



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 330 221**

(51) Int. Cl.:
C07K 11/02 (2006.01)
C07K 5/06 (2006.01)
A61K 38/15 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **04729639 .7**
(96) Fecha de presentación : **27.04.2004**
(97) Número de publicación de la solicitud: **1625153**
(97) Fecha de publicación de la solicitud: **15.02.2006**

(54) Título: **Nonadepsipéptidos acilados de tipo lisobactina.**

(30) Prioridad: **09.05.2003 DE 103 20 781**

(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.12.2009

(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.12.2009

(73) Titular/es: **AiCuris GmbH & Co. KG.**
Friedrich-Ebert-Strasse 475
42117 Wuppertal, DE

(72) Inventor/es: **Von Nussbaum, Franz;**
Brunner, Nina;
Anlauf, Sonja;
Endermann, Rainer;
Fürstner, Chantal;
Hartmann, Elke;
Köbberling, Johannes;
Ragot, Jacques;
Schiffer, Guido;
Schuhmacher, Joachim;
Svenstrup, Niels;
Telser, Joachim y
Brüning, Michael-Alexander

(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

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

Nonadepsipéptidos acilados de tipo lisobactina.

La invención se refiere a nonadepsipéptidos y a procedimientos para su preparación, así como a su uso para preparar medicamentos para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en especial enfermedades infecciosas bacterianas.

La pared celular bacteriana se sintetiza por medio de una serie de enzimas (biosíntesis de la pared celular) y es esencial para la supervivencia o la reproducción de microorganismos. La estructura de esta macromolécula también está fuertemente conservada dentro de las bacterias, así como las proteínas involucradas en su síntesis. Debido a su naturaleza esencial y uniformidad la biosíntesis de la pared celular es un punto de ataque ideal para nuevos antibióticos (D. W. Green, The bacterial cell wall as a source of antibacterial targets, Expert Opin. Ther. Targets, 2002, 6, 1-19).

La vancomicina y la penicilina son inhibidores de la biosíntesis de la pared celular bacteriana y representan exitosos ejemplos de la potencia antibiótica de este principio activo. Se emplean desde hace varias décadas en clínica para el tratamiento de infecciones bacterianas, sobre todo, con patógenos gram-positivos. Por medio de la presencia creciente de gérmenes resistentes, por ejemplo, estafilococos resistentes a meticilina, neumococos resistentes a penicilina y enterococos resistentes a vancomicina (F. Baquero, Gram-positive resistance: challenge for the development of new antibiotics, J. Antimicrob. Chemoter., 1997, 39, Suppl A:1-6; A. P. Johnson, D. M. Livermore, G.S. Tillotson, Antimicrobial susceptibility of Gram-positive bacteria: what's current, what's anticipated?, J. Hasp. Infect., 2001, (49), Suppl A: 3-11), así como recientemente también por primera vez estafilococos resistentes a vancomicina (B. Goldrick, First reported case of VRSA in the United States, Am. J. Nurs., 2002, 102, 17), estas sustancias pierden cada vez más eficacia terapéutica.

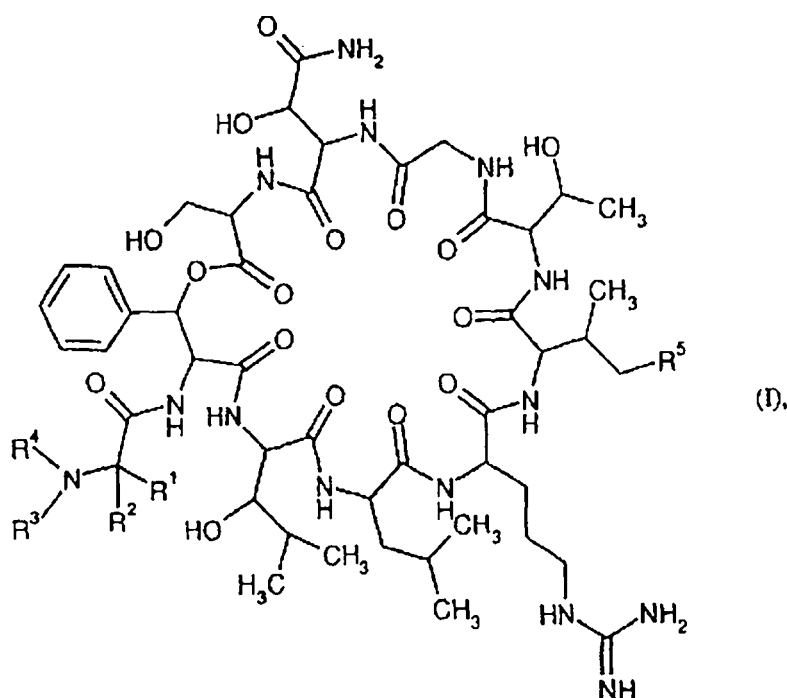
La presente invención describe una nueva clase de inhibidores de la biosíntesis de la pared celular sin resistencias cruzadas con clases conocidas de antibióticos.

La sustancia natural lisobactina y algunos derivados se describen como con eficacia antibacteriana en el documento US 4.754.018. El aislamiento y la eficacia antibacteriana de la lisobactina también se describen en los documentos EP-A-196 042 y JP 01 132600.

La eficacia antibacteriana de la lisobactina y la catanosina A también se describe en O'Sullivan, J. *et al.*, J. Antibiot. 1988, 41, 1740 - 1744, Bonner, D. P. *et al.*, J. Antibiot. 1988, 41, 1745 - 1751, Shoji, J. *et al.*, J. Antibiot. 1988, 41, 713 - 718 y Tymiak, A. A. *et al.*, J. Org. Chem. 1989, 54, 1149 - 1157.

Un objetivo de la presente invención consiste en poner a disposición compuestos alternativos con una acción antibacteriana comparable o mejorada, por ejemplo, menor nefrotoxicidad, para el tratamiento de enfermedades bacterianas en seres humanos y animales.

Son objeto de la invención compuestos de la fórmula



ES 2 330 221 T3

en la que

R¹ significa hidrógeno, cicloalquilo C₃-C₆, cicloalqueno C₅-C₆, cicloalquil C₃-C₆-metilo, heterociclilmetilo de 5 a 7 miembros, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 1,1-dimetilprop-1-ilo, 1-etil-prop-1-ilo, 1-etil-1-metilprop-1-ilo, n-butilo, 2-metilbut-1-ilo, 3-metilbut-1-ilo, 1-etilbut-1-ilo, terc-butilo, 4-metilpent-1-ilo, n-hexilo, alqueno o arilo,

en donde R¹ puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, trimetilsililo, alquilo, alcoxi, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, arilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilamino, arilamino, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilcarbonilo, alcóxicarbonilo, arilcarbonilo y benciloxycarbonilamino, en donde arilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, alquilo, alcoxi fenilo,

R² significa hidrógeno o alquilo C₁-C₄,

o

R¹ y R² junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo, alcoxi y alquilcarbonilo,

R³ significa alquilo, cicloalquilo C₃-C₆, heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquilcarbonilo, alcóxicarbonilo, cicloalquilcarbonilo C₃-C₆, heterociclilcarbonilo de 5 a 7 miembros, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquilaminocarbonilo,

en donde alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcóxicarbonilo, ciclo-alquilcarbonilo, heterociclilcarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, alquilamino y fenilo,

y

en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino o alquil-amino,

y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi, alquiltio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilcarbonilamino, alcóxicarbonilamino, arilcarbonilamino, arilcarboniloxi, benciloxycarbonilo y benciloxycarbonilamino,

en donde fenilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo, alcoxi y fenilo, o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo y alcoxi, o

en donde el anillo cicloalquilo puede estar benzocondensado,

R⁴ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₄, ciclopropilo o ciclopropilmetilo, o

R³ y R⁴ junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, pudiendo estar el anillo heterociclilo sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo, alcoxi y alquilamino,

y

R⁵ significa hidrógeno o metilo,

o una de sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales,

con la condición de que, para el caso de que R¹ signifique hidrógeno, R² signifique 2-metilprop-1-ilo, R⁴ signifique hidrógeno y R⁵ signifique metilo y el átomo de carbono al que R¹ y R² están unidos tenga la configuración (S) o que R¹ signifique 2-metilprop-1-ilo, R² signifique hidrógeno, R⁴ signifique hidrógeno y R⁵ signifique metilo y el átomo de carbono al que R¹ y R² están unidos tenga configuración (S), R³ no signifique glicilo, D-alanilo, L-alanilo o D-leucilo,

y con la condición de que para el caso de que R¹ signifique hidrógeno, R² signifique 2-metilprop-1-ilo, R⁴ signifique hidrógeno y R⁵ signifique hidrógeno y el átomo de carbono al que R¹ y R² están unidos tenga la configuración (S) o que R¹ signifique 2-metilprop-1-ilo, R² signifique hidrógeno, R⁴ signifique hidrógeno y R⁵ signifique hidrógeno y el átomo de carbono al que R¹ y R² están unidos tenga la configuración (S), R³ no signifique 1D-leucilo.

Los compuestos según la invención son los compuestos de la fórmula (I), (Ia), (Ib) y (Ic) y sus sales, solvatos, solvatos de las sales y profármacos, los compuestos comprendidos por la fórmula (I), (Ia), (Ib) y (Ic) de las formulaciones mencionadas más adelante y sus sales, solvatos, solvatos de las sales y profármacos, así como los compuestos comprendidos por la fórmula (I), (Ia), (Ib) y (Ic), mencionados a continuación como ejemplos de realización y sus sales, solvatos, solvatos de las sales y profármacos, siempre que en el caso de los compuestos mencionados a continuación comprendidos por la fórmula (I), (Ia), (Ib) y (Ic) no se trate ya de sales, solvatos, solvatos de las sales y profármacos.

Los compuestos según la invención pueden existir en función de sus estructura en formas estereoisoméricas (enantioméricas, diastereoméricas). La invención se refiere por ello a los enantiómeros o diastereómeros y sus correspondientes mezclas. De tales mezclas de enantiómeros y/o diastereómeros se pueden aislar los componentes de unidad estereoisomérica de manera conocida.

Si los compuestos según la invención pueden estar presentes en formas tautoméricas, la presente invención comprende todas las formas tautoméricas.

Como sales se prefieren, en el marco de la presente invención sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención. Pero también están comprendidas sales que en sí no son apropiadas para aplicaciones farmacéuticas, pero se pueden usar por ejemplo, para el aislamiento o la purificación de los compuestos según la invención.

Las sales fisiológicamente inocuas de los compuestos según la invención comprenden sales de adición de ácidos de ácidos minerales, ácidos carboxílicos y ácidos sulfónicos, por ejemplo, sales de ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido toluensulfónico, ácido bencensulfónico, ácido naftalendisulfónico, ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido láctico, ácido tartárico, ácido málico, ácido cítrico, ácido fumárico, ácido maleico y ácido benzoico.

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

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

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

Alquilo *per se* y "Alc" y "alquilo" en alcoxi, alquilamino, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino y alcoxicarbonilamino representa un resto alquilo lineal o ramificado, por lo general, con 1 a 6, con preferencia 1 a 4, con preferencia especial 1 a 3 átomos de carbono, a modo de ejemplo y con preferencia metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, terc-butilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, n-pentilo y n-hexilo.

Alcoxi representa, a modo de ejemplo y con preferencia, metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, terc-butoxi, n-pentoxi y n-hexoxi.

Alquenilo representa un resto alquenilo de cadena lineal o ramificada con 2 a 6 átomos de carbono. Se prefiere un resto alquenilo de cadena lineal o ramificada con 2 a 4, con preferencia especial con 2 a 3 átomos de carbono. A modo de ejemplo y con preferencia, se han de mencionar: vinilo, alilo, n-prop-1-en-1-ilo, n-but-2-en-1-ilo, 2-metilprop-1-en-1-ilo y 2-metilprop-2-en-1-ilo.

Alquilamino representa un resto alquilamino con uno o dos sustituyentes de alquilo (seleccionados de modo independiente entre sí), a modo de ejemplo y con preferencia, metilamino, etilamino, n-propilamino, isopropilamino, terc-butilamino, n-pentilamino, n-hexilamino, N,N-dimetilamino, N,N-dietilamino, N-etil-N-metilamino, N-metil-N-n-propilamino, N-isopropil-N-n-propilamino, N-terc-butil-N-metilamino, N-etil-N-n-pentilamino y N-n-hexil-N-metilamino. Alquilo C₁-C₃-amino representa, por ejemplo, un resto monoalquilamino con 1 a 3 átomos de carbono o un resto dialquilamino con 1 a 3 átomos de carbono por sustituyente de alquilo.

Arilamino representa un sustituyente de arilo unido a través de un grupo amino, en donde al grupo amino está unido eventualmente otro sustituyente, como, por ejemplo, arilo o alquilo, a modo de ejemplo y con preferencia fenilamino, naftilamina, fenilmetilamino o difenilamino.

ES 2 330 221 T3

Aquilcarbonilo representa, a modo de ejemplo y con preferencia, metilcarbonilo, etilcarbonilo, n-propilcarbonilo, isopropilcarbonilo, terc-butilcarbonilo, n-pentilcarbonilo y n-hexilcarbonilo.

5 Alcoxycarbonilo representa, a modo de ejemplo y con preferencia, metoxycarbonilisopropoxycarbonilo, terc-butoxicarbonilo, n-pentoxycarbonilo y n-hexoxycarbonilo.

Alcoxycarbonilamino representa, a modo de ejemplo y con preferencia, metoxycarbonilamino, etoxycarbonilamino, n-propoxi-carbonilamino, isopropoxycarbonilamino, terc-butoxicarbonilamino, n-pentoxycarbonilamino y n-hexoxycarbonilamino.

10 Cicloalquilcarbonilo representa un sustituyente cicloalquilo unido a través de un grupo carbonilo, a modo de ejemplo y con preferencia, ciclopropilcarbonilo, ciclobutilcarbonilo, ciclopentilcarbonilo y ciclohexilcarbonilo.

15 Heterociclicarbonilo representa un sustituyente heterociclilo unido a través de un grupo carbonilo, a modo de ejemplo y con preferencia, tetrahidrofuran-2-ilcarbonilo, pirrolidin-2-ilcarbonilo, pirrolidin-3-ilcarbonilo, pirrolinilcarbonilo, piperidinilcarbonilo, morfolinilcarbonilo y perhidroazepinilcarbonilo.

Arilcarbonilo representa un sustituyente arilo unido a través de un grupo carbonilo, a modo de ejemplo y con preferencia, fenilcarbonilo, naftilcarbonilo y fenantrenilcarbonilo.

20 Heteroarilcarbonilo representa un sustituyente de heteroarilo unido a través de un grupo carbonilo, a modo de ejemplo y con preferencia, tienilcarbonilo, furilcarbonilo, pirrolilcarbonilo, tiazolilcarbonilo, oxazolilcarbonilo, imidazolilcarbonilo, piridilcarbonilo, pirimidilcarbonilo, piridazinilcarbonilo, indolilcarbonilo, indazolilcarbonilo, benzofuranilcarbonilo, benzotiofenilcarbonilo, quinolinilcarbonilo e isoquinolinilcarbonilo.

25 Alquilcarbonilamino representa, a modo de ejemplo y con preferencia, metilcarbonilamino, etilcarbonilamino, n-propilcarbonilamino, isopropilcarbonilamino, terc-butilcarbonilamino, n-pentilcarbonilamino y n-hexilcarbonilamino.

30 Arilcarbonilamino representa, a modo de ejemplo y con preferencia, fenilcarbonilamino, naftilcarbonilamino y fenantrenil-carbonilamino.

35 Alquilaminocarbonilo representa un resto alquilaminocarbonilo con uno o dos sustituyentes de alquilo (seleccionados de modo independiente entre sí), a modo de ejemplo y con preferencia, metilaminocarbonilo, etilaminocarbonilo, n-propilaminocarbonilo, isopropilaminocarbonilo, terc-butilaminocarbonilo, n-pentilaminocarbonilo, n-hexilaminocarbonilo, N,N-dimetilaminocarbonilo, N,N-dietilaminocarbonilo, N-etil-N-metilaminocarbonilo, N-metil-N-n-propilaminocarbonilo, N-isopropil-N-n-propilaminocarbonilo, N-terc-butil-N-metilaminocarbonilo, N-etil-N-n-pentilaminocarbonilo y N-n-hexil-N-metilaminocarbonilo. El alquil C₁-C₃-aminocarbonilo representa, por ejemplo, un resto monoalquilaminocarbonilo con 1 a 3 átomos de carbono o un resto dialquilaminocarbonilo con 1 a 3 átomos de carbono por sustituyente de alquilo.

40 Cicloalquilo representa un grupo cicloalquilo, en general, con 3 a 6 átomos de carbono, a modo de ejemplo y con preferencia ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

45 Cicloalquenilo representa un grupo cicloalquenilo, en general, con 5 a 6 átomos de carbono y uno o dos enlaces dobles, a modo de ejemplo y con preferencia, ciclopent-1-en-1-ilo, ciclopent-2-en-1-ilo, ciclopent-3-en-1-ilo, ciclohex-1-en-1-ilo, ciclohex-2-en-1-ilo y ciclohex-3-en-1-ilo.

Arilo representa un resto carbocíclico aromático mono- a tricíclico, en general, con 6 a 14 átomos de carbono; a modo de ejemplo y con preferencia, fenilo, naftilo y fenantrenilo.

50 Heterociclicilo representa un resto heterocíclico mono- o policíclico, con preferencia mono- o bicíclico, en general, con 5 a 7 átomos de anillo y hasta 3, con preferencia hasta 2 heteroátomos y/o grupos hetero de la serie de N, O, S, SO, SO₂. Los restos heterociclicilo pueden estar saturados o parcialmente insaturados. Se prefieren restos heterociclicilo saturados monocíclicos de 5 a 7 miembros con hasta dos heteroátomos de la serie de O, N y S como, a modo de ejemplo y con preferencia, tetrahidrofuran-2-ilo, pirrolidin-2-ilo, pirrolidin-3-ilo, pirrolinilo, piperidinilo, morfolinilo y perhidroazepinilo.

60 Heteroarilo representa un resto mono- o bicíclico aromático, en general, con 5 a 10, con preferencia 5 a 6 átomos de anillo y hasta 5, con preferencia hasta 4 heteroátomos de la serie de S, O y N, a modo de ejemplo y con preferencia, tienilo, furilo, pirrolilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, indolilo, indazolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, quinolinilo e isoquinolinilo.

65 Aminoácido unido a carbonilo representa un aminoácido que está unido a través del grupo carbonilo de la función ácida del aminoácido. Se prefieren, en este caso, α -aminoácidos en la configuración L o D, en especial α -aminoácidos naturales tales como, por ejemplo, glicina, L-alanina, L-valina, L-leucina, L-isoleucina, L-prolina, L-fenilalanina, L-triptófano o α -aminoácidos naturales en la configuración D no natural como, por ejemplo, D-alanina, D-valina, D-leucina, D-isoleucina, D-prolina, D-fenilalanina, D-triptófano o aminoácidos no naturales con un grupo lateral unido con el átomo de carbono α del aminoácido como, por ejemplo, cicloalquil C₃-C₆-metilo, cicloalquilo C₃-C₆, etilo, n-

propilo, 2,2-dimetilpropilo, terc-butilo, 3-metilbutilo, n-hexilo o alilo, o la cadena lateral forma con el átomo de carbono del aminoácido un anillo como, por ejemplo, ciclopropilo (aminoácido: ácido 1-amino-1-ciclopropanocarboxílico), ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o un heterociclo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo puede estar benzocondensado, o β -aminoácidos (para la nomenclatura, comp.: D. Seebach, M. Overhand, F. N. M. Kühnle, B. Martinoni, L. Oberer, U. Hommel, H. Widmen, *Helv. Chim. Acta* 1996, 79, 913-941), como, por ejemplo, β -alanina, β -fenilalanina, β -Aib o derivados del ácido 2,3-diaminopropiónico (por ejemplo, ácido 2,3-diamino-3-fenilpropiónico).

Halógeno representa flúor, cloro, bromo y yodo, con preferencia flúor y cloro.

10 Descripción de las figuras

Fig. 1: ^1H RMN (500 MHz, d_6 -DMSO, 302 K) del Ejemplo 1A

Fig. 2: ^1H RMN (500 MHz, d_6 -DMSO, 302 K) del Ejemplo 2A

15 Fig. 3: MALDI-MS Secuenciación de lisobactina de anillo abierto hidrolíticamente.

Fig. 4: MALDI-MS Secuenciación de deca-depsipéptido de anillo abierto hidrolíticamente (Ejemplo 11A).

20 Fig. 5: MALDI-MS Secuenciación de undecadepsipéptido de anillo abierto hidrolíticamente (Ejemplo 1).

Fig. 6: MALDI-MS Secuenciación de undecadepsipéptido de anillo abierto hidrolíticamente (Ejemplo 2).

Fig. 7: MALDI-MS Secuenciación de undecadepsipéptido de anillo abierto hidrolíticamente (Ejemplo 8).

25 Fig. 8: ^1H RMN (200 MHz, d_6 -DMSO) de clorhidrato de 3-ciclopropil-L-alaninato de bencilo (Ejemplo 3A).

Fig. 9: ^1H RMN (500 MHz, d_6 -DMSO) de N-(terc-butoxicarbonil)-D-leucil-3-ciclopropil-L-alanina (Ejemplo 5A).

30 Fig. 10: ^1H RMN (500 MHz, d_6 -DMSO) de N-(terc-butoxicarbonil)-D-leucil-L-norvalinato de metilo (Ejemplo 6A).

Fig. 11: ^1H RMN (200 MHz, d_6 -DMSO) de N-(terc-butoxicarbonil)-D-leucil-L-norvalina (Ejemplo 7A).

35 Fig. 12: ^1H RMN (500 MHz, d_6 -DMSO) de N-(terc-butoxicarbonil)-D-leucil-3-terc-butil-L-alaninato de bencilo (Ejemplo 8A).

Fig. 13: ^1H RMN (400 MHz, 338 K, d_5 -piridina) de bistrifluoroacetato de desleucillisobactina (Ejemplo 11A).

40 Fig. 14: ^1H RMN (500 MHz, d_5 -piridina) de bistrifluoroacetato de D-leucil- N^1 -{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,-28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il)-3-ciclopropil-L-alaninamida (Ejemplo 1).

45 Fig. 15: ^{13}C RMN (126 MHz, d_5 -piridina) de bistrifluoroacetato de D-leucil- N^1 -{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,-28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il)-3-ciclopropil-L-alaninamida (Ejemplo 1).

