 La protección y desprotección de grupos funcionales puede tener lugar antes o después del acoplamiento, o antes o después de cualquier otra reacción en los esquemas anteriormente mencionados.

Los grupos protectores se pueden eliminar de acuerdo con técnicas que son bien conocidas por los expertos en la técnica y como se describen más adelante en esta memoria.

ES 2 295 004 T3

Las personas expertas en la técnica apreciarán que, a fin de obtener compuestos de fórmula I de una manera alternativa, y, en algunas ocasiones, más conveniente, las etapas individuales del procedimiento, mencionadas aquí anteriormente, se pueden llevar a cabo en diferente orden, y/o las reacciones individuales se pueden llevar a cabo en una etapa diferente en la ruta global (es decir, los sustituyentes se pueden añadir a, y/o las transformaciones químicas se pueden llevar a cabo sobre, intermedios diferentes a los mencionados aquí anteriormente en relación con una reacción particular). Esto puede hacer innecesario, o necesario, la necesidad de grupos protectores.

Por ejemplo, esto es particularmente cierto con respecto a la síntesis de compuestos de fórmula I en la que R^4 no representa H. En este caso, los grupos OH, OR^{8a} , $C(O)OR^{8b}$ y/o R^{8c} se pueden introducir en una etapa más temprana en la síntesis global, usando etapas del procedimiento descritas aquí anteriormente (véanse, por ejemplo, las etapas (iii) a (viii) del procedimiento). Además, puede ser necesario proteger el grupo OH del ácido mandélico de los compuestos de fórmulas II y IV, antes de las etapas de acoplamiento descritas anteriormente.

En consecuencia, el orden y tipo de química implicada dictará la necesidad, y tipo, de grupos protectores, así como la secuencia para lograr la síntesis.

El uso de grupos protectores se describe detalladamente en "Protective Groups in Organic Chemistry", editado por J.W.F. McOmie, Plenum Press (1973), y en "Protective Groups in Organic Synthesis", segunda edición, T.W. Greene y P.G.M. Wutz, Wiley-Interscience (1991).

Los derivados protegidos de los compuestos de fórmula I se pueden convertir químicamente en compuestos de fórmula I usando técnicas de desprotección estándar (por ejemplo, hidrogenación). La persona experta también apreciará que cierto compuestos de fórmula I también se pueden denominar como "derivados protegidos" de otros compuestos de fórmula I.

Uso médico y farmacéutico

Los compuestos de la invención pueden poseer actividad farmacológica como tales. Los compuestos de la invención que poseen tal actividad incluyen, pero no se limitan a, aquellos en los que R^4 es H.

Sin embargo, otros compuestos de fórmula I (incluyendo aquellos en los que R^4 no es H) pueden no poseer tal actividad, pero se pueden administrar por vías parenteral u oral y metabolizar posteriormente en el cuerpo para formar compuestos que son farmacológicamente activos (incluyendo, pero sin limitarse a, los compuestos correspondientes en los que R^4 es H). Tales compuestos (que también incluyen compuestos que pueden poseer cierta actividad farmacológica, pero esa actividad es apreciablemente menor que la de los compuestos "activos" en los que se metabolizan) se pueden describir por lo tanto como "profármacos" de los compuestos activos.

De este modo, los compuestos de la invención son útiles debido a que poseen actividad farmacológica, y/o se metabolizan en el organismo, tras la administración oral o parenteral, para formar compuestos que poseen actividad farmacológica. Por lo tanto, los compuestos de la invención están indicados como productos farmacéuticos.

Según un aspecto adicional de la invención, se proporcionan de este modo los compuestos de la invención para uso como productos farmacéuticos.

En particular, los compuestos de la invención son inhibidores potentes de la trombina, ya sea como tales y/o (por ejemplo, en el caso de profármacos) se metabolizan después de su administración para formar inhibidores potentes de la trombina, por ejemplo como se demuestra en los ensayos descritos más adelante.

Por "profármaco de un inhibidor de trombina" se incluyen compuestos que forman un inhibidor de trombina, en una cantidad detectable de forma experimental, y dentro de un tiempo predeterminado (por ejemplo, alrededor de 1 hora), tras la administración oral o parenteral.

De este modo, se espera que los compuestos de la invención sean útiles en aquellas patologías en las cuales se requiera la inhibición de la trombina.

Los compuestos de la invención están indicados de este modo en el tratamiento y/o la profilaxis de la trombosis y la hipercoagulabilidad en la sangre y los tejidos de los animales, incluyendo el hombre.

Es sabido que la hipercoagulabilidad puede conducir a enfermedades tromboembólicas. Las patologías asociadas con la hipercoagulabilidad y enfermedades tromboembólicas que se pueden mencionar incluyen la resistencia heredada o adquirida a la proteína C activada, tal como la mutación del factor V (factor V Leiden), y deficiencias heredadas o adquiridas en antitrombina III, proteína C, proteína S y cofactor II de heparina. Otras patologías que se sabe que están asociadas con la hipercoagulabilidad y la enfermedad tromboembólica incluyen anticuerpos antifosfolípido circulantes (anticoagulante del Lupus), homocisteinemia, trombocitopenia inducida por heparina, y defectos en la fibrinolisis. Los compuestos de la invención están indicados de este modo en el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de estas patologías.

ES 2 295 004 T3

Los compuestos de la invención están indicados adicionalmente en el tratamiento de patologías en las cuales existe un exceso indeseable de trombina sin síntomas de hipercoagulabilidad, por ejemplo en enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer.

5 Estados mórbidos particulares que se pueden mencionar incluyen el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de trombosis venosa y embolia pulmonar, trombosis arterial (por ejemplo en el infarto de miocardio, angina inestable, accidente cerebrovascular agudo debido a trombosis, y trombosis arterial periférica) y embolia sistémica, habitualmente de la aurícula durante fibrilación arterial, o del ventrículo izquierdo después de infarto transmural de miocardio.

10 Además, se espera que los compuestos de la invención tengan utilidad en la profilaxis de la re-oclusión (es decir, trombosis) después de trombolisis, angioplastia transluminal percutánea (PTA) y operaciones con derivación (bypass) coronaria; la prevención de la re-trombosis después de microcirugía y cirugía vascular en general.

15 Indicaciones adicionales incluyen el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de la coagulación intravascular disseminada, provocada por bacterias, traumatismos múltiples, intoxicación o cualquier otro mecanismo; tratamiento anticoagulante cuando la sangre está en contacto con superficies extrañas en el cuerpo, tales como injertos vasculares, endoprótesis (stents) vasculares, catéteres vasculares, válvulas protésicas mecánicas y biológicas o cualquier otro dispositivo médico; y tratamiento anticoagulante cuando la sangre está en contacto con dispositivos médicos que están fuera del cuerpo, tales como durante la cirugía cardiovascular usando un sistema de circulación extracorporeal o en hemodiálisis.

20 Además de sus efectos en el proceso de la coagulación, se sabe que la trombina activa un gran número de células (tales como neutrófilos, fibroblastos, células endoteliales y células de la musculatura lisa). Por esta razón, los compuestos de la invención también pueden ser útiles para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico del síndrome de angustia idiopático y del síndrome disneico del adulto, de la fibrosis pulmonar después de tratamiento con radiación o quimioterapia, choque séptico, septicemia, respuestas inflamatorias, que incluyen, pero sin carácter limitante, edema, aterosclerosis aguda o crónica tal como arteriopatía coronaria, arteriopatía cerebral, arteriopatía periférica, lesión por reperfusión, y restenosis después de angioplastia trans-luminal percutánea (PTA).

30 Los compuestos de la invención que inhiben la tripsina y/o la trombina también pueden ser útiles en el tratamiento de la pancreatitis.

35 Según un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona un método de tratamiento de una patología en la que se requiere la inhibición de trombina, método el cual comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, a una persona que padece una patología de este tipo, o es propenso a padecerla.

40 Los compuestos de la invención se administrarán normalmente por vías oral, intravenosa, subcutánea, bucal, rectal, dérmica, nasal, traqueal, bronquial, por cualquier otra vía parenteral o por inhalación, en forma de preparaciones farmacéuticas que comprenden el compuesto activo como base libre, o como una sal de adición de ácidos orgánicos o inorgánicos, no tóxica, farmacéuticamente aceptable, en una forma de dosificación farmacéuticamente aceptable. Dependiendo del trastorno y del paciente a tratar, así como de la vía de administración, las composiciones se pueden administrar en dosis variables.

45 Los compuestos de la invención también se pueden combinar y/o coadministrar con cualquier agente antitrombótico que tenga un mecanismo de acción diferente, tal como los agentes antiplaquetarios ácido acetilsalicílico, ticlopidina, clopidogrel, inhibidores del receptor de tromboxano y/o de la sintetasa, antagonistas del receptor de fibrinógeno, mímicos de la prostaciclina e inhibidores de las fosfodiesterasas, así como antagonistas de los receptores de ADP (P₂T).

50 Los compuestos de la invención se pueden combinar y/o coadministrar además con trombolíticos tales como el activador del plasminógeno tisular (natural, recombinante o modificado), estreptoquinasa, uroquinasa, prouroquinasa, complejo activador de plasminógeno-estreptoquinasa anisoilado (APSAC), activadores del plasminógeno de las glándulas salivares de animales, en el tratamiento de enfermedades trombóticas, en particular del infarto de miocardio.

55 Según un aspecto adicional de la invención, se proporciona de este modo una formulación farmacéutica que incluye un compuesto de la invención, en mezcla con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

60 Dosis diarias adecuadas de los compuestos de la invención en el tratamiento terapéutico de los seres humanos son alrededor de 0,001-100 mg/kg de peso corporal para administración peroral, y de 0,001-50 mg/kg de peso corporal para administración parenteral.

65 Los compuestos de la invención tienen la ventaja de que pueden, o se pueden metabolizar a compuestos que pueden ser más eficaces, menos tóxicos, de acción más prolongada, tener un campo de actividad más amplio, ser más potentes, producir menos efectos secundarios y ser absorbidos más fácilmente que los compuestos conocidos en la técnica anterior; o pueden tener otras propiedades farmacológicas, físicas, o químicas útiles, superiores a las de éstos últimos.

Ensayos biológicos

Ensayo A

5 *Determinación del Tiempo de Coagulación de la Trombina (TT)*

La disolución de inhibidor (25 μ l) se incubó durante tres minutos con plasma (25 μ l). Después se añadió trombina humana (T 6769, Sigma Chem Co o Hematologic Technologies) en disolución tampón, de pH 7,4 (25 μ l, 4,0 unidades NIH/ml), y se midió el tiempo de coagulación en un dispositivo automático (KC 10, Amelung).

10

El tiempo de coagulación de la trombina (TT) se expresa en valores absolutos (segundos), así como la relación de TT sin inhibidor (TT₀) a TT con inhibidor (TT_i). Estas últimas relaciones (intervalo 1-0) se representaron gráficamente frente a la concentración de inhibidor (transformada del log), y se ajustaron a curvas sigmoidales de dosis frente a respuesta, según la ecuación:

15

$$y = a/[1 + (x/IC_{50})^s]$$

20

en la que: a = intervalo máximo, es decir, 1; s = pendiente de la curva de dosis frente a respuesta; e IC₅₀ = la concentración de inhibidor que duplica el tiempo de coagulación.

Los cálculos se procesaron en un ordenador personal PC usando el programa de ordenador GraFit versión 3, ajustando la ecuación a: Comienzo a 0, fin definido = 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, London, UK).

25

Ensayo B

30 *Determinación de la Inhibición de la Trombina con un Ensayo Robotizado Cromógeno*

30

Se midió la potencia de los inhibidores de la trombina con un método de sustrato cromógeno, en un procesador de microplacas robotizado Plato 3300 (Rosys AG, CH-8634 Hombrechtikon, Suiza), usando placas de microtitulación de 96 pocillos, de mitad de volumen (Costar, Cambridge, MA, Estados Unidos; n° de cat. 3690). Las disoluciones madre de la sustancia de ensayo en DMSO (72 μ l), 0,1-1 mmol/l, se diluyeron en serie 1:3 (24 + 48 μ l) con DMSO para obtener diez concentraciones diferentes, las cuales se analizaron como muestras en el ensayo. Se añadieron 2 μ l de muestra de ensayo diluida con 124 μ l de tampón de ensayo, 12 μ l de disolución de sustrato cromógeno (S-2366, Chromogenix, Mölndal, Suecia) en tampón de ensayo, y finalmente 12 μ l de disolución de α -trombina (α -Trombina Humana, Sigma Chemical Co. o Hematologic Technologies) en tampón de ensayo, y las muestras se mezclaron. Las concentraciones de ensayo finales fueron: sustancia de ensayo 0,00068-13,3 μ mol/l, S-2366 0,30 mmol/l, α -trombina 0,020 NIHU/ml. Se usó el incremento lineal de absorbancia durante 40 minutos de incubación a 37°C para el cálculo del porcentaje de inhibición para las muestras de ensayo, en comparación con muestras en blanco sin inhibidor. El valor CI₅₀ robotizado, correspondiente a la concentración de inhibidor que causaba 50% de inhibición de la actividad de trombina, se calculó a partir de una curva de log concentración frente a % de inhibición.

45

Ensayo C

50 *Determinación de la Constante de Inhibición K_i para Trombina Humana*

50

Se hicieron determinaciones de K_i usando un método de sustrato cromógeno, realizado a 37°C en un analizador centrífugo Cobas Bio (Roche, Basilea, Suiza). Se determinó la actividad enzimática residual después de la incubación de α -trombina humana con diversas concentraciones de compuesto de ensayo, a tres concentraciones de sustrato diferentes, y se midió como el cambio en absorbancia óptica a 405 nm.

55

Se mezclaron disoluciones del compuesto de ensayo (100 μ l; normalmente en tampón o disolución salina que contenía BSA 10 g/l) con 200 μ l de α -trombina humana (Sigma Chemical Co) en tampón de ensayo (0,05 moles/l Tris-HCl, pH 7,4, fuerza iónica 0,15 ajustada con NaCl) que contenía BSA (10 g/l), y se analizaron como muestras en el Cobas Bio. Se añadió una muestra de 60 μ l, junto con 20 μ l de agua, a 320 μ l del sustrato S-2238 (Chromogenix AB, Mölndal, Suecia) en tampón de ensayo, y se monitorizó el cambio de absorbancia (ΔA /min). Las concentraciones finales de S-2238 fueron 16, 24 y 50 μ moles/l, y las de trombina 0,125 NIH U/ml.

60

Se usó la velocidad de reacción en estado estacionario para construir gráficas de Dixon, es decir, diagramas de concentración de inhibidor frente a 1/(ΔA /min). Para los inhibidores competitivos reversibles, los puntos de datos para las diferentes concentraciones de sustrato forman típicamente líneas rectas que cortan el eje x en x = - K_i.

65

ES 2 295 004 T3

Ensayo D

Determinación del Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada (APTT)

5 El APTT se determinó en plasma humano normal reunido, tratado con citrato, con el reactivo PTT Automated 5 fabricado por Stago. Se añadieron los inhibidores al plasma (10 μ l de disolución de inhibidor a 90 μ l de plasma), y se incubó con el reactivo de APTT durante 3 minutos, seguido de la adición de 100 μ l de disolución de cloruro de calcio (0,025 M), y se determinó el APTT usando el analizador de coagulación KC10 (Amelung) de acuerdo con las instrucciones del fabricante del reactivo.

10 El tiempo de coagulación se expresa en valores absolutos (segundos), así como la relación de APTT sin inhibidor (APTT₀) a APTT con inhibidor (APTT_i). Estas últimas relaciones (intervalo 1-0) se representaron gráficamente frente a la concentración de inhibidor (transformada del log), y se ajustaron a curvas sigmoidales de dosis frente a respuesta, según la ecuación:

$$15 \quad y = a/[1 + (x/IC_{50})^s]$$

20 en la que: a = intervalo máximo, es decir, 1; s = pendiente de la curva de dosis frente a respuesta; e IC₅₀ = la concentración de inhibidor que duplica el tiempo de coagulación.

25 Los cálculos se procesaron en un ordenador personal PC usando el programa de ordenador GraFit versión 3, ajustando la ecuación a: Comienzo a 0, fin definido = 1 (Erithacus Software, Robin Leatherbarrow, Imperial College of Science, London, UK).

El valor IC₅₀APTT se define como la concentración de inhibidor en plasma humano que duplica el Tiempo Parcial de Tromboplastina Activada.

30 Ensayo E

Determinación del Tiempo de Trombina ex vivo

35 La inhibición de la trombina después de administración oral o parenteral de los compuestos de fórmula I, disueltos en etanol:SolutolTM:agua (5:5:90), se examinó en ratas conscientes en las que, uno o dos días antes del experimento, se había insertado un catéter para toma de muestras de sangre de la arteria carótida. El día del experimento, se extrajeron muestras de sangre en tiempos determinados después de la administración del compuesto en tubos de plástico que contenían 1 parte de disolución de citrato de sodio (0,13 moles por l) y 9 partes de sangre. Los tubos se centrifugaron para obtener plasma pobre en plaquetas. El plasma se usó para determinar el tiempo de trombina o el tiempo de coagulación de ecarina (ECT), como se describe más adelante.

40 El plasma de rata tratado con citrato, 100 μ l, se diluyó con una disolución salina, 0,9%, 100 μ l, y se inició la coagulación del plasma por adición de trombina humana (T 6769, Sigma Chem Co, Estados Unidos, o Hematologic Technologies) en una disolución tampón, pH 7,4, 100 μ l, o ecarina (Pentapharm). El tiempo de coagulación se midió en un dispositivo automático (KC 10, Amelung, Alemania).

45 Cuando se administró un compuesto "profármaco" de fórmula I, las concentraciones del inhibidor de trombina activo apropiado de fórmula I (por ejemplo, el compuesto de amidina libre) en el plasma de rata se estimaron mediante el uso de curvas estándar que relacionaban el tiempo de trombina o el tiempo de coagulación de ecarina en el plasma de rata reunido, tratado con citrato, con concentraciones conocidas del inhibidor de trombina "activo" correspondiente disuelto en disolución salina.

50 Basándose en las concentraciones estimadas en plasma del inhibidor activo de trombina (lo que supone que la prolongación del tiempo de trombina o de ECT está provocada por el compuesto mencionado anteriormente) en la rata, se calculó el área bajo la curva después de administración oral y/o parenteral del compuesto profármaco correspondiente de fórmula Ia (AUCpd), usando la regla del trapecio y la extrapolación de los datos hasta el infinito.

55 La biodisponibilidad del inhibidor activo de trombina después de la administración oral o parenteral del profármaco se calculó como se indica a continuación:

$$60 \quad [(AUCpd/dosis)/(AUCactivo, parenteral/dosis)] \times 100$$

65 en la que AUCactivo,parenteral representa el valor AUC obtenido después de la administración parenteral, a ratas conscientes, del inhibidor activo de trombina correspondiente, como se describe anteriormente.

ES 2 295 004 T3

Ensayo F

Determinación del Tiempo de Trombina en Orina ex vivo

5 La cantidad del inhibidor “activo” de trombina que se excretaba en orina después de la administración oral o parenteral de los compuestos “profármacos” de la invención, disueltos en etanol:Solutol™:agua (5:5:90), se estimó determinando el tiempo de trombina en orina *ex vivo* (suponiendo que la prolongación del tiempo de trombina es provocada por el compuesto anteriormente mencionado).

10 Se enjaularon ratas conscientes en jaulas de metabolismo, que permitían la recogida por separado de orina y heces, durante 24 horas después de administración oral de los compuestos de la invención. El tiempo de trombina se determinó sobre la orina recogida como se describe a continuación.

15 Se incubó plasma humano normal reunido (100 μ l), tratado con citrato, con la orina de rata concentrada, o diluciones de la misma en disolución salina, durante un minuto. Se inició luego la coagulación del plasma mediante la administración de trombina humana (T 6769, Sigma Chem Company) en disolución tampón (pH 7,4; 100 μ l). El tiempo de coagulación se midió en un dispositivo automático (KC 10; Amelung).