50 Fig. 16: RMN HSQC (500 MHz, d_5 -piridina) de bistrifluoroacetato de D-leucil- N^1 -{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,-28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il)-3-ciclopropil-L-alaninamida (Ejemplo 1).

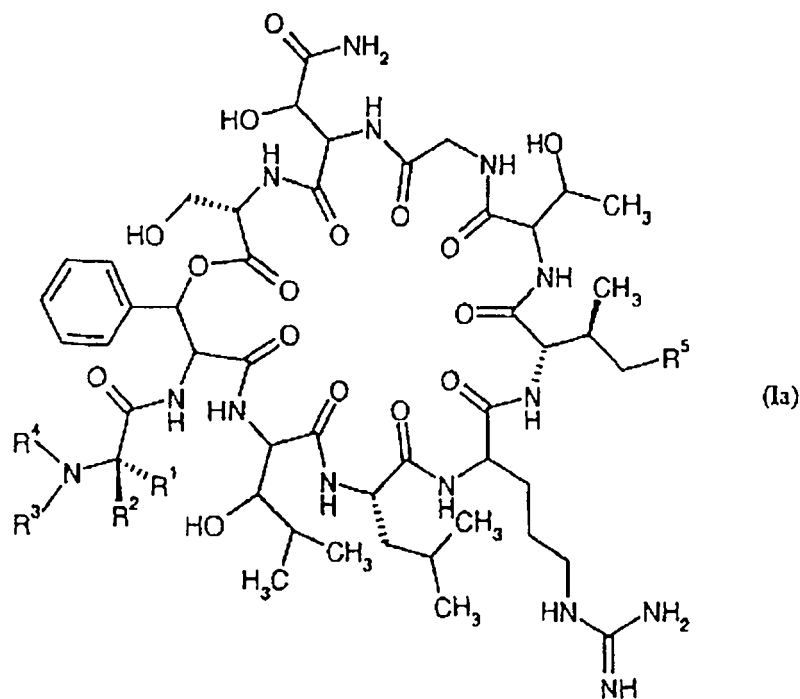
55 Fig. 17: RMN COSY (500 MHz, d_5 -piridina) de bistrifluoroacetato de D-leucil- N^1 -{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,-28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il)-3-ciclopropil-L-alaninamida (Ejemplo 1).

60 Fig. 18: ^1H RMN (400 MHz, d_5 -piridina) de bistrifluoroacetato de undecadepsipéptido (Ejemplo 3).

Fig. 19: ^1H , ^1H -COSY (400 MHz, d_5 -piridina) de bistrifluoroacetato de undecadepsipéptido (Ejemplo 3).

65 Fig. 20: RMN HSQC (500 MHz, d_5 -piridina) de bistrifluoroacetato de D-leucil- N^1 -{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,-28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il)-3-terc-butil-L-alaninamida (Ejemplo 3).

También son objeto de la invención los compuestos de la fórmula (I) que corresponden a la fórmula



en la que

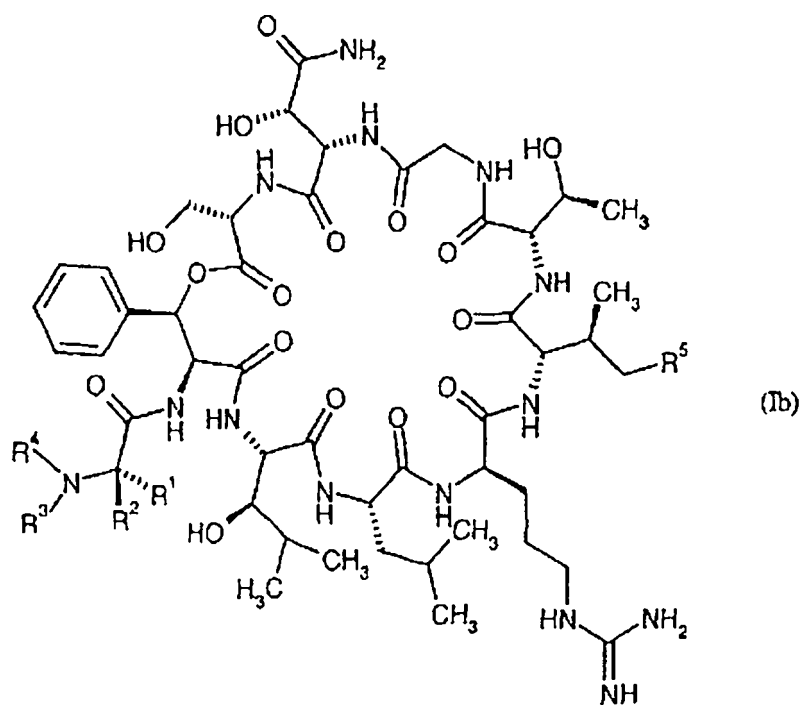
R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ tienen el significado indicado con anterioridad,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales,

con la condición de que para el caso de que R¹ signifique 2-metilprop-1-ilo, R² signifique hidrógeno, R⁴ signifique hidrógeno y R⁵ signifique metilo, R³ no signifique glicilo, D-alanilo, L-alanilo o D-leucilo, y

con la condición de que para el caso de que R¹ signifique 2-metilprop-1-ilo, R² signifique hidrógeno, R⁴ signifique hidrógeno y R⁵ signifique hidrógeno, R³ no signifique D-leucilo.

También son objeto de la invención los compuestos de la fórmula (I) que corresponden a la fórmula



ES 2 330 221 T3

en la que

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 tienen el significado indicado con anterioridad,

5 y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales,

con la condición de que para el caso de que R^1 signifique 2-metilprop-1-ilo, R^2 signifique hidrógeno, R^4 signifique hidrógeno y R^5 signifique metilo, R^3 no signifique glicilo, D-alanilo, L-alanilo o D-leucilo, y

10 con la condición de que para el caso de que R^1 signifique 2-metilprop-1-ilo, R^2 signifique hidrógeno, R^4 signifique hidrógeno y R^5 signifique hidrógeno, R^3 no signifique D-leucilo.

Se prefieren los compuestos de la fórmula (Ia) y (Ib), en las que

15 R^1 es 2-metilprop-1-ilo,

R^2 es hidrógeno o alquilo C_1 - C_4 ,

20 R^3 es alquilo, cicloalquilo C_3 - C_6 , heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo, cicloalquilcarbonilo C_3 - C_6 , heterociclicarbonilo de 5 a 7 miembros, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquilaminocarbonilo,

25 en donde alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxicarbonilo, cicloalquilcarbonilo, heterociclicarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, alquil-amino y fenilo,

y

30 en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino o alquilamino, y

35 en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi, alquiltio, benciloxi, cicloalquilo C_3 - C_6 , fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino, arilcarbonilamino, arilcarboniloxi, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

40 en donde fenilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo, alcoxi y fenilo, o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C_3 - C_6 o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo y alcoxi, o

45 en donde el anillo cicloalquilo puede estar benzocondensado,

R^4 es hidrógeno, alquilo C_1 - C_4 , ciclopropilo o ciclopropilmetilo, o

50 R^3 y R^4 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo heterociclilo puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo, alcoxi y alquilamino,

y

55 R^5 es hidrógeno o metilo,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales,

60 con la condición de que para el caso de que R^2 signifique hidrógeno, R^4 signifique hidrógeno y R^5 signifique metilo, R^3 no signifique glicilo, D-alanilo, L-alanilo o D-leucilo,

y con la condición de que para el caso de que R^2 signifique hidrógeno, R^4 signifique hidrógeno y R^5 signifique hidrógeno, R^3 no signifique D-leucilo.

65 También se prefieren los compuestos de la fórmula (Ia) y (Ib), en las que

R^1 es 2-metilprop-1-ilo,

ES 2 330 221 T3

R² es hidrógeno o alquilo C₁-C₄,

R³ es alquilcarbonilo C₁-C₆ o heterociclicarbonilo de 5 a 7 miembros,

en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino,

y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi, alquiltio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilcarbonilamino, alcocarbonilamino, arilcarbonilamino, arilcarboniloxi, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en donde fenilo, a su vez, puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alquilo, alcoxi y fenilo, o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo y alcoxi, o

en donde el anillo cicloalquilo puede estar benzocondensado,

R⁴ es hidrógeno o alquilo C₁-C₄, y

R⁵ es metilo,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales,

con la condición de que para el caso de que R² signifique hidrógeno y R⁴ signifique hidrógeno, R³ no signifique glicilo, D-alanilo, L-alanilo o D-leucilo.

También se prefieren los compuestos de la fórmula (Ia) y (Ib), en las que

R¹ es 2-metilprop-1-ilo,

R² es hidrógeno,

R³ es alquil C₁-C₆-carbonilo,

en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino,

y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por trimetilsililo, alcoxi C₁-C₄, metiltio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, tienilo, piridilo, indolilo, alcoxi C₁-C₄-carbonilamino, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en donde fenilo, a su vez, puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄ y fenilo, o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆,

en donde el anillo cicloalquilo puede estar benzocondensado,

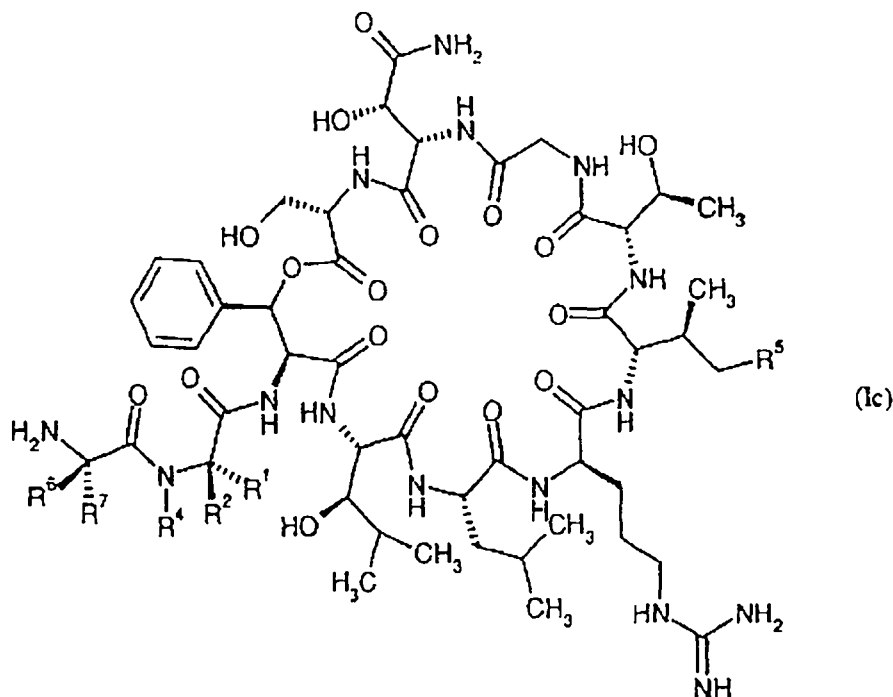
R⁴ es hidrógeno, y

R⁵ es metilo,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales,

con la condición de que R³ no signifique glicilo, D-alanilo, L-alanilo o D-leucilo.

También se prefieren los compuestos de la fórmula (I) que corresponden a la fórmula



en la que

R¹ es 2-metilprop-1-ilo,

R² es hidrógeno,

R⁴ es hidrógeno,

R⁵ es metilo,

R⁶ es metilo, iso-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, tienilo, terc-butoxi-carbonilaminopropilo, terc-butoxicarbonilaminobutilo, benciloxi-carbonilaminopropilo o benciloxicarbonilaminobutilo,

en donde fenilo puede estar sustituido con 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, metoxi y fenilo, y

en donde metilo está sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo compuesto por trimetilsililo, terc-butoxi, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, piridilo, indolilo y benciloxicarbonilo,

en donde fenilo, a su vez, puede estar sustituido con 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, metoxi y fenilo,

y

R⁷ es hidrógeno, o

R⁶ y R⁷ junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆, y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

También se prefieren los compuestos de la fórmula (Ia) y (Ib) en las que

R¹ es hidrógeno, cicloalquilo C₃-C₆, cicloalqueno C₅-C₆, cicloalquil C₃-C₆-metilo, heterociclilmetilo de 5 a 7 miembros, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 1,1-dimetilprop-1-ilo, 1-etilprop-1-ilo, 1-etil-1-metilprop-1-ilo, n-butilo, 2-metilbut-1-ilo, 3-metilbut-1-ilo, 1-etilbut-1-ilo, terc-butilo, 4-metilpent-1-ilo, n-hexilo, alqueno o arilo,

ES 2 330 221 T3

en donde R¹ puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, trimetilsililo, alquilo, alcoxi, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, arilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilamino, arilamino, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilcarbonilo, alcoxycarbonilo, arilcarbonilo y benciloxycarbonilamino, en donde arilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, alquilo, alcoxi y fenilo,

R² es hidrógeno o alquilo C₁-C₄, o

R¹ y R² junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o forman un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo, alcoxi y alquilcarbonilo,

R³ es alquilo, cicloalquilo C₃-C₆, heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquilcarbonilo, alcoxycarbonilo, cicloalquilcarbonilo C₃-C₆, heterociclicarbonilo de 5 a 7 miembros, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquilaminocarbonilo,

en donde alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxycarbonilo, cicloalquilcarbonilo, heterociclicarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, alquil-amino y fenilo,

y

en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino o alquilamino, y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi, alquiltio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilcarbonilamino, alcoxycarbonilamino, arilcarbonilamino, arilcarboniloxi, benciloxycarbonilo y benciloxycarbonilamino,

en donde fenilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo, alcoxi y fenilo, o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos, forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros,

en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo y alcoxi, o

en donde el anillo cicloalquilo puede estar benzocondensado,

R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, ciclopropilo o ciclopropilmetilo, o

R³ y R⁴ junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo heterociclilo puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo, alcoxi y alquilamino,

y

R⁵ es hidrógeno o metilo,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

También se prefieren los compuestos de la fórmula (Ia) y (Ib) en las que

R¹ es heterociclimetilo de 5 a 7 miembros, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 1,1-dimetilprop-1-ilo, 1-etil-prop-1-ilo, 1-etil-1-metilprop-1-ilo, n-butilo, 2-metilbut-1-ilo, 3-metilbut-1-ilo, 1-etilbut-1-ilo, terc-butilo, 4-metilpent-1-ilo o n-hexilo, en donde R¹ puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por trimetilsililo, alcoxi, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, arilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilamino, alquilcarbonilamino, alquilcarbonilo, alcoxycarbonilo, arilcarbonilo y benciloxycarbonilamino, en donde arilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo, alcoxi y fenilo,

R² es hidrógeno o alquilo C₁-C₄ o

ES 2 330 221 T3

R¹ y R² junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o forman un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo, alcoxi y alquilcarbonilo,

R³ es alquilcarbonilo o heterociclilcarbonilo de 5 a 7 miembros, en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino,

y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi, alquiltio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino, arilcarbonilamino, arilcarboniloxi, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en donde fenilo, a su vez, puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, alquilo, alcoxi y fenilo,

o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros,

en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo y alcoxi, o

en donde el anillo cicloalquilo puede estar benzocondensado,

R⁴ es hidrógeno o alquilo C₁-C₄ y

R⁵ es metilo,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

También se prefieren los compuestos de la fórmula (Ia) y (Ib) en las que

R¹ es metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 1,1-dimetilprop-1-ilo, 1-etilprop-1-ilo, 1-etil-metilprop-1-ilo, n-butilo; 2-metilbut-1-ilo, 3-metilbut-1-ilo, 1-etilbut-1-ilo, terc-butilo, 4-metilpent-1-ilo o n-hexilo,

en donde R¹ puede estar sustituido con 0 ó 1 sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por trimetilsililo, alcoxi C₁-C₄, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, piridilo, indolilo, alcoxi C₁-C₄-carbonilo y benciloxicarbonilamino,

en donde fenilo y piridilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄ y fenilo,

R² es hidrógeno, o

R¹ y R² junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆, en donde el anillo cicloalquilo puede estar sustituido con 0 ó 1 sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por trifluorometilo y alcoxi C₁-C₄,

R³ es alquil C₁-C₆-carbonilo,

en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino,

y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por trimetilsililo, alcoxi C₁-C₄, metiltio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, tienilo, piridilo, indolilo, alcoxi C₁-C₄-carbonilamino, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en donde fenilo, a su vez, puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, alquilo C₁-C₄, alcoxi C₁-C₄ y fenilo, o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆, en donde el anillo cicloalquilo puede estar benzocondensado,

R⁴ es hidrógeno y

ES 2 330 221 T3

R⁵ es metilo,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

5

También se prefieren los compuestos de la fórmula (Ic) en la que

R¹ es metilo, feniletilo, n-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, benciloxi-carbonilaminopropilo o benciloxycarbonilaminobutilo,

10

en donde metilo está sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo compuesto por terc-butoxi, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, piridilo, indolilo y terc-butoxicarbonilo,

15

en donde fenilo, a su vez, puede estar sustituido con 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, nitro, metoxi y fenilo,

R² es hidrógeno, o

20

R¹ y R² junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆,

R⁴ es hidrógeno,

R⁵ es metilo,

25

R⁶ es metilo, iso-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, tienilo, terc-butoxicarbonilaminopropilo, terc-butoxicarbonil-aminobutilo, benciloxycarbonilaminopropilo o benciloxycarbonilaminobutilo,

30

en donde fenilo puede estar sustituido con 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, metoxi y fenilo,

y

35

en donde metilo está sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo compuesto por trimetilsililo, terc-butoxi, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, piridilo, indolilo y benciloxycarbonilo,

en donde fenilo, a su vez, puede estar sustituido con 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, metoxi y fenilo,

40

y

R⁷ es hidrógeno,

o

45

R⁶ y R⁷ junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆,

y sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

50

También son objeto de la invención aquellos compuestos de la fórmula (I), (Ia) y (Ib) en las que

55

R¹ es hidrógeno, cicloalquilo C₃-C₆, cicloalqueno C₅-C₆, cicloalquil C₃-C₆-metilo, heterociclometilo de 5 a 7 miembros, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 1,1-dimetilprop-1-ilo, 1-etilprop-1-ilo, 1-etil-1-metilprop-1-ilo, 2-metilbut-1-ilo, 3-metilbut-1-ilo, 1-etilbut-1-ilo, terc-butilo, 4-metilpent-1-ilo), n-hexilo, alqueno o arilo,

60

en donde R¹ puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo, alcoxi, cicloalquilo C₃-C₆, arilo, alquilamino, arilamino, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilcarbonilo y arilcarbonilo,

R² es hidrógeno o alquilo C₁-C₄, o

65

R¹ y R² junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o un anillo heterociclo C₅-C₇, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por alquilo y alquilcarbonilo,

ES 2 330 221 T3

R³ es un aminoácido unido a carbonilo, en donde la función amino del aminoácido puede estar sustituido con 0, 1 ó 2 sustituyentes alquilo C₁-C₄, o

R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₄, ciclopropilo o ciclopropilmetilo,

o

R³ y R⁴ junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo heterociclilo C₅-C₇, alquilo, cicloalquilo C₃-C₆, heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo, cicloalquilcarbonilo C₃-C₆, heterocicililcarbonilo de 5 a 7 miembros, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquilaminocarbonilo,

en donde alquilo, cicloalquilo C₃-C₆, heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo, cicloalquilcarbonilo C₃-C₆, heterocicililcarbonilo de 5 a 7 miembros, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino y alquilamino,

en donde el anillo heterociclilo puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo, alcoxi y alquilamino, y

R⁵ es hidrógeno o metilo.

También se prefieren aquellos compuestos de las fórmulas (I), (Ia) y (Ib) en las que

R¹ es ciclopropilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, 2,2-dimetilprop-1-il o 2-metilbut-1-il,

R² es hidrógeno,

R³ es un aminoácido unido a carbonilo,

R⁴ es hidrógeno, y

R⁵ es hidrógeno o metilo.

También se prefieren aquellos compuestos de las fórmulas (I), (Ia) y (Ib) en las que

R¹ es ciclopropilmetilo o n-propilo,

R² es hidrógeno,

R³ es un aminoácido unido a carbonilo,

R⁴ es hidrógeno, y

R⁵ es metilo.

También se prefieren aquellos compuestos de las fórmulas (I), (Ia) y (Ib) en las que R¹ es ciclopropilmetilo.

También se prefieren aquellos compuestos de las fórmulas (I), (Ia) y (Ib) en las que R² es hidrógeno.

También se prefieren aquellos compuestos de las fórmulas (I), (Ia) y (Ib) en las que R³ es un aminoácido unido a carbonilo.

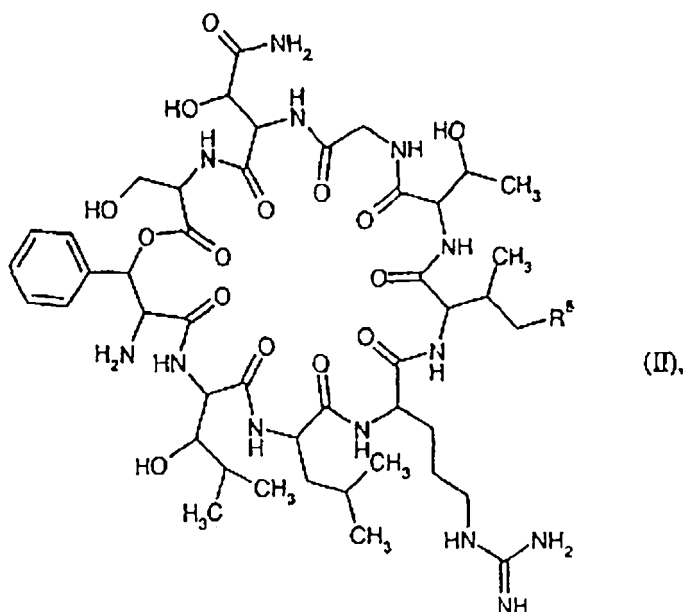
También se prefieren aquellos compuestos de las fórmulas (I), (Ia) y (Ib) en las que R⁴ es hidrógeno.

También se prefieren aquellos compuestos de las fórmulas (I), (Ia) y (Ib) en las que R⁵ es metilo.

Las definiciones de los restos indicados en particular en las correspondientes combinaciones o combinaciones preferidas de los restos se reemplazan discrecionalmente también por definiciones de restos de otra combinación, independientemente de las correspondientes combinaciones de los restos indicadas.

Tienen preferencia muy especial también las combinaciones de dos o más de los intervalos preferidos mencionados con anterioridad.

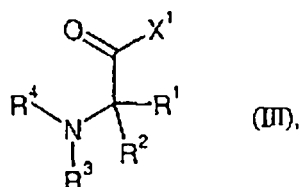
También es objeto de la invención un procedimiento para preparar los compuestos de las fórmulas (I), en donde compuestos de la fórmula



en la que

30 R^5 tiene el significado antes indicado,

se hacen reaccionar con compuestos de la fórmula



en la que

45 R^1 , R^2 , R^3 y R^4 tienen el significado indicado con anterioridad, y

X^1 representa halógeno, con preferencia bromo, cloro o flúor, o hidroxilo.

50 En caso de que X^1 represente halógeno, la reacción se lleva a cabo, en general, en disolventes inertes, eventualmente en presencia de una base, con preferencia en un rango de temperaturas de -30°C a 50°C a presión normal.

55 Los disolventes inertes son, por ejemplo, tetrahidrofurano, cloruro de metileno, piridina, dioxano o dimetilformamida, se prefieren piridina o dimetilformamida.

Como disolventes inertes se prefieren tetrahidrofurano o cloruro de metileno.

60 Las bases son, por ejemplo, trietilamina, diisopropiletilamina o N-metilmorfolina, se prefiere diisopropiletilamina.

En caso de que X^1 represente hidroxilo, la reacción se lleva a cabo, en general, en disolventes inertes, en presencia de un reactivo de deshidratación, eventualmente en presencia de una base, con preferencia en un rango de temperaturas de -30°C a 50°C a presión normal.

65 Los disolventes inertes son, por ejemplo, hidrocarburos halogenados tales como diclorometano o triclorometano, hidrocarburos tales como benceno, nitrometano, dioxano, dimetilformamida o acetonitrilo. Asimismo es posible emplear mezclas de los disolventes. Se prefiere en especial diclorometano o dimetilformamida.

Como reactivos de deshidratación son apropiados, en este caso, por ejemplo, carbodiimidas tales como, por ejemplo, N,N'-dietil-, N,N'-dipropil-, N,N'-diisopropil-, N,N'-d ciclohexilcarbodiimida, clorhidrato de N-(3-di-metilaminoisopropil)-N-etilcarbodiimida (EDC), N-ciclohexilcarbodiimid-N-propiloximetil-poliestireno (PS-carbodiimida) o compuestos de carbonilo tales como carbonildiimidazol, o compuestos de 1,2-oxazolio tales como 3-sulfato de 2-etil-5-fenil-1,2-oxazolio o perclorato de 2-terc-butil-5-metil-isoxazolio, o compuestos de acilamino tales como 2-etoxi-1-etoxicarbonil-1,2-dihidroquinolina, o anhídrido de ácido propanfosfónico, o cloroformiato de isobutilo, o cloruro de bis-(2-oxo-3-oxazolidinil)-fosforilo o hexafluorofosfato de benzotriazoliloxi-tri(dimetilamino)-fosfonio, o hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N,N-tetra-metiluronio (HBTU), tetrafluoroborato de 2-(2-oxo-1-(2H)-piridil)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TPTU) o hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N,N'-tetrametiluronio (HATU), o 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)-fosfonio (BOP), o N-hidroxisuccinimida, o mezclas de ellos con bases.

Las bases son, por ejemplo, carbonatos alcalinos tales como, por ejemplo, carbonato o hidrógeno-carbonato de sodio o de potasio, o bases orgánicas como trietilaminas, por ejemplo, trietilamina, N-metilmorfolina, N-metilpiperidina, 4-dimetilaminopiridina o diisopropiletilamina.

Con preferencia, la condensación se lleva a cabo con HATU o con EDC en presencia de HOBt.

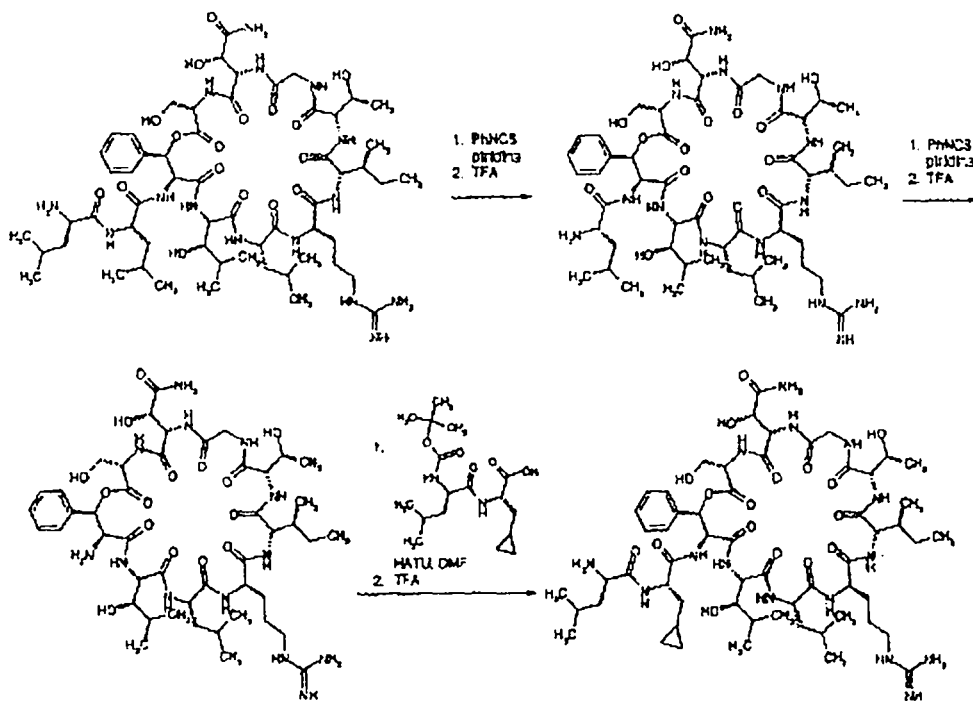
Los compuestos de la fórmula (III) llevan eventualmente grupos protectores, de modo que, en estos, casos, a la reacción de los compuestos de la fórmula (II) con compuestos de la fórmula (III) le sigue una separación de los grupos protectores con ácido trifluoroacético según métodos conocidos por el especialista.

Los compuestos de la fórmula (II) se pueden sintetizar por degradación doble de Edmann a partir de lisobactina (Ejemplo 1A) o catanosina (Ejemplo 2A), tal como se describe en la parte experimental en el Ejemplo 10A a 13A.

Los compuestos de la fórmula (III) son conocidos o se pueden sintetizar por procedimientos conocidos en sí a partir de los correspondientes reactantes.

La preparación de los compuestos según la invención se puede clarificar por medio del siguiente esquema de síntesis.

Esquema de síntesis



Los compuestos según la invención presentan un espectro de acción farmacológico valioso no previsible. Presentan una acción antibacteriana.

Por ello, son apropiados para usar como medicamentos para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades en seres humanos y animales.

Los compuestos según la invención se caracterizan por una baja nefrotoxicidad frente a lisobactina.

Los nonadepsipéptidos descritos actúan como inhibidores de la biosíntesis de la pared celular bacteriana.

Son particularmente eficaces las preparaciones según la invención contra bacterias y microorganismos similares a bacterias. Por ello, son particularmente apropiados para la prevención y la quimioterapia de infecciones locales y sistémicas en la medicina humana y animal, que son provocados por agentes patógenos.

Básicamente, se pueden usar las preparaciones según la invención contra todas las bacterias y los microorganismos similares a bacterias, que están en posesión de una pared celular bacteriana (*Murein sacculus*) o los correspondientes sistemas enzimáticos, por ejemplo, por los siguientes agentes patógenos o por mezclas de los siguientes agentes patógenos:

cocos Gram-negativos (*Neisseria gonorrhoeae*), así como bacilos Gram-negativos tales como enterobacterias, por ejemplo, *Escherichia coli*, *Hemophylus influenzae*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Citrobacter* (*C. freundii*, *C. diversus*), *Salmonella* y *Shigella*; también *Enterobacter* (*E. aerogenes*, *E. agglomerans*), *Hafnia*, *Serratia* (*S. marcescens*), *Providencia*, *Yersinia*, así como la especie *Acinetobacter*, *Branhamella* y *Chlamydia*. Más allá de ello, el espectro antibacteriano comprende bacterias estrictamente anaerobias tales como, por ejemplo, *Bacteroides fragilis*, representantes de la especie *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* y la especie *Clostridium*; también micobacterias, por ejemplo, *M. tuberculosis*. Los compuestos según la invención muestran una acción particularmente marcada contra cocos Gram-positivos, por ejemplo, estafilococos (*S. aureus*, *s. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. carnosus*), enterococos (*E. faecalis*, *E. faecium*) y estreptococos (*S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, *S. pyogenes*).

La enumeración anterior de los agentes patógenos se ha de entender únicamente a modo de ejemplo y de ningún modo de manera limitativa. Como enfermedades que son causadas por los agentes patógenos o infecciones mixtas mencionadas y que pueden ser evitadas, mejoradas o curadas con las preparaciones según la invención, se han de mencionar a modo de ejemplo:

Enfermedades infecciosas en el ser humano tales como, por ejemplo, infecciones de las vías urinarias no complicadas y complicadas, infecciones no complicadas de la piel y las superficies, infecciones complicadas de la piel y las partes blandas, inflamación pulmonar adquirida en el hospital y ambulatoria, neumonías de nosocomios, exacerbaciones agudas e infecciones bacterianas secundarias de la bronquitis crónica, otitis media aguda, sinusitis aguda, faringitis estreptocócica, meningitis bacteriana, uretritis/cervicitis no complicada gonocócica y no gonocócica, prostatitis aguda, endocarditis, infecciones intraabdominales complicadas y no complicadas, infecciones ginecológicas, enfermedad inflamatoria pélvica, vaginosis bacteriana, osteomielitis aguda y crónica, artritis bacteriana aguda, terapia empírica en pacientes de neutropenia febril, también bacteremias, infecciones de MRSA, diarrea infecciosa aguda, infecciones por *Helicobacter pylori*, infecciones posoperatorias, infecciones odontogénicas, infecciones oftalmológicas, infecciones posoperatorias (incl. absceso periproctal, infecciones de heridas, infecciones biliares, mastitis y apendicitis aguda), fibrosis quística y bronquiectasia.

Además del ser humano, también se pueden tratar infecciones bacterianas en otras especies. Se han de mencionar, a modo de ejemplo:

Cerdo: diarrea, enterotoxemia, sepsis, disentería, salmonelosis, síndrome de metritis-mastitis-agalaxia, mastitis;

Rumiantes (vaca, oveja, cabra): diarrea, sepsis, bronconeumonía, salmonelosis, pasteurellosis, infecciones genitales;

Caballo: bronconeumonías, parálisis de la potranca, infecciones puerperales y pospuerperales, salmonelosis;

Perro y gato: bronconeumonía, diarrea, dermatitis, otitis, infecciones de las vías urinarias, prostatitis;

Aves (gallina, pava, codorniz, paloma, pájaros de jaula y otros): infecciones por *E. coli*, enfermedades crónicas de las vías aéreas, salmonelosis, pasteurellosis, psitacosis.

Asimismo se pueden tratar enfermedades bacterianas en la cría y mantenimiento de peces útiles y de adorno, donde el espectro antibacteriano se amplía de los agentes patógenos antes mencionados a otros agentes patógenos tales como, por ejemplo, *Pasteurella*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Listeria*, *Erysipelothrix*, *Corynebacterias*, *Borellia*, *Treponema*, *Nocardia*, *Rickettsia*, *Yersinia*.

Otro objeto de la presente invención es el uso de los compuestos según la invención para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en especial de enfermedades infecciosas bacterianas.

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

Otro objeto de la presente invención es el uso de los compuestos según la invención para preparar un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en especial de las enfermedades previamente mencionadas.

Se prefiere usar los compuestos según la invención para la preparación de medicamentos que son apropiados para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades bacterianas.

Otro objeto de la presente invención es un procedimiento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades, en especial de las enfermedades previamente mencionadas, usando una cantidad de eficacia antibacteriana de los compuestos según la invención.

Otro objeto de la presente invención son medicamentos que contienen al menos un compuesto según la invención y al menos uno o varios otros principios activos, en especial para el tratamiento y/o la prevención de las enfermedades previamente mencionadas. Los principios activos de combinación preferidos son compuestos de acción antibacteriana que tienen otro espectro de acción, en especial un espectro de acción complementaria y/o que son sinérgicos respecto de los compuestos según la invención.

Los compuestos según la invención pueden actuar de forma sistémica y/o local. Para esta finalidad también se pueden administrar de forma apropiada como, por ejemplo, por vía oral, parenteral, pulmonar, nasal, sublingual, lingual, bucal, rectal, dérmica, transdérmica, conjuntival, ótica o como implante o bien stent.

Para estas vías de administración, los compuestos según la invención se pueden administrar en formas de administración apropiadas.

Para la administración oral, son apropiadas las formas de administración que funcionan según el estado de la técnica y que suministran rápidamente y/o de forma modificada los compuestos según la invención, que contienen los compuestos según la invención en forma cristalina y/o amorfa y/o disuelta, como por ejemplo comprimidos (comprimidos no recubiertos o recubiertos, por ejemplo, con revestimientos resistentes a los jugos gástricos o de rápida disolución o insolubles, que controlan la liberación del compuesto según la invención), comprimidos que se desintegran rápidamente en la cavidad bucal o comprimidos/oblas, películas/líofilizados, cápsulas (por ejemplo, cápsulas de gelatina dura o blanda), grageas, granulados, pellas, polvos, emulsiones, suspensiones, aerosoles o soluciones.

La administración parenteral se puede realizar evitando la etapa de resorción (por ejemplo, por vía intravenosa, intraarterial, intracardiaca, intraespinal o intralumbar) o incorporando una resorción (por ejemplo, por vía intramuscular, subcutánea, intracutánea, percutánea o intraperitoneal). Para la administración parenteral, son apropiadas como formas de aplicación, por ejemplo, preparaciones inyectables y de infusión en forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, líofilizados o polvos estériles.

Para las otras vías de administración, son apropiadas, por ejemplo, formas medicamentosas para inhalación (por ejemplo, inhaladores de polvos, nebulizadores), gotas, soluciones o sprays nasales, comprimidos de aplicación lingual, sublingual o bucal, películas/oblas o cápsulas, supositorios, preparaciones óticas u oftálmicas, cápsulas vaginales, suspensiones acuosas (lociones, mezclas para agitar), suspensiones lipófilas, pomadas, cremas, sistemas terapéuticos transdérmicos (por ejemplo, emplastos), leche, pastas, espumas, polvos, implantes o stents.

Los compuestos según la invención se pueden convertir en las formas de administración explicadas. Esto se puede realizar de una manera en sí conocida por mezcladura con excipientes inertes, no tóxicos, farmacéuticamente apropiados. Entre estos excipientes se cuentan, entre otros, vehículos (por ejemplo, celulosa microcristalina, lactosa, manitol), disolventes (por ejemplo, polietilenglicoles líquidos), emulsionantes y dispersantes o reticulantes (por ejemplo, dodecilsulfato sódico, oleato de polioxisorbitano), aglutinantes (por ejemplo, polivinilpirrolidona), polímeros sintéticos y naturales (por ejemplo, albúmina), estabilizantes (por ejemplo, antioxidantes tales como, por ejemplo, ácido ascórbico), colorantes (por ejemplo, pigmentos inorgánicos tales como, por ejemplo, óxidos de hierro) y correctores del sabor y/o del olor.

Otro objeto de la presente invención son medicamentos que contienen al menos un compuesto según la invención, usualmente junto con uno o varios coadyuvantes farmacéuticamente apropiados, no tóxicos inertes, así como su uso para los fines antes mencionados.

En general, ha mostrado ser ventajoso administrar, en una administración intravenosa, cantidades de aproximadamente 0,001 a 100 mg/kg, con preferencia de aproximadamente 0,1 a 10 mg/kg de peso corporal, para obtener resultados eficaces, y en administración oral la dosis es de aproximadamente 0,01 a 50 mg/kg, con preferencia de 0,5 a 10 mg/kg de peso corporal.

A pesar de ello, también puede ser eventualmente necesario apartarse de las cantidades mencionadas, para ser precisos, en función del peso corporal, la vía de administración, el comportamiento individual frente al principio activo, el tipo de preparación y el momento o intervalo en el o con el que se realiza la administración. De esta manera, en algunos casos puede ser suficiente menos de la cantidad mínima previamente mencionada, mientras que, en otros casos, se debe superar el límite superior mencionado. En el caso de la administración de mayores cantidades, puede ser recomendable dividir las en varias administraciones individuales a lo largo del día.

Los porcentajes en los siguientes ensayos y ejemplos, siempre que no se indique otra cosa, son porcentajes en peso; las partes son partes en peso. Las relaciones de disolventes, relaciones de dilución y datos de concentraciones de soluciones líquido-líquido se refieren, en cada caso, al volumen.

A. Ejemplos

Abreviaturas

5	Gen.	general
	Area	superficie del pico
	calc.	calculado
10	BHI	Brain Heart Infusion
	Boc	terc-butiloxicarbonilo
15	br	señal amplia (en espectros de RMN)
	Ej	ejemplo
	d	doblete (en espectros de RMN)
20	TLC	cromatografía en capa fina
	DCI	ionización química directa (en caso de MS)
25	DCM	diclorometano
	DIEA	N,N-diisopropiletilamina
	DMSO	dimetilsulfóxido
30	DMF	N,N-dimetilformamida
	d. t.	del teórico
35	EDC	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (también EDCI)
	EDCxHCl	clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida
	EE	acetato de etilo (éster etílico de ácido acético)
40	EI	ionización por impacto de electrones (en el caso de EM)
	ESI	ionización por electronebulización (en el caso de MS)
45	p. f.	punto de fusión
	exp.	experimental
	sat.	saturado
50	h	hora
	HATU	hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
55	HOBt	1-hidroxibenzotriazol
	HPLC	cromatografía líquida de alta presión, de alto rendimiento
	HR	High Resolution (alta resolución)
60	a. v.	al vacío
	conc.	concentrado
65	EM-LC	espectroscopia de masa acoplada con cromatografía líquida
	LDA	diisopropilamida de litio

ES 2 330 221 T3

	m	middle (medio) (en espectros UV e IR)
	m	multiplete (en espectros de RMN)
5	MALDI	desorción/ionización láser asistida por matriz
	CIM	concentración inhibidora mínima
	min	minuto/minutos
10	MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a meticilina
	MS	espectroscopia de masa
15	NCCLS	National Committee for Clinical Laboratory Standards
	neg.	negativo
	NMM	N-metilmorfolina
20	RMN	resonancia magnética nuclear (nuclear magnetic resonance)
	p. a.	pro analysi
25	Pd-C	paladio sobre carbón
	pos.	positivo
	porc.	porcentual
30	cuant.	cuantitativo
	RP-HPLC	HPLC en fase inversa
35	TA	temperatura ambiente
	R _t	tiempo de retención (en el caso de HPLC)
	s	strong (fuerte) (en caso de espectros UV e IR)
40	s	singlete (en caso de espectros de RMN)
	TBTU	tetrafluoroborato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N,N-tetrametiluronio
	TCTU	tetrafluoroborato de O-(1H-6-clorobenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
45	TFA	ácido trifluoroacético
	TFE	2,2,2-trifluoroetanol
50	THF	tetrahidrofurano
	TOF	tiempo de vuelo (time of flight)
	UV	ultravioleta
55	Vis	visible
	VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a vancomicina
60	w	weak (débil) (en el caso de espectros UV e IR)
	Z, Cbz	benciloxycarbonilo

65

Literatura

Para la nomenclatura de los péptidos y los ciclodepsipéptidos, véase:

1. A Guide to IUPAC Nomenclature of Organic Compounds (Recommendations 1993), 1993, Blackwell Scientific publications.
2. Nomenclature and symbolism for amino acids and peptides. Recommendations 1983. IUPAC-IUB Joint Commission on biochemical Nomenclature, UK. Biochemical Journal 1984, 219, 345-373, así como la literatura citada.

Métodos generales LC-MS, HR-MS, HPLC y cromatografía en gel

- Método 1 (HPLC): equipo: HP1100 con DAD (G1315A) y automuestreador (G1329A), Autosamplertherme (G1330A, 5°C), desgasificador (G1322A) y bomba binaria (G1312A); precolumna: Waters Symmetry C-18, 10 x 2,1 mm, 3,5 μ m; columna analítica: Waters Symmetry C-18, 50x2,1 mm, 3,5 μ m; horno de columnas: 45°C; eluyente A: agua/0,05% de ácido trifluoroacético; eluyente B: acetonitrilo/0,05% de ácido trifluoroacético; flujo: 0,4 ml/min.; gradiente 0-100% de B en 9 min, luego 3 min a 100% de B, luego regeneración de columna.
- Método 2 (LC-MS): equipo: MicromassLCT; ionización: ESIpositivo/negativo; HP1100 con DAD y automuestreador; horno 40°C; columna: Waters Symmetry C-18, 50 x 2,1 mm, 3,5 μ m; eluyente A: 0,1% de ácido fórmico/acetonitrilo, eluyente B: 0,1% de ácido fórmico/agua; flujo: 0,5 ml/min.; gradiente: 0-1 min 0% de A, 1-6 min 90% de A, 6-8 min 100% de A, 8-10 min 100% de A, 10-150% de A.
- Método 3 (HPLC): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 254 nm; sistema de bomba binaria; columna: Nucleosil RP-18, 7 μ m; 250 x 50 mm; flujo: 30 ml/min; eluyente A: agua/0,1% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo/0,1% de ácido trifluoroacético; gradiente: 0-40 min 20-25% de B, 40-60 min 25% de B, 60-110 min 25-50% de B, 110-120 min 50% de B, 120-130 min 50-100% de B, 130-160 min 100% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- Método 4 (HPLC): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 254 nm; sistema de bomba binaria; columna: Nucleosil RP-18, 7 μ m; 250 x 50 mm; flujo: 40 ml/min; eluyente A: agua/0,05% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo/0,05% de ácido trifluoroacético; gradiente: 0-105 min 20-25% de B, 105-111 min 25% de B, 111-131 min 25-27% de B, 131-157 min 27-35% de B, 157-192 min 35-40% de B, 192-207 min 40-45% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- Método 5 (HPLC): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 254 nm; sistema de bomba binaria; columna: Nucleosil RP-18, 7 μ m; 250 x 50 mm; flujo: 40 ml/min; eluyente A: agua/0,05% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo/0,05% de ácido trifluoroacético; gradiente: 0-40 min 20-25% de B, 40-105 min 25% de B, 105-130 min 25-27% de B, 130-170 min 27-40% de B, 170-190 min 40% de B, 190-210 min 40-45% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- Método 6 (cromatografía en Sephadex LH-20): la cromatografía en gel se lleva a cabo sin presión en Sephadex LH-20 (empresa Pharmacia). Se fracciona luego según actividad UV (detector UV para 254 nm, empresa Knauer) (recolector de fracciones ISCO Foxy 200). Dimensiones de la columna: 32 x 7 cm (1000-100 μ mol de escala); 30 x 4 cm (100-10 μ mol de escala); 25 x 2 cm (10-1 μ mol de escala).
- Método 7 (HPLC preparativa; Symmetry; ácido acético): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: Symmetry PrepTMC₁₈, empresa Waters, 7 μ m; 300 x 19 mm; flujo: 7 ml/min; eluyente A: agua/0,5-0,25% de ácido acético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-2 min 5% de B, 2-60 min 5-90% de B, 60-80 min 100% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- Método 8 (HPLC preparativa; Symmetry; TFA): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: SymmetryPrepTMC₁₈, empresa Waters, 7 μ m; 300 x 19 mm; flujo: 7 ml/min; eluyente A: agua/0,1-0,25% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-8 min 5% de B, 8-40 min 5-60% de B, 40-60 min 60% de B, 60-75 min 60-100% de B, 75-80 min 100% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- Método 9 (HPLC preparativa; Kromasil, ácido acético): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: Kromasil-100A C₁₈, 5 μ m; 250 x 20 mm; flujo: 25 ml/min; eluyente A: agua/0,25-0,5% de ácido acético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-3 min 5% de B, 3-30 min 5-100% de B, 30-38 min 100% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- Método 10 (HPLC preparativa; Kromasil, TFA): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: Kromasil-100A C₁₈, 5 μ m; 250x20 mm; flujo: 25 ml/min; eluyente A: agua/0,1-0,25% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-3 min 5% de B, 3-30 min 5-100% de B, 30-38 min 100% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.