20 Las concentraciones del inhibidor activo de trombina en la orina de rata se estimaron mediante el uso de curvas estándar que relacionaban el tiempo de trombina en el plasma humano normal reunido, tratado con citrato, con concentraciones conocidas del inhibidor activo de trombina mencionado anteriormente disuelto en orina de rata concentrada (o sus diluciones en disolución salina). Multiplicando la producción total de orina de rata a lo largo del periodo de 24 horas por la concentración media estimada del inhibidor activo anteriormente mencionado en la orina, se pudo calcular la cantidad del inhibidor activo excretada en la orina (CANTIDADpd).

25 La biodisponibilidad del inhibidor activo de trombina después de administración oral o parenteral del profármaco se calculó como se indica a continuación:

$$30 \quad \frac{[(\text{CANTIDADpd}/\text{dosis})/(\text{CANTIDADactivo, parenteral}/\text{dosis})] \times 100$$

en la que CANTIDADactivo,parenteral representa la cantidad excretada en la orina después de la administración parenteral del inhibidor activo de trombina correspondiente a ratas conscientes como se describe anteriormente.

35 Ensayo G

Activación metabólica de los compuestos profármacos in vitro

40 Los compuestos profármacos de fórmula I se incubaron a 37°C con microsomas hepáticos o fracciones de sobrenadantes de 10.000 g (referido a la velocidad de centrifugación) (es decir, fracción s9) preparada a partir de homogenado hepático humano o de rata. La concentración total de proteína en las incubaciones fueron 1 ó 3 mg/ml disuelta en 0,05 moles/l de tampón TRIS (pH 7,4), y estando presentes los cofactores NADH (2,5 mmoles/l) y NADPH (0,8 mmoles/l). El volumen total del incubado fue 1,2 ml. Las concentraciones iniciales de profármaco fueron 5 ó 10 μ moles/l. Las muestras se recogieron del incubado a intervalos regulares durante más de 60 minutos después del comienzo de la incubaciones. Las muestras (25 μ l) procedentes del incubado se mezclaron con un volumen igual de plasma humano o de rata y una cantidad apropiada de trombina, y se midió el tiempo de coagulación (es decir, el tiempo de trombina) en un coagulómetro (KC 10; Amelung). La cantidad de inhibidor “activo” de trombina formado se estimó mediante el uso de curvas estándar que relacionaban el tiempo de trombina, en plasma humano o de rata reunido, tratado con citrato, con concentraciones conocidas del “inhibidor activo de trombina” correspondiente.

50 La cantidad de inhibidor “activo” de trombina se estimó como alternativa, o además del método anteriormente mencionado, mediante el uso de LC-MS.

55 Ejemplos

La invención se ilustra por medio de los siguientes ejemplos. Los aminoácidos Pro y Aze se definen como los isómeros S, si no se especifica de otro modo. Los ejemplos se obtuvieron como diastereómeros, si no se especifica de otro modo.

65

ES 2 295 004 T3

Ejemplo 1

Ph(3-N(Me)₂)-(R)- o -(S)CH(OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc

5 (i) *Ph(3-N(Me)₂)-CHO*

Una mezcla de Ph(3-N(Me)₂)-CH₂OH (1,9 g; 12,6 mmoles) y MnO₂ (8,8 g; 100 mmoles) en CH₂Cl₂ se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 días. La mezcla se filtró a través de Celite[®], y el filtrado se evaporó. El producto bruto se cromatografió de forma ultrarrápida sobre gel de sílice usando éter iso-propílico:trimetilpentano (7:3) como eluyente. Rendimiento 0,93 g (50%).

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 9,89 (s, 1H), 7,37 (m, 1H), 7,17-7,25 (m, 2H), 7,05 (m, 1H), 2,98 (s, 6H).

15 (ii) *Ph(3-N(Me)₂)-(R,S)CH(OSiMe₃)CN*

Se añadió TMS-CN (0,75 ml; 6,0 mmoles), gota a gota, a una mezcla de Ph(3-N(Me)₂)-CHO (0,9 g; 6,0 mmoles; procedente de la etapa (i) anterior) y Et₃N (0,08 ml; 6,0 mmoles) en CH₂Cl₂ (15 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se añadieron Et₃N (0,08 ml; 6,1 mmoles) y TMS-CN (0,75 ml; 6,0 mmoles) adicionales, y la agitación se continuó durante otras 24 horas. La mezcla de reacción se evaporó, produciendo 1,35 g (90%) del compuesto del subtítulo.

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 7,27 (t, 1H), 6,78-6,84 (m, 2H), 6,74 (dd, 1H), 5,47 (s, 1H), 3,00 (s, 6H).

25 (iii) *Ph(3-N(Me)₂)-(R,S)CH(OH)-C(O)OH*

Una mezcla de Ph(3-N(Me)₂)-(R,S)CH(OSiMe₃)CN (1,35 g; 5,43 mmoles; procedente de la etapa (ii) anterior) y HCl (20 ml; conc.) se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos, y después a una temperatura entre 90°C y 100°C (en un baño de aceite), durante 3 horas. La mezcla de reacción se evaporó, y se añadió H₂O. La capa acuosa ácida se lavó con Et₂O y se puso sobre una resina de intercambio catiónico (IR-120, 10-15 g; el intercambiador catiónico se preparó previamente suspendiéndolo en NaOH (2 M)), y después la suspensión se vertió en una columna. El intercambiador catiónico se lavó posteriormente con HCl (2 M; 2 x 50 ml), H₂O (2 x 50 ml), y después con H₂O hasta que el pH fue neutro, y el producto se eluyó con NH₄OH/ac. (1 M). La capa acuosa resultante se evaporó y se liofilizó produciendo 0,78 g (74%) del compuesto del subtítulo.

LC-MS: (M-1) 194 m/z

RMN ¹H (500 MHz; CD₃OD): δ 7,15 (t, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,84 (d, 1H), 6,69 (dd, 1H), 4,85 (s, 1H), 2,92 (s, 6H).

40 (iv) *Ph(3-N(Me)₂)-(R)- o -(S)CH(OH)-C(O)OH x HCl*

Los enantiómeros de Ph(3-N(Me)₂)-(R,S)CH(OH)-C(O)OH (etapa (iii) anterior) se separaron mediante HPLC preparativa, usando Chiralcel[™] OD como fase estacionaria, y n-heptano:2-propanol:ácido fórmico (80:20:1) como fase móvil. El enantiómero que eluyó el último se evaporó y se liofilizó, después se redisolvió en agua, y se añadieron 3 eq. de HCl 1 M. La disolución se liofilizó para dar la sal de hidrócloruro que dio un [α]_D²⁰ de -63,7° (c=1,0, MeOH). El exceso enantiomérico fue 97%, según se determinó mediante HPLC quiral analítica.

50 (v) *Ph(3-N(Me)₂)-(R)- o -(S)CH(OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)*

Se añadió a 0°C DIPEA (1,03 ml; 6,15 mmoles) a una mezcla de Ph(3-N(Me)₂)-(R)- o -(S)CH(OH)-C(O)OH x HCl (0,36 g; 1,54 mmoles; el producto separado/aislado de la etapa (iv) anterior), H-Aze-Pab(Z) x 2 HCl (0,743 g; 1,69 mmoles; véase la Solicitud de Patente Internacional WO 97/02284) y TBTU (0,543 g; 1,69 mmoles) en DMF (10 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 días, se vertió en H₂O (400 ml), y el pH se ajustó hasta 10 mediante adición de NaHCO₃/ac. La capa acuosa se extrajo con EtOAc, y después la capa orgánica se lavó con NaHCO₃/ac., H₂O y NaCl/ac., se secó (Na₂SO₄), y se evaporó. El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando CH₂Cl₂:MeOH (95:5) como eluyente. El producto se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa para dar 203 mg (24%) del compuesto del subtítulo.

LC-MS: (M+1) 544; (M-1) 542 m/z

65 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,20 (t, 1H), 7,75 (d, 2H), 7,43 (d, 2H), 7,18-7,38 (m, 6H), 6,61-6,72 (m, 3H), 5,20 (s, 2H), 4,88 (s, 1H), 4,84 (dd, 1H), 4,36-4,52 (m, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,63 (m, 1H), 2,93 (s, 6H), 2,54 (m, 1H), 2,30 (m, 1H).

ES 2 295 004 T3

(vi) *Ph(3-N(Me)₂)-(R)- o -(S)CH(OH)-C(O)-Aze-Pab x HOAc*

Una mezcla de *Ph(3-N(Me)₂)-(R)- o -(S)CH(OH)-C(O)-Aze-Pab(Z)* (112 mg; 0,206 mmoles; procedente de la etapa (v) anterior), HOAc (0,41 ml) y Pd/C 10% en EtOH (7 ml) se hidrogenó a presión atmosférica y temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite[®], y el filtrado se evaporó y se liofilizó (x 2) produciendo 90 mg (93%) de cristales blancos.

LC-MS: (M+1) 410; (M-1) 408 m/z

RMN ¹H (500 MHz; CD₃OD): δ 7,74 (d, 2H), 7,54 (d, 2H), 7,21 (t, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,73-6,77 (m, 2H), 5,11 (s, 1H), 4,77 (dd, 1H), 4,52 (dd, 2H), 4,30 (m, 1H), 3,92 (m, 1H), 2,92 (s, 6H), 2,46 (m, 1H), 2,27 (m, 1H).

RMN ¹³C (125 MHz; CDCl₃): (carbonos carbonílicos y/o amidínicos) δ 173,3, 171,9, 167,0.

Ejemplo 2

Ph(3-N(Me)₂)-(R)- o -(S)CH(OH)-CO-Aze-Pab(OMe)

(i) *Azida 4-(amino, metoxiiminometil)benzónica*

Una mezcla de hidrocloreuro de O-metilhidroxilamina (10,5 g; 125 mmoles), trietilamina (56 ml) y metanol (200 ml) se añadió a hidrocloreuro de azida 4-etilimidatobenzónica (22,5 g; 110 mmoles; preparado según el método descrito en el documento WO 94/29336) en éter dietílico. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 a 4 días. La mayor parte del metanol se eliminó *a vacío* y se reemplazó con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con H₂O, HOAc/ac. (1,5%; pH 4), NaHCO₃/ac. y se secó (Na₂SO₄). La disolución resultante se diluyó con acetato de etilo hasta 500 ml, y se concentraron 25 ml de la disolución diluida para evaluar el rendimiento. El rendimiento total fue alrededor de 20 g.

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,66 (d, 2H), 7,36 (d, 2H), 4,37 (s, 2H), 3,83 (s, 3H).

(ii) *H-Pab(OMe)*

Se añadió óxido de platino (200 mg) a una disolución de azida 4-(amino, metoxiiminometil)benzónica (10 g; 0,049 moles; procedente de la etapa (i) anterior) en 200 ml de etanol. La mezcla se hidrogenó a presión atmosférica durante 8 horas, se filtró a través de Celite[™] y se concentró. El producto bruto se usó directamente en la siguiente etapa.

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,60 (d, 2H), 7,37 (d, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,80 (s, 2H).

(iii) *Boc-Aze-Pab(OMe)*

Se añadió DIPEA (17,5 ml; 105 mmoles) a una disolución enfriada en hielo de Boc-Aze-OH (9,7 g; 48 mmoles; véase la Solicitud de Patente Internacional WO 97/02284) y H-Pab(OMe) (9,4 g; 52 mmoles; procedente de la etapa (ii) anterior) y TBTU (18,5 g; 58 mmoles) en DMF (100 ml), y la mezcla se agitó toda la noche a RT. La mezcla resultante se vertió en agua (50 ml), el pH se ajustó hasta aprox. 9, y la mezcla se extrajo tres veces con EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ (ac.), agua y salmuera, se secó (Na₂SO₄), y se concentró. El producto bruto se purificó con cromatografía ultrarrápida (gel de Si; EtOAc). El rendimiento fue 11,9 g (69%).

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 7,60 (d, 2H); 7,31 (d, 2H); 4,78 (b, 2H); 4,69 (t, 1H); 4,50 (b, 2H); 3,92 (s+m, 4H); 3,79 (m, 1H); 2,46 (b, 2H); 2,04 (s, 3H).

(iv) *Aze-Pab(OMe) x 2HCl*

Una disolución de Boc-Aze-Pab(OMe) (9,4 g; 26 mmoles; procedente de la etapa (iii) anterior) en EtOAc (250 ml) se saturó con HCl (g). Se añadió EtOH (abs.; 125 ml) a la emulsión resultante, y la mezcla se sometió a ultrasonidos durante 10 minutos. Se añadió EtOAc hasta que la disolución se puso turbia, después de lo cual el producto del título cristalizó pronto. Rendimiento 6,7 g (77%).

LC-MS: (M+1) 263 (m/z)

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,74 (d, 2H); 7,58 (d, 2H); 5,13 (t, 1H); 4,57 (m, 2H); 4,15 (m, 2H); 3,97 (s+m, 4H); 2,87 (m, 1H); 2,57 (m, 1H).

RMN ¹³C (75 MHz; CDCl₃): (carbonos carbonílicos y/o amidínicos) δ 168,9; 168,8; 161,9.

ES 2 295 004 T3

(v) *Ph(3-N(Me)₂)-(R) o -(S)CH(OH)-C(O)-Aze-Pab(OMe)*

Una mezcla de *Ph(3-N(Me)₂)-(R) o -(S)CH(OH)-C(O)OH* x HCl (118 mg; 0,51 mmoles; véase el Ejemplo 1(iv) anterior) y HATU (214 mg; 0,56 mmoles) en DMF (3 ml) se agitó a 0°C durante 1,5 horas. Se mezclaron separadamente *H-Aze-Pab(OMe) x 2 HCl* (189 mg, 0,56 mmoles; procedente de la etapa (iv) anterior), 2,4,6-trimetilpiridina (0,3 ml, 2,25 mmoles) y DMF (3 ml) antes de añadirlos, gota a gota, a la primera mezcla a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 3 horas, se puso en el frigorífico durante 3 días, y se evaporó. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa para dar 140 mg (62%) del compuesto del título.

LC-MS: (M+1) 440; (M-1) 438 m/z

RMN ¹H (500 MHz; CD₃OD): δ 8,60 (t, 1H), 7,61 (d, 2H), 7,37 (d, 2H), 7,22 (t, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,77 (d, 2H), 5,08 (s, 1H), 4,75 (dd, 1H), 4,46 (dd, 2H), 4,26 (m, 1H), 3,90 (m, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,94 (s, 6H), 2,44 (m, 1H), 2,26 (m, 1H).

RMN ¹³C (125 MHz; CD₃OD): (carbonos carbonílicos y/o amidínicos) δ 173,3, 171,8, 154,9.

Ejemplo 3

Ph(3-SMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) *Ph(3-SMe)-(R,S)CH(OTMS)CN*

A una disolución de *Ph(3-SMe)-CHO* (19,8 g, 130 mmoles) y ZnI₂ (2,1 g, 6,50 mmoles) en CH₂Cl₂ (450 ml) a 0°C en nitrógeno se añadió, gota a gota, cianuro de trimetilsililo (14,2 g, 143 mmoles). Después de agitar toda la noche a 25°C, la mezcla naranja se paralizó con H₂O (450 ml). La capa orgánica se separó y se lavó con salmuera saturada (300 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró *a vacío* para dar 32,0 g (98% bruto) del compuesto del subtítulo como un aceite naranja que se usó sin purificación.

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 7,20-7,41 (m, 4H), 5,50 (s, 1H), 2,51 (s, 3H), 0,23 (s, 9H).

(ii) *Ph(3-SMe)-(R,S)CH(OH)C(O)OH*

Una disolución de *Ph(3-SMe)-(R,S)CH(OTMS)CN* (32,0 g, 130 mmoles; véase la etapa (i) anterior) en HCl concentrado (250 ml) se puso a reflujo durante 2,5 h. La mezcla se basificó con NaOH 6 N (450 ml) y se lavó con Et₂O (3 x 300 ml) para eliminar las impurezas orgánicas. La capa acuosa se acidificó con HCl 6 N (150 ml) y se extrajo con EtOAc (4 x 500 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío* para dar 22,6 g (90% de rendimiento bruto) del compuesto del subtítulo como un aceite naranja que cristalizó hasta un sólido amarillo-bronceado al dejar reposar.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,20-7,40 (m, 4H), 5,12 (s, 1H), 2,50 (s, 3H).

(iii) *Ph(3-SMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (a) y *Ph(3-SMe)-(S) o -(R)CH(OAc)C(O)OH* (b)

Una mezcla de *Ph(3-SMe)-(R,S)CH(OH)C(O)OH* (2,0 g, 10,1 mmoles; véase la etapa (ii) anterior), Lipase PS Amano (1,0 g), acetato de vinilo (5,0 ml) y MTBE (5,0 ml) se calentó a 45°C durante 24 h. La reacción se filtró, y la torta del filtro se lavó con EtOAc (100 ml). El filtrado se concentró *a vacío* y se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con una mezcla de CHCl₃:MeOH:NH₃ (ac., sat.) (6:3:1), para dar 630 mg, (32%) del compuesto del subtítulo (a) como un aceite amarillo, y 850 mg (35%) del compuesto del subtítulo (b) como un sólido bronceado.

Para el compuesto del subtítulo (a):

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,38 (s, 1H), 7,10-7,25 (m, 3H), 5,08 (s, 1H), 2,40 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz; CD₃OD): δ 178,4, 142,6, 140,2, 130,0, 127,3, 126,4, 125,2, 75,5, 15,8.

Análisis HPLC: 98,9%, 96,0% ee

[α]_D²⁵ = -119,8° (c = 1,0, MeOH)

CI-MS: (M+1) 199 m/z

Para el compuesto del subtítulo (b):

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,62 (s, 1H), 7,32-7,44 (m, 3H), 5,82 (s, 1H), 2,62 (s, 3H), 2,30 (s, 3H).

ES 2 295 004 T3

(iv) Boc-Aze-Pab x HCOOH

Se añadieron formato de amonio (3,0 g; 50 mmoles) y Pd/C (5%; 1,0 g) a una disolución de Boc-Aze-Pab(Z) (4,7 g; 10 mmoles; véase la Solicitud de Patente Internacional WO 94/29336) en 50 ml de MeOH. Se añadió ácido fórmico (1,0 g; 22 mmoles), y la mezcla se agitó durante 30 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de Hyflo, y la disolución se concentró. El producto bruto se suspendió en CH₂Cl₂ (50 ml), se filtró y se lavó con más CH₂Cl₂. El material sólido se secó y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

(v) Boc-Aze-Pab(Teoc)

Se añadió carbonato de Teoc-p-nitrofenilo (3,5 g; 12,3 mmoles) a una disolución de Boc-Aze-Pab x HCOOH (3,7 g; 10 mmoles; véase la etapa (iv) anterior) en THF (100 ml), después de lo cual se añadió una disolución de K₂CO₃ (1,8 g; 13 mmoles) en agua (20 ml) durante 2 minutos. La disolución resultante se agitó durante 3 días, se concentró, y el resto se recogió en EtOAc (150 ml) y NaOH (ac.; 0,5 M; 50 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (2 x 50 ml), se secó (Na₂SO₄) y se concentró. El producto bruto se purificó usando cromatografía ultrarrápida (gel de Si; cloruro de metileno:acetona; 4:1). Rendimiento 4,6 g (96%).

RMN ¹H (500 MHz; CDCl₃): δ 7,86 (d, 2H), 7,39 (d, 2H), 4,72 (bt, 1H), 4,7-4,5 (br, 2H), 3,93 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 2,48 (br, 2H), 1,43 (s, 9H), 0,09 (s, 9H).

(vi) H-Aze-Pab(Teoc) x HCl

Una disolución de Boc-Aze-Pab(Teoc) (4,6 g; 9,6 mmoles; véase la etapa (v) anterior) en cloruro de metileno (150 ml) se saturó con HCl seco. La disolución se mantuvo a RT en un matraz cerrado con un tapón durante 10 minutos, después de lo cual se concentró. Rendimiento 4,2 g (97%).

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,80 (d, 2H), 7,60 (d, 2H), 5,10 (m, 1H), 4,60 (bs, 2H), 4,15 (m, 1H), 3,97 (q, 1H), 2,86 (m, 1H), 2,57 (m, 1H), 0,11 (s, 9H).