ES 2 330 221 T3

- Método 11 (*LC-MS*): tipo de equipo MS: Micromars ZQ; tipo de equipo HPLC: serie HP 1100; UV DAD; columna: Grom-Sil 120 ODS-4 HE 50 x 2 mm, 3,0 μ m; eluyente A: agua/0,025% de ácido fórmico/I, eluyente B: acetonitrilo/0,025% de ácido fórmico; gradiente: 0-2,9 min 0-70% de B, 2,9-3,1 min 70-90% de B, 3,1-4,5 min 70-90% de B; horno: 50°C, flujo: 0,8 ml/min, detección UV: 210 nm.
- 5 Método 12 (*LC-MS*): tipo de equipo MS: Micromars LCT (ESI pos./neg.); tipo de equipo HPLC: serie HP 1100; serie UV DAD 1100; columna SymmetryPrep X018, empresa Waters, 50x2,1 mm, 3,5 μ m; eluyente A: agua/0,1 % de ácido fórmico, eluyente B: acetonitrilo/0,1% de ácido fórmico; gradiente: 0-1 min 0% de B, 1-5,5 min 0-95% de B, 5,5-8 min 95% de B, 8-8,1 min 95-0% de B, 8,1-10 min 0% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- 10 Horno: 40°C, flujo: 0,5 ml/min (a 8,1-10 min a corto plazo a 1 ml/min), detección UV: 210 nm.
- Método 13 (*HPLC*): tipo de equipo HPLC: serie HP 1050; serie UV DAD 1100; columna Symmetry-PrepTMC₁₈, empresa Waters, 50 x 2,1 mm, 3,5 μ m; eluyente A: agua/0,05% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-9 min 0-100% de B, 9-11 min 100% de B, 11-12 min 100-0% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica. Horno: 40°C, flujo: 0,4 ml/min, detección UV: 210 nm.
- 15 Método 14 (*HPLC preparativa; Nucleodur C₁₈, ácido acético*): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: Nucleodur C₁₈ Gravity, empresa Macherey-Nagel, 5 μ m; 250 x21 mm; flujo: 20 ml/min; eluyente A: agua/0,25-0,5% de ácido acético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-3 min 5% de B, 3-30 min 5-100% de B, 30-38 min 100% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- 20 Método 15 (*HPLC preparativa; Nucleodur C₁₈, TFA*): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: Nucleodur 018 Gravity, empresa Macherey-Nagel, 5 μ m; 250 x 21 mm; flujo: 7 ml/min; eluyente A: agua/0,1-0,25% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-8 min 5% de B, 8-40 min 5-60% de B, 40-60 min 60% de B, 60-75 min 60-100% de B, 75-80 min 100% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- 25 Método 16 (*HPLC preparativa; YMC Gel ODS-AQ5-5; ácido acético*): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 254 nm; sistema de bomba binaria; columna: YMC Gel ODS-AQ5-5, 15 μ m; 250 x 50 mm; flujo: 25 ml/min; eluyente A: agua/0,5% de ácido acético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-3 min 20% de B, 3-25 min 20-95% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- 30 Método 17 (*LC-MS*): equipo: Micromars Quattro LCZ, con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Grom-Sil 120 ODS-4 HE, 50 x 2,0 mm, 3 μ m; eluyente A: agua/0,05% de ácido fórmico, eluyente B: acetonitrilo/0,05% de ácido fórmico; gradiente: 0,0-0,2 min 100% de A, 0,2-2,9 min 100-30% de A, 2,9-3,1 min 30-10% de A, 3,1-4,5 min 10% de A; horno: 55°C, flujo: 0,8 ml/min, detección UV: 208-400 nm.
- 35 Método 18 (*HPLC*): tipo de equipo HPLC: serie HP 1050; serie UV DAD 1100; columna: Kromasil 018,60x2 mm, 3,5 μ m; eluyente A: agua/0,5% HClO₄, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-0,5 min 2% de B, 0,5-4,5 min 2-90% de B, 4,5-6,5 min 90% de B, 6,5-6,7 min 90-2% de B, 6,7-7,5 min 2% de B; flujo: 0,75 ml/min, horno: 30°C, detección UV 210 nm.
- 40 Método 19 (*LC-MS*): tipo de equipo MS: Micromars ZQ; tipo de equipo HPLC: Waters Alliance 2790; columna: Grom-Sil 120 ODS-4 H E 50x2 mm, 3,0 μ m; eluyente B: acetonitrilo/0,05% de ácido fórmico, eluyente A: agua/0,05% de ácido fórmico; gradiente: 0,0-2,0 min 5%-40% de B, 2,0-4,5 min 40-90% de B, 4,5-5,5 min 90% de B; flujo: 0,0 min 0,75 ml/min, 4,5 min 0,75 ml/min, 5,5 min 1,25 ml/min; horno: 45°C; detección UV: 210 nm.
- 45 Método 20 (*MALDI-MS*): los ensayos de MALDI-MS/MS se llevan a cabo en un analizador 4700 Proteomics (Applied Biosystems, Framingham, MA, USA), que está equipado con óptica iónica TOF/TOF y láser 200 Hz Nd:YAG (355 nm). Los iones de cuasimoléculas se aceleran en la fuente iónica con 8 kV, se seleccionan con un deflector eléctrico (MS1), y se hacen chocar con átomos de argón en una celda de choque dispuesta entre MS1 y MS2. Los iones de los fragmentos obtenidos se caracterizan con 15 kV y con el segundo analizador de masa en tiempo de vuelo (MS2).
- 50 Método 21 (*TOF-HR-MS*): Los espectros TOF-HR-MS-ESI+ se registran con un equipo Micromass LOT (tensión capilar: 3,2 KV, tensión de cono: 42 V, temperatura de la fuente: 120°C, temperatura de desolvación: 280°C). Para ello, se usa una bomba de inyección (empresa Harvard Apparatus) para la alimentación de la muestra. Como estándar sirve leucina-encefalina (Tyr-Gly-Gly-Phe-Leu).
- 55 Método 22 (*LC-MS*): tipo de equipo MS: Micromass ZO; tipo de equipo HPLC: Waters Alliance 2795; columna: Phenomenex Synergi 2 μ m Hydro-RP Mercury 20 x 4 mm; eluyente A: agua/0,25% de ácido fórmico, eluyente B: acetonitrilo/0,25% de ácido fórmico; gradiente: 0,0-2,5 min, 90-30% de A, flujo 1-2 ml/min, 2,5-3,0 min; 30-5% de A, flujo 2,0 min, 3,0-4,5 min, 5% de A; horno: 50°C; detección UV: 210 nm.
- 60 Método 23 (*FT-ICR-HR-MS*): Las mediciones de precisión de masas se llevan a cabo en un espectrómetro de masa de alta resolución Apex II Fourier-Transform Ionen-Cyclotron-Resonanz (Bruker Daltonik GmbH, Bremen), que está equipado con 7 imanes Tesla, una fuente iónica externa de electronebulización y un sistema de datos XMASS a base de Unix. La resolución de masa es de aproximadamente 40.000 (definición 50%-Tal).
- 65

ES 2 330 221 T3

- Método 24 (*HPLC preparativa; Nucleodur C₁₈, ácido acético*): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: Nucleodur C₁₈ Gravity, empresa Macherey-Nagel, 5 µm; 250 x 40 mm; flujo: 15-45 ml/min; eluyente A: agua/0,2% de ácido acético, eluyente B: acetonitrilo/0,2% de ácido acético; gradiente: 0-10 min 10% de B, 10-24 min 10-30% de B, 24-28 min 30-50% de B, 28-35 min 50% de B, 35-45 min 50-60% de B, 45-53 min 60-70% de B, 53-60 min 60-90% de B, 60-70 min 100% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- Método 25 (*HPLC preparativa; Nucleodur C₁₈, ácido trifluoroacético*): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: Nucleodur C₁₈ Gravity, empresa Macherey-Nagel, 5 µm; 250 x 40 mm; flujo: 15-45 ml/min; eluyente A: agua/0,1% de ácido trifluoroacético, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-12 min 10% de B, 12-20 min 10-35% de B, 20-25 min 35-40% de B, 25-35 min 40% de B, 35-45 min 40-50% de B, 45-50 min 50-60% de B 100% de B, 50-60 min 60-100% de B, 60-75 min 100% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica.
- Método 26 (*LC-MS*): tipo de equipo MS: Micromass ZQ; tipo de equipo HPLC: serie HP 1100; UV DAD; columna: Phenomenex Synergi 2 µ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A - 2,5 min 30% de A - 3,0 min 5% de A - 4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min. 2 ml/min; horno: 50°C; detección UV: 210 nm.
- Método 27 (*LC-MS*): Instrumento: Micromass Platform LCZ con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Phenomenex Synergi 2 µ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A - 2,5 min 30% de A - 3,0 min 5% de A - 4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; horno: 50°C; detección UV: 210 nm.
- Método 28 (*HPLC analítica*): tipo de equipo HPLC: serie HP 1050; serie UV DAD 1100; columna: Kromasil C₁₈, 60 x 2 mm, 3,5 µm; eluyente A: agua/0,5% de ácido perclórico, eluyente B: acetonitrilo; gradiente: 0-0,5 min 2% de B, 0,5-4,5 min 2-90% de B, 4,5-9,0 min 90% de B, 9,0-9,2 min 90-2% de B, 9,2-10,0 min 2% de B; flujo: 0,75 ml/min, horno: 30°C, detección UV 210 nm.
- Método 29 (*LC-MS*): tipo de equipo MS: Micromass LCT (ESI pos./neg.); tipo de equipo HPLC: serie HP 1100; serie UV DAD 1100; columna SymmetryPrepTM C₁₈, empresa Waters, 50 x 2,1 mm, 3,5 µm; eluyente A: agua/0,1% de ácido fórmico, eluyente B: acetonitrilo/0,1% de ácido fórmico; gradiente: 0-1 min 0% de B, 1-6 min 0-90% de B, 6-8 min 90-100% de B, 8-10 min 100% de B, 10-10,1 min 100-0% de B, 10,1-12 min 0% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica. Horno: 40°C, flujo: 0,5 ml/min (a 10,1 min a corto plazo a 1 ml/min), detección UV: 210 nm.
- Método 30 (*LC-MS*): tipo de equipo MS: Micromass LCT (ESI pos./neg.); tipo de equipo HPLC: serie HP 1100; serie UV DAD 1100; columna SymmetryPrepTM C₁₈, empresa Waters, 50 x 2,1 mm, 3,5 µm; eluyente A: agua/0,1% de ácido fórmico, eluyente B: acetonitrilo/0,1% de ácido fórmico; gradiente: 0-1 min 0% de B, 1-5,5 min 0-95% de B, 5,5-8 min 95% de B, 8-8,1 35 min 95-0% de B, 8,1-10 min 0% de B, luego regeneración de la columna cromatográfica. Horno: 40°C, flujo: 0,5 ml/min (a 10,1 min a corto plazo a 1 ml/min), detección UV: 210 nm.
- Método 31 (*HPLC preparativa*): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: Reprosil ODS-A, 5 µm, 250 x 20 mm; eluyente A: 0,2% de ácido trifluoroacético en agua, eluyente B: acetonitrilo; velocidad de flujo: 25 ml/min; temperatura de la columna 40°C; 0-10 min 20% de B, 10-15 min 80% de B.
- Método 32 (*HPLC preparativa*): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: Kromasil 018, 5 µm, 100 E, 250 x 20 mm; eluyente A: 0,05% de ácido trifluoroacético en agua, eluyente B: 0,05% de ácido trifluoroacético en acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 ml/min; 0-3 min 10% de B, rampa, 30-38 min 90% de B, 38-45 min 10% de B. Para sustancias protegidas con N-butoxicarbonilo, el ácido trifluoroacético se reemplaza en el eluyente básicamente con 0,05% de ácido acético.
- Método 33 (*HPLC preparativa*): equipo: Gilson Abimed HPLC; detector UV 210 nm; sistema de bomba binaria; columna: Waters Symmetry-PrepTM C₁₈, 7 µm, 300 x 19 mm; eluyente A: 0,05% de ácido trifluoroacético en agua, eluyente B: 0,05% de ácido trifluoroacético en acetonitrilo; velocidad de flujo: 20 ml/min; 0-3 min 10% de B, rampa, 30-38 min 90% de B, 38-45 min 10% de B. Para sustancias protegidas con N-butoxicarbonilo, se reemplaza el ácido trifluoroacético en el eluyente básicamente con 0,05% de ácido acético.
- Método 34 (*cromatografía en gel, Sephadex LH-20*): la muestra se cromatografía en Sephadex LH-20 a presión normal con un eluyente de metanol + acetona 9 + 1 + 0,5% de ácido acético. Detección UV a 210 nm.
- Método 35 (*LC-MS*): Instrumento: Micromass Quattro LCZ con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Phenomenex Synergi 2 µ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de 50% de ácido fórmico; gradiente: 0,0 min 90% de A - 2,5 min 30% de A - 3,0 min 5% de A - 4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; horno: 50°C; detección UV: 208-400 nm.

ES 2 330 221 T3

Método 36 (*HPLC analítica*): equipo: Agilent 1100 con DAD (G1315B), bomba binaria (G1312A), automuestreador (G 1313A), desgasificador de disolventes (G 1379A) y termostato de columna (G1316A); columna: Agilent Zorbax Eclipse XDBC₈ 4,6 x 150 x 5 mm; temperatura de la columna: 30°C; eluyente A: 0,05% de ácido perclórico al 70% en agua; eluyente B: acetonitrilo; flujo: 2,00 ml/min; gradiente: 0-1 min 10% de B, rampa, 4-5 min 90% de B, rampa, 5,5 min 10% de B.

Método 37 (*LC-MS*): Instrumento: Micromass Quattro LCZ con HPLC Agilent Serie 1100; columna: Phenomenex Synergi 2 μ Hydro-RP Mercury 20 mm x 4 mm; eluyente A: 1 l de agua + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%, eluyente B: 1 l de acetonitrilo + 0,5 ml de ácido fórmico al 50%; gradiente: 0,0 min 90% de A $\rightarrow$ 2,5 min 30% de A $\rightarrow$ 3,0 min 5% de A $\rightarrow$ 4,5 min 5% de A; flujo: 0,0 min 1 ml/min, 2,5 min/3,0 min/4,5 min 2 ml/min; horno: 50°C; detección UV: 208-400 nm.

Disposiciones generales de trabajo

Disposición general de trabajo 1 (*Edman*^{0,5 y 1,5})

A una solución del péptido libre N-terminal (0,3 mmol) en piridina seca (30 ml) se vierte gota a gota bajo una atmósfera de gas de protección argón isotiocianato de fenilo (50 mmol). La mezcla de reacción se agita a 37°C (aproximadamente 1 h) hasta que el control con HPLC analítica (Método 13) indica una suficiente conversión (>95%). La mezcla de reacción se concentra al vacío con control de temperatura (<40°C) y luego se liofiliza.

Disposición general de trabajo 2 (*Edman*^{1,0 y 2,0})

Bajo una atmósfera de gas de protección argón, se mezcla el péptido-tiourea (0,2 mmol) como sustancia sólida bajo vigorosa agitación con ácido trifluoroacético seco y luego se agita a 40°C (aproximadamente 20 min) hasta que el control por HPLC analítica indica una suficiente conversión (>95%). La mezcla de reacción se concentra bien a temperatura ambiente (control de temperatura) al vacío. A fin de liberar el producto crudo del ácido trifluoroacético, el producto crudo se extrae en diclorometano y nuevamente se libera al vacío del disolvente. Este proceso se repite varias veces con tolueno (dos veces) y con diclorometano (dos veces). Finalmente, se liofiliza el producto crudo.

Disposición general de trabajo 3 (*acilación de Edman*^{1,0 y 2,0})

A una solución del depsipéptido libre en el término N (componente de amina, 1,0 equivalente, 4 μ mol), del ácido carboxílico libre (componente de ácido carboxílico, 5-20 equivalentes, 20-80 μ mol), HOBt (10-40 equivalentes, 40-160 μ mol) y EDCxHCl (10-25 equivalentes, 40-100 μ mol) en DMF seca (1,0 ml) se vierte a 0°C primero N-metilmorfolina (0,3 equivalentes, 1,3 μ mol). La mezcla de reacción se agita (aproximadamente 15 min) y nuevamente se combina con N-metilmorfolina (0,7 equivalentes, 2,7 μ mol). La mezcla de reacción se calienta lentamente (3-18 h) a temperatura ambiente, en donde se observa una reacción casi completa del componente de amina por medio de HPLC (a modo de ejemplo, Método 13). La mezcla de reacción se evapora a alto vacío y se purifica por cromatografía.

Disposición general de trabajo 4 (*acilación Edman*^{1,0 y 2,0})

A una solución del depsipéptido libre en el término N (componente de amina, 1,0 equivalente, 88 μ mol), del ácido carboxílico libre (componente de ácido carboxílico, 4,0 equivalentes, 350 μ mol) y N-metilmorfolina (4,0 equivalentes, 350 μ mol) en DMF seca (2,0 ml) se vierte a 0°C primero HATU (4,1 equivalentes, 360 μ mol). La mezcla de reacción se agita (aproximadamente 15 min) y nuevamente se combina con N-metilmorfolina (5,0 equivalentes, 438 μ mol). La mezcla de reacción se calienta lentamente (aproximadamente 1 h) a temperatura ambiente y luego se agita hasta la conversión completa del componente de amina (control con HPLC, por ejemplo, Método 13) (aproximadamente 3 h). La mezcla de reacción se evapora a alto vacío y se purifica por cromatografía.

Disposición general de trabajo 5 (*separación del grupo protector terc-butoxicarbonilo*)

El péptido de N-(terc-butoxicarbonilo) (30 μ mol) se dispone como suspensión en un poco de diclorometano (5 ml), se mezcla con ácido trifluoroacético/diclorometano (1/3, 30 ml) y se agita a temperatura ambiente (aproximadamente 40 min) hasta que la HPLC analítica indica una conversión completa (por ejemplo, Método 13). A fin de seguir liberando el producto crudo de ácido trifluoroacético, el producto crudo se extrae en diclorometano y nuevamente se libera al vacío del disolvente. Este proceso se repite varias veces con tolueno (dos veces) y con diclorometano (dos veces). Finalmente, el producto crudo se liofiliza.

ES 2 330 221 T3

Disposición general de trabajo 6 (acoplamiento de péptidos)

A una solución del componente de amina (1,0 equivalente, 2 mmol), del ácido carboxílico libre (componente de ácido carboxílico, 1,2 equivalentes, 2,4 mmol), HOBt (4 equivalentes, 8 mmol) y EDC (2 equivalentes, 4 mmol) en cloruro de metileno seco (75 ml) se vierte a -10°C lentamente N-metilmorfolina (3 equivalentes, 6 mmol). La mezcla de reacción se calienta lentamente (aproximadamente 12 h) a temperatura ambiente, en donde se observa la conversión total del componente de amina por medio de HPLC (por ejemplo, Método 13). La mezcla de reacción se evapora al vacío.

Método 1 de procesamiento: Para un procesamiento acuoso, el producto crudo se extrae en acetato de etilo (200 ml). A continuación, se lava tres veces con solución saturada acuosa de hidrogenocarbonato de sodio, una vez con ácido cítrico acuoso 2 N, nuevamente una vez con solución acuosa saturada de hidrógeno-carbonato de sodio y una vez con solución saturada de cloruro de sodio. Se seca sobre sulfato de sodio y se filtra al vacío, se evapora hasta sequedad y luego se seca a alto vacío.

Método 2 de procesamiento: El producto crudo se extrae en acetonitrilo (2 ml) y luego se purifica directamente por cromatografía.

Disposición general de trabajo 7 (separación hidrolítica de éster, saponificación)

El éster de ácido carboxílico (3 mmol) se dispone bajo una atmósfera de gas de protección argón en THF/agua/DMF 200/100/2,5 (20 ml). A 0°C se vierte bajo un estricto control de la temperatura hidróxido de litio en polvo (3,6 mmol, 1,2 equivalentes) en porciones en la solución fuertemente agitada. No se observa a las 2 h ninguna conversión completa por medio de HPLC analítica (Método 13), entonces, se añade nuevamente hidróxido de litio sólido (3,3 mmol, 1,1 equivalentes). Este proceso se repite hasta la conversión completa, tras lo cual la mezcla de reacción se regula a 0°C con ácido clorhídrico acuoso 0,1 N a pH 3-4, se concentra al vacío y luego se liofiliza. El producto crudo se puede cromatografiar ahora en gel (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético) y/o purificar finamente por medio de HPLC preparativa (Método 9 o Método 14).

Disposición general de trabajo 8 (separación hidrogenolítica del éster)

El éster bencílico peptídico (1,2 mmol) se disuelve en metanol (60 ml) y se mezcla bajo una atmósfera de gas de protección argón con paladio sobre carbón al 10% (100 mg). A temperatura ambiente y presión normal, se hidrogena hasta que la HPLC analítica (Método 13) indica una conversión completa. La mezcla de reacción se filtra (por ejemplo, sobre tierra de diatomeas, Celite®), se concentra al vacío y se seca a alto vacío.

Disposición general de trabajo 9 (separación del grupo protector N-terc-butoxicarbonilo, dioxano, cloruro de hidrógeno)

El compuesto protegido con N-(terc-butoxicarbonilo) (1 mmol) se dispone en dioxano (2-3 ml). A temperatura ambiente y bajo vigorosa agitación, se vierte gota a gota ácido clorhídrico 4 N en dioxano (30 ml). Se agita hasta que la HPLC analítica (Método 13) indica una conversión completa (aproximadamente 2 h). La mezcla de reacción se evapora a temperatura ambiente al vacío. El producto crudo se extrae en un poco de diclorometano y nuevamente se libera al vacío del disolvente. Este proceso se repite varias veces con tolueno (dos veces) y con diclorometano (dos veces). Finalmente, el producto crudo se liofiliza o se sigue haciendo reaccionar directamente.

Disposición general de trabajo 10 (preparación hidrolítica de las muestras para MALDI-MS)

El depsipéptido por abrir (por ejemplo, lisobactina, 0,05 μ Mol) se mezcla en un microvial primero con un tampón de borato-ácido clorhídrico (empresa Merck) pH 8 (250 μ l). Se deja reposar durante la noche, se mezcla con ácido acético (100 μ l) y se liofiliza la muestra. El producto crudo se ensaya sin otras etapas de purificación por medio de secuenciación MALDI-MS.

Disposición general de trabajo 11 (acoplamiento de péptidos con inactivación con dihidrogenofosfato de potasio)

A una solución del depsipéptido libre en el término N (componente de amina, 1,0 equivalente, 88 μ mol), del ácido carboxílico libre (componente de ácido carboxílico, 4,0 equivalentes, 350 μ mol) y N-metilmorfolina (4,0 equivalentes, 350 μ mol) en dimetilformamida seca (2,0 ml) se vierte a 0°C primero HATU (4,1 equivalentes, 360 μ mol). La mezcla de reacción se agita (aproximadamente 15 min) y nuevamente con N-metilmorfolina (5,0 equivalentes, 438 μ mol). La mezcla de reacción se calienta lentamente (aproximadamente 1 h) a temperatura ambiente y luego se agita hasta la conversión completa del componente de amina (control de HPLC, Método 13) (aproximadamente 3 h). La mezcla de reacción se combina con hidrogenofosfato de potasio sólido (10 equivalentes, 500 μ mol) y luego se evapora a alto vacío y se purificación por cromatografía.

ES 2 330 221 T3

Disposición general de trabajo 12 (síntesis en fase sólida de dipéptidos)

5 1,0 g de resina de tritilo (equivalente a 1 mmol) se dispone en diclorometano, se añaden 5 equivalentes de aminoácido protegido con N-Fmoc y 10 equivalentes de etildiisopropilamina, se agita durante 20 h a temperatura ambiente, se filtra por succión, se lava tres veces con diclorometano/metanol/etildiisopropilamina (17/2/1), tres veces con diclorometano, dos veces con dimetilformamida, tres veces con diclorometano. se seca a alto vacío sobre hidróxido de potasio.

10 Se desprotege con piperidina, dimetilformamida 1/4 (dos veces 15 min), se lava ocho veces con dimetilformamida. Acoplamiento de 5 equivalentes de aminoácido protegido con N-Boc con 5 equivalentes de TBTU y 10 equivalentes de etildiisopropilamina en dimetilformamida, temperatura ambiente durante la noche. Lavado tres veces con diclorometano/metanol/etildiisopropilamina (17/2/1), tres veces con diclorometano, tres veces con dimetilformamida, dos veces con diclorometano, una vez con éter dietílico.

15 Separación con 2,5 ml de ácido acético/trifluoroetanol/diclorometano (1/1/3) 2 h a temperatura ambiente, luego filtrado por succión, lavado tres veces con 500 μ l de solución de separación, mezcla con 2,5 ml de ciclohexano, concentración, concentración repetidamente mezclado con 5 ml de ciclohexano.

20 *Disposición general de trabajo 13 (N-alkilación reductora)*

A una mezcla del Ejemplo 1A (15 mg, 10 μ mol) y tamiz molar activado (3 Å, 400 mg) en metanol seco (2 ml) se añade bajo una atmósfera de gas de protección argón facultativamente el correspondiente aldehído (0,10 mmol, 10 equivalentes) o la correspondiente cetona (0,10 mmol, 10 equivalentes). La mezcla de reacción se agita durante 30 min a temperatura ambiente y luego con cianoborhidruro de sodio (6 mg, 0,1 mmol, 10 equivalentes). Después de otras 25 18 h, la mezcla de reacción se enfría rápidamente por adición de ácido clorhídrico 4 N (500 μ l) y luego se liofiliza, obteniendo un producto crudo sólido que se purifica por HPLC preparativa/UV-Vis (por ejemplo, Método 15). Las fracciones de producto se vuelven a liofilizar, obteniendo espumas sólidas como producto.

30 *Disposición general de trabajo 14 (acoplamiento con el dipéptido, EDC)*

Un aminoácido N-protégido y el éster (por ejemplo, éster metílico o bencílico) de un aminoácido se disponen en una relación equimolar bajo argón en diclorometano (40 ml/mmol de aminoácido) y se enfría hasta -8°C. Se añaden 35 gota a gota 1-hidroxibenzotriazol (3 equivalentes), N-metilmorfolina (3 equivalentes), EDC (2 equivalentes) en este orden. A continuación, se añaden otros 2 equivalentes de N-metilmorfolina. Se deja calentar a temperatura ambiente y se agita durante 12 h. El diclorometano se destila en el evaporador rotativo, el residuo se extrae en acetato de etilo y se lava con solución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio. La fase acuosa se lava otra vez con acetato de etilo, los extractos orgánicos combinados se lavan con ácido cítrico al 5% acuoso y luego con solución saturada de 40 hidrógeno-carbonato de sodio. A continuación, la fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra al vacío.

45 *Disposición general de trabajo 15*

Se prepara una solución 1 M de N-metilmorfolina en dimetilformamida. Un aminoácido N-protégido y el éster (metílico o bencílico) de un aminoácido se disuelven en una relación equimolar bajo argón en dimetilformamida (14 ml/mmol) y se enfría hasta 0°C. Luego se añaden primero 1 equivalente de la solución de N-metilmorfolina, luego TCTU (1,5 equivalentes) y a los 15 min solución de N-metilmorfolina (1 equivalente). Luego se agita durante la noche 50 a temperatura ambiente. La preparación se vierte directamente en un cartucho flash de fase inversa (Biotage 40M C₁₈) y se purifica con un gradiente de agua-acetonitrilo (10-90% de acetonitrilo en 15 min, luego 5 min de tiempo de reposo). El producto se cromatografía luego (Método 31).

55 *Disposición general de trabajo 16*

Se prepara una solución 1 M de N-metilmorfolina en dimetilformamida.

Un aminoácido N-protégido y el éster (por ejemplo, metílico o bencílico) de un aminoácido se disuelven en una 60 relación equimolar bajo argón en dimetilformamida (14 ml/mmol) y se enfría hasta 0°C. Luego se añade primero solución de N-metilmorfolina (1 equivalente), luego HATU (1,5 equivalentes) y a los 15 min solución de N-metilmorfolina (1 equivalente). Luego se sigue haciendo agitar durante la noche a temperatura ambiente. La preparación se vierte directamente en un cartucho flash de fase inversa (Biotage 40M C₁₈) y se purifica con un gradiente de agua-acetonitrilo (10-90% de acetonitrilo en 15 min, luego 5 min de tiempo de reposo).

65

Disposición general de trabajo 17

El éster se disuelve en tetrahidrofurano/agua 2/1 (15 ml/mmol) y la solución se enfría hasta 0°C. Se añade hidróxido de litio monohidratado sólido (2 equivalentes). La mezcla de reacción se agita durante aproximadamente 1 h a 0°C.

5 Cuando la reacción está completa (control de la reacción con HPLC, Método 36), se acidifica con ácido acético glacial. El tetrahidrofurano se destila al vacío, el residuo se extrae con acetato de etilo y las fases orgánicas combinadas se secan sobre sulfato de sodio y se concentran. El residuo se purifica por cromatografía flash en fase inversa (Biotage C₁₈ 40M, agua + 0,05% de ácido trifluoroacético -acetonitrilo + 0,05% de ácido trifluoroacético-gradiente 10-90% en 15 min, 10 min de tiempo de detención). Las fracciones con contenido de producto se concentran en el evaporador

10 rotativo o se liofilizan.

Disposición general de trabajo 18

15 El éster bencílico se disuelve en metanol (36 ml/mmol). Luego se añade bajo argón paladio sobre carbón activo al 10% (228 mg/mmol) y se hidrogena a presión hidrostática durante 1 h. Se filtra del catalizador, el filtrado se concentra y se purifica por cromatografía flash (gel de sílice, ciclohexano/acetato de etilo 3/1 con 0,05% de ácido acético).

Disposición general de trabajo 19 (Método HATO)

Se prepara una solución 1 M de N-metilmorfolina en dimetilformamida. El Ejemplo 11A (1 equivalente) y aminoácido protegido (4 equivalentes) se disponen en dimetilformamida (10 ml/mmol del Ejemplo 11 A) y se enfría hasta 0°C. Luego se añaden primero 2 equivalentes de la solución de N-metilmorfolina, luego HATU (4,1 equivalentes),

25 después a los 15 min nuevamente 2 equivalentes de la solución de N-metilmorfolina y a los 15 min los restantes 5 equivalentes de la solución de N-metilmorfolina. Luego se sigue agitando durante la noche a temperatura ambiente. La preparación se cromatografía luego en Sephadex LH-20 (Método 34) y se separa. Las fracciones que contienen producto se combinan y se concentran en el evaporador rotativo a una temperatura del baño de máximo 30°C.

Disposición general de trabajo 20

El compuesto protegido con N-(terc-butoxicarbonilo) se suspende en diclorometano (aproximadamente 1,6 ml/10 mg de educto). Una solución de ácido trifluoroacético al 30% en diclorometano se añade (aproximadamente 0,32

35 ml/10 mg de educto) y la mezcla se agita durante 30 min a temperatura ambiente. Luego se destila el disolvente al vacío, no debiendo superar la temperatura del baño los 30°C. El residuo se purifica por cromatografía (Método 33).

Disposición general de trabajo 21

40 El compuesto protegido por N-(terc-butoxicarbonilo) se disuelve en ácido trifluoroacético al 30% en diclorometano (aproximadamente 1 ml/10 mg de educto) y se agita durante 30 min a temperatura ambiente. Luego se destila el disolvente al vacío, no debiendo superar la temperatura del baño los 30°C. El residuo se purifica por cromatografía (Método 33).

Disposición general de trabajo 22

El producto de partida se extrae en ácido acético glacial/agua (1/2), se mezcla con paladio sobre carbón activado al 10% (aproximadamente 30% en volumen de educto) y se hidrogena durante 1 h a presión normal y a temperatura ambiente. Cuando el control de la reacción con HPLC analítica muestra una conversión completa, se filtra del catalizador y se destila el disolvente al vacío, donde la temperatura del baño no debe superar los 30°C. El residuo se purifica por cromatografía (Método 33).

Disposición general de trabajo 23

Preparación de la solución tampón: una solución de acetato de sodio 0,1 M se lleva a pH 5 por adición de ácido acético glacial.

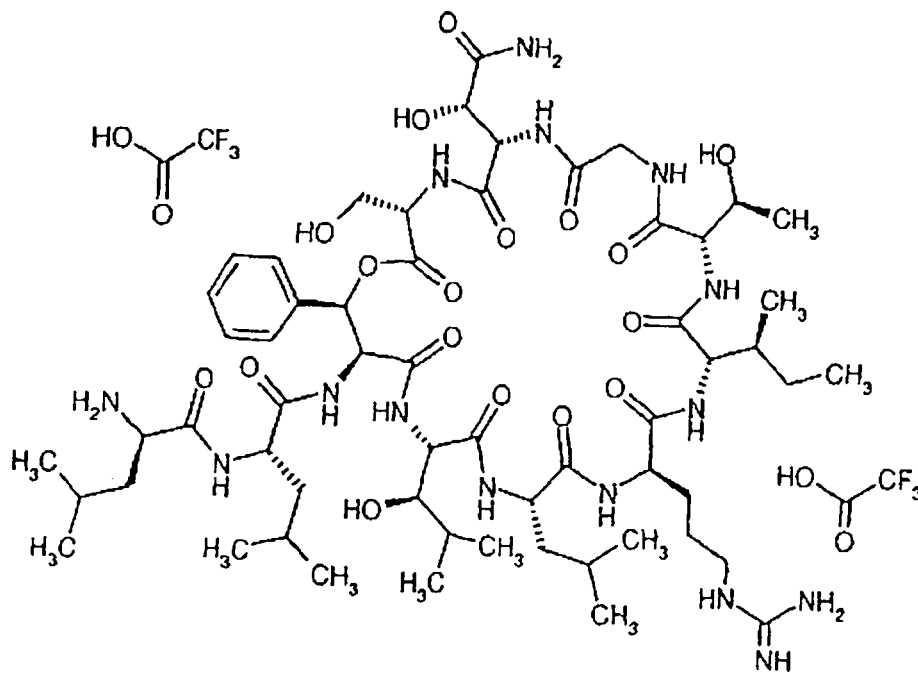
60 El educto se disuelve en una mezcla de tampón/metanol (2/3), se mezcla con paladio sobre carbón activado al 10% (aproximadamente 20% en peso del educto) y se hidrogena hasta conversión completa (aproximadamente 1 h, control con HPLC analítica) a presión normal y temperatura ambiente. Luego se filtra del catalizador y se destila el disolvente al vacío, donde la temperatura del baño no debe superar los 30°C. El residuo se purifica por cromatografía (Método 33).

65

Compuestos de partida

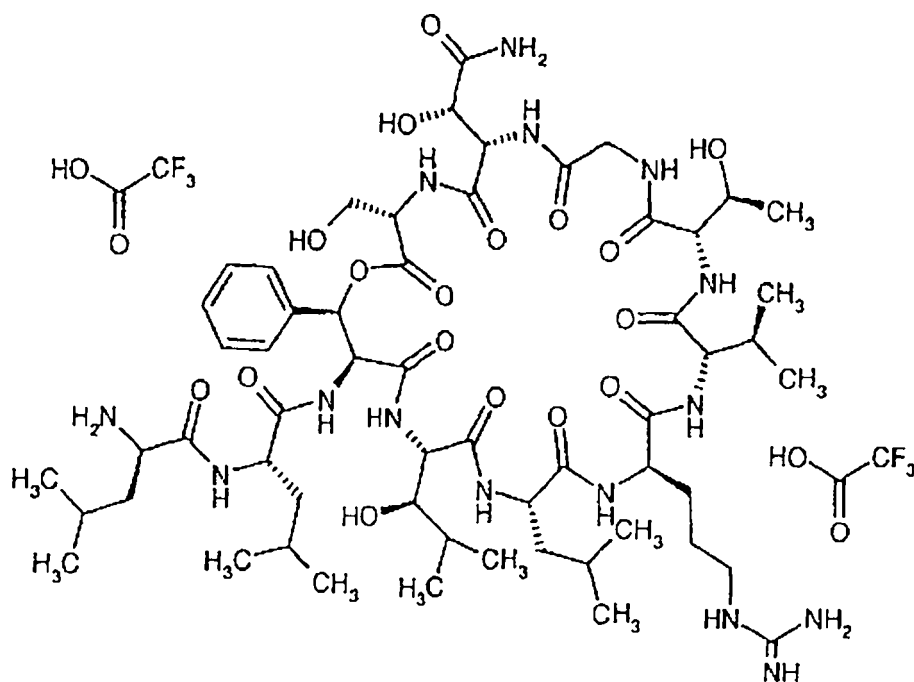
Ejemplo 1A

5 *Bistrifluoroacetato de D-leucil-N¹-[(35,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida*



Ejemplo 2A

35 *Bistrifluoroacetato de D-leucil-N¹-[(35,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-isopropil-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida*



ES 2 330 221 T3

Fermentación del Ejemplo 1A y Ejemplo 2A

Medio de cultivo

5 YM: Agar de malta de levadura: D-glucosa (4 g/l), extracto de levadura (4 g/l), extracto de malta (10 g/l), 1 litro de agua Lewatit. Antes de esterilizar (20 minutos a 121°C), se ajusta el pH a 7,2.

HPM: Manitol (5,4 g/l), extracto de levadura (5 g/l), peptona de carne (3 g/l).

10 Conserva de trabajo: La cepa liofilizada (ATCC 53042) se cultiva en 50 ml de medio YM.

Fermentación en matraz: 150 ml de medio YM o 100 ml de medio HPM en un matraz de Erlenmeyer se inoculan con 2 ml de la conserva de trabajo y se deja crecer durante 30-48 horas a 28°C en un agitador a 240 rpm.

15 Fermentación de 30 l: 300 ml de la fermentación en matraz (medio HPM) se utilizan paraocular una solución de medio nutriente estéril de 30 l (1 ml de antiespumante SAG 5693/1). Este cultivo se deja crecer durante 21 horas a 28°C, 300 rpm y una ventilación con aire estéril de 0,3 vvm. El pH se mantiene constante con ácido clorhídrico 1 M a pH = 7,2. En total, se añaden durante el tiempo de cultivo 880 ml de ácido clorhídrico 1 M.

20 Cultivo principal (200 l): 15 x 150 ml de medio YM en un matraz de Erlenmeyer de 1 l se inoculan con 2 ml de la conserva de trabajo y se deja crecer a 28°C durante 48 horas y 240 rpm en el agitador. 2250 ml de este cultivo se utilizan para inocular una solución de medio nutriente estéril de 200 l (YM) (1 ml de antiespumante SAG 5693/I) y durante 18,5 horas a 28°C, 150 rpm y una ventilación con aire estéril de 0,3 vvm.

25 Para controlar el curso de la fermentación, se extraen muestras por hora (50 ml). 2 ml de este caldo de cultivo se mezclan con 1 ml de metanol (0,5% de ácido trifluoroacético) y se filtran a través de un filtro de 0,45 µm. 30 µl de esta suspensión se analizan por medio de HPLC (Método 1 y Método 2).

A las 18,5 horas, se separa el caldo de cultivo del cultivo principal a 17000 rpm en sobrenadante y sedimento.

30 *Aislamiento del Ejemplo 1A y Ejemplo 2A*

El sobrenadante (183 l) se ajusta con ácido trifluoroacético concentrado o lejía de sosa en pH 6,5-7 y se aplica en una columna de Lewapol (OC 1064, 60 l de contenido). Luego se eluye con agua pura, agua/metanol 1:1 y luego con metanol puro (con 0,1% de ácido trifluoroacético). Esta fase orgánica se concentra al vacío hasta formar un resto acuoso residual de 11,5 l.

La fase acuosa residual se une con gel de sílice C₁₈ y se separa (MPLC, Biotage Flash 75, 75 x 30 cm, KP-C₁₈-WP, 15-20 µm, flujo: 30 ml; eluyente: acetonitrilo/agua con 0,1% de ácido trifluoroacético; gradiente: 10%, 15% y 40% de acetonitrilo). La fase de acetonitrilo al 40%, que contiene la cantidad principal de Ejemplo 1 A y Ejemplo 2A, se concentra al vacío y luego se liofiliza (13 g). Esta mezcla de sólidos se separa en porciones de 1,2 g primero en una HPLC preparativa (Método 3), luego por filtración en gel en Sephadex LH-20 (5 x 70 cm, acetonitrilo/agua 1:1, en cada caso con 0,05% de ácido trifluoroacético) y una HPLC preparativa (Método 4).

Este proceso proporciona 2250 mg del Ejemplo 1 A y 33 mg del Ejemplo 2A.

45 El sedimento se extrae en 4 l de acetona:agua 4:1, se mezcla con 2 kg de Celite, se regula con ácido trifluoroacético en pH = 6, se agita y se centrifuga. El disolvente se concentra al vacío y el residuo se liofiliza. El liofilizado obtenido (89,9 g) se extrae en metanol, se filtra, se concentra y se separa en gel de sílice (Método 5) en el Ejemplo 1 A y el Ejemplo 2A. El Ejemplo 1 A luego se purifica por filtración en gel (Sephadex LH₂₀, 5 x 68 cm, agua/acetonitrilo 9:1 (con 0,05% de ácido trifluoroacético), flujo: 2,7 ml/min, tamaño de la fracción 13,5 ml) para dar una sustancia pura.

50 Este proceso proporciona 447 mg del Ejemplo 1A.

55 *Ejemplo 1A*

HPLC (Método 1): R_t = 6,19 min

MS (ESIpos): m/z = 1277 (M+H)⁺

60 ¹H RMN (500,13 MHz, d₆-DMSO): δ = 0,75 (d, 3H), 0,78 (d, 6H), 0,80 (t, 3H), 0,82 (d, 3H), 0,90 (d, 3H), 0,91 (d, 3H), 0,92 (d, 3H), 0,95 (d, 3H), 0,96 (d, 3H), 1,05 (m, 1H), 1,19 (d, 3H), 1,25 (m, 2H), 1,50 (m, 4H), 1,51 (m, 2H), 1,55 (m, 1H), 1,61 (m, 1H), 1,65 (m, 1H), 1,84 (m, 1H), 1,85 (m, 1H), 1,86 (m, 1H), 1,89 (m, 1H), 1,95 (m, 1H), 2,75 (m, 2H), 3,40 (m, 1H), 3,52 (m, 2H), 3,53 (dd, 1H), 3,64 (m, 2H), 3,66 (m, 1H), 3,68 (dd, 1H), 3,73 (m, 2H), 4,00 (dd, 1H), 4,02 (br., 1H), 4,13 (br., 1H), 4,32 (dd, 1H), 4,39 (t, 1H), 4,55 (m, 1H), 4,75 (dd, 1H), 5,19 (t, 1H), 5,29 (d, 1H), 5,30 (br., 1H), 5,58 (m, 2H), 6,68 (m, 3H), 6,89 (d, 1H), 6,93 (m, 3H), 6,94 (br., 1H), 6,98 (d, 1H), 7,12 (br., 1H), 7,20 (br., 2H), 7,23 (m, 2H), 7,42 (m, 2H), 7,54 (d, 1H), 7,58 (d, 1H), 8,32 (br., 1H), 9,18 (br., 1H), 9,20 (m, 2H), 9,50 (br., 1H).