(vii) Ph(3-SMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Una mezcla de Ph(3-SMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH (300 mg, 1,51 mmoles; véase la etapa (iii)(a) anterior), H-Aze-Pab(Teoc) (627 mg, 1,66 mmoles; véase la etapa (vi) anterior), TBTU (632 mg, 1,66 mmoles), y DIPEA (391 mg, 3,03 mmoles) en DMF (8,0 ml) se agitó a 0°C y después a 25°C toda la noche. La reacción se paralizó con H₂O (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío*. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con CH₂Cl₂:MeOH (9:1), para dar 150 mg (18%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,74-7,86 (m, 2H), 7,10-7,45 (m, 6H), 5,10-5,15 (m, 2H), 4,70-4,81 (m, 1H), 3,90-4,44 (m, 6H), 2,50 (s, 3H), 2,10-2,32 (m, 2H), 1,02-1,18 (m, 2H), 0,10 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 557 m/z

(viii) Ph(3-SMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

Una mezcla de Ph(3-SMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (80 mg, 0,19 mmoles; véase la etapa (vii) anterior) y TFA (2,0 ml) en CH₂Cl₂ (2 ml) se agitó a 0°C durante 3 horas. La disolución se concentró *a vacío*, y el residuo se disolvió en agua y se liofilizó para dar 90 mg (87%) del compuesto del título.

LC-MS: (M+1) 413; (M-1) 411 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD; mezcla de rotámeros): δ 7,74 (m, 2H), 7,52 (m, 2H), 7,38-7,13 (m, 4H), 5,2-5,0 (m, 1H), 4,79 (m, 1H), 4,62-3,94 (m, 4H), 2,68, 2,49 (2m, 1H), 2,28, 2,14 (2m, 1H), 2,45 (s, 3H).

RMN ¹³C (100 MHz): δ 185,0, 172,8, 171,8, 167,0.

Ejemplo 4

Ph(3-SO₂Me)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) Ph(3-SO₂Me)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH

Una mezcla de Ph(3-SMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH (890 mg, 4,49 mmoles; véase el Ejemplo 3(iii)(a) anterior) y Oxone® (8,3 g, 13,5 mmoles) en MeOH (40 ml) y H₂O (25 ml) se agitó a 0°C y después a 25°C toda la noche. Los sólidos se filtraron y se lavaron con EtOAc (200 ml). El filtrado se concentró *a vacío*, se diluyó H₂O (50 ml), y después se extrajo con EtOAc (4 x 60 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío*. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₃ (ac., sat.) (6:3:1), para dar 150 mg (15%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

ES 2 295 004 T3

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 8,10 (s, 1H), 7,80-7,88 (m, 2H), 7,55 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 5,02 (s, 1H), 3,10 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz; CD₃OD): δ 178,4, 145,6, 142,2, 133,2, 130,3, 127,4, 126,2, 75,5, 42,4.

Análisis HPLC: 94,8%, > 99% ee

[α]_D²⁵ = -86,2° (c = 1,0, MeOH)

API-MS: (M-1) 229 m/z

(ii) *Ph(3-SO₂Me)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)*

Una mezcla de *Ph(3-SO₂Me)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (400 mg, 1,74 mmoles; véase la etapa (i) anterior), *H-Aze-Pab(Teoc)* (720 mg, 1,91 mmoles; véase el Ejemplo 3(vi) anterior), PyBOP (995 mg, 1,91 mmoles), y 2,4,6-colidina (463 mg, 3,83 mmoles) en DMF (10 ml) se agitó a 0°C y después a 25°C toda la noche. La mezcla se paralizó con H₂O (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío*. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH (15:1), para dar 570 mg (57%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,58-8,10 (m, 6H), 7,40-7,50 (m, 2H), 5,32 (s, 1H), 5,25 (s, 1H), 4,70-4,81 (m, 1H), 3,97-4,54 (m, 6H), 3,20 (s, 3H), 2,10-2,82 (m, 2H), 1,02-1,18 (m, 2H), 0,10 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 589 m/z

(iii) *Ph(3-SO₂Me)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA*

Se añadió TFA (3 ml) a una disolución enfriada de *Ph(3-SO₂Me)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)* (65 mg, 0,11 mmoles; véase la etapa (ii) anterior) en cloruro de metileno (0,5 ml), y la disolución se agitó durante 100 min. La disolución resultante se concentró, se añadió agua, y la disolución acuosa se liofilizó, produciendo 60 mg (96%) del compuesto del título.

LC-MS: (M+1) 445; (M-1) 443 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 8,10-7,45 (m, 8H), 5,34, 5,25 (2m, 1H), 4,81 (m, 1H), 4,62-3,93 (m, 4H), 3,10 (s, 3H), 2,70, 2,54 (m, 1H), 2,28, 2,17 (m, 1H).

RMN ¹³C (carbonos carbonílicos y/o amidínicos; 100 MHz): δ 172,2, 171,7, 167,0, 161,0.

Ejemplo 5

Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) *Ph(3-Cl,5-NO₂)-(R,S)CH(OTMS)CN*

Se añadió ZnI₂ (2,1 g, 6,5 mmoles) a una disolución de 3-cloro-5-nitrobenzaldehído (24,1 g, 0,13 moles) en CH₂Cl₂ (1,0 l). La suspensión resultante se enfrió hasta 0°C y se añadió cianuro de trimetilsililo (13,9 g, 0,14 moles) durante 5 min. La disolución se agitó a 0°C durante 3 h, se calentó hasta 25°C y se agitó durante 18 h. La reacción se diluyó con H₂O y los orgánicos se separaron, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y después se concentraron *a vacío* para dar 36,8 g (99%) del compuesto del subtítulo como un aceite.

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 8,21-8,29 (m, 2H), 7,83 (s, 1H), 5,59 (s, 1H), 0,36 (s, 9H).

(ii) *Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH*

Una disolución de *Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R,S)CH(OTMS)CN* (59,0 g, 0,209 moles; véase la etapa (i) anterior) en HCl concentrado (600 ml) se calentó a reflujo durante 3 h. La disolución se enfrió y se concentró *a vacío* hasta 500 ml. La disolución ácida se extrajo con Et₂O (4 x), los orgánicos se lavaron con salmuera (2 x), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y después se concentraron *a vacío* para dar 48,4 g (93%) del compuesto del subtítulo como un sólido que se usó sin purificación adicional.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 8,33 (m, 1H), 8,23 (m, 1H), 7,94 (m, 1H), 5,34 (s, 1H).

(iii) *Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(S) o -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)*

Una mezcla de *Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH* (17,1 g, 73,84 mmoles; véase la etapa (ii) anterior) y Lipase PS Amano (8,5 g) en acetato de vinilo (300 ml) y MTBE (300 ml) se agitó a 55°C durante 24 h. La reacción se filtró a través de Celite®, y la torta del filtro se lavó con Et₂O. El filtrado se concentró *a vacío* y después se

ES 2 295 004 T3

5 cromatografió de forma ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con $\text{CHCl}_3:\text{CH}_3\text{CN}:\text{TFA}$ (180:20:1), para dar 7,1 g (42%) del compuesto del subtítulo (a) como un sólido y 10,7 g (52%) del compuesto del subtítulo (b) como un sólido.

5 Para el compuesto del subtítulo (a):

RMN ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 8,33 (s, 1H), 8,22 (s, 1H), 7,95 (s, 1H), 5,34 (s, 1H).

10 RMN ^{13}C (75 MHz; CD_3OD): δ 174,6, 150,2, 145,2, 136,3, 133,8, 124,1, 121,1, 72,7.

API-MS: (M-1) 230 m/z

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -101,2^\circ$ (c = 1,0, MeOH)

15 Análisis HPLC: 99,6%, 99% ee

Para el compuesto del subtítulo (b):

20 RMN ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 8,32 (m, 1H), 8,28 (m, 1H), 7,96 (m, 1H), 6,10 (s, 1H), 2,21 (s, 3H).

(iv) *Ph(3-Cl, 5-NH₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH*

25 Una mezcla de *Ph(3-Cl, 5-NO₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (3,9 g, 16,8 mmoles; véase la etapa (iii)(a) anterior) y óxido de platino(IV) (0,4 g) en EtOH (200 ml) a 40°C se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 4 h. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite[®], y la torta del filtro se lavó con EtOH. El filtrado se concentró *a vacío* para dar 3,5 g (aprox. 100%) del compuesto del subtítulo como una espuma triturable que se usó sin purificación adicional.

30 RMN ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 6,77 (m, 1H), 6,71 (m, 1H), 6,57 (m, 1H), 4,78 (s, 1H).

(v) *Ph(3-Cl, 5-NHMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH*

35 Método A

Una mezcla de *Ph(3-Cl, 5-NH₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (3,5 g, 16,8 mmoles; véase la etapa (iv) anterior) y formaldehído (1,8 ml de 37% en peso en H_2O , 23,9 mmoles) en EtOH (400 ml) se agitó a 25°C durante 18 h. La disolución se concentró *a vacío* para dar una espuma triturable que se combinó con óxido de platino(IV) (0,35 g) en EtOH (400 ml) y se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 48 h. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite[®], y la torta del filtro se lavó con EtOH. Los orgánicos se concentraron *a vacío* y se cromatografió de forma ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_3$ (ac., sat.) (14:5:1), para dar 1,0 g (28%) de la sal de amonio del compuesto del subtítulo como una espuma triturable. Se obtuvo el compuesto del subtítulo 45 haciendo pasar la sal de amonio correspondiente a través de una almohadilla de Amberlite[®] CG-50 con $\text{CH}_3\text{CN}:\text{MeOH}$ (3:1).

Método B

50 Una mezcla de *Ph(3-Cl, 5-NH₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (8,67 g, 43,0 mmoles; véase la etapa (iv) anterior) y yoduro de metilo (6,10 g, 43,0 mmoles) en CH_3CN (500 ml) y MeOH (100 ml) se calentó hasta 50°C durante 24 h. La disolución se concentró *a vacío* y se cromatografió de forma ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_3$ (ac., sat.) (14:5:1), para dar 2,9 g (31%) de la sal de amonio del compuesto del subtítulo como un sólido. Se obtuvo el compuesto del subtítulo 55 haciendo pasar la sal de amonio correspondiente a través de una almohadilla de Amberlite[®] CG-50 con $\text{CH}_3\text{CN}:\text{MeOH}$ (3:1).

RMN ^1H (300 MHz; CD_3OD): δ 6,68 (m, 1H), 6,61 (m, 1H), 6,50 (m, 1H), 4,98 (s, 1H), 2,75 (s, 3H).

60 RMN ^{13}C (75 MHz; CD_3OD): δ 176,8, 153,4, 144,1, 136,7, 116,3, 113,2, 111,0, 74,7, 31,3.

API-MS: (M+1) 216 m/z

Análisis HPLC: 97,2%, 97,9% ee

65 $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -81,6^\circ$ (c = 1,0, MeOH)

ES 2 295 004 T3

(vi) *Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH*

Una disolución de *Ph(3-Cl, 5-NHMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (1,0 g, 4,64 mmoles; véase la etapa (v) anterior) en MeOH (100 ml) se trató con cuatro porciones de anhídrido acético (40,47 g, 4,64 mmoles cada porción) durante un período de 72 h. La disolución se basificó con NaOH 2 N, se agitó durante 3 h, se neutralizó con HCl 2 N y después se concentró *a vacío*. La cromatografía ultrarrápida (2 x) sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₃ (ac., sat.) (6:3:1), proporcionó 0,83 g (69%) de la sal de amonio del compuesto del subtítulo como una espuma triturable. Se obtuvo el compuesto del subtítulo haciendo pasar la sal de amonio correspondiente a través de una almohadilla de Amberlite® CG-50 con CH₃CN:MeOH (3:1).

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,54 (s, 1H), 7,35 (s, 2H), 5,19 (s, 1H), 3,26 (s, 3H), 1,88 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz; CD₃OD): δ 175,3, 172,8, 146,8, 145,2, 136,2, 128,0, 127,5, 125,4, 73,2, 37,6, 22,5.

API-MS: (M+1) 258 m/z

Análisis HPLC: 98,5%, 97,4% ee

[α]_D²⁵ = -97,5° (c = 1,0, MeOH)

(vii) *Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)*

Se añadieron colidina (0,35 g, 2,90 mmoles) y PyBOP (0,75 g, 1,45 mmoles) a una mezcla de *Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (0,34 g, 1,32 mmoles; véase la etapa (vi) anterior) y H-Aze-Pab(Teoc) (0,52 g, 1,39 mmoles; véase el Ejemplo 3(vi) anterior) en DMF (15 ml) a 0°C. La disolución se agitó a 0°C durante 2 h, se calentó hasta 25°C y se agitó durante 2 h y después se concentró *a vacío*. La cromatografía ultrarrápida (2 x) sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:EtOH (95:5), proporcionó 0,36 g (44%) del compuesto del subtítulo como una espuma triturable.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD, mezcla de rotámeros): δ 7,78 (d, 2H, J = 9 Hz), 7,25-7,55 (m, 5H), 5,25 y 4,78 (2m, 1H), 5,22 y 5,15 (2s, 1H), 3,93-4,56 (m, 6H), 3,23 (s, 3H), 2,12-2,78 (m, 2H), 1,87 (s, 3H), 1,04-1,11 (m, 1H), 0,06 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 616 m/z

(viii) *Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA*

Una disolución de *Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)* (73 mg, 0,12 mmoles; véase la etapa (vii) anterior) en TFA (5,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 80 min., después de cuyo tiempo la disolución resultante se evaporó hasta sequedad. El sólido restante se disolvió en agua, y la disolución se liofilizó, produciendo 70 mg (98%) del compuesto del título como una espuma.

LC-MS: (M+1) 472 m/z

RMN ¹H (400 MHz; D₂O): δ 7,74 (dd, 2H), 7,55-7,10 (m, 5H), 5,36, 5,20 (2s, 1H), 5,23, 4,88 (2m, 1H), 4,60-4,05 (m, 4H), 3,38, 3,20 (2s, 3H), 2,80, 2,60 (2m, 1H), 2,38-2,20 (m, 1,5H), 1,87 (2,5H).

RMN ¹³C (carbonos carbonílicos y/o amidínicos; 100 MHz): δ 173,9, 173,3, 172,6, 166,5, 163,3.

Ejemplo 6

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x 2TFA

(i) *Alcohol 3-cloro-5-N,N-dimetilaminobencílico*

Se añadió óxido de platino(IV) (1,25 g) a una disolución de alcohol 3-cloro-5-nitrobencílico (12,5 g, 66,6 mmoles) en EtOH (750 ml). La suspensión resultante se purgó con hidrógeno durante 3 h. Se añadió disolución de formaldehído (37% en peso en H₂O, 97 ml, 1,3 moles), y la mezcla se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 18 h. La disolución se filtró a través de una almohadilla de Celite® y se concentró *a vacío* para dar el producto bruto. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con Hex:EtOAc (7:3), dio 8,2 g (66%) del compuesto del subtítulo como un aceite.

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 6,67 (s, 1H), 6,55-6,63 (m, 2H), 4,58 (d, 2H, J = 7 Hz), 2,96 (s, 6H), 1,74 (t, 1H, J = 7 Hz).

CI-MS: (M+1) 185 m/z

ES 2 295 004 T3

(ii) 3-Cloro-5-N,N-dimetilaminobenzaldehído

Se añadió cloruro de oxalilo (6,16 g, 48,5 mmoles) a una disolución de DMSO (7,58 g, 97,0 mmoles) en CH₂Cl₂ (100 ml) a -78°C durante el transcurso de 10 min. Después de 15 min. adicionales a -78°C, se añadió una disolución de alcohol 3-cloro-5-N,N-dimetilaminobencílico (8,18 g, 44,1 mmoles; véase la etapa (i) anterior) en CH₂Cl₂ (100 ml) durante el transcurso de 15 min. La disolución resultante se agitó a -78°C durante 1 h antes de la adición de DIPEA (28,5 g, 220,5 mmoles). La disolución se calentó hasta 25°C y se agitó durante 18 h, antes de concentrarla *a vacío* para dar el producto bruto. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con Hex:EtOAc (5:1), dio 7,50 g (93%) del compuesto del subtítulo como un sólido amarillo.

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 9,88 (s, 1H), 7,15 (m, 1H), 7,05 (m, 1H), 6,87 (m, 1H), 3,04 (s, 6H).

(iii) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R,S)CH(OTMS)CN

Se añadió ZnI₂ (0,65 g, 2,04 mmoles) a una disolución de 3-cloro-5-N,N-dimetilaminobenzaldehído (7,5 g, 40,8 mmoles; véase la etapa (ii) anterior) en CH₂Cl₂ (300 ml). La suspensión resultante se enfrió hasta 0°C, y se añadió cianuro de trimetilsililo (4,5 g, 44,9 mmoles) durante 5 min. La disolución se agitó a 0°C durante 1 h antes de calentarla hasta 25°C, y se agitó durante 2 h. La mezcla resultante se diluyó con H₂O, y los orgánicos se separaron, se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y después se concentraron *a vacío* para dar 11,7 g (100%) del compuesto del subtítulo como un aceite.

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 6,75 (m, 1H), 6,60-6,68 (m, 2H), 5,39 (s, 1H), 2,97 (s, 6H), 0,28 (s, 9H).

(iv) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Se disolvió Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R,S)CH(OTMS)CN (11,7 g, 41,4 mmoles; véase la etapa (iii) anterior) en HCl concentrado (300 ml) y se calentó a reflujo durante 1,5 h. La disolución se enfrió y se concentró *a vacío*. El residuo se disolvió en H₂O, se neutralizó con NaHCO₃ y se concentró *a vacío*. La mezcla de orgánicos y sales se suspendió en MeOH, se filtró y después se concentró para dar el producto bruto. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₄OH conc. (ac.) (6:3:1), proporcionó 9,0 g (95%) de la sal de amonio del compuesto del subtítulo como un sólido.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 6,77-6,82 (m, 2H), 6,58 (m, 1H), 4,80 (s, 1H), 2,94 (s, 6H).

(v) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(S) o -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)

Una mezcla de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (1,0 g; véase la etapa (iv) anterior) y Lipase PS Amano (0,5 g) en acetato de vinilo (10 ml) y MTBE (10 ml) se agitó a 45°C durante 48 h. La reacción se filtró a través de Celite®, y la torta del filtro se lavó con MeOH. El filtrado se concentró *a vacío* y se cromatografió de forma ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₃ (ac., sat.) (6:3:1), para dar 0,40 g (40%) del compuesto del subtítulo (a) como una espuma triturable y 0,45 g (38%) del compuesto del subtítulo (b) como una espuma triturable. El compuesto del subtítulo (a) se podría purificar adicionalmente mediante cristalización en CH₂Cl₂ y MeOH.

Para el compuesto del subtítulo (a):

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 6,81 (m, 1H), 6,74 (m, 1H), 6,57 (m, 1H), 4,98 (s, 1H), 2,87 (s, 6H).

RMN ¹³C (75 MHz; CD₃OD): δ 180,0, 152,9, 144,8, 135,6, 116,1, 112,2, 110,9, 76,9, 40,5.

API-MS: (M+1) 230 m/z

Análisis HPLC: 98,5%, 97,9% ee

[α]_D²⁵ = -73,5° (c = 0,5, DMSO)

Para el compuesto del subtítulo (b):

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 6,77-6,83 (m, 2H), 6,64 (m, 1H), 5,67 (s, 1H), 2,94 (s, 6H), 2,14 (s, 3H).

(vi) Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Se añadió DIPEA (0,12 g, 0,96 mmoles) y TBTU (0,17 g, 0,53 mmoles) a una mezcla de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH (0,11 g, 0,48 mmoles; véase la etapa (v)(a) anterior) y H-Aze-Pab(Teoc) (0,20 g, 0,53 mmoles, véase el Ejemplo 3(vi)) en DMF (15 ml) a 0°C. La disolución se agitó a 0°C durante 2 h, se calentó hasta 25°C y se agitó durante 18 h y después se concentró *a vacío*. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con un

ES 2 295 004 T3

gradiente de CH₂Cl₂:MeOH (desde 100:0 hasta 95:5), proporcionó 0,25 g del compuesto del subtítulo que se sometió a una segunda cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc:MeOH (30:1), para dar 0,22 g (78%) del compuesto del subtítulo como una espuma triturable.

5 RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD, mezcla de rotámeros): δ 7,78 (d, 2H, J = 9 Hz), 7,42 (d, 2H, J = 9 Hz), 6,62-6,75 (m, 3H), 5,14 y 4,78 (2m, 1H), 5,07 (m, 1H), 4,15-4,57 (m, 4H), 3,94-4,12 (m, 2H), 2,96 (s, 6H), 2,05-2,75 (m, 2H), 1,04-1,13 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 588 m/z

10

(vii) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x 2TFA*

15 Se añadió TFA (4 ml) a una disolución enfriada en hielo de *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab* (Teoc) (84 mg, 0,14 mmoles; véase la etapa (vi) anterior), y la disolución resultante se agitó a 0°C durante 2 h. La disolución se concentró para dar un residuo que se disolvió en agua y después se liofilizó. Esto dio 78 mg (81%) del compuesto del título como un polvo blanco.

LC-MS: (M-1) 442 m/z

20 RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD; mezcla de rotámeros): δ 7,78-7,49 (m, 4H), 6,94-6,79 (m, 4H), 5,15, 5,08 (m, 1H), 5,20, 4,79 (2m, 1H), 4,51 (parte AB de un espectro ABX; 2H), 4,41-3,95 (m, 2H), 2,98 (s, 6H), 2,69, 2,52 (2m, 1H), 2,28, 2,14 (2m, 1H).

25 RMN ¹³C (carbonos carbonílicos y/o amidínicos; 100 MHz): δ 172,5, 171,7, 166,9, 161,0, 160,7.

Ejemplo 7

Ph(3-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

30 (i) *Ph(3-NO₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-NO₂)-(S) o -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)*

35 Una mezcla de *Ph(3-NO₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH* (25 g, 126 mmoles), Lipase PS Amano (12,5 g), acetato de vinilo (150 ml) y MTBE (375 ml) se calentó a 45°C durante 24 h. La reacción se filtró, y la torta del filtro se lavó con EtOAc (500 ml). El filtrado se concentró *a vacío* y se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con una mezcla de CHCl₃:MeOH:NH₃ (ac., sat.) (6:3:1), para dar 9,0 g, (36%) del compuesto del subtítulo (a) como un aceite amarillo y 6,5 g (21%) del compuesto del subtítulo (b) como un sólido bronceado.

Para el compuesto del subtítulo (a):

40

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 8,34 (s, 1H), 8,25 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,82 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,62 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 5,30 (s, 1H).

45 Para el compuesto del subtítulo (b):

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 8,34 (s, 1H), 8,25 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,82 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,62 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 5,82 (s, 1H), 2,20 (s, 3H).

50

(ii) *Ph(3-NH₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH*

55 Una mezcla de *Ph(3-NO₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (8,0 g, 40,6 mmoles; véase la etapa (i)(a) anterior) y paladio al 10% sobre carbón (800 mg) en MeOH (200 ml) se agitó a 25°C en una atmósfera de hidrógeno toda la noche. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite[®], lavándola con EtOAc (250 ml). El filtrado se concentró *a vacío* para dar 7,0 g (100%) del compuesto del subtítulo como una espuma blanca.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,0-7,12 (m, 1H), 6,75-6,90 (m, 2H), 6,60-6,70 (m, 1H), 4,80 (s, 1H).

60

(iii) *Ph(3-NHMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH*

65 Una mezcla de *Ph(3-NH₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (2,9 g, 17,3 mmoles; véase la etapa (ii) anterior) y yoduro de metilo (2,95 g, 20,8 mmoles) en MeOH (50 ml) se calentó a 55°C toda la noche. La mezcla de reacción se concentró *a vacío* y se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₃ (ac., sat.) (6:3:1), para dar 616 mg (20%) del compuesto del subtítulo como un aceite marrón.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,00-7,12 (m, 1H), 6,70-6,80 (m, 2H), 6,50-6,55 (m, 1H), 4,80 (s, 1H), 2,80 (s, 3H).

ES 2 295 004 T3

(iv) *Ph(3-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH*

Una mezcla de *Ph(3-NHMe)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (540 mg, 2,99 mmoles; véase la etapa (iii) anterior) y anhídrido acético (612 mg, 5,98 mmoles) en MeOH (15 ml) se agitó a 25°C en nitrógeno toda la noche. La mezcla se concentró *a vacío* y se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₄OH conc. (ac.) (6:3:1), para dar 380 mg (57%) del compuesto del subtítulo como una espuma blanca.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,51-7,60 (m, 1H), 7,38-7,49 (m, 2H), 7,15-7,25 (m, 1H), 5,04 (s, 1H), 3,22 (s, 3H), 1,85 (s, 3H).

RMN ¹³C (75 MHz; CD₃OD): δ 178,2, 173,6, 145,8, 142,8, 131,5, 127,8, 126,5, 126,2, 75,5, 37,8, 22,5.

Análisis HPLC: 95,7%, 95,3% ee

[α]_D²⁵ = -4,32° (c = 0,5, MeOH)

CI-MS: (M+1) 224 m/z

(v) *Ph(3-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)*

Una mezcla de *Ph(3-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (301 mg, 1,35 mmoles; véase la etapa (iv) anterior), H-Aze-Pab(Teoc) (560 mg, 1,48 mmoles, véase el Ejemplo 3(vi) anterior), PyBOP (774 mg, 1,48 mmoles), y 2,4,6-colidina (360 mg, 2,97 mmoles) en DMF (10 ml) se agitó a 0°C y después a 25°C toda la noche. La mezcla se paralizó con H₂O (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío*. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH (9:1), para dar 175 mg (23%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

RMN ¹H (CD₃OD): δ 7,82-7,90 (m, 2H), 7,20-7,50 (m, 6H), 5,32 (s, 1H), 5,25 (s, 1H), 4,70-4,81 (m, 1H), 3,97-4,54 (m, 6H), 3,20 (s, 3H), 2,10-2,82 (m, 2H), 1,85 (s, 3H), 1,02-1,18 (m, 2H), 0,10 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 582 m/z

(vi) *Ph(3-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc*

Una mezcla de *Ph(3-NMeAc)-(R,S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)* (65 mg, 0,11 mmoles; véase la etapa (v) anterior) y TFA (2,0 ml) en CH₂Cl₂ (2 ml) se agitó a 0°C durante 3 horas. La disolución se concentró *a vacío* a temperatura ambiente, y el residuo se purificó usando HPLC preparativa (CH₃CN:NH₄OAc 0,1 M, gradiente: 0-50% de CH₃CN) y las fracciones de interés se concentraron. El producto se disolvió en agua/HOAc y se liofilizó para dar 55 mg (100%) del compuesto del título.

LC-MS: (M+1) 438; (M-1) 436 m/z

RMN ¹H (400 MHz; D₂O; mezcla de rotámeros): δ 7,74 (m, 3H), 7,61-7,20 (m, 5H), 5,36, 5,24 (2m, 1H), 4,84 (m, 1H), 4,58-3,94 (m, 4H), 3,42-3,08 (m, 3H), 2,80, 2,57 (2m, 1H), 2,36-1,98 (m, 4H), 1,84 (s, 3H).

RMN ¹³C (100 MHz): δ 174,2, 173,1, 172,7, 166,7.

Ejemplo 8

Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA

(i) *Ph(3-NO₂, 5-CF₃)CH₂OH*

Se añadió, gota a gota durante 1 h complejo de borano-tetrahidrofurano (170 ml de 1 M en THF, 170 mmoles), a una disolución de *Ph(3-NO₂, 5-CF₃)CO₂H* (10,0 g, 42,6 mmoles) en THF (50 ml) enfriado hasta 0°C en nitrógeno. La disolución se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 4 h. La disolución se paralizó mediante adición lenta de H₂O, se vertió en EtOAc (200 ml), y después se lavó secuencialmente con H₂O (150 ml) y salmuera (150 ml). La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró, y se concentró *a vacío* para dar 6,9 g (73%) del compuesto del subtítulo como un aceite naranja.

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 8,44 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,01 (s, 1H), 4,92 (d, J = 5,5 Hz, 2H), 2,10 (br s, 1H).

(ii) *Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-CHO*

Se añadió, gota a gota, cloruro de oxalilo (3,0 ml, 34 mmoles) a una disolución de DMSO (4,86 ml, 68,6 mmoles) en 70 ml de CH₂Cl₂ seco enfriado hasta -78°C en nitrógeno. Después de 15 min. a -78°C, se añadió, gota a gota, *Ph(3-NO₂, 5-CF₃)CH₂OH* (6,9 g, 31 mmoles; véase la etapa (i) anterior) en 75 ml de CH₂Cl₂ durante 30 min. Después de 45 min. a -78°C, se añadió DIPEA (27,2 ml, 156 mmoles) durante 20 minutos. La disolución se agitó a -78°C durante

ES 2 295 004 T3

1 h adicional, tiempo durante el cual la disolución se dejó calentar hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 15 h. La disolución se lavó secuencialmente con HCl 1 M (2 x 150 ml), con salmuera (150 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró, y se concentró *a vacío* para dar 6,9 g (99%) del compuesto del subtítulo como un aceite naranja.

5 RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 10,19 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,76 (s, 1H), 8,51 (s, 1H).

(iii) *Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OTMS)CN*

10 Se añadió ZnI₂ (474 mg, 1,49 mmoles) a una disolución de Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-CHO (6,52 g, 29,7 mmoles; procedente de la etapa (ii) anterior) en 220 ml de CH₂Cl₂. La disolución se purgó con nitrógeno y se enfrió hasta 0°C. Se añadió cianuro de trimetilsililo (3,25 g, 32,7 mmoles) durante 10 min., después de lo cual la disolución se agitó durante 2 h. La disolución se calentó entonces hasta la temperatura ambiente y se agitó durante 5,5 h adicionales, después de cuyo tiempo la reacción se paralizó con H₂O (250 ml). La fase orgánica se separó, y la fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (125 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron, y se concentraron *a vacío* para dar 9,1 g (96%) del compuesto del subtítulo como un aceite naranja.

15 RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 8,64 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 6,14 (s, 1H), 0,80 (s, 9H).

20 (iv) *Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH*

25 Se disolvió Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OTMS)CN (9,1 g, 29 mmoles; véase la etapa (iii) anterior) en HCl concentrado (83 ml, 1000 mmoles) y se calentó a reflujo durante 3 h. La disolución se diluyó con H₂O (200 ml) y se extrajo con Et₂O (3 x 150 ml). Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera (200 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron, y se concentraron *a vacío* para dar un aceite marrón. El producto bruto se cromatografió de forma ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₃ (ac., sat.) (14:5:1). El sólido blanco resultante se suspendió en Et₂O, y se añadió HCl 2 M (100 ml). Las capas se separaron, y la fase acuosa se extrajo con Et₂O (3 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron, y se concentraron para dar 5,9 g (78%) del compuesto del subtítulo como un sólido marrón.

30 RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 8,65 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,23 (s, 1H), 5,43 (s, 1H).

35 (v) *Ph(3-NH₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH*

40 Se añadió óxido de platino(IV) (590 mg) a una disolución de Ph(3-NO₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (5,9 g, 22 mmoles; véase la etapa (iv) anterior) en EtOH absoluto (350 ml). La disolución se purgó con hidrógeno durante 5 h, después de cuyo tiempo la mezcla se filtró a través de Celite® y después se concentró *a vacío* para dar 5,8 g (100%) del compuesto del subtítulo como un aceite naranja.

45 RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,00 (s, 2H), 6,86 (s, 1H), 5,06 (s, 1H).

(vi) *Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH*

50 Se añadió una disolución acuosa de formaldehído al 37% (54 ml, 720 mmoles) a una disolución de Ph(3-NH₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (5,27 g, 22,4 mmoles; véase (v) anterior) disuelta en EtOH absoluto (250 ml). Se añadió óxido de platino(IV) (520 mg), y la disolución se purgó con hidrógeno. Después de agitar en hidrógeno durante 22 h, la disolución se filtró a través de Celite® y se concentró *a vacío*. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₃ (ac., sat.) (6:3:1), proporcionó 2,7 g (46%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

55 RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,10 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,80 (s, 1H), 4,88 (s, 1H), 2,98 (s, 6H).

(vii) *Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-NMe₂)(5-CF₃)-(S) o -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)*

60 Una mezcla de Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R,S)CH(OH)C(O)OH (2,7 g, 10 mmoles; véase la etapa (vi) anterior), Lipase PS Amano (1,4 g), acetato de vinilo (56 ml) y MTBE (120 ml) se puso a reflujo durante 1 día. La reacción se filtró a través de Celite®, y la torta del filtro se lavó con Et₂O. El filtrado se concentró *a vacío* y se sometió a cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₃ (ac., sat.) (14:5:1), para dar 727 mg (27%) de la sal de amonio del compuesto del subtítulo (a) como un sólido blanco y 1,53 g (49%) de la sal de amonio del compuesto del subtítulo (b) como un sólido blanco. La sal de amonio del compuesto del subtítulo (a) se hizo pasar a través de una almohadilla de Amberlite® CG-50 con CH₃CN:MeOH (3:1) como eluyente para dar el compuesto del subtítulo (a) como un sólido blanco.

ES 2 295 004 T3

Para el compuesto del subtítulo (a):

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,03-7,09 (m, 2H), 6,79 (s, 1H), 4,95 (s, 1H), 2,88 (s, 6H).

5 RMN ¹³C (75 MHz; CD₃OD): δ 180,2, 152,9, 146,0, 133,0 (q, J = 32,2 Hz), 125,2 (t, J = 284,0 Hz), 116,3, 113,4, 109,3, 77,4, 41,4.

Análisis HPLC: 98,8%, >99% ee

10 $[\alpha]_D^{25} = -59,5^\circ$ (c = 1,0, MeOH)

API-MS: (M+1) 264 m/z

15 Para el compuesto del subtítulo (b):

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,12 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 6,83 (s, 1H), 5,73 (s, 1H), 3,00 (s, 6H), 2,14 (s, 3H).

20 (viii) *Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)*

Se añadieron 10 ml de DMF seca a una mezcla de *Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (290 mg, 1,10 mmoles; véase la etapa (vii)(a) anterior) y *H-Aze-Pab(Teoc)* (436 mg, 1,16 mmoles, véase el Ejemplo 3(vi)). La disolución se enfrió hasta 0°C, después de lo cual se añadieron PyBOP (630 mg, 1,21 mmoles) y colidina (295 mg, 2,42 mmoles). La disolución se agitó en nitrógeno a 0°C durante 2 h y a temperatura ambiente durante 15 h. La mezcla se concentró y se sometió a cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc:EtOH (20:1), para dar 383 mg (56%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

30 RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,76-7,83 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,38-7,44 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,12 (m, 2H), 6,86-6,87 (m, 1H), 5,15-5,17 (m, 1H), 4,75-4,81 (m, 1H), 3,98-4,56 (m, 6H), 3,00 (s, 6H), 2,48-2,58 (m, 1H), 2,24-2,33 (m, 1H), 1,03-1,13 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 622 m/z.

35 (ix) *Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x TFA*

Se añadió TFA (4 ml) a una disolución enfriada en hielo de *Ph(3-NMe₂, 5-CF₃)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)* (87 mg, 0,14 mmoles; véase la etapa (viii) anterior) en cloruro de metileno, y la mezcla se agitó a 0°C durante 100 min. La disolución resultante se concentró hasta sequedad, dando un residuo que se disolvió en agua/CH₃CN y después se liofilizó, produciendo 81 mg (80%) del compuesto del título como un polvo blanco.

LC-MS: (M+1) 478; (M-1) 476 m/z

45 RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD; mezcla de rotámeros): δ 7,78-7,50 (m, 4H), 7,09-7,04 (m, 2H), 6,92 (br s, 1H), 5,21, 5,17 (2s, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,52 (parte AB de un espectro ABX; 2H), 4,41-3,95 (m, 2H), 3,00 (s, 3H), 2,70, 2,52 (2m, 1H), 2,30, 2,15 (2m, 1H).

RMN ¹³C (carbonos carbonílicos y/o amidínicos; 100 MHz): δ 172,6, 171,7, 167,0, 161,5, 161,2.

50 Ejemplo 9

Ph(3-Cl, 5-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) *(R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-NO₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano*

55 Se añadió ácido p-toluenosulfónico monohidratado (750 mg, 3,94 mmoles) y 2,2-dimetoxipropano (75 ml, 514 mmoles) a una disolución de *Ph(3-Cl,5-NO₂)-(R,S)CH(OH)C(O)OH* (18,8 g, 81,2 mmoles; véase el Ejemplo 5(ii) anterior) en acetona (300 ml). La disolución se puso a reflujo durante 6 h y se concentró a vacío. El residuo se disolvió en EtOAc (200 ml), y después se lavó con H₂O (100 ml), NaHCO₃ saturado (150 ml) y salmuera (150 ml). La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró, y se concentró para dar un sólido marrón que se cromatografió de forma ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con Hex:EtOAc (7:3). El sólido resultante se purificó adicionalmente mediante recristalización en EtOAc/Hex (1:10) para dar 14,7 g (67%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

65 RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 8,29 (m, 1H), 8,24 (m, 1H), 7,86 (m, 1H), 5,45 (s, 1H), 1,78 (s, 3H), 1,72 (s, 3H).

ES 2 295 004 T3

(ii) (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

Se añadió óxido de platino(IV) (1,5 g) a una disolución de (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (14,7 g, 54,1 mmoles; véase la etapa (i) anterior) en EtOH (400 ml). La suspensión se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 27 h a temperatura ambiente. La suspensión se filtró a través de Celite®, y la torta del filtro se lavó con EtOH. El filtrado se concentró *a vacío* para dar un aceite amarillo que se cromatografió de forma ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con Hex:EtOAc (4:1) para dar 6,5 g (50%) del compuesto del subtítulo como un aceite amarillo.

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 6,76 (m, 1H), 6,56 (m, 2H), 5,18 (s, 1H), 3,74 (br s, 2H), 1,64 (s, 3H), 1,68 (s, 3H).

(iii) (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidinil-2-ona))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

Se añadió 4-bromobutirato de etilo (10,5 g, 53,8 mmoles) y Et₃N (5,4 g, 53,8 mmoles) a una disolución de (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (6,5 g, 26,9 mmoles; véase la etapa (ii) anterior) en DMF (100 ml). La disolución se calentó a 95°C en argón durante 21 h. La mezcla de reacción se concentró y después se disolvió en EtOAc (200 ml), dando una disolución que se lavó con H₂O (150 ml) y salmuera (150 ml). La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró, y se concentró para dar 9,6 g de un aceite naranja. El material bruto se disolvió en p-xileno (250 ml) y se calentó a reflujo. Después de 3 días, la mezcla se concentró hasta un aceite naranja y se cromatografió de forma ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc:Hexano (1:1), para dar 4,5 g (54%) del compuesto del subtítulo como un sólido amarillo.

RMN ¹H (300 MHz; CDCl₃): δ 7,74 (m, 1H), 7,69 (m, 1H), 7,26 (m, 1H), 5,38 (s, 1H), 3,80-3,93 (m, 2H), 2,60-2,68 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,15-2,25 (m, 2H), 1,77 (s, 3H), 1,70 (s, 3H).

(iv) Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Se añadió NaOH 1 N (145 ml) a una disolución de (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidinil-2-ona))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (4,5 g, 14,5 mmoles; véase la etapa (iii) anterior) en THF (300 ml). La disolución se agitó durante 30 min., después de lo cual la disolución resultante se redujo parcialmente *a vacío*.

La disolución se acidificó con HCl 2 N y se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (200 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró, y se concentró para dar 3,2 g (82%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,81 (m, 1H), 7,59 (m, 1H), 7,30 (m, 1H), 5,15 (s, 1H), 3,89-3,96 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,57-2,65 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,12-2,22 (m, 2H).