ES 2 330 221 T3

¹³C-RMN (125,77 MHz, d₆-DMSO): δ = 10,3, 15,3, 19,0, 19,2, 19,6, 20,0, 20,9, 22,0, 22,4, 23,0, 23,2, 24,3, 24,4, 25,0, 25,4, 26,0, 27,8, 30,9, 35,4, 39,5, 40,8, 40,9, 41,6, 44,1, 51,5, 52,7, 55,9, 56,2, 56,4, 57,9, 58,8, 60,2, 61,1, 62,6, 70,1, 71,6, 71,7, 75,5, 128,1, 128,6, 136,7, 156,8, 168,2, 170,1, 170,4, 171,2, 171,5, 171,9, 172,2, 172,4, 173,7.

5 La correspondencia de las señales se realizó según la correspondencia descrita en la literatura (T. Kato, H. Hino, Y. Terui, J. Antibiot., 1988, 61, 719-725).

Datos de ¹H RMN (500 MHz, d₆-DMSO, 302 K) y ¹³C-RMN (d₆-DMSO):

10	Resto	NH	CO	CH- α	CH- β	CH- χ	Otros restos
	Leu 1	8,32	171,5	4,13 (51,5)	~1,51 (41,6)	~1,65 (25,0)	CH ₃ : 0,95 (22,0) CH ₃ : 0,92 (22,4)
15	Leu 2	9,50	172,4	3,73 (56,2)	1,86 (39,5) 1,25 (39,5)	1,89 (24,4)	CH ₃ : 0,91 (23,0) CH ₃ : 0,75 (19,6)
20	Ph-Ser	9,18	171,5	5,58 (61,1)	6,89 (71,7)	—	Ph-o: 7,42 (128,1) Ph-m: 7,23 (128,6) Ph-p: 7,20 (128,6) Ph-i: 136,7
25	Hi-Leu	9,20	171,2	3,66 (59,8)	3,40 (75,5) —OH: 5,30	1,84 (30,9)	CH ₃ : 0,96 (19,0) CH ₃ : 0,78 (19,2)
30	Leu 3	7,12	171,5	4,02 (52,7)	1,62 (40,9)	1,95 (24,3)	CH ₃ : 0,82 (20,0) CH ₃ : 0,78 (23,2)
35	Arg	6,94	171,9	3,73 (56,4)	~1,50 (27,8)	—1,50 (26,0) —125 (26,0)	CH ₂ - δ : 2,75 (40,8) NH- δ : 7,20 [NH-C-NH ₃]: 6,68 (156,8)
40	Ile	7,58	170,4	3,68 (60,2)	~1,85 (35,4) CH ₃ : 0,90 (15,3)	~1,05 (21,4) ~1,55 (25,4)	CH ₃ : 0,80 (10,3)
45	Thr	6,98	171,5	4,39 (57,2)	3,52 (70,1) —OH: 5,29	—	CH ₃ : 1,19 (20,9)
50	Gly	9,20	172,2	4,00 (44,1) 3,53 (44,1)	—	—	—
55	Hy-Asn	7,54	170,8	4,75 (56,2)	4,32 (71,6) —OH: 5,58	—	CO-NH ₂ : 6,93 (173,7)
	Ser	6,93	168,2	4,55 (55,9)	3,64 (62,6) —OH: 5,19	—	—

60

Ejemplo 2A

65 HPLC (Método 1): R_t = 6,01 min

MS (ESIpos): m/z = 1263 (M+H)⁺

ES 2 330 221 T3

¹H RMN (500,13 MHz, d₆-DMSO): δ = 0,75 (d, 3H), 0,78 (d, 9H), 0,79 (d, 3H), 0,90 (d, 3H), 0,92 (d, 3H), 0,96 (d, 3H), 0,97 (d, 3H), 0,98 (d, 3H), 1,16 (d, 3H), 1,25 (m, 1 H), 1,50 (m, 1 H), 1,55 (m, 4H), 1,65 (m, 1 H), 1,33 (m, 1 H), 1,62 (m, 2H), 1,84 (m, 1 H), 1,85 (m, 2H), 1,90 (m, 1 H), 1,95 (m, 1 H), 2,78 (m, 2H), 3,43 (m, 1 H), 3,52 (m, 2H), 3,63 (m, 1H), 3,65 (m, 2H), 3,67 (dd, 1H), 3,70 (m, 1H), 3,71 (br., 1H), 4,01 (dd, 1H), 4,04 (br., 2H), 4,29 (t, 1H), 4,30 (dd, 1H), 4,54(m, 1H), 4,73 (dd, 1H), 5,19 (t, 1H), 5,23(d, 1H), 5,31 (br., 1H), 5,57 (br., 1H), 5,63 (d, 1H), 6,68 (m, 3H), 6,90 (m, 3H), 6,98 (d, 1 H), 7,01 (br., 1 H), 7,20 (br., 2M, 7,21 (br., 1 H), 7,23 (m, 3H), 7,24 (br., 1 H), 7,42 (m, 2H), 7,50 (br., 1 H), 7,57 (d, 1H), 8,16 (br., 1H), 9,18 (br., 1H), 9,19 (d, 1H), 9,20 (br., 1H), 9,57 (br., 1H).

¹³C-RMN (125,77 MHz, d₆-DMSO): δ = 19,0, 19,2, 19,3, 19,4, 19,6, 20,9, 21,9, 22,0, 22,4, 23,0, 23,2, 23,7, 24,3, 24,5, 26,8, 27,8, 30,4, 35,4, 31,5, 39,0, 40,3, 40,9, 41,8, 44,3, 52,2, 52,4, 55,2, 55,4, 55,9, 56,5, 57,9, 60,0, 60,8, 61,1, 62,6, 71,1, 71,9, 74,8, 75,1, 127,9, 129,1, 136,1, 156,2, 167,4, 168,1, 171,0, 172,0, 172,2, 172,4, 172,5, 172,9, 173,3.

La correspondencia de las señales se realizó según la correspondencia descrita en la literatura (T. Kato, H. Hinoo, Y. Terui, J. Antibiot., 1988, 61, 719-725).

Datos de ¹H RMN (500 MHz, d₆-DMSO, 302 K) y ¹³C-RMN (d₆-DMSO):

Resto	NH	CO	CH- α	CH- β	CH- χ	Otros restos
Leu 1	8,16	173,3	4,04 (52,4)	~1,55 (41,8)	~1,65 (24,5)	CH ₃ : 0,98 (22,0) CH ₃ : 0,92 (22,4)
Leu 2	9,57	172,4	3,71 (55,2)	1,84 (39,0) 1,33 (39,0)	1,90 (23,7)	CH ₃ : 0,90 (23,0) CH ₃ : 0,75 (19,4)
Ph-Ser	9,18	172,9	5,57 (61,1)	6,90 (71,7)	—	Ph-o: 7,42 (127,9) Ph-m: 7,23 (129,1) Ph-p: 7,23 (129,1) Ph-i: 136,1
Hy-Leu	9,20	173,3	3,63 (60,0)	3,43 (74,8) —OH: 5,31	1,85 (31,5)	CH ₃ : 0,96 (19,0) CH ₃ : 0,78 (19,2)
Leu 3	7,21	172,5	4,04 (52,2)	1,62 (40,9)	1,85 (24,3)	CH ₃ : 0,79 (20,9) CH ₃ : 0,78 (23,2)
Arg	6,90	172,5	3,70 (55,4)	~1,55 (27,8)	~1,50 (26,8) ~125 (26,8)	CHF δ : 2,78 (40,3) NH- δ : 7,24 [NH-C-NH ₃ ⁺]: 6,68 (156,2)
Val	7,50	171,0	3,67 (60,8)	1,95 (30,4)	—	CH ₃ : 0,97 (19,3) CH ₃ : 0,78 (19,6)
Thr	6,98	172,0	4,29 (57,9)	3,52 (71,1) —OH: 5,23	—	CH ₃ : 1,16 (21,9)
Gly	9,19	172,2	4,01 (44,3)	—	—	—

ES 2 330 221 T3

			3,52 (44,3)			
Hy-	7,57	168,1	4,73 (56,5)	4,30 (71,9)	-	CO-NH ₂ : 7,20
Asn				-OH: 5,63		(172,0)
Ser	7,01	167,4	4,54 (55,9)	3,65 (62,6)	-	
				-OH: 5,19		

Determinación de la estereoquímica del Ejemplo 1A

Para identificar la estereoquímica relativa del Ejemplo 1A, se hidroliza en depsipéptido con ácido clorhídrico. Para ello, se mezclan 100 µg del Ejemplo 1A con 20,0 µl de ácido clorhídrico 6 M, el tubo de muestra se fundió al vacío y se calentó a 166°C durante 1 hora. Después de la hidrólisis, la muestra se concentró a alto vacío. El residuo que queda se ajusta con 400 µl de tampón de citrato de sodio a pH = 2,2. Patrón interno: homoarginina.

Después de la derivación, el hidrolizado se analiza en una columna Permabond-L-Chirasil-Val- y FS-LipodexE. El tiempo de retención de cada uno de los derivados de aminoácido del Ejemplo 1A se compara con los D- o L-aminoácidos (después de la derivación). Todos los aminoácidos naturales tienen la configuración L.

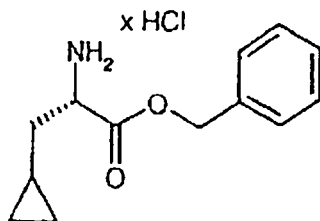
Sobre la base de la gran coincidencia del Ejemplo 1 A con los datos de la literatura, se parte de la base de que el Ejemplo 1 A corresponde en su estereoquímica a la estereoquímica descrita en la literatura (T. Kato, H. Hino, Y. Terui, J. Antibiot., 1988, 61 (6), 719-725).

El compuesto 1A obtenido en la fermentación se emplea en posteriores reacciones (ver el Ejemplo 10A). Si efectivamente la correspondencia de la estereoquímica en el compuesto 1 es diferente, entonces también la estereoquímica de los productos posteriores será otra.

Obtención de los dipéptidos

Ejemplo 3A

Clorhidrato de 3-ciclopropil-L-alaninato de bencilo



Se hace reaccionar N-(terc-butoxicarbonil)-3-ciclopropil-L-alaninato de bencilo (260 mg, 0,81 mmol) (Neil W. Boaz, Sheryl D. Debenham, Elaine B. Mackenzie, Shannon E. Large, Org. Lett., 2002, 14, 2421-2424) de acuerdo con la disposición general de trabajo 9. Se obtiene el producto con un rendimiento cuantitativo.

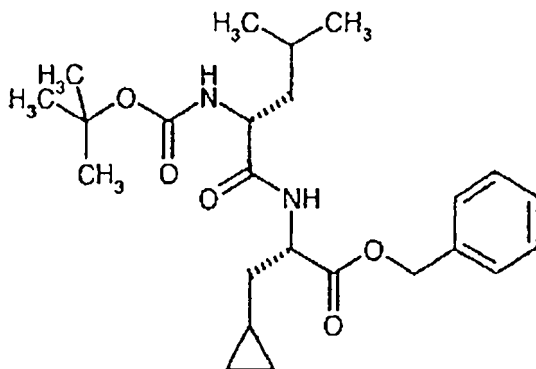
HPLGL/UV-Vis (Método 13): R_t = 5,13 min, máx (cualitativo) = 220 nm (s), 250-275 (w). LC-MS (Método 12):

R_t = 3,93 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 220 (100) [M + H]⁺.

ES 2 330 221 T3

Ejemplo 4A

N-(*tert*-Butoxicarbonil)-*D*-leucil-3-ciclopropil-*L*-alaninato de bencilo

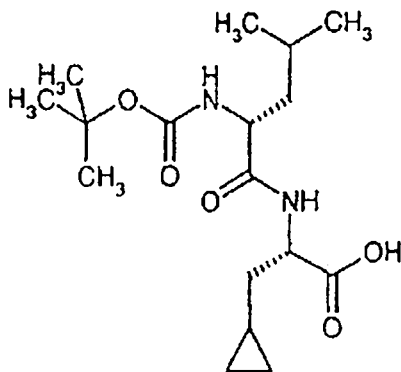


De acuerdo con la disposición general de trabajo 6, se hacen reaccionar *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*D*-leucina (540 mg, 2,32 mmol) y clorhidrato de 3-ciclopropil-*L*-alaninato de bencilo (Ejemplo 3A, 490 mg, 1,93 mmol). El producto crudo se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 16), obteniendo el producto con un rendimiento cuantitativo.

$[\alpha]^{20}_{\text{Na}} = + 30^\circ$ ($c = 0,1$ en cloruro de metileno). HPLGL/UV-Vis (Método 13): $R_t = 9,00$ min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 250-275 (w). LC-MS (Método 17): $R_t = 3,40$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 333 (100) $[M - \text{Boc} + H]^+$, 433 (15) $[M + H]^+$.

Ejemplo 5A

N-(*tert*-Butoxicarbonil)-*D*-leucil-3-ciclopropil-*L*-alanina



Se hace reaccionar *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*D*-leucil-3-ciclopropil-*L*-alaninato de bencilo (Ejemplo 4A, 500 mg, 1,16 mmol) se hace reaccionar de acuerdo con la disposición general de trabajo 8. Se obtienen 366 mg (92% d. t.) de producto.

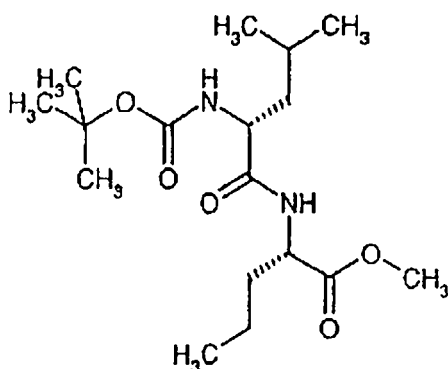
$[\alpha]^{20}_{\text{Na}} = + 15^\circ$ ($c = 0,1$ en cloruro de metileno).

HPLGLTV-Vis (Método 13): $R_t = 7,16$ min.

LC-MS (Método 12): $R_t = 5,28$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 343 (30) $[M + H]^+$.

Ejemplo 6A

N-(*tert*-Butoxicarbonil)-*D*-leucil-*L*-norvalinato de metilo

De acuerdo con la disposición general de trabajo 6 se hacen reaccionar *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*D*-leucina (1000 mg, 4,32 mmol) y clorhidrato de *L*-norvalinato de metilo (1090 mg, 6,49 mmol). El producto crudo se purifica de acuerdo con el Método 1 de procesamiento. Se obtiene el producto con un rendimiento cuantitativo.

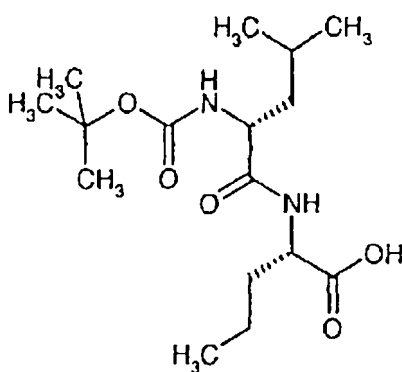
HR-TOF-MS (Método 21): $C_{17}H_{33}N_2O_5$ calc. 345,2389, exp. 345,2406; $-C_{17}H_{32}N_2O_5Na$ calc. 367,2209, exp. 367,2207.

LC-MS (Método 11): $R_t = 3,62$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 245 (30) $[M - Boc + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 389 $[M + HCO_2H - H]^-$, 343 (20) $[M-H]^-$.

Ejemplo 7A

N-(*tert*-Butoxicarbonil)-*D*-leucil-*L*-norvalina

Se hace reaccionar *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*D*-leucil-*L*-norvalinato de metilo (Ejemplo 6A, 1000 mg, 2,9 mmol) se hace reaccionar de acuerdo con la disposición de trabajo general 7. Se obtienen 808 mg (84% d. t.) de producto.

$[\alpha]^{20}_{Na} = +24^\circ$ ($c = 0,1$ en metanol).

HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 6,97$ min.

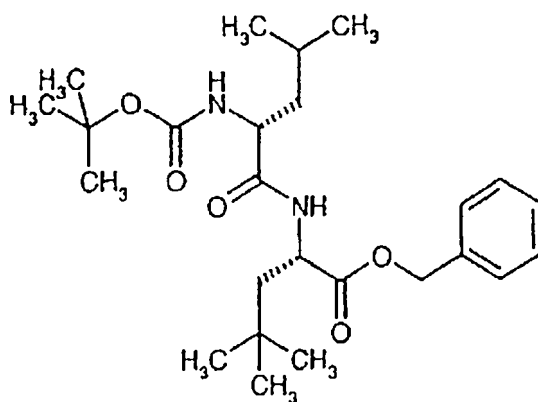
LC-MS (Método 12): $R_t = 5,33$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 331 (20) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 329 (20) $[M-H]^-$.

HR-TOF-MS (Método 21): $C_{16}H_{31}N_2O_5$ calc. 331,2233, exp. 331,221.

Ejemplo 8A

N-(*tert*-Butoxicarbonil)-*D*-leucil-3-*tert*-butil-*L*-alaninato de bencilo

De acuerdo con la disposición general de trabajo 6 se hacen reaccionar *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*D*-leucina (230 mg, 1,0 mmol) y clorhidrato de 3-*tert*-butil-*L*-alaninato de bencilo (300 mg, 1,10 mmol) (John X. He, Wayne L. Cody, Annette M. Doherty, J. Org. Chem., 1995, 60, 8262-8266). El producto crudo se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 16) (Método 2 de procesamiento), obteniendo 362 mg (80% d. t.) de producto.

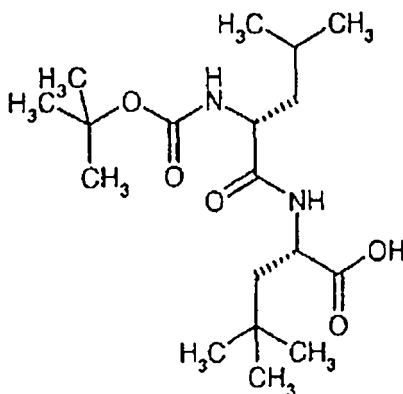
$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +19^\circ$ ($c = 0,1$ en cloruro de metileno).

HPLC/UV-Vis (Método 18): $R_t = 5,3$ min.

LC-MS (Método 22): $R_t = 2,83$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 349 (100) $[M - \text{Boc H}]^+$, 449 (85) $[M + \text{H}]^+$.

Ejemplo 9A

N-(*tert*-butoxicarbonil)-*D*-leucil-3-*tert*-butil-*L*-alanina

Se hace reaccionar *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*D*-leucil-3-*tert*-butil-*L*-alaninato de bencilo (Ejemplo 8A, 308 mg, 0,69 mmol) de acuerdo con la disposición general de trabajo 8. Se obtienen 245 mg (99% d. t.) de producto.

$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -2^\circ$ ($c = 0,1$ en cloruro de metileno)

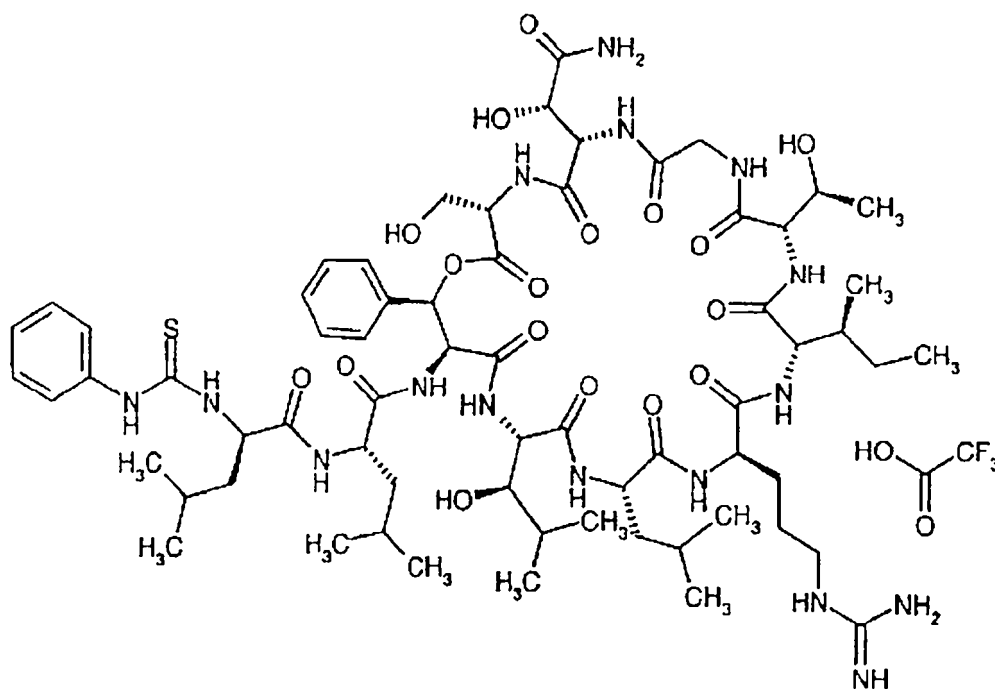
HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,70$ min.

HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{18}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_5$ calc. 359,2546, exp. 359,2535.

Ejemplo 10A

Monotrifluoroacetato de N-(Anilino-carbonotioil)-D-leucil-N¹-{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxo-etil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-27-il)-L-leucinamida

{Monotrifluoroacetato de N-(anilino-carbonotioil)lisobactina}



De acuerdo con la disposición general de trabajo 1, se hace reaccionar bistrifluoroacetato de lisobactina (500 mg, 0,33 mmol) (Ejemplo 1 A). Se obtienen 600 mg (cuant.) de producto que se puede seguir haciendo reaccionar sin purificar.