(v) Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(S) o -(R)-CH(OAc)C(O)OH (b) y Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)-CH(OH)C(O)OH (a)

Una mezcla de Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R,S)CH(OH)C(O)OH (3,2 g, 11,9 mmoles; véase la etapa (iv) anterior) y Lipase PS Amano (1,6 g) en acetato de vinilo (65 ml) y MTBE (130 ml) se agitó a 55°C durante 24 h. La reacción se filtró a través de Celite® y la torta del filtro se lavó secuencialmente con THF y después con MeOH. El filtrado se concentró *a vacío* y se cromatografió de forma ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₃ (ac., sat.) (14:5:1), para dar 1,3 g (33%) de la sal de amonio del compuesto del subtítulo (b) como un sólido blanco. Además, se obtuvieron 800 mg (20%) de la sal de amonio del compuesto del subtítulo (a). Este material se disolvió en H₂O (40 ml), se acidificó con HCl 1 N, y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró, y se concentró para dar el compuesto del subtítulo (a) como un sólido blanco. Debido a la baja pureza óptica, el compuesto del subtítulo (b) se volvió a someter a las condiciones de redisolución enzimática anteriores (0,5 g Lipase PS Amano; 35 ml acetato de vinilo; 60 ml MTBE; 55°C; 24 h). El aislamiento y la purificación, como se da a conocer más arriba, proporcionó 470 mg del compuesto del subtítulo (a) como un sólido blanco.

Para el compuesto del subtítulo (a):

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,80 (m, 1H), 7,59 (m, 1H), 7,29 (m, 1H), 5,15 (s, 1H), 3,88-3,92 (t, J = 7,1 Hz, 2H), 2,57-2,62 (t, J = 8,1 Hz, 2H), 2,11-2,21 (m, 2H).

RMN ¹³C (75 MHz; CD₃OD): δ 179,7, 177,8, 146,1, 144,4, 137,9, 126,3, 123,5, 120,2, 75,9, 52,7, 36,0, 21,2.

API-MS: (M+1) 270 m/z

Análisis HPLC: 95,3%, 96,5% ee

[α]_D²⁵ = -64,5° (c = 1,0, MeOH)

ES 2 295 004 T3

(vi) *Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- o (S)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)*

Se añadió PyBop (531 mg, 1,02 mmoles) y colidina (250 mg, 2,04 mmoles) a una mezcla de *Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- o -(S)-CH(OH)C(O)OH* (250 mg, 0,927 mmoles; procedente de la etapa (v)(a) anterior) y *H-Aze-Pab(Teoc)* (367 mg, 0,973 mmoles, véase el Ejemplo 3(vi)) en DMF (9 ml) a 0°C. La disolución se agitó en nitrógeno a 0°C durante 2 h y después se calentó hasta temperatura ambiente durante 15 h. La mezcla se concentró y se sometió a cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc:EtOH (20:1), haciéndola pasar después a través de una columna de EtOH para dar un sólido blanco. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice adicional, eluyendo con CHCl₃:EtOH (9:1), proporcionó 420 mg (72%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

RMN ¹H (300 MHz; CD₃OD): δ 7,73-7,85 (m, 3H), 7,51-7,65 (m, 1H), 7,36-7,47 (m, 2H), 7,22-7,31 (m, 1H), 5,11-5,23 (m, 1H), 4,76-4,86 (m, 1H), 3,95-4,55 (m, 6H), 3,84-3,94 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,46-2,74 (m, 3H), 2,08-2,47 (m, 3H), 1,02-1,14 (m, 2H), 0,09 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 629 m/z

(vii) *Ph(3-Cl, 5-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc*

Se añadió TFA (4 ml) a una disolución de *Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(RorS)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)* (90 mg, 0,14 mmoles; véase la etapa (vi) anterior) en cloruro de metileno (0,5 ml). La mezcla se agitó a RT durante 100 min. La disolución resultante se concentró *a vacío*, y el material bruto sólido se purificó usando PHPLC (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M 20:80). Las fracciones de interés se reunieron y se liofilizaron dos veces toda la noche. Rendimiento 51 mg (67%). Pureza 99,8%.

LC-MS (M+1) = 484, 486 m/z

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD) δ 7,73 (m, 3H), 7,62 (m, 1H), 7,52 (m, 2H), 7,28, 7,23 (2s, 1H), 5,19 (s, 1H), 4,80 (dd, 1H), 4,51 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,38 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,02 (m, 1H), 3,88 (t, 2H), 2,61-2,48 (m, 3H), 2,29 (m, 1H), 2,14 (m, 2H), 1,90 (s, 3H).

RMN ¹³C (100 MHz) (carbonos carbonílicos y/o amidínicos): δ 176,0, 172,3, 171,7, 167,0.

Ejemplo 10

Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

(i) *(R,S)-5-Ph(3-NO₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano*

Una mezcla de ácido m-nitromandélico (6,0 g, 30,4 mmoles), 2,2-dimetoxipropano (15,1 ml), ácido p-toluenosulfónico monohidratado (0,29 g, 1,52 mmoles) y acetona (60 ml) se agitó durante 12 horas a temperatura ambiente. La mezcla se concentró *a vacío* y el producto bruto se disolvió en EtOAc. La fase orgánica se lavó secuencialmente con NaHCO₃ acuoso saturado y con salmuera, se secó (MgSO₄) y después se concentró *a vacío*. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con heptano/EtOAc (80/20 hasta 70/30), para dar 5,7 g (79%) del compuesto del subtítulo. (El producto bruto se disolvió con dificultad en una pequeña cantidad de EtOAc, y de esta manera la carga en la columna de cromatografía se logró usando gel de sílice sobre la cual se había adsorbido el producto).

FAB-MS: (M+1) 238 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,36 (br s, 1H), 8,22 (dd, 1H), 7,84 (dd, 1H), 7,60 (dd, 1H), 5,44 (s, 1H), 1,76 (s, 3H), 1,71 (s, 3H).

(ii) *(R,S)-5-Ph(3-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano*

Una mezcla de *(R,S)-5-Ph(3-NO₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano* (3,1 g, 13,1 mmoles; véase la etapa (i) anterior), 5% de Pd/C (1,7 g) y HOAc (0,75 ml, 13,1 mmoles) en EtOH (250 ml) se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 4 h. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite®, y la torta del filtro se lavó con EtOH. El filtrado se concentró *a vacío* y el sólido incoloro formado se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ acuoso saturado. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron *a vacío* para dar 2,3 g (85%) del compuesto del subtítulo.

LC-MS: (M+1) 208 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 7,16 (dd, 1H), 6,84 (dd, 1H), 6,76 (br s, 1H), 6,67 (dd, 1H), 5,30 (s, 1H), 1,70 (s, 3H), 1,65 (s, 3H).

ES 2 295 004 T3

(iii) (R,S)-5-Ph(3-NH(CH₂)₃C(O)OEt)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

Una mezcla de (R,S)-5-Ph(3-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (1,63 g, 7,87 mmoles; véase la etapa (ii) anterior), 4-bromobutirato de etilo (3,4 ml, 23,6 mmoles) y Et₃N (3,3 ml, 23,6 mmoles) en CH₂Cl₂ se puso a reflujo toda la noche. Se añadieron cantidades adicionales de 4-bromobutirato de etilo (2,3 ml, 15,7 mmoles) y Et₃N (2,2 ml, 15,7 mmoles) y la mezcla se puso a reflujo durante una noche más. El disolvente se eliminó, y el producto bruto se repartió entre EtOAc y agua. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y después se concentraron *a vacío*. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con heptano:EtOAc (90:10 hasta 80:20), para dar 2,1 g (84%) del compuesto del subtítulo.

FAB-MS: (M+1) 322 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 7,17 (dd, 1H), 6,77 (br d, 1H), 6,66 (br s, 1H), 6,59 (dd, 1H), 5,30 (s, 1H), 4,12 (q, 2H), 3,16 (t, 2H), 2,40 (t, 2H), 1,93 (m, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,64 (s, 3H), 1,24 (t, 2H).

(iv) (R,S)-5-Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano

Una disolución de (R,S)-5-Ph(3-NH(CH₂)₃C(O)OEt)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (2,2 g, 6,85 mmoles; véase la etapa (iii) anterior) en tolueno (15 ml) se puso a reflujo durante dos noches. El disolvente se eliminó, y el producto bruto se sometió a cromatografía ultrarrápida, eluyendo con heptano:EtOAc (80:20 hasta 60:40), para dar 1,4 g (74%) del compuesto del subtítulo.

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 7,78 (br s, 1H), 7,60 (br d, 1H), 7,38 (dd, 1H), 7,23 (br d, 1H), 5,40 (s, 1H), 3,85 (m, 2H), 2,59 (t, 2H), 2,14 (m, 2H), 1,70 (s, 3H), 1,65 (s, 3H).

(v) Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R,S)CH(OH)C(O)OH

Una mezcla de (R,S)-5-Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (1,4 g, 5,1 mmoles; véase la etapa (iv) anterior) y NaOH 1 M (10 ml) en THF (15 ml) se agitó vigorosamente toda la noche a temperatura ambiente. Se eliminó el THF, y la fase acuosa se lavó una vez con CH₂Cl₂ y después se concentró *a vacío*. El residuo se purificó usando RPLC preparativa (CH₃CN: HOAc 0,1 M (16:84)) y las fracciones de interés se concentraron y se liofilizó para dar 0,94 g (79%) del compuesto del subtítulo.

LC-MS: (M+1) 236; (M-1) 234 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,64 (br s, 1H), 7,59 (br d, 1H), 7,35 (dd, 1H), 7,28 (br d, 1H), 5,10 (s, 1H), 3,92 (t, 2H), 2,58 (t, 2H), 2,16 (m, 2H).

(vi) Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH

Los enantiómeros de Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-(R,S)CH(OH)C(O)OH (0,94 g, 4,0 mmoles; véase la etapa (v) anterior) se separaron mediante HPLC preparativa usando ChiralpakTM AD como fase estacionaria y heptano:2-propanol: acetonitrilo:ácido fórmico (160:30:10:1) como fase móvil. El enantiómero que eluyó primero se evaporó *a vacío* para dar 0,37 g (39%) del compuesto del subtítulo que dio 98,6% ee y [α]_D²⁰ = -90,9° (c = 1,0, MeOH).

(vii) Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)

Se añadieron PyBop (365 mg, 0,70 mmoles), seguido de DIPEA (0,5 ml, 2,8 mmoles) a una disolución enfriada (-20°C) de Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH (150 mg, 0,64 mmoles; véase la etapa (vi) anterior) y H-Aze-Pab(Teoc) (264 mg, 0,70 mmoles, véase el Ejemplo 3(vi) anterior) en DMF (8 ml). La mezcla se dejó alcanzar lentamente la temperatura ambiente y se agitó toda la noche. Se eliminó la DMF *a vacío*, y el residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con CH₂Cl₂:MeOH (95:5), para dar 310 mg (82%) del compuesto del subtítulo.

LC-MS: (M+1) 594; (M-1) 592 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃; mezcla de rotámeros): δ 8,09 (br dd, 1H), 7,66 (br d, 2H), 7,47 (br d, 1H), 7,34 (dd, 1H), 7,25 (br d, 2H), 7,12 (d, 1H), 5,02 (s, 1H), 4,83 (dd, 1H), 4,43 (d, 2H), 4,25 (t, 2H), 4,17 (m, 1H), 3,82 (m, 3H), 3,65 (m, 1H), 3,10 (m, 1H), 2,55 (dd, 2H), 2,50 (m, 1H), 2,38 (m, 1H), 2,13 (m, 2H), 1,10 (t, 2H), 0,05 (s, 9H).

(viii) Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x HOAc

Una mezcla de Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (70 mg, 0,12 mmoles; véase la etapa (vii) anterior) y TFA (2,0 ml) en CH₂Cl₂ (2 ml) se agitó a 0°C durante 2 horas. La disolución se concentró *a vacío*, y el residuo se purificó usando HPLC preparativa (CH₃CN: NH₄OAc 0,1 M (gradiente: 0-50% de CH₃CN)). Las fracciones de interés se concentraron y el producto resultante se disolvió en agua/HOAc y se liofilizó para dar 52 mg (87%) del compuesto del título.

LC-MS: (M+1) 450 m/z

ES 2 295 004 T3

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD; mezcla de rotámeros): δ 7,72 (m, 3H), 7,52 (m, 3H), 7,42-7,20 (m, 2H), 5,22-5,12 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,50 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,14 (m, 1H), 4,07 (m, 1H), 3,90 (m, 2H), 2,74-2,44 (m, 3H), 2,34-2,08 (m, 3H), 1,90 (s, 3H).

5 RMN ¹³C (carbonos carbonílicos y/o amidínicos; 100 MHz): δ 176,0, 172,4, 171,8, 167,0.

Ejemplo 11

Ph(3-(1-Pirrolidin))-(R)- o -(S)-CH(OH)C(O)-Aze-Pab x 2TFA

10

(i) *(R,S)-5-Ph(3-(1-Pirrolidin))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano*

Una mezcla de (R,S)-5-Ph(3-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (450 mg, 2,17 mmoles; véase el Ejemplo 10 (ii) anterior), 1,4-dibromo-butano (0,30 ml, 3,26 mmoles) y Cs₂CO₃ (2,1 g, 6,5 mmoles) en acetona se puso a reflujo durante 3 días. El disolvente se eliminó y el producto bruto se repartió entre CH₂Cl₂ y agua. La fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂, y las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y después se concentraron *a vacío*. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con heptano:EtOAc (100:0 hasta 90:10), para dar 140 mg (25%) del compuesto del subtítulo.

20 LC-MS: (M+1) 413; (M-1) 411 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 7,23 (dd, 1H), 6,74 (d, 1H), 6,61 (br s, 1H), 6,55 (br d, 1H), 5,35 (s, 1H), 3,29 (m, 4H), 2,00 (m, 4H), 1,72 (s, 3H), 1,66 (s, 3H).

25 (ii) *Ph(3-(1-Pirrolidin))-(R,S)CH(OH)C(O)OH x HCl*

Una mezcla de (R,S)-5-Ph(3-(1-pirrolidin))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (640 mg, 2,45 mmoles; véase la etapa (i) anterior) y NaOH 1 M (10 ml) en THF (10 ml) se agitó vigorosamente toda la noche a temperatura ambiente. Se eliminó el THF, y la fase acuosa se lavó una vez con CH₂Cl₂ y después se concentró *a vacío*. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con CH₂Cl₂:MeOH:NH₂OH (6:3:1). El producto se liofilizó dos veces para cambiar sales, primero usando agua/HOAc y en segundo lugar usando agua/2 M HCl. Esto produjo 0,62 g (98%) del compuesto del subtítulo.

35 LC-MS: (M+ 1) 222; (M-1) 220 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,40 (m, 1H), 7,20-7,55 (m, 3H), 5,28 (s, 1H), 3,80 (m, 4H), 2,30 (m, 4H).

(iii) *Ph(3-(1-Pirrolidin))-(R,S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)*

40 Se añadieron PyBop (355 mg, 0,68 mmoles) y después colidina (0,4 ml, 3,35 mmoles), a una disolución enfriada (-20°C) de Ph(3-(1-pirrolidin))-(R,S)CH(OH)C(O)OH (160 mg, 0,62 mmoles; véase la etapa (ii) anterior) y H-Aze-Pab (Teoc) x 2 HCl (307 mg, 0,68 mmoles, véase el Ejemplo 3(vi) anterior) en DMF (8 ml). La reacción se dejó alcanzar lentamente la temperatura ambiente y se agitó toda la noche. Se eliminó la DMF, y el producto bruto se repartió entre EtOAc y agua. La fase acuosa se extrajo con EtOAc, y la fase orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró *a vacío*. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con CH₂Cl₂:MeOH (95:5) para dar 50 mg (14%) del compuesto del subtítulo.

LC-MS: (M+1) 580; (M-1) 578 m/z

50 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃; mezcla de rotámeros): δ 7,82 (m, 2H), 7,46-7,30 (m, 2H), 7,18-7,08 (m, 1H), 6,70-6,45 (m, 3H), 5,12-5,00 (m, 1H), 4,75 (m, 1H), 4,45 (m, 2H), 4,23 (m, 2H), 4,1-3,85 (m, 2H), 3,22 (m, 4H), 2,69-2,34 (m, 1H), 2,25, 2,11 (2m, 1H), 1,07 (m, 2H), 0,08 (s, 9H).

(iv) *Ph(3-(1-Pirrolidin))-(R,S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab x 2TFA*

55

Una mezcla de Ph(3-(1-pirrolidin))-(R,S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (100 mg, 0,17 mmoles; véase la etapa (iii) anterior) y TFA (2,0 ml) en CH₂Cl₂ (2 ml) se agitó a 0°C durante 2 horas. La disolución se concentró *a vacío* para dar un residuo que se disolvió en agua y se liofilizó para dar 70 mg (58%) del compuesto del título.

60 LC-MS: (M +1) 580 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD; mezcla de rotámeros): δ 7,75 (m, 2H), 7,50 (m, 2H), 7,15 (m, 1H), 6,75-6,50 (m, 3H), 5,14, 5,08 (2s, 1H), 4,76 (m, 1H), 4,60-4,42 (m, 2H), 4,28 (m, 1H), 4,11-3,87 (m, 2H), 3,26 (m, 4H), 2,75-2,40 (m, 1H), 2,26, 2,13 (2m, 1H), 1,89 (m, 4H).

65

RMN ¹³C (carbonos carbonílicos y/o amidínicos; 100 MHz): δ 173,8, 173,3, 171,8, 167,0.

ES 2 295 004 T3

Ejemplo 12

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

5 (i) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe)*

Se añadió O-metilhidroxilamina (78 mg, 0,92 mmoles) a una disolución de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (92 mg, 0,16 mmoles; véase el Ejemplo 6(vi) anterior) en THF (6 ml), para dar una mezcla que se agitó toda la noche a 60°C. El disolvente se eliminó *a vacío*, y el sólido resultante se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc. Las fracciones de interés se concentraron, produciendo el compuesto del subtítulo (82 mg, 85%) como un sólido blanco.

10 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,0 (bt, 1H), 7,57 (b, 1H), 7,50 (d, 2H), 7,33 (d, 2H), 6,64 (m, 2H), 6,51 (s, 1H), 4,90 (dd, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,51 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,16 (m, 2H), 4,07 (m, 1H), 3,97 (s, 3H), 3,65 (m, 1H), 2,97 (s, 6H), 2,70 (m, 1H), 2,40 (m, 1H), 0,99 (m, 2H), 0,03 (s, 12H).

LC-MS: (M+1) 618 m/z

20 (ii) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)*

Una disolución de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe) (78 mg, 0,13 mmoles, véase la etapa (i) anterior) en TFA (3 ml) se agitó a 0°C durante 2 h. La disolución se concentró fría *a vacío*, y el sólido resultante se cromatografió sobre HPLC preparativa (CH₃CN: acetato de amonio 0,1 M (40:60)). Las fracciones de interés se concentraron parcialmente. El residuo se liofilizó (CH₃CN:agua) 3 veces, produciendo 40 mg (30%) del compuesto del título. Pureza 99,4%

25 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 7,59 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,72 (s, 2H), 6,66 (m, 1H), 5,05 (s, 1H), 4,84 (s, 4H), 4,76 (dd, 1H), 4,44 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,30 (m, 1H), 4,00 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 2,93 (s, 6H), 2,49 (m, 1H), 2,39 (m, 1H).

30 RMN ¹³C (carbonos carbonílicos y/o amidínicos; 100 MHz): δ 172,7, 171,8, 171,7, 158,7.

LC-MS: (M+ 1) 474 m/z

35 Ejemplo 13

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-Et)

40 (i) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-Et)*

Se añadió O-etilhidroxilamina x HCl (40 mg, 0,41 mmoles) a una disolución de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (40 mg, 0,07 mmoles, véase el Ejemplo 6(vi) anterior) en THF (3 ml), y la disolución se agitó a 60°C toda la noche. La disolución se concentró, y el material resultante se purificó con HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M (60:40)). Las fracciones de interés se redujeron parcialmente, y la parte residual se extrajo con EtOAc (3 x). La capa orgánica se lavó con agua y se concentró *a vacío* produciendo 16 mg (37%) del compuesto del subtítulo.

50 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,00 (b, 1H), 7,58 (b, 1H), 7,49 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 4,90 (dd, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,50 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,25-4,15 (m, 5H), 4,06 (m, 1H), 3,65 (q, 1H), 2,97 (s, 6H), 2,69 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 1,34 (t, 3H), 0,99 (t, 2H), 0,05 (s, 9H).

LC-MS: (M+1) 633 m/z

55 (ii) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-Et)*

Se añadió TFA (1 ml) a una disolución de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-Et) (16 mg, 0,03 mmoles, véase la etapa (i) anterior) en cloruro de metileno (0,5 ml), y la mezcla se agitó a 0°C durante 2 h. La mezcla resultante se concentró *a vacío* para dar un residuo sólido que se disolvió en agua/CH₃CN y se liofilizó dos veces produciendo 14 mg (92%) del compuesto del título. Pureza 94,4%.

60 RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 8,73 (bt, 1H), 7,66 (d, 2H), 7,53 (d, 2H), 6,73 (s, 2H), 6,67 (s, 2H), 5,07 (s, 2H), 4,78 (dd, 1H), 4,51 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,32 (m, 1H), 4,16 (m, 1H), 4,04 (m, 1H), 2,94 (s, 6H), 2,50 (m, 1H), 2,29 (m, 1H), 1,39 (t, 3H).

65 RMN ¹³C (carbonos carbonílicos y/o amidínicos; 100 MHz): δ 172,7, 171,7, 160,6, 152,0.

LC-MS: (M+1) 489 m/z

ES 2 295 004 T3

Ejemplo 14

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-n-Pr)

5 (i) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-n-Pr)*

Se añadió O-n-propilhidroxilamina x HCl (46 mg, 0,41 mmoles) a una disolución de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (40 mg, 0,07 mmoles; véase el Ejemplo 6(vi) anterior) en THF (5 ml), y la disolución se agitó a 60°C toda la noche. La disolución se concentró hasta sequedad, y el resto se purificó usando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M (60:40)). La fracción de interés se concentró parcialmente, y la disolución acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). La capa orgánica se lavó con agua, se secó (Na₂SO₄) y se concentró para dar 16 mg (36%) del compuesto del subtítulo.

15 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,00 (bt, 1H), 7,58 (bs, 1H), 7,48 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 4,89 (dd, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,50 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,16 (dd, 1H), 4,11 (t, 1H), 4,06 (m, 1H), 3,65 (q, 1H), 2,96 (s, 6H), 2,68 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 1,75 (m, 2H), 0,98 (t, 5H), 0,05 (s, 9H).

LC-MS: (M+1) 647 m/z

20 (ii) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-n-Pr)*

Se añadió TFA (2 ml) a una disolución enfriada en hielo de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-n-Pr) (16 mg, 0,02 mmoles; véase la etapa (i) anterior) en cloruro de metileno (0,5 ml), y la mezcla resultante se agitó fría durante 2 h. La disolución resultante se concentró *a vacío* para dar un residuo sólido que se disolvió en agua/CH₃CN y se liofilizó. El producto se purificó usando cromatografía ultrarrápida (EtOAc:MeOH (9:1)). Las fracciones de interés se concentraron para dar 14 mg (92%) del compuesto del título. Pureza 98%.

30 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,71 (bt, 1H), 7,65 (d, 2H), 7,50 (d, 2H), 6,73 (m, 2H), 6,67 (s, 1H), 5,07 (s, 1H), 4,78 (dd, 1H), 4,50 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,32 (m, 1H), 4,06 (m, 3H), 2,94 (s, 6H), 2,49 (m, 1H); 2,29 (m, 1H), 1,80 (m, 2H), 1,03 (m, 3H).

LC-MS: (M+1) 503 m/z

35 Ejemplo 15

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-i-Pr)

40 (i) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-i-Pr)*

Se añadió O-isopropilhidroxilamina x HCl (46 mg, 0,41 mmoles) a una disolución de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (40 mg, 0,07 mmoles; véase el Ejemplo 6(vi) anterior) en THF (3 ml), y la mezcla resultante se agitó a 60°C toda la noche. La disolución resultante se concentró, y el producto bruto se purificó usando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M (60:40)). Las fracciones de interés se concentraron parcialmente y después se extrajeron con EtOAc (3 x). Los orgánicos combinados se lavaron con agua, se secó (Na₂SO₄), y se concentró para dar 16 mg (36%) del compuesto del subtítulo.

50 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,00 (b, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,50 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 4,90 (dd, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,58-4,40 (m, 3H), 4,17 (m, 3H), 4,07 (m, 1H), 3,65 (m, 1H), 2,97 (s, 2H), 2,69 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 1,31 (d, 6H), 1,00 (m, 2H), 0,05 (s, 9H).

LC-MS: (M+1) 647 m/z

55 (ii) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-i-Pr)*

Una disolución enfriada en hielo de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-i-Pr) (16 mg, 0,02 mmoles; véase la etapa (i) anterior) en TFA (1,5 ml) se agitó fría durante 2 h. La disolución resultante se evaporó *a vacío* antes de añadir agua/CH₃CN, y la disolución se liofilizó. El producto bruto se purificó usando cromatografía ultrarrápida (EtOAc:MeOH (9:1)). Las fracciones de interés se concentraron después para dar 14 mg (92%) del compuesto del título. Pureza (HPLC) 96%.

65 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,73 (bt, 1H), 7,66 (d, 2H), 7,50 (d, 2H), 6,73 (d, 2H), 6,67 (t, 1H), 5,08 (s, 1H), 4,78 (dd, 1H), 4,51 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,4-4,3 (m, 2H), 4,02 (m, 1H), 2,95 (s, 6H), 2,51 (m, 1H), 2,30 (m, 1H), 1,39 (d, 6H).

LC-MS: (M+1) 503 m/z

ES 2 295 004 T3

Ejemplo 16

Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-CH₂-CH₂-O-CH₃)

5 (i) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-CH₂-CH₂-O-CH₃)*

Una disolución de O-(2-metoxi)etilhidroxilamina y HOAc (23,3 μ l) en THF (2 ml) se añadió a una disolución de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (40 mg, 0,07 mmoles; véase el Ejemplo 6(vi) anterior) en THF (1 ml), y la mezcla se agitó a 60°C durante 3,5 días. La disolución resultante se concentró hasta sequedad, y el producto bruto se purificó usando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M (60:40)). Las fracciones de interés se concentraron parcialmente y se extrajeron con EtOAc (3 x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, se secaron (Na₂SO₄) y después se concentraron hasta sequedad para dar 20 mg (44%) del compuesto del subtítulo.

15 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,00 (bt, 1H), 7,71 (b, 1H), 7,48 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,65 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 4,89 (dd, 1H), 4,81 (s, 1H), 4,49 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,29 (m, 2H), 4,14 (m, 2H), 4,07 (m, 2H), 3,74-3,60 (m, 3H), 3,42 (s, 3H), 2,96 (s, 6H), 2,68 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 1,79 (b, 2H), 0,97 (m, 1H), 0,02 (s, 9H).

20 LC-MS: (M+1) 663 m/z

(ii) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-CH₂-CH₂-O-CH₃)*

25 Se añadió TFA (2 ml, 26 mmoles) a una disolución enfriada en hielo de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-CH₂-CH₂-O-CH₃) (20 mg, 0,03 mmoles; procedente de la etapa (i) anterior) en cloruro de metileno (0,5 ml), y la mezcla resultante se agitó fría durante 2 ½ h. La disolución resultante se evaporó hasta sequedad, y el producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (EtOAc:MeOH (9:1)). Las fracciones de interés se concentraron para dar un residuo al que se añadió agua/CH₃CN.

30 La disolución resultante se liofilizó toda la noche para dar 13 mg (65%) del compuesto del título. Pureza (HPLC) 96%.

35 RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 8,69 (bt, 1H), 7,65 (d, 2H), 7,49 (d, 2H), 6,73 (d, 2H), 6,67 (t, 1H), 5,07 (s, 2H), 4,78 (dd, 1H), 4,51 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,32 (m, 1H), 4,22 (m, 2H), 4,03 (m, 1H), 3,72 (m, 2H), 3,41 (s, 3H), 2,94 (s, 6H), 2,48 (m, 1H), 2,29 (m, 1H).

RMN ¹³C (carbonos carbonílicos y/o amidínicos; 100 MHz; CD₃OD): δ 172,7, 171,8, 171,7, 159,3, 152,0.

40 LC-MS: (M+1) 519 m/z

Ejemplo 17

45 *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-THP)*

(i) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-THP)*

50 Una disolución de O-(tetrahidropiran-2-il)-hidroxilamina (51 mg, 0,44 mmoles) y HOAc (25 μ l) en THF (1 ml) se añadió a una disolución de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (43 mg, 0,07 mmoles; véase el Ejemplo 6(vi) anterior) en THF (2 ml), y la mezcla resultante se agitó a 60°C durante 22 h y después a RT toda la noche. La disolución resultante se concentró, y el producto bruto se purificó vía HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M (60:40)). Las fracciones de interés se concentraron parcialmente, y el resto acuoso se extrajo con EtOAc (3 x). Los orgánicos combinados se lavaron con agua, se secaron (Na₂SO₄) y después se concentraron para dar 26 mg (52%) del compuesto del subtítulo.

60 RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃): δ 8,00 (bt, 1H), 7,61 (b, 1H), 7,52 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,66 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 5,30 (m, 1H), 4,90 (dd, 1H), 4,82 (s, 1H), 4,50 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,17 (m, 2H), 4,07 (m, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,66 (m, 2H), 2,97 (s, 6H), 2,69 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 2,00-1,55 (m, 7H), 0,98 (m, 2H), 0,04 (s, 9H).

LC-MS: (M+1) 689 m/z

65 (ii) *Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-THP)*

Se añadió fluoruro sobre Amberlyst[®] A-26 (140 mg) a una disolución de Ph(3-Cl, 5-NMe₂)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-THP) (34 mg, 0,05 mmoles; véase la etapa (i) anterior) en CH₃CN (3 ml), y la mezcla se

ES 2 295 004 T3

dejó a 60°C toda la noche. Después de enfriar, la resina se eliminó mediante filtración y después se lavó con muchas porciones de CH₃CN y EtOH (95%). Los orgánicos combinados se concentraron para dar un producto bruto que se purificó vía HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M (50:50)). Las fracciones de interés se concentraron, se disolvieron en agua/CH₃CN y después se liofilizaron para dar 18 mg (60%) del compuesto del título.

5

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,62 (d, 2H), 7,32 (d, 2H), 6,72 (s, 2H), 6,66 (s, 1H), 5,15 (m, 1H), 5,05 (s, 1H), 4,77 (dd, 1H), 4,44 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,29 (m, 1H), 3,95 (m, 2H), 3,57 (m, 1H), 2,93 (s, 6H), 2,48 (m, 1H), 2,27 (m, 1H), 1,94 (m, 2H), 1,82 (m, 1H), 1,75 (m, 1H), 1,61 (m, 3H).

10

RMN ¹³C (carbonos carbonílicos y/o amidínicos; 100 MHz; CD₃OD): δ 172,7, 171,5, 154,7, 152,0.

LC-MS: (M+1) 545 m/z

Ejemplo 18

15

Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)x TFA

(i) *Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe)*

20

Una mezcla de Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (38 mg, 0,06 mmoles, véase el Ejemplo 5(vii) anterior) y O-metilhidroxilamina (62 mg, 0,74 mmoles) en THF (3 ml) se calentó a 60°C durante 30 h, después de lo cual el disolvente se eliminó, y la mezcla de reacción se purificó mediante HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M 50:50). La fracción de interés se concentró parcialmente y el resto acuoso se extrajo con EtOAc (3x). Los orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron *a vacío*, produciendo 22 mg (50%) del compuesto del subtítulo.

25

RMN ¹H (600 MHz; CDCl₃): δ 7,81 (br, 1H), 7,55 (br, 1H), 7,45 (d, 2H), 7,28 (d, 2H), 7,18 (br, 1H), 7,09 (br, 1H), 4,89 (s, 1H), 4,86 (dd, 1H), 4,46 (parte AB de un espectro ABX, 2H), 4,11 (m, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,67 (br, 1H), 3,22 (br, 3H), 2,68 (br, 1H), 2,41 (m, 1H), 1,87 (br, 2H), 1,71 (m, 4H), 0,95 (m, 2H), -0,02 (s, 9H).

30

(ii) *Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) x TFA*

Una disolución de Ph(3-Cl, 5-NMeAc)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe) (22 mg, 0,03 mmoles, véase la etapa (i) anterior) en TFA (3 ml) se mantuvo a RT durante 1 h, después de lo cual el disolvente se eliminó *a vacío*.

35

El resto sólido se disolvió en agua, y la disolución se liofilizó toda la noche, produciendo 20 mg (76%) del compuesto del título.

40

RMN ¹H (400 MHz; D₂O) (complejo debido a rotamería): δ 8,79 (bt, 1H), 7,67 (t, 2H), 7,51 (d, 2H), 7,46 (d, 2H), 7,17 (s, 1H), 5,35 (s, 1H), 5,20 (s+m, 1H), 4,88 (dd, 1H), 4,55 (m, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,11 (m, 2H), 3,98 (2xs, 3H), 3,38 (s, 1H), 3,19 (2s, 2H), 2,80 (m, 0,5H), 2,60 (m, 0,5H), 2,28 (m, 2H), 1,88 (s, 2H).

RMN ¹³C (100 MHz, CD₃OD) (carbonos carbonílicos y/o amidínicos): δ 174,0; 173,3; 172,6; 172,5; 163,4; 163,0.

45

LC-MS: (M+1) 502 m/z

Ejemplo 19

50

Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) x TFA

(i) *Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe)*

55

Se añadió O-metilhidroxilamina x HCl (42 mg, 0,50 mmoles) a una disolución de Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc) (50 mg, 0,08 mmoles; véase el Ejemplo 10(vii) anterior) en THF (3 ml), y la mezcla se agitó toda la noche a 60°C. El disolvente se eliminó, y el residuo se repartió entre agua y EtOAc. La fase acuosa se extrajo con EtOAc, y las fases orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄) y después se concentraron *a vacío* para dar aprox. 52 mg (aprox. 100%) del compuesto del subtítulo como un sólido, que se usó sin purificación adicional.

LC-MS: (M+1) 624; (M-1) 622 m/z

60

(ii) *Ph(3-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe) x TFA*

65

Una mezcla de Ph(3-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe) (53 mg, 0,08 mmoles; véase la etapa (i) anterior) y TFA (2,0 ml) en CH₂Cl₂ (1 ml) se agitó a RT durante 4 horas. El disolvente se eliminó, y el residuo se repartió entre agua y EtOAc. La fase acuosa se extrajo con EtOAc, y las fases orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄) y después se concentraron *a vacío*. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice, eluyendo con CH₂Cl₂:MeOH (98:2 hasta 95:5) para dar 22 mg (44%) del compuesto del título.

ES 2 295 004 T3

LC-MS: (M+1) 480; (M-1) 478 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,76-7,63 (m, 3H), 7,59-7,50 (m, 3H), 7,44-7,20 (m, 2H), 5,20-5,14 (m, 1H), 4,61-4,02 (m, 4H), 3,97-3,87 (m, 5H), 2,74-2,44 (m, 3H), 2,34-2,09 (m, 3H).

5

Ejemplo 20

Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab

10 (i) *(R,S)-5-Ph(3-Cl,5-pirrolo)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano*

Se añadió 2,5-dimetoxitetrahydrofurano (4,9 g, 37,3 mmoles), gota a gota, a una disolución de (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (6,0 g, 24,8 mmoles; véase el Ejemplo 9(ii) anterior) y pentóxido de fósforo (3,5 g, 24,8 mmoles) en tolueno seco (50 ml). La reacción se calentó a reflujo durante 30 min. y después se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. La reacción se paralizó con NaOH 2 N (10 ml), se transfirió a un embudo de separación, y la fase acuosa se separó y se extrajo con tolueno (100 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron posteriormente con salmuera (20 ml), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío* para dar un aceite naranja pálido (5,0 g). La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con CH₂Cl₂ proporcionó 2,8 g (39%) del compuesto del subtítulo como un sólido amarillo.

20

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD): δ 7,28-7,42 (m, 3H), 7,18 (t, J = 2,1 Hz, 2H), 6,38 (t, J = 2,1 Hz, 2H), 5,40 (s, 1H), 1,72 (d, J = 8,2 Hz, 6H).

25

(ii) *Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R,S)CH(OH)C(O)OH*

Se añadió NaOH 3 N (36 ml, 107,3 mmoles) junto con bromuro de tetrabutilamonio (0,35 g, 1,07 mmoles) a una disolución de (R,S)-5-Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (3,1 g, 10,7 mmoles; véase la etapa (i) anterior) en THF (40 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó entonces a temperatura ambiente durante otras 2 h. La mezcla de reacción se concentró *a vacío* hasta eliminar el THF. La fase acuosa que queda se enfrió hasta 0°C y se acidificó hasta pH 2 con HCl concentrado y se extrajo con EtOAc (2 x 150 ml). Los orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío* para dar una espuma naranja. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH:hidróxido de amonio concentrado (85:15:5), proporcionó la sal de amonio del compuesto del subtítulo como un sólido blanco (2,0 g). La acidificación posterior con HCl 2 N hasta pH 1, seguida de la extracción con EtOAc, la concentración *a vacío* y el secado, proporcionó 1,8 g (68%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

35

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD): δ 7,52 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,22 (t, J = 3 Hz, 2H), 6,32 (t, J = 3 Hz, 2H), 5,4 (s, 1H).

40

(iii) *Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(S) o -(R)CH(OAc)C(O)OH (b)*

Una mezcla de *Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R,S)CH(OH)C(O)OH* (1,8 g, 7,3 mmoles; véase la etapa (ii) anterior), Lipase PS 'Amano' (1,0 g), acetato de vinilo (5,0 ml) y MTBE (5,0 ml) se calentó a 45°C durante 24 h. La reacción se filtró, y la torta del filtro se lavó con EtOAc (100 ml). El filtrado se concentró *a vacío* y se cromatografió sobre sílice, eluyendo con CHCl₃:HOAc (95:5), para dar 710 mg, (38%) del compuesto del subtítulo (a) como un sólido blanco y 910 mg (42%) del compuesto del subtítulo (b) como un sólido de color crema.

50

Para el compuesto del subtítulo (a):

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD): δ 7,54 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,36 (s, 1H), 7,19 (d, J = 3 Hz, 2H), 6,30 (d, J = 3 Hz, 2H), 5,21 (s, 1H).

55

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD): δ 175,2, 142,9, 136,1, 124,4, 120,3, 119,9, 117,3, 112,0, 73,2.

Análisis HPLC: 98,3%, 98,0% ee.

[α]_D²⁵ = -99° (c = 1,0, metanol)

60

API-MS: (M+1) 252 m/z

Para el compuesto del subtítulo (b):

65

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD): δ 7,52 (s, 1H), 7,46 (s, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,20 (br s, 2H), 6,30 (br s, 2H), 5,22 (s, 1H), 1,98 (s, 3H).

ES 2 295 004 T3

(iv) *Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)*

Una mezcla de *Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)OH* (285 mg, 1,14 mmoles; véase la etapa (iii) anterior), *HAze-Pab(Teoc)* (470 mg, 1,25 mmoles), *PyBOP* (650 mg, 1,25 mmoles), y 2,4,6-colidina (0,33 ml, 2,49 mmoles) en DMF (14 ml) se agitó a 0°C durante 2 h y después a 25°C durante 30 minutos. La reacción se paralizó con H₂O (50 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío*. La cromatografía ultrarrápida (2x) sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc proporcionó 180 mg (26%) del compuesto del subtítulo como un sólido blanco.

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD): δ 7,74-7,86 (m, 2H), 7,14-7,58 (m, 7H), 6,28 (br s, 2H), 5,14-5,28 (m, 2H), 4,76-4,82 (m, 1H), 3,92-4,58 (m, 7H), 2,40-2,68 (m, 2H), 2,10-2,38 (m, 2H), 1,02-1,16 (m, 2H), 0,09 (s, 9H).