Para la posterior purificación, el producto crudo se puede cromatografiar en gel (Método 6; metanol/0,1% de ácido acético). Las fracciones que contienen el producto se concentran al vacío a temperatura ambiente y luego se liofilizan. Se obtiene el producto con un rendimiento del 80%.

HPLCIUV-Vis (Método 13): $R_t = 6,84$ min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 248 (m), 269 (m).

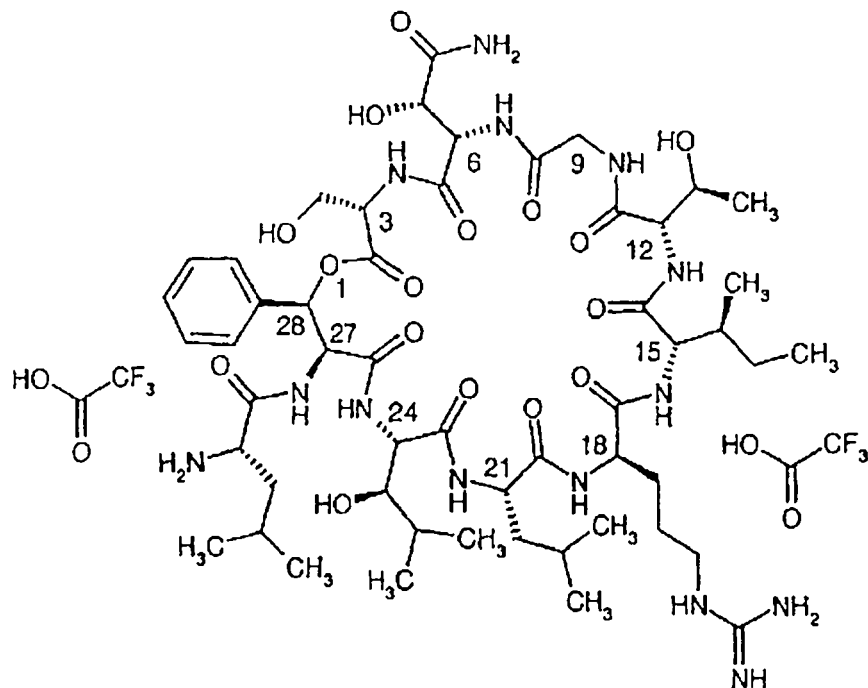
LC-MS (Método 11): $R_t = 2,64$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 706,5 (50) $[M + 2H]^+$, 1412 (20) $[M + H]^+$; LC-MS (Método 12): $R_t = 4,95$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 1412 (100) $[M + H]^+$.

Ejemplo 11A

Bistrifluoroacetato de N^1 -{[(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1*S*)-1-hidroxi-2-metilpropil]-3-(hidroxi-metil)-24-[(1*R*)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1*S*)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida

{Bistrifluoroacetato de des-*D*-leucil}-lisobactina}



Se hace reaccionar tiourea (Ejemplo 10A) (300 mg, 0,2 mmol) de acuerdo con la disposición general de trabajo 2. El producto crudo se cromatografía en gel (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético) y luego se cromatografía por medio de HPLC preparativa (Método 8). Se obtienen 147 mg (65% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 4,96$ min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 12): $R_t = 3,84$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 582,4 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1164 (20) $[M + H]^+$.

FT-ICR-HR-MS (Método 23):

$C_{52}H_{88}N_{14}O_{16}$ $[M + 2H]^{2+}$ calc. 582,32459, exp. 582,32460;

$C_{52}H_{87}N_{14}NaO_{16}$ $[M + H + Na]^{2+}$ calc. 593,31556, exp. 593,31 564.

Para la determinación de la secuencia de aminoácidos, se hidroliza una muestra analítica del producto de acuerdo con la disposición general de trabajo 10.

MALDI-MS (Método 20): m/z (%) = 1181,7 (100) $[M + H]^+$

Procedimiento de obtención alternativo en gran escala

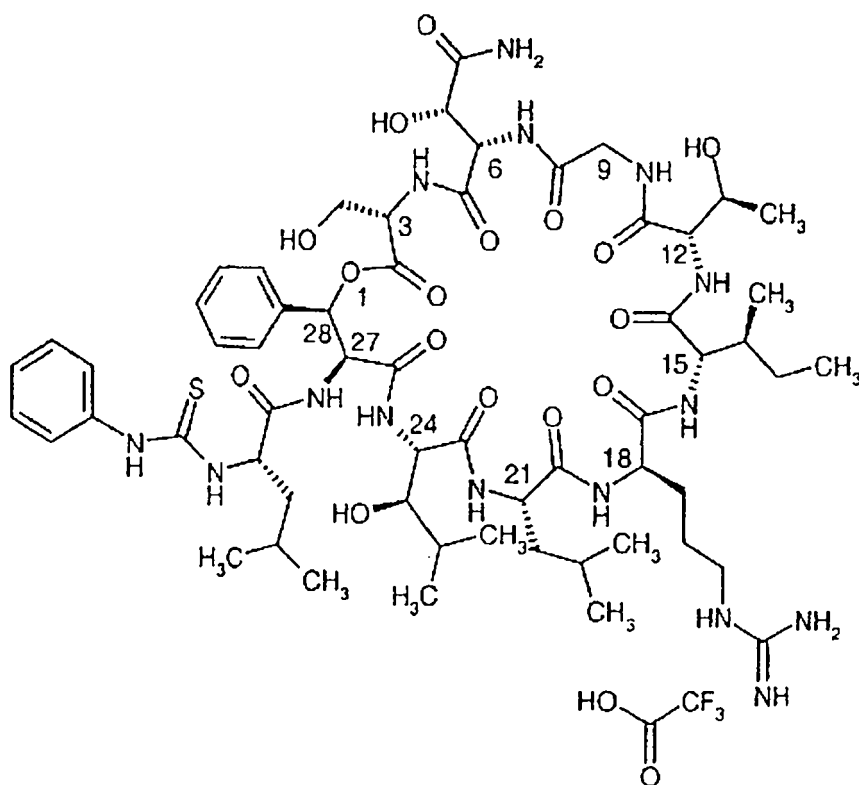
El Ejemplo 2A (6,47 g, 4,30 mmol) se disuelve bajo una atmósfera de argón en piridina (90 ml). Luego se añade isotiocianato de fenilo (1,16 g, 8,60 mmol, 2 equivalentes) y la mezcla de reacción se agita a 37°C durante 1 h. A continuación, se destila el disolvente en el evaporador rotativo y el residuo se seca durante la noche en vacío de bomba de aceite. Se obtiene el producto intermedio Ejemplo 10A con un rendimiento crudo de 6,60 g. El producto intermedio se sigue haciendo reaccionar sin purificación. Para ello, se hace reaccionar el Ejemplo 10A (6,60 g) bajo una atmósfera de argón en ácido trifluoroacético (107 ml) y se agita durante 30 min a temperatura ambiente. Luego se concentra la solución en el evaporador rotativo al vacío, se seca brevemente en vacío de bomba de aceite, se extrae en éter metil-

ES 2 330 221 T3

terc-butilico (250 ml) y se agita vigorosamente hasta que se obtiene un sólido amorfo pulverulento. Se filtra con vacío y se lava con éter metil-terc-butilico (200 ml), luego se lava con diclorometano (dos veces 100 ml). El sólido se pasa a un matraz y se seca en vacío de bomba de aceite. Se obtiene el Ejemplo 11A con un rendimiento crudo de 6,0 g (cuant.). El producto se puede hacer reaccionar sin ulterior purificación.

Ejemplo 12A

Monotrifluoroacetato de N-(anilincarbonotioil)-N¹-{[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida



De acuerdo con la disposición general de trabajo 1, se hace reaccionar el bistrifluoroacetato de des-D-leucilliso-bactina (Ejemplo 11A, 255 mg, 0,18 mmol). Se obtienen 322 mg (cuant.) de producto, que se puede seguir haciendo reaccionar sin purificar.

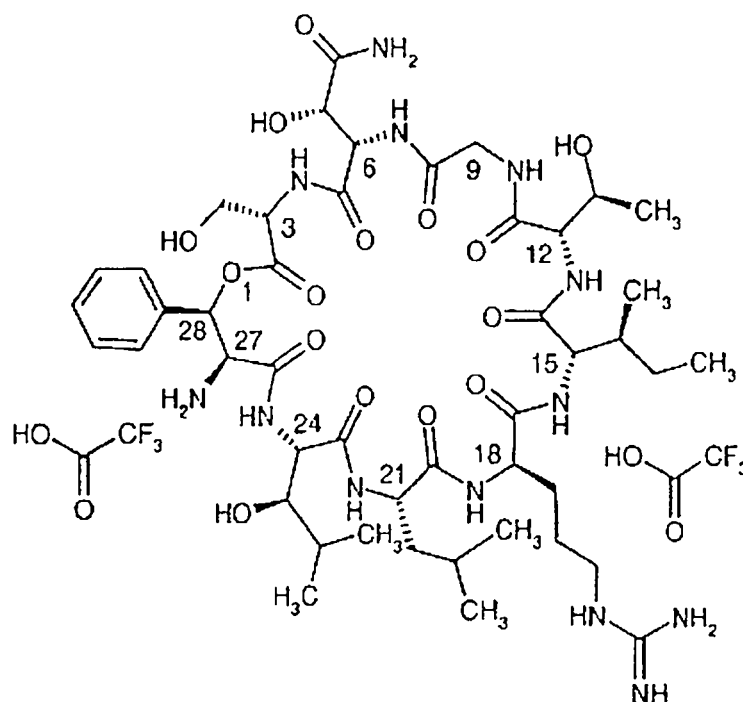
Para la ulterior purificación, se cromatografía en gel el producto crudo (Método 6; metanol/0,1% de ácido acético). Las fracciones que contienen el producto se concentran al vacío a temperatura ambiente y luego se liofilizan. HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 6,56$ min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 245 (m), 268 (m).

LC-MS (Método 12): $R_t = 4,85$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 1299 (100) $[M + H]^+$.

Ejemplo 13A

Bistrifluoroacetato de (2S)-2-[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-27-amino-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]-propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil] 2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-6-il]-2-hidroxietanamida

{Bistrifluoroacetato de des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina}



La tiourea (Ejemplo 12A, 66 mg, 34 μmol) se hace reaccionar de acuerdo con la disposición general de trabajo 2. El producto crudo se puede purificar por cromatografía convencional (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético). La HPLC preparativa (Método 8 o Método 9 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (100 μmol)) proporciona 45 mg (75% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 4,71$ min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w). LC-MS (Método 11): $R_t = 1,65$ min;

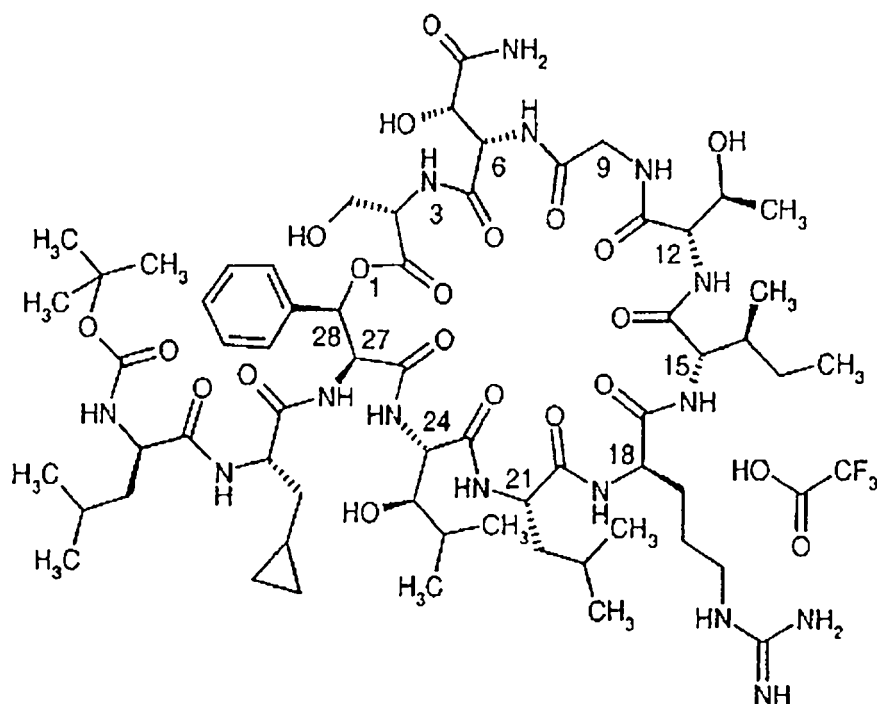
MS (ESIpos.): m/z (%) = 526 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1051 (15) $[M + H]^+$.

Procedimiento de preparación alternativo en gran escala

El compuesto del Ejemplo 11A (6,47 g, 4,30 mmol) se disuelve bajo una atmósfera de argón en piridina (92 ml). Luego se añade isotiocianato de fenilo (8,75 g, 64,68 mmol, 15 equivalentes) y la mezcla de reacción se agita a 37°C durante 1 hora. A continuación, el disolvente se destila en el evaporador rotativo y el residuo se seca durante la noche en vacío de bomba de aceite. Se obtiene el Ejemplo 12A con un rendimiento crudo de 6,0 g. El producto intermedio se sigue haciendo reaccionar sin purificación. Para ello, se disuelve el Ejemplo 12A crudo bajo una atmósfera de argón en ácido trifluoroacético (82 ml) y se agita durante 30 min a temperatura ambiente. Luego se concentra la solución en el evaporador rotativo al vacío, se seca brevemente en vacío de bomba de aceite, se extrae en éter metil-terc-butílico (250 ml) y se agita vigorosamente hasta que se obtiene un sólido amorfo pulverulento. Se filtra con vacío y se lava con más éter metil-terc-butílico (200 ml), luego se lava con dos porciones de 100 ml de diclorometano cada una. El sólido se pasa a un matraz y se seca en vacío de bomba de aceite. Se obtiene el compuesto del título con un rendimiento crudo de 5,4 g (cuant.). El producto se sigue purificando con HPLC preparativa (Método 31). Se obtienen 1,79 g del compuesto del título (32% d. t.).

Ejemplo 14A

Monotrifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-D-leucil-N¹-{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciaooctacosan-27-il)-3-ciclopropil-L-alaninamida



Se hacen reaccionar bistrifluoroacetato de des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina (Ejemplo 13A, 112 mg, 88 μ mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-D-leucil-3-ciclopropil-L-alanina (Ejemplo 5A, 120 mg, 350 μ mol) de acuerdo con la disposición general de trabajo 4. El producto crudo se purifica por HPLC preparativa (Método 8 o Método 7 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (200 μ mol)). Se obtienen 87 mg (63% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 7,04 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

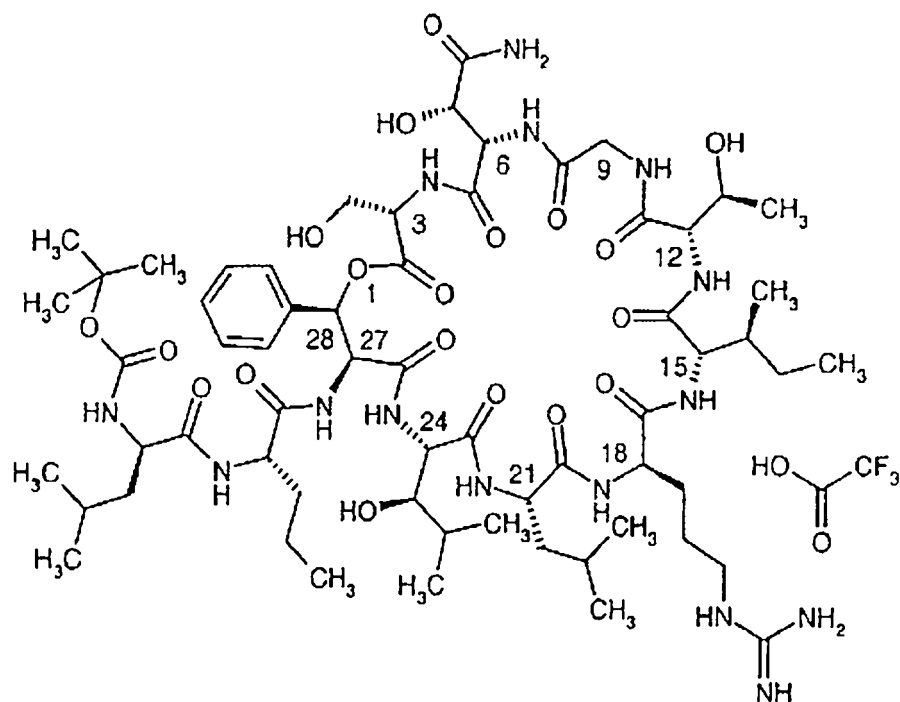
LC-MS (Método 11): R_t = 2,61 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 638 (100) [M - Boc + 2H]²⁺, 1375 (15) [M + H]⁺.

LC-MS (Método 12): R_t = 5,27 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 638 (30) [M - Boc + 2H]²⁺, 1375 (100) [M + H]⁺.

Ejemplo 15A

Monotrifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-D-leucil-N¹-[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il)-L-narvalinamida



Se hacen reaccionar bistrifluoroacetato de des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina (Ejemplo 13A, 5 mg, 4 smol) y N-(terc-butoxicarbonil)-D-leucil-L-norvalina (Ejemplo 7A, 5 mg, 16 smol) de acuerdo con la disposición general de trabajo 4. El producto crudo se purifica por HPLC preparativa (Método 10 o Método 9 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (10 μ mol)). Se obtienen 2,7 mg (51% d. t.) de producto.

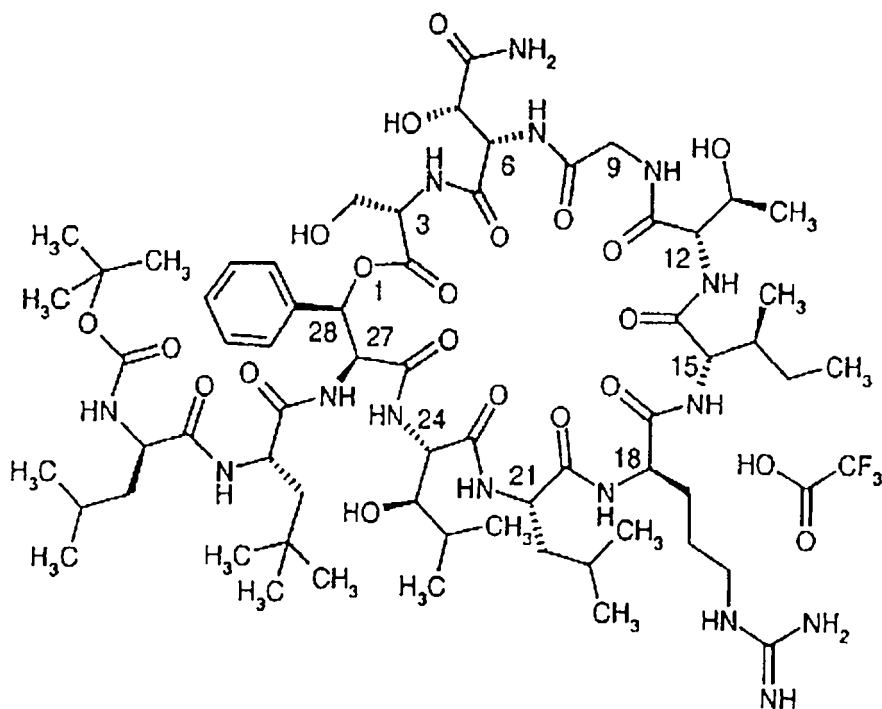
HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 6,97 min, $\lambda_{\max}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 11): R_t = 2,49 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 632 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 1363 (10) $[M + H]^+$.

Ejemplo 16A

Monotrifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-D-leucil-N1-[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-metilpropil]-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il)-3-terc-butil-L-alaninamida



Se hacen reaccionar bistrifluoroacetato de des-(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina (Ejemplo 13A, 21 mg, 14 μ mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-D-leucil-3-terc-butil-L-alanina (Ejemplo 9A, 24 mg, 66 μ mol) de acuerdo con la disposición general de trabajo 4. El producto crudo se purifica por HPLC preparativa (Método 15 o Método 14 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (30 μ mol)). Se obtienen 19 mg (75% d. t.) de producto.

HPLGLTV-Vis (Método 13): $R_t = 7,31$ min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

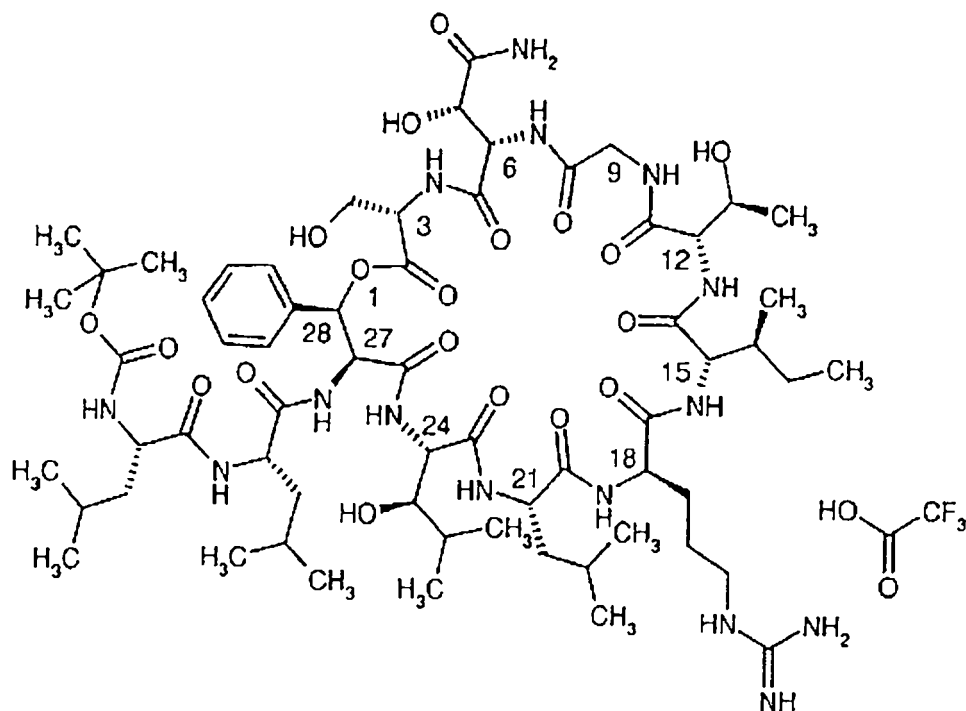
LC-MS (Método 11): $R_t = 2,59$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 646 (100) $[M\text{-Boc} + 2H]^{2+}$, 1391 (20) $[M + H]^+$.