API-MS: (M+1) 610 m/z

(v) *Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab*

Se añadió ion fluoruro unido a polímero (Amberlyst[®] A-26) (170 mg) a una disolución de *Ph(3-Cl, 5-pirrolo)-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)* (38 mg, 0,06 mmoles; véase la etapa (iv) anterior) en acetonitrilo, y la mezcla se calentó a 60°C toda la noche seguido de 70°C durante 4 h. La mezcla resultante se filtró, el polímero se lavó con acetonitrilo, etanol y THF, y la disolución se concentró *a vacío*. El producto bruto se purificó dos veces usando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M, 40:60 y CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M, 30:70, respectivamente). Las fracciones de interés se liofilizaron (3x), produciendo 8 mg (28%) del compuesto del título.

RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD): δ 7,77 (m, 2H), 7,61-7,48 (m, 3H), 7,40 (d, 1H), 7,26 (m, 2H), 6,33 (m, 2H), 5,30 (d, 1H), 4,68-4,25 (m, 2H), 4,09 (m, 1H), 2,60 (m, 1H), 2,35 (m, 1H), 1,94 (s, 3H).

LC-MS: (M+1) 466 m/z

Ejemplo 21

Ph(3-Cl, 5-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-n-Pr)

(i) *Ph(3-Cl, 5-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(O-n-Pr)*

Se añadió O-n-propilhidroxilamina x HCl (43 mg, 0,38 mmoles) a una disolución de *Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)* (40 mg, 0,064 moles; véase el Ejemplo 9(vi) anterior) en THF (3 ml), y la disolución se calentó a 60°C durante 4,5 h. La disolución se concentró *a vacío*, y el material bruto resultante se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (gel de Si, EtOAc:MeOH 9:1). Las fracciones de interés se concentraron, produciendo 43 mg (98%) del compuesto del subtítulo.

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD): δ 7,75 (2s, 1H), 7,59 (br, 1H), 7,43 (d, 2H), 7,23 (m, 3H), 5,18 (br, 1H), 4,50-4,30 (m, 3H), 4,20-4,05 (m, 5H), 3,99 (t, 3H), 3,84 (m, 2H), 2,55 (t, 2H), 2,28 (m, 1H), 2,12 (m, 2H), 1,71 (m, 2H), 0,99 (m, 4H), 0,02 (s, 9H).

(ii) *Ph(3-Cl, 5-(1-Pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-n-Pr)*

Se añadió TFA (2,5 ml) a una disolución enfriada en hielo de *Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R) o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(O-n-Pr)(Teoc)* (43 mg, 0,063 mmoles; procedente de la etapa (i) anterior) en cloruro de metileno (0,5 ml), y la disolución se agitó a 0°C durante 100 min., después de lo cual la disolución se concentró *a vacío* y el material bruto resultante se purificó usando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M 30:70). Las fracciones de interés se reunieron y se liofilizaron, produciendo 23 mg (68%).

Pureza 99,9%

LC-MS (M+1) 542 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD) (complejo debido a rotamería): δ 7,75 (br, 1H), 7,57 (m, 2,5H), 7,49 (s, 0,5H), 7,36-7,22 (m, 3H), 5,16 (s, 1H), 4,78 (dd, 1H), 4,48-4,32 (m, 3H), 4,17 (m, 1H), 3,97 (m, 2H), 3,86 (m, 2H), 2,55 (t, 3H), 2,52 (m, 0,5H), 2,28 (m, 0,5H), 2,13 (m, 3H), 1,71 (m, 2H), 0,98 (m, 2H).

Ejemplo 22

Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) *Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe)*

Se añadió O-metilhidroxilamina x HCl (64 mg, 0,77 mmoles) a una mezcla de *Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)* (80 mg, 0,13 mmoles; véase el Ejemplo 9(vi) anterior) en THF (6 ml). La mezcla

ES 2 295 004 T3

se agitó a 60°C durante 5 h y después se evaporó. El residuo se cromatógrafió sobre gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo:metanol (9:1), para dar 75 mg de producto bruto. El producto bruto se purificó adicionalmente usando HPLC preparativa (CH₃CN:acetato de amonio 0,1 M, 60:40). Las fracciones de interés se concentraron. El CH₃CN se eliminó *a vacío*. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3x). Las fases de acetato de etilo combinadas se lavaron con salmuera, después se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron, produciendo 65,8 mg (78%) del compuesto del subtítulo.

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃) δ 7,97-7,90 (m, 1H), 7,60-7,55 (m, 2H), 7,46 (d, 2H), 7,29 (d, 2H), 7,13 (s, 1H), 4,95-4,81 (m, 2H), 4,55-4,30 (m, 3H), 4,18-4,09 (m, 3H), 3,95 (s, 3H), 3,87-3,75 (m, 3H), 2,69-2,55 (m, 3H), 2,45-2,34 (m, 1H), 2,20-2,10 (m, 2H), 2,00 (br, 1H), 1,01-0,92 (m, 2H), 0,00 (s, 9H)

(ii) *Ph(3-Cl, 5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)*

Se añadió TFA (3,0 ml) a una disolución enfriada en hielo de *Ph(3-Cl,5-(1-pirrolidin-2-ona))-(R)- o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(Teoc)(OMe)* (55,9 mg, 0,08 mmoles; procedente de la etapa (i) anterior) en cloruro de metileno (0,5 ml). La disolución se agitó a 0°C durante 130 min., después de lo cual la disolución se concentró *a vacío*, y el material bruto resultante se purificó usando HPLC preparativa (CH₃CN: acetato de amonio 0,1 M, 30:70). Las fracciones de interés se reunieron y se liofilizaron (2x), produciendo 38 mg (87%) del compuesto del título.

LC-MS (M+1) 514 m/z

RMN ¹H (400 MHz; CD₃OD) δ 7,75 (s, 1H), 7,62-7,47 (m, 3H), 7,36-7,21 (m, 3H), 5,19-5,10 (m, 1H), 4,48-3,93 (m, 4H), 3,89-3,79 (m, 5H), 2,72-2,45 (m, 3H), 2,33-2,06 (m, 3H)

Ejemplo 23

Ph(3-Cl,5-NMe(3-metilbutanoil))-(R)- o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)

(i) *(R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NHMe)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano*

Una mezcla de (R,S)-5-Ph(3-Cl,5NH₂)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (3,0 g, 12,4 mmoles; véase el Ejemplo 9 (ii) anterior), formaldehído (0,81 ml de 37% en peso en H₂O, 9,9 mmoles) y óxido de platino(IV) (330 mg) en EtOAc (100 ml) se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 5 h a 25°C. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite, y la torta del filtro se lavó con EtOAc (200 ml). Los orgánicos se concentraron *a vacío* y se cromatógrafiaron de forma ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc:Hex (1:4) para dar 1,63 g (52%) del compuesto del subtítulo como un aceite amarillo.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 6,75 (s, 1H), 6,54 (s, 2H), 5,25 (s, 1H), 3,90 (br s, 1H), 2,80 (s, 3H), 1,68 (s, 3H), 1,64 (s, 3H)

(ii) *(R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NMe(3-metilbutanoil))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano*

Se añadió, gota a gota, cloruro de isovalerilo (623 mg, 5,17 mmoles) a una disolución de (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NHMe)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (945 mg, 3,70 mmoles; véase la etapa (i) anterior) y trietilamina (560 mg, 5,54 mmoles) en acetona (20 ml) a 0°C. La mezcla se agitó durante 0,5 h, y se repartió entre EtOAc (3 x 30 ml) y H₂O (30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO₃ acuoso (30 ml), se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío* para dar 1,35 g (>100%) del compuesto del subtítulo como un aceite amarillo, que se usó directamente sin purificación.

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,50 (s, 1H), 7,20 (s, 2H), 5,38 (s, 1H), 3,28 (s, 3H), 1,90-2,22 (m, 3H), 1,70 (s, 3H), 1,68 (s, 3H), 0,70-0,92 (m, 6H)

(iii) *Ph(3-Cl,5-NMe(3-metilbutanoil))-(R,S)CH(OH)C(O)OH*

Una mezcla de (R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NMe(3-metilbutanoil))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano (1,35 g, 3,97 mmoles; véase la etapa (ii) anterior) y NaOH (1,60 g, 39,7 mmoles) en MeOH (20 ml) se agitó durante 1 h a 25°C. La mezcla se concentró *a vacío*, y el residuo se diluyó con H₂O (30 ml), se acidificó con HCl 2 N (20 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y se concentraron *a vacío* para dar 1,0 g (100%) del compuesto del subtítulo como un aceite amarillo, que se usó directamente sin purificación.

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,34 (s, 2H), 5,21 (s, 1H), 3,23 (s, 3H), 1,90-2,10 (m, 3H), 0,70-0,92 (m, 6H)

(iv) *Ph(3-Cl,5-NMe(3-metilbutanoil))-(R)- o -(S)-CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl,5-NMe(3-metilbutanoil))-(S)- o -(R)-CH(OAc)C(O)OH (b)*

Una mezcla de *Ph(3-Cl,5-NMe(3-metilbutanoil))-(R,S)CH(OH)C(O)OH* (1,0 g, 3,34 mmoles; véase la etapa (iii) anterior) y Lipase PS Amano (510 mg) en acetato de vinilo (25 ml) y MTBE (25 ml) se calentó a 55°C durante 14 h. La reacción se filtró a través de Celite, y la torta del filtro se lavó con MeOH (200 ml). El filtrado se concentró *a vacío*

ES 2 295 004 T3

y se cromatografió sobre gel de sílice eluyendo con $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{NH}_4\text{OH}$ concentrado (6,5:3,0:0,5) para dar 285 mg de la sal de amonio del compuesto del subtítulo (a) como una espuma triturable y 370 mg (32%) de la sal de amonio del compuesto del subtítulo (b) como una espuma blanca. La sal de amonio del compuesto del subtítulo (a) se recogió en EtOAc (25 ml) y se neutralizó con HCl 2 M en Et_2O (0,60 ml). Se añadió agua (25 ml), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 25 ml), y los extractos orgánicos se secaron (Na_2SO_4), se filtraron, y se concentraron *a vacío* para dar 230 mg (23%) del compuesto del subtítulo (a) como una espuma blanca triturable.

Para el compuesto del subtítulo (a):

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 5,21 (s, 1H), 3,23 (s, 3H), 1,90-2,10 (m, 3H), 0,70-0,92 (m, 6H)

RMN ^{13}C (75 MHz, CD_3OD) δ 175,4, 175,0, 146,6, 145,2, 136,2, 128,1, 127,4, 125,6, 73,6, 44,0, 37,7, 27,4, 22,8

Análisis HPLC: 96,0%, >99% ee

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -85,1^\circ$ (c = 0,5, MeOH)

API-MS (M+1) = 300 m/z

Para el compuesto del subtítulo (b):

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 7,30 (s, 1H), 5,75 (s, 1H), 3,23 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 1,90-2,10 (m, 3H), 0,70-0,92 (m, 6H)

(v) *Ph(3-Cl,5-NMe(3-metilbutanoil))-(R)-* o *-(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)*

Se añadió PyBOP (227 mg, 0,44 mmoles) y colidina (168 mg, 1,39 mmoles) a una mezcla de *Ph(3-Cl,5-NMe(3-metilbutanoil))-(R)-* o *-(S)-CH(OH)C(O)OH* (119 mg, 0,40 mmoles; véase la etapa (iv) anterior) y *H-Aze-Pab(OMe)* x 2HCl (146 mg, 0,44 mmoles; véase el Ejemplo 2(iv) anterior) en DMF (5 ml). La disolución se agitó durante 3 h a 0°C en nitrógeno. La mezcla se repartió entre EtOAc (3 x 30 ml) y H_2O (30 ml), se secó (Na_2SO_4), se filtró, y se concentró *a vacío*. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ (15:1) dio 125 mg (58%) del compuesto del título como una espuma blanca triturable.

RMN ^1H (300 MHz, CD_3OD , mezcla de rotámeros) δ 7,60 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,42-7,54 (m, 1H), 7,20-7,50 (m, 4H), 5,20 y 5,14 (s, 1H), 4,72-4,81 (m, 1H), 4,30-4,48 (m, 3H), 3,90-4,20 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,22 (s, 3H), 2,46-2,72 (m, 2H), 2,10-2,36 (m, 1H), 1,94-2,10 (m, 2H), 0,80-0,94 (m, 6H)

API-MS (M+1) = 545 m/z

Ejemplo 24

Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R)- o *-(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)*

(i) *(R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano*

Se añadió, gota a gota, cloruro de ciclopentanocarbonilo (776 mg, 5,86 mmoles) a una disolución de *(R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NHMe)-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano* (945 mg, 3,70 mmoles; véase el Ejemplo 23(i) anterior) y trietilamina (635 mg, 5,86 mmoles) en acetona (20 ml) a 0°C. La mezcla se agitó durante 1 h, y se repartió entre EtOAc (3 x 30 ml) y H_2O (30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con NaHCO_3 acuoso (30 ml), se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *a vacío* para dar 1,58 g (>100%) del compuesto del subtítulo como un aceite amarillo, que se usó directamente sin purificación.

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ 7,50 (s, 1H), 7,20 (s, 2H), 5,38 (s, 1H), 3,28 (s, 3H), 2,50-2,60 (m, 1H), 1,70 (s, 3H), 1,68 (s, 3H), 1,40-1,90 (m, 8H)

(ii) *Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R,S)CH(OH)C(O)OH*

Una mezcla de *(R,S)-5-Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-2,2-dimetil-4-oxo-1,3-dioxolano* (1,58 g, 5,07 mmoles; véase la etapa (i) anterior) y NaOH (2,03 g, 50,7 mmoles) en MeOH (25 ml) se agitó 1 h a 25°C. La mezcla se concentró *a vacío*, se diluyó con H_2O (30 ml), y se acidificaron con HCl 2N (20 ml). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml), los extractos orgánicos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron *a vacío* para dar 1,17 g (100%) del compuesto del subtítulo como una espuma blanca, que se usó directamente sin purificación.

ES 2 295 004 T3

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,32 (s, 2H), 5,20 (s, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,50-2,62 (m, 1H), 1,40-1,80 (m, 8H)

(iii) *Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R)- o -(S)-CH(OH)C(O)OH (a) y Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(S)- o -(R)-CH(OAc)C(O)OH (b)*

Una mezcla de Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R,S)CH(OH)C(O)OH (1,17 g, 3,75 mmoles; véase la etapa (ii) anterior) y Lipase PS Amano (600 mg) en acetato de vinilo (25 ml), y MTBE (25 ml) se calentó a 55°C durante 14 h. La reacción se filtró a través de Celite, y la torta del filtro se lavó con MeOH (100 ml). El filtrado se concentró *a vacío* y se cromatografió sobre gel de sílice eluyendo con CHCl₃:MeOH:NH₄OH concentrado (6,5:3,0:0,5) para dar 336 mg de la sal de amonio del compuesto del subtítulo (a) como una espuma triturable y 557 mg (50%) de la sal de amonio del compuesto del subtítulo (b) como una espuma blanca. La sal de amonio del compuesto del subtítulo (a) se recogió en EtOAc (25 ml), y se neutralizó con HCl 2M en Et₂O (0,70 ml). Se añadió agua (25 ml), y las capas se separaron. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 x 25 ml), y los extractos orgánicos se secaron (Na₂SO₄), se filtraron, y se concentraron para dar 290 mg (29%) del compuesto del subtítulo (a) como una espuma blanca triturable.

Para el compuesto del subtítulo (a):

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,32 (s, 2H), 5,20 (s, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,50-2,62 (m, 1H), 1,40-1,80 (m, 8H)

RMN ¹³C (75 MHz, CD₃OD) δ 178,8, 175,1, 146,5, 144,9, 136,2, 128,2, 127,5, 125,7, 73,0, 43,4, 38,0, 32,2, 27,3

Análisis HPLC: 91,9%, >99% ee

[α]_D²⁵ = -77,9° (c = 1,0, MeOH)

CI-MS (M+1) = 312 m/z

Para el compuesto del subtítulo (b):

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD) δ 7,55 (s, 1H), 7,40 (s, 1H), 7,34 (s, 1H), 5,75 (s, 1H), 3,20 (s, 3H), 2,50-2,62 (m, 1H), 2,18 (s, 3H), 1,40-1,80 (m, 8H)

(iv) *Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R)- o -(S)CH(OH)C(O)-Aze-Pab(OMe)*

Se añadió PyBOP (220 mg, 0,42 mmoles) y colidina (161 mg, 1,35 mmoles) a una mezcla de Ph(3-Cl,5-NMe(ciclopentilcarbonil))-(R,S)CH(OH)C(O)OH (120 mg, 0,39 mmoles; véase la etapa (iii) anterior) y H-Aze-Pab(OMe) x 2HCl (142 mg, 0,42 mmoles; véase el Ejemplo 2(iv) anterior) en DMF (5 ml). La disolución se agitó durante 6 h a 0°C en nitrógeno. La mezcla se repartió entre EtOAc (3 x 30 ml) y H₂O (30 ml), se secó (Na₂SO₄), se filtró, y se concentró *a vacío*. La cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, eluyendo con CHCl₃:MeOH (15:1), seguido de cromatografía con EtOAc:EtOH (20:1) dio 85 mg (40%) del compuesto del título como una espuma blanca triturable.

RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD, mezcla de rotámeros) δ 7,60 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,42-7,54 (m, 1H), 7,20-7,50 (m, 4H), 5,20 y 5,14 (s, 1H), 4,72-4,81 (m, 1H), 4,30-4,48 (m, 3H), 3,90-4,20 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,22 (s, 3H), 2,46-2,72 (m, 2H), 2,10-2,36 (m, 1H), 1,40-1,80 (m, 8H)

API-MS (M+1) = 556 m/z

Ejemplo 25

Los compuestos del título de los Ejemplos 1, 3 a 11 y 20 se ensayaron en el Ensayo A anterior, y se encontró que mostraban un valor de IC₅₀TT menor que 0,5 μM.

Ejemplo 26

Los compuestos del título de los Ejemplos 2, 12, 13, 15, 18, 19 y 21 se ensayaron en el Ensayo E anterior, y se encontró que mostraban una biodisponibilidad oral y/o parenteral en la rata como el inhibidor activo correspondiente (amidina libre).

Ejemplo 27

Los compuestos del título de los Ejemplos 2, 12 hasta 19 y 21 se ensayaron en el Ensayo G anterior, y mostraron formación del inhibidor activo correspondiente (amidina libre).

Abreviaturas

	Ac	= acetilo
5	AcOH	= ácido acético
	API	= ionización a presión atmosférica (en relación con MS)
	Aze	= azetidín-2-carboxilato
10	AzeOH	= ácido azetidín-2-carboxílico
	Bzl	= bencilo
15	CI	= ionización química (en relación con MS)
	DIPEA	= diisopropiletilamina
	DMAP	= 4-(N,N-dimetilamino)piridina
20	DMF	= dimetilformamida
	DMSO	= dimetilsulfóxido
25	EDC	= hidrocloreuro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
	Et	= etilo
	éter	= éter dietílico
30	EtOAc	= acetato de etilo
	EtOH	= etanol
35	h	= horas
	HATU	= hexafluorofosfato de O-(azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
	HBTU	= [hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)uronio]
40	HCl	= ácido clorhídrico
	HCl(g)	= cloruro de hidrógeno gaseoso
45	Hex	= hexanos
	HOAc	= ácido acético
	HPLC	= cromatografía de líquidos de altas prestaciones
50	LC	= cromatografía de líquidos
	Me	= metilo
55	MeOH	= metanol
	MS	= espectroscopía de masas
	MTBE	= metil-terc-butil-éter
60	Pab	= para-amidinobencilamino
	H-Pab	= para-amidinobencilamino
65	PyBOP	= hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tripirrolidinofosfonio
	RPLC	= cromatografía de líquidos de altas prestaciones de fase inversa

ES 2 295 004 T3

RT = temperatura ambiente

TBTU = [tetrafluoroborato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(benzotriazol-1-il)uronio]

5 TEA = trietilamino

Teoc = 2-(trimetilsilil)etoxicarbonilo

TFA = ácido trifluoroacético

10

THF = tetrahidrofurano

THP = tetrahidropiraniolo

15

TLC = cromatografía de capa fina

TMSCN = cianuro de trimetilsililo

Z = benciloxycarbonilo

20

Los prefijos *n*, *s*, *i* y *t* tienen sus significados habituales: normal, secundario, iso y terciario.

25

30

35

40

45

50

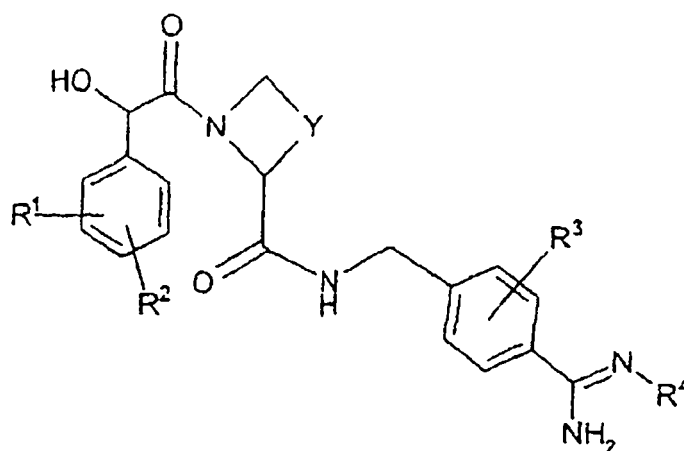
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I,



en la que

R^1 representa un sustituyente $N(R^5)R^6$ o $S(O)_mR^7$;

R^2 y R^3 representan independientemente un sustituyente opcional seleccionado de halo, alquilo C_{1-4} o alcoxi C_{1-4} , estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos con halo;

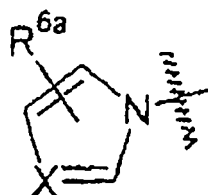
Y representa alquileno C_{1-3} , opcionalmente sustituido con alquilo C_{1-4} , metileno, =O o hidroxilo;

R^4 representa H, OH, OR^{8a} , $C(O)OR^{8b}$ o R^{8c} ;

R^5 representa alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con halo, o, junto con R^6 y el átomo de nitrógeno al que están unidos R^5 y R^6 , representa un anillo de 3 a 7 miembros que contiene nitrógeno, anillo el cual incluye opcionalmente un átomo de oxígeno y/o está opcionalmente sustituido con un grupo =O;

R^6 representa alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con halo, $C(O)R^9$, o, junto con R^5 y el átomo de nitrógeno al que están unidos R^5 y R^6 , representa un anillo de 3 a 7 miembros que contiene nitrógeno, anillo el cual incluye opcionalmente un átomo de oxígeno y/o está opcionalmente sustituido con un grupo =O;

o el grupo $N(R^5)R^6$ representa el fragmento estructural Ia,



Ia

R^{6a} representa uno o más sustituyentes opcionales seleccionados de halo, alquilo C_{1-4} y alcoxi C_{1-4} , estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos con halo;

X representa CH o N;

m representa 0, 1 ó 2;

R^7 representa H, NH_2 o alquilo C_{1-6} ;

R^{8a} y R^{8b} representan independientemente alquilo C_{1-10} , alquil C_{1-3} -fenilo o arilo C_{6-10} , o R^{8a} representa $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R^{11}$, $C(R^{10a})(R^{10b})N(H)C(O)OR^{12}$ o $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R^{12}$;

R^{8c} representa $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R^{11}$, $C(R^{10a})(R^{10b})N(H)C(O)OR^{12}$ o $C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R^{12}$;

ES 2 295 004 T3

R^{10a} y R^{10b} representan independientemente, en cada caso, H o alquilo C₁₋₄;

R¹¹ representa, en cada caso, arilo C₆₋₁₀, OR¹² o alquilo C₁₋₇, estando este último grupo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de OH, CO₂H y arilo C₆₋₁₀;

R¹² representa, en cada caso, arilo C₆₋₁₀ o alquilo C₁₋₆, estando este último grupo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de OH, CO₂H y arilo C₆₋₁₀;

R⁹ representa alquilo C₁₋₈, Het¹, arilo C₆₋₁₀ o alquilo C₁₋₄ sustituido con arilo C₆₋₁₀; y

Het¹ representa un anillo heterocíclico de 4 a 12 miembros, anillo el cual contiene uno o más heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y/o azufre, y anillo el cual puede estar totalmente saturado, parcialmente saturado o puede ser aromático, y/u opcionalmente puede ser monocíclico, bicíclico y/o puede estar benzocondensado; en el que cada grupo arilo/fenilo y grupo Het¹ identificados anteriormente están opcionalmente sustituido con uno o más grupo halo, alquilo C₁₋₄ y/o alcoxi C₁₋₄, estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos a su vez con uno o más grupos halo; cada grupo arilo representa fenilo o naftilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

con la condición de que:

(a) cuando m represente 1 ó 2, entonces R⁷ no represente H; y

(b) cuando m represente 0, entonces R⁷ no represente NH₂.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que, cuando R⁵ y R⁶, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, representan un anillo de 3 a 7 miembros sustituido con un grupo =O, el anillo está sustituido en un átomo de carbono que está en posición α con respecto al átomo de nitrógeno.

3. Un compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que R² representa alquilo C₁₋₄ o alcoxi C₁₋₄, lineales o ramificados, estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos con halo, o halo.

4. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R³ está ausente, o representa alquilo C₁₋₄ lineal o ramificado, o halo.

5. Un compuesto según la reivindicación 4, en el que R³ representa un grupo metilo o cloro.

6. Un compuesto según la reivindicación 4 o la reivindicación 5, en el que el sustituyente está en la posición 2 con relación al grupo -CH₂- al que también está unido el anillo fenílico.

7. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R¹ representa N(R⁵)R⁶.

8. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 a 7, en el que R⁵ representa alquilo C₁₋₆ lineal, ramificado o cíclico, o, junto con R⁶ y el átomo de nitrógeno al que están unidos R⁵ y R⁶, representa un anillo de 4 a 6 miembros que contiene nitrógeno, opcionalmente sustituido con un grupo =O.

9. Un compuesto según la reivindicación 8, en el que R⁵ representa alquilo C₁₋₄, o, junto con R⁶ y el átomo de nitrógeno al que están unidos R⁵ y R⁶, representa un anillo de 5 ó 6 miembros que contiene nitrógeno, opcionalmente sustituido con un grupo =O.

10. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 a 9, en el que R⁶ representa alquilo C₁₋₆ lineal, ramificado o cíclico, C(O)-alquilo C₁₋₆, o, junto con R⁵ y el átomo de nitrógeno al que están unidos R⁵ y R⁶, representa un anillo de 4 a 6 miembros que contiene nitrógeno, opcionalmente sustituido con un grupo =O.

11. Un compuesto según la reivindicación 10, en el que R⁶ representa metilo, C(O)-alquilo C₁₋₆, o, junto con R⁵ y el átomo de nitrógeno al que están unidos R⁵ y R⁶, representa un anillo de 5 ó 6 miembros que contiene nitrógeno, opcionalmente sustituido con un grupo =O.

12. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 3 a 6, en el que R⁷ representa alquilo C₁₋₆ lineal, ramificado o cíclico.

13. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R¹ está unido al anillo fenílico en la posición 3, con relación al grupo -CH(OH)- al que también está unido el anillo fenílico.

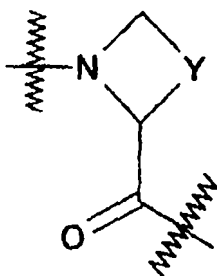
14. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que R² está unido al anillo fenílico en la posición 5, con relación al grupo -CH(OH)- al que también está unido el anillo fenílico.

15. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que, cuando R⁴ representa OR^{8a}, entonces R^{8a} representa alquilo C₁₋₆ lineal o ramificado, alquilo cíclico C₄₋₅, estando estos dos últimos grupos opcionalmente interrumpidos con oxígeno, o fenilo o alquilfenilo C₁₋₂, estando la parte fenólica de estos dos últimos grupos

opcionalmente sustituida con uno o más grupos halo, alquilo C_{1-4} y/o alcoxi C_{1-4} , estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos a su vez con uno o dos o más grupos halo, o R^{8a} representa $CH_2OC(O)R^{11}$, en el que R^{11} representa fenilo, alquilo C_{1-6} lineal, ramificado o cíclico, estando este último grupo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de OH, CO_2H y fenilo, u OR^{12} , en el que R^{12} representa fenilo o alquilo C_{1-6} lineal, ramificado o cíclico, estando este último grupo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado de OH, CO_2H y fenilo.

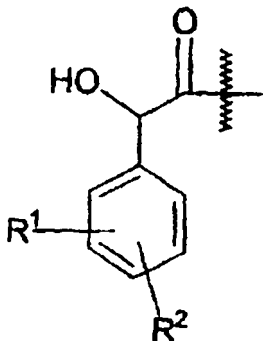
16. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en el que, cuando R^4 representa $C(O)OR^{8b}$, entonces R^{8b} representa alquilfenilo C_{1-2} lineal o ramificado, o fenilo, estando la parte fenílica de estos dos últimos grupos opcionalmente sustituida con uno o más grupos halo, alquilo C_{1-4} y/o alcoxi C_{1-4} , estando estos dos últimos grupos opcionalmente sustituidos a su vez con uno o más grupos halo.

17. Un compuesto de fórmula I, como se define en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el fragmento



está en configuración S.

18. Un compuesto de fórmula I, como se define en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el fragmento



está en configuración R.

19. Una formulación farmacéutica que incluye un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en mezcla con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

20. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso como producto farmacéutico.

21. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento de una patología en la que se requiere inhibición de la trombina.

22. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso en el tratamiento de la trombosis.

23. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso como anticoagulante.

24. El uso de un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como ingrediente activo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una patología en la que se requiere inhibición de la trombina.

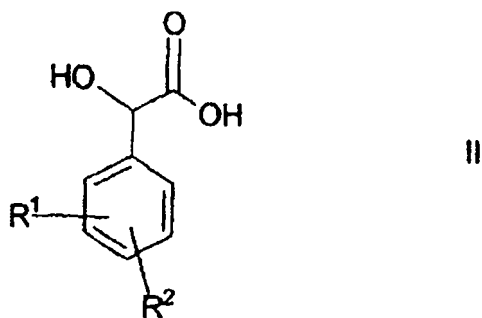
25. El uso según la reivindicación 24, en el que la patología es trombosis.

26. El uso según la reivindicación 24, en que la patología es hipercoagulabilidad en sangre y tejidos.

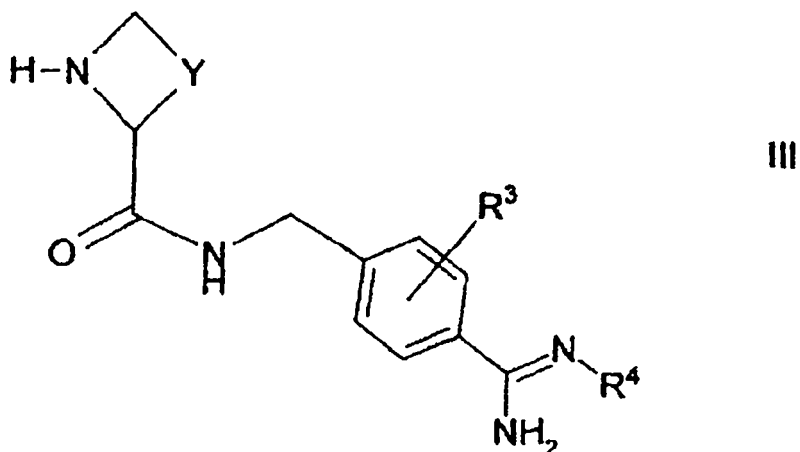
5 27. El uso de un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 18, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, como ingrediente activo en la fabricación de un anticoagulante.

28. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula I, que comprende:

10 (i) acoplar un compuesto de fórmula II,

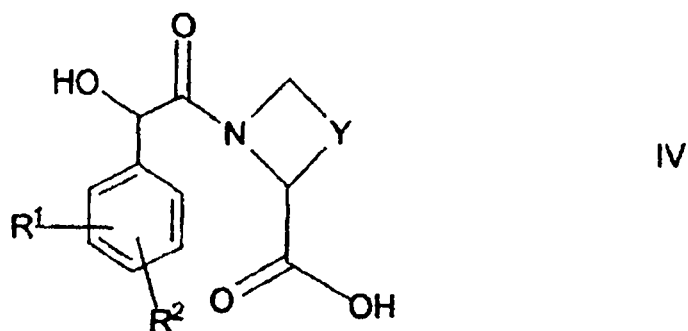


25 en la que R^1 y R^2 son como se definen en la reivindicación 1, con un compuesto de fórmula III,



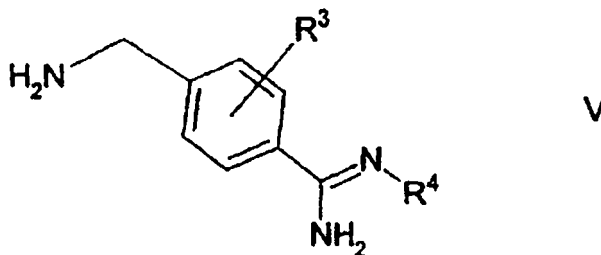
40 en la que Y, R^3 y R^4 son como se definen en la reivindicación 1;

45 (ii) acoplar un compuesto de fórmula IV,



en la que R^1 , R^2 e Y son como se definen en la reivindicación 1, con un compuesto de fórmula V,

5



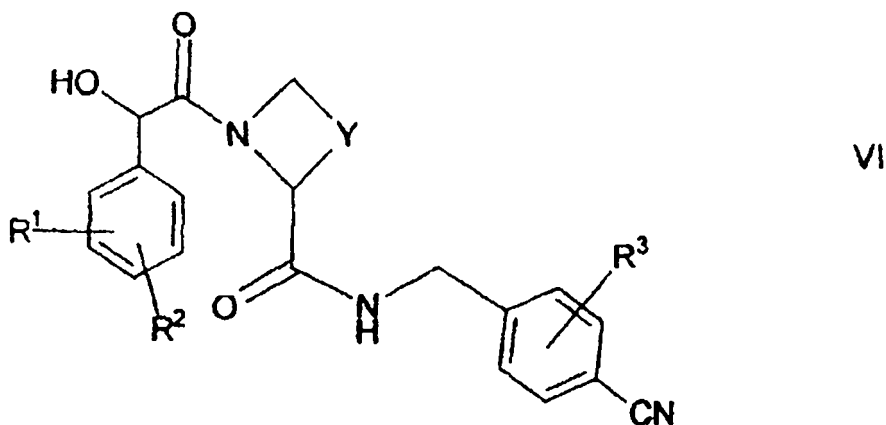
10

en la que R^3 y R^4 son como se definen en la reivindicación 1;

15

- (iii) para compuestos de fórmula I en la que R^4 representa OH u OR^{8a} , hacer reaccionar un compuesto de fórmula VI,

20



25

30

35

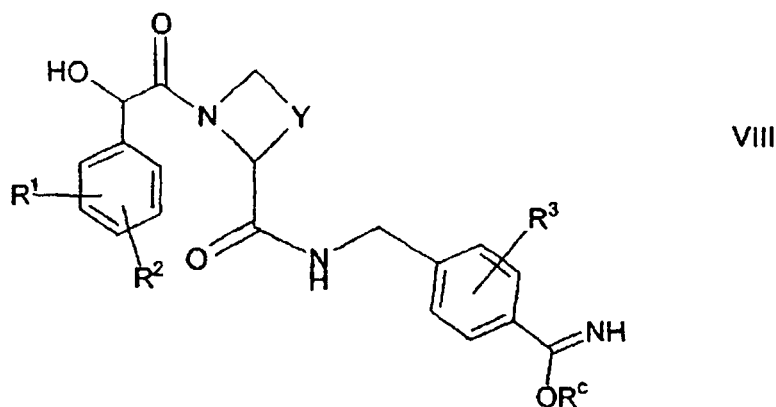
en la que R^1 , R^2 , Y y R^3 son como se definen en la reivindicación 1, con un compuesto de fórmula VII,

40



en la que R^a representa H o R^{8a} , y R^{8a} es como se define en la reivindicación 1, opcionalmente pretratando el compuesto de fórmula VI con HCl gaseoso, en presencia de un alcohol de alquilo inferior, para formar un compuesto de fórmula VIII,

45



50

55

60

en la que R^c representa alquilo inferior, y R^1 , R^2 , Y y R^3 son como se definen en la reivindicación 1;

65

- (iv) para compuestos de fórmula I en la que R^4 representa OH u OR^{8a} , hacer reaccionar un compuesto que corresponde a un compuesto de fórmula I, en la que está presente un grupo protector $C(O)OR^{b1}$ en lugar de R^4 , en el que R^{b1} representa 2-trimetilsililetilo, alquilo C_{1-6} o, con un compuesto de fórmula VII como se define aquí anteriormente;

ES 2 295 004 T3

- (v) para compuestos de fórmula I en la que R⁴ representa C(O)OR^{8b}, hacer reaccionar un compuesto de fórmula I en la que R⁴ representa H con un compuesto de fórmula IX,



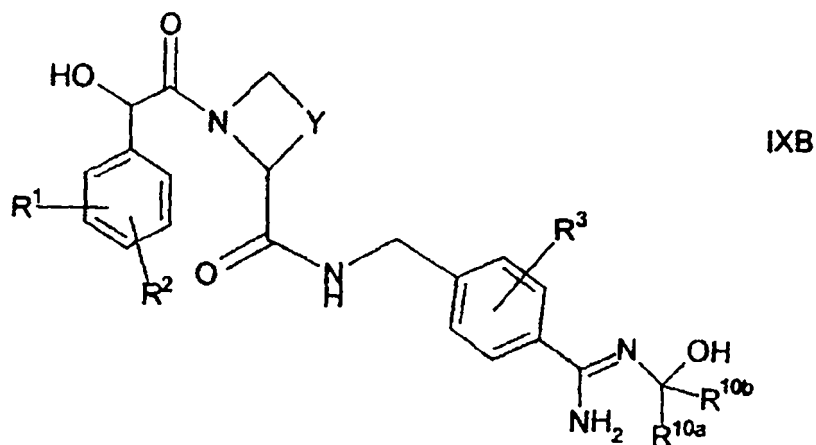
en la que L¹ representa un grupo saliente, y R^{8b} es como se define en la reivindicación 1;

- (vi) para compuestos de fórmula I en la que R⁴ representa OR^{8a}, hacer reaccionar un compuesto correspondiente de fórmula I, en la que R⁴ representa OH, con un compuesto de fórmula IXA,



en la que R^{8a} es como se define en la reivindicación 1, y L¹ es como se define anteriormente;

- (vii) para compuestos de fórmula I en la que R⁴ representa R^{8c}, en la que R^{8c} representa C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)R¹¹ o C(R^{10a})(R^{10b})OC(O)N(H)R¹², hacer reaccionar un compuesto correspondiente de fórmula IXB,



en la que R¹, R², Y, R³, R^{10a} y R^{10b} son como se definen en la reivindicación 1, con un compuesto de fórmula IXC,



en la que R¹³ representa R¹¹ o N(H)R¹², y R¹¹ y R¹² son como se definen en la reivindicación 1, y L¹ es como se define anteriormente;

- (viii) para compuestos de fórmula I en la que R⁴ representa R^{8c}, hacer reaccionar un compuesto correspondiente de fórmula I, en la que R⁴ representa H, con un compuesto de fórmula IXD,



en la que R¹⁴ representa OC(O)R¹¹, NHC(O)OR¹² o OC(O)N(H)R¹², y R^{10a}, R^{10b}, R¹¹ y R¹² son como se definen en la reivindicación 1, y L¹ es como se define anteriormente;

- (ix) para compuestos de fórmula I en la que R¹ incluye un grupo S(O) o un grupo S(O)₂, oxidar un compuesto correspondiente de fórmula I, en la que R¹ incluye un grupo S;
- (x) desproteger un derivado protegido de un compuesto de fórmula I como se define en la reivindicación 1; o
- (xi) introducir o interconvertir un sustituyente en un anillo aromático, no aromático, carbocíclico o heterocíclico en un compuesto de fórmula I como se define en la reivindicación 1.