Ejemplo 17A

Monotrifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-L-leucil-N¹-[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida

{Monotrifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-epi-lisobactina}



Análogamente a la disposición general de trabajo 3, se hace reaccionar bistrifluoroacetato de des-D-leucillisobactina (Ejemplo 11 A, 2,2 mg, 2 μ mol) con N-(terc-butoxicarbonil)-leucina (7,9 mg, 32 μ mol). El producto crudo se cromatografía en gel (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético) y luego se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 14 seguido de salinización del producto de cromatografía por adición de TFA (10 mol)). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 1,5 mg (64% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 6,97 min,

X. (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 12): R_t = 4,76 min;

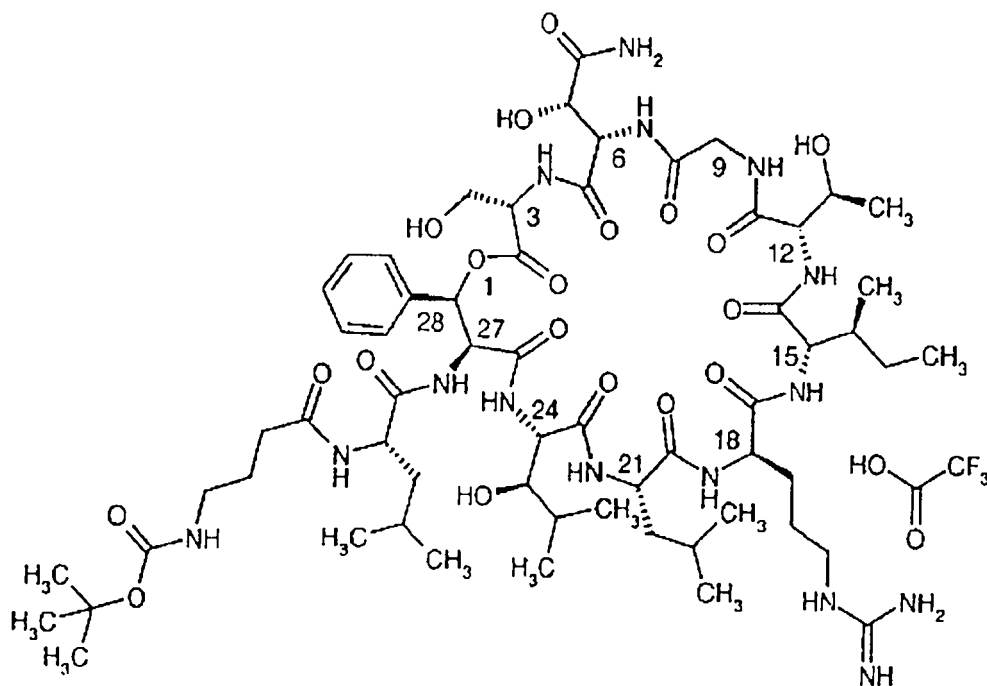
MS (ESIpos.): m/z (%) = 1377 (100) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1375 (100) $[M - H]^-$.

Ejemplo 18A

Monotrifluoroacetato de N^2 -{4-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]butanoil}-N1-{(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-amino-1-hidrox-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1*S*)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1*R*)-1-hidrox-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1*S*)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il}-L-leucinamida

[Monotrifluoroacetato de {4-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]butanoil}-des(leucil)lisobactina]



Análogamente a la disposición general de trabajo 3, se hace reaccionar bistrifluoroacetato de des-D-leucilliso-bactina (Ejemplo 11 A, 4,0 mg, 3 μ mol) con ácido 4-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]-butanoico (11,7 mg, 57 μ mol). El producto crudo se cromatografía en gel (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético) y luego se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 14 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (10 μ mol)). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 2,3 mg (59% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 6,67 min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 12): R_t = 4,76 min;

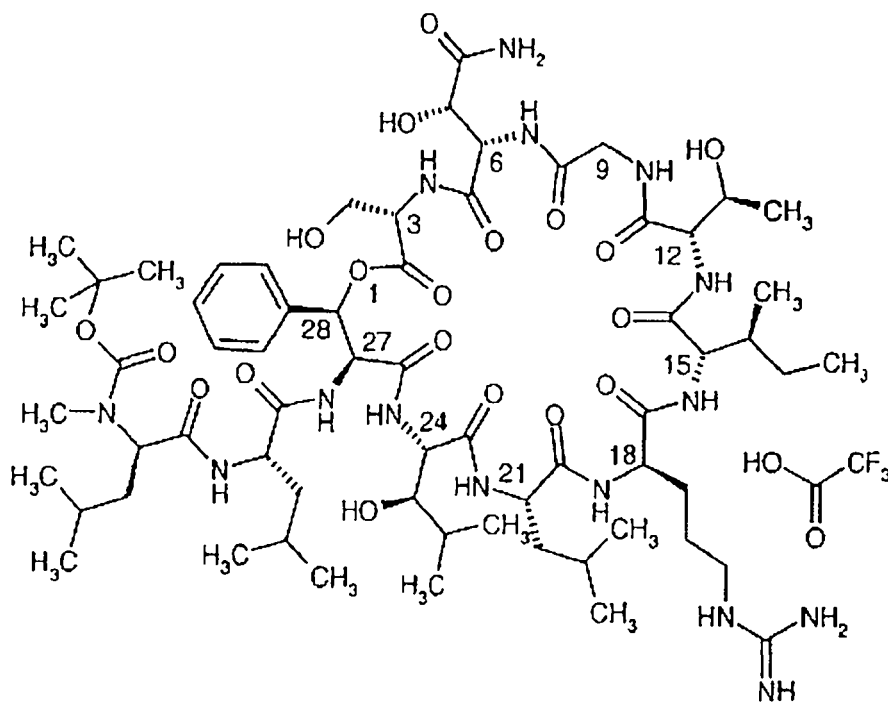
MS (ESIpos.): m/z (%) = 1349 (100) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1346 (100) $[M - H]^-$.

Ejemplo 19A

Monotrifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-N-metil-D-leucil-N¹-[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-metilpropil]-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nona-oxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida

{Monotrifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-N-metil-lisobactina}



Análogamente a la disposición general de trabajo 3 se hace reaccionar bistrifluoroacetato de des-D-leucillisobactina (Ejemplo 11 A, 5,0 mg, 4 μ mol) con hidrato de N-(terc-butoxicarbonil)-N-metil-D-leucina (17,6 mg, 72 μ mol). El producto crudo se cromatografía en gel (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético) y luego se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 14 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (10 μ mol)). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 2,0 mg (40% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 7,41 min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 12): R_t = 5,11 min;

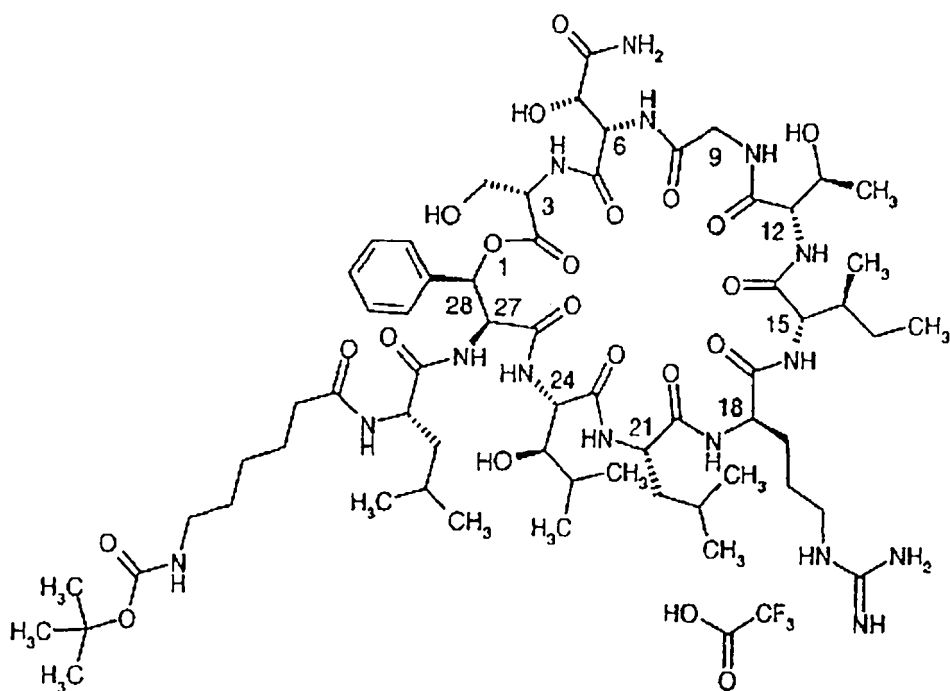
MS (ESIpos.): m/z (%) = 1391 (100) [M + H]⁺;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1389 (100) [M - H]⁻.

Ejemplo 20A

Monotrifluoroacetato de N^2 -{6-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]hexanoil}- N^1 -{[(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1*S*)-1-hidroxi-2-hidroxi-24-[(1*R*)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1*S*)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida

[Monotrifluoroacetato de N -{6-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]hexanoil}-des(leucil)lisobactina]



Análogamente a la disposición general de trabajo 3 se hace reaccionar bistrifluoroacetato de des-D-leucillisobactina (Ejemplo 11 A, 5,0 mg, 4 μ mol) con ácido 6-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]hexanoico (4,2 mg, 18 μ mol). El producto crudo se cromatografía en gel (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético) y luego se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 14 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (10 μ mol)). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 900 μ g (18% d. t.) de producto.

LC-MS (Método 11): R_t = 2,57 min;

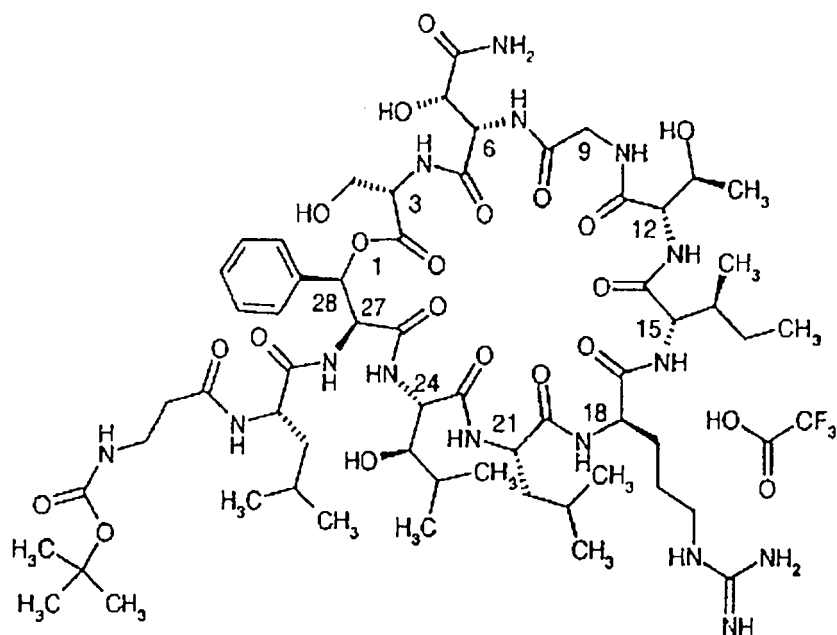
MS (ESIpos.): m/z (%) = 639 (100) $[M - Boc + 2H]^{2+}$, 1377 (10) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1375 (100) $[M - H]^-$.

Ejemplo 21A

Monotrifluoroacetato de N^2 -{3-[(terc-butoxicarbonil)amino]propionil}-N1-{(3S, 6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nona-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il)-L-leucinamida

[Monotrifluoroacetato de N-{3-[(terc-butoxicarbonil)amino]propionil}-des(leucil)lisobactina]



Análogamente a la disposición general de trabajo 3, se hace reaccionar bistrifluoroacetato de des-D-leucilliso-bactina (Ejemplo 11A, 4,4 mg, 4 μ mol) con ácido 3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-propiónico (700 μ g, 20 μ mol). El producto crudo se cromatografía en gel (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético) y luego se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 14 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (10 μ mol)). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 2,0 mg (40% d. t.) de producto.

EPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 6,45 min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 12): R_t = 4,73 min;

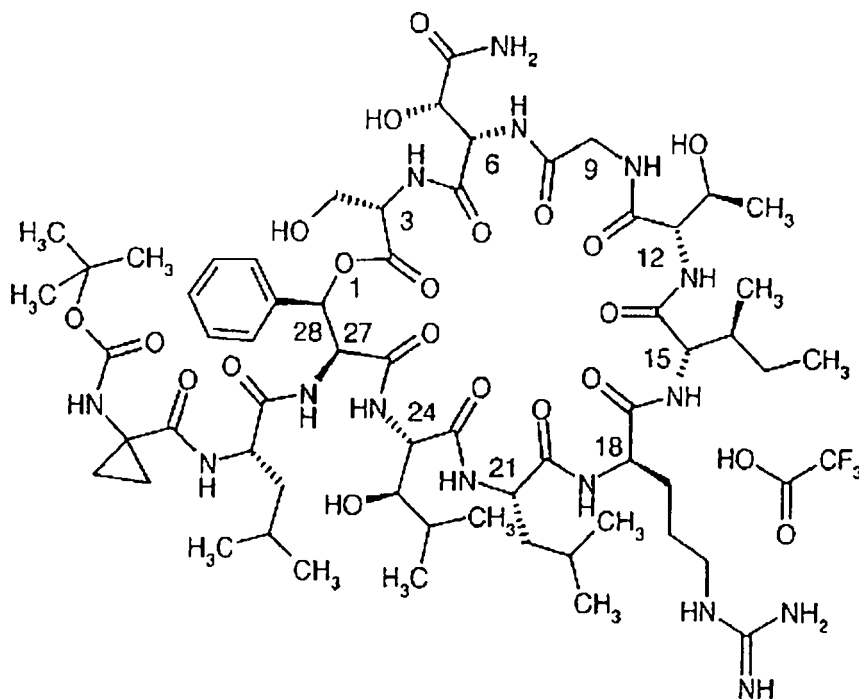
MS (ESIpos.): m/z (%) = 1335,6 (100) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1333 (100) $[M - H]^-$.

Ejemplo 22A

Monotrifluoroacetato de N^2 -({1-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]ciclopropil}carbonil)- N^1 -{(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*, 24*S*, 27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino-(imino)metil]amino}propil)-12-[(1*S*)-1-hidroxi-3-(hidroximetil)-24-[(1*R*)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1*S*)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclo-octacosan-27-il-L-leucinamida

[Monotrifluoroacetato de N -({1-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]ciclopropil}carbonil)-des(leucil)lisobactina]



Análogamente a la disposición general de trabajo 3 se hace reaccionar bistrifluoroacetato de des-D-leucillisobactina (Ejemplo 11A, 5,0 mg, 4 μ mol) con ácido 1-[(*tert*-butoxicarbonil)amino]ciclopropanocarboxílico (3,6 mg, 18 μ mol). El producto crudo se cromatografía en gel (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético) y luego se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 14 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (10 μ mol)). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 650 μ g (13% d. t.) de producto.

LC-MS (Método 11): R_t = 2,54 min;

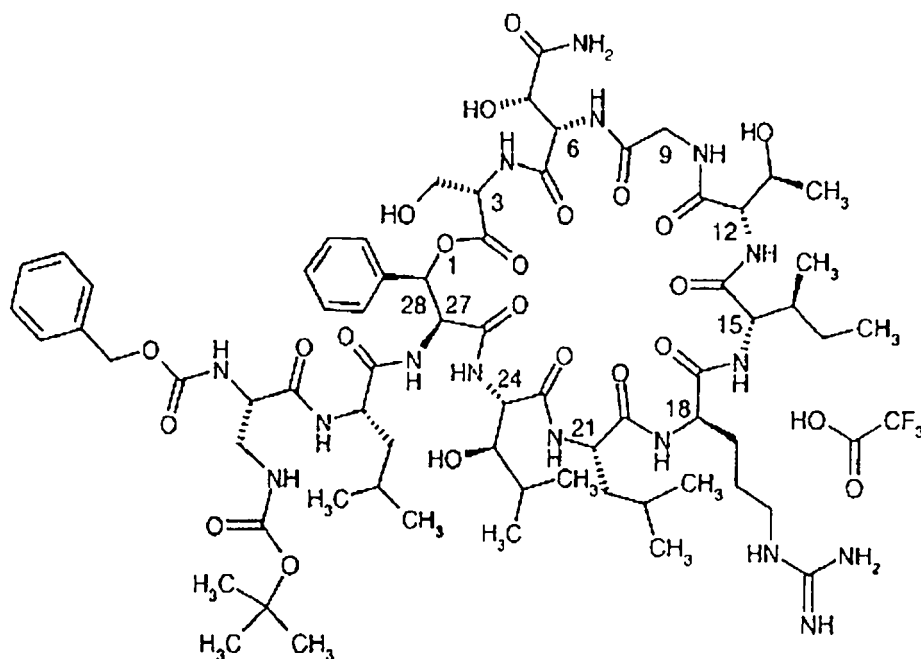
MS (ESIpos.): m/z (%) = 624 (100) $[M - Boc + 2H]^{2+}$, 1346 (20) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1345 (100) $[M - H]^-$.

Ejemplo 23A

Monotrifluoroacetato de N-[(benciloxi)carbonil]-3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-L-alanil-N¹-{(3S,6S,12S,15S,18R,-
21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino-(imino)metil]amino]-propil)-12-[(1S)-
1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,
14,17,20,23,26-nonaoxo28-fenil-1-axa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclo-octacosan-27-il}-L-leucinamida

[Monotrifluoroacetato de N-[(benciloxi)carbonil]-3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-L-alanil]-des(leucil)lisobactina]



Análogamente a la disposición general de trabajo 3 se hace reaccionar bistrifluoroacetato de des-D-leucillisobactina (Ejemplo 11A, 1,9 mg, 1,3 μ mol) con N-[(benciloxi)carbonil]-3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-L-alanina (2,3 mg, 6,7 μ mol). El producto crudo se cromatografía en gel (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético) y luego se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 14 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (10 μ mol)). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 900 μ g (46% d. t.) de producto.

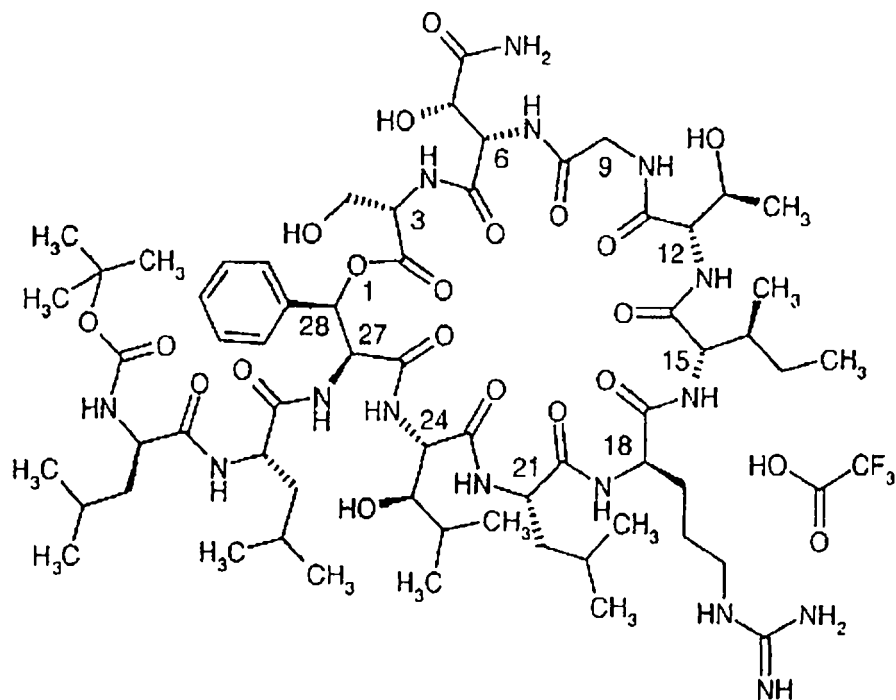
LC-MS (Método 19): R_t = 2,79 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 693 (100) [M-Boc + 2H]²⁺, 1484 (5) [M + H]⁺; MS (ESIneg.): m/z (%) = 628 (100), 1482 (60) [M - H]⁻.

Ejemplo 24A

Monotrifluoroacetato de *N*-(*terc*-butoxicarbonil)-*D*-leucil-*N*'-{(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-amino-1-hidroxi-2-oxo-etil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1*S*)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1*R*)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1*S*)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-27-il}-*L*-leucinamida

{Monotrifluoroacetato de *N*-(*terc*-butoxicarbonil)-lisobactina}



Análogamente a la disposición general de trabajo 3 se hace reaccionar bistrifluoroacetato de des-*D*-leucillisobactina (Ejemplo 11 A, 4,4 mg, 4 μ mol) con hidrato de *N*-(*terc*-butoxicarbonil)-*D*-leucina (16 mg, 64 μ mol). El producto crudo se cromatografía en gel (Método 6; metanol/0,25% de ácido acético) y luego se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 14 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (20 μ mol)). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 1,3 mg (27% d. t.) de producto.

IHPLCIUV-Vis (Método 13): $R_t = 7,07$ min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 12): $R_t = 5,01$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 1377 (100) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1375 (100) $[M - H]^-$.

Aminoácidos y derivados

Ejemplo 25A y Ejemplo 26A

(2*R*)-*N*-(*terc*-butoxicarbonil)-3-(trimetilsilil)alanina

y

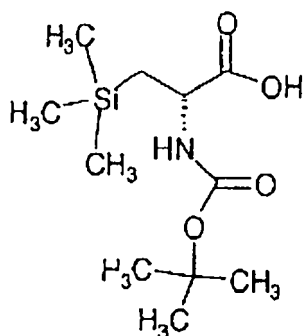
(2*S*)-*N*-(*terc*-butoxicarbonil)-3-(trimetilsilil)alanina

La síntesis se realiza según M. Merget, K. Günter, M. Bernd, E. Günther, R. Tacke, J. Organomet. Chem. 2001, 628, 183-194. La separación de los enantiómeros se realiza por HPLC preparativa en fase quiral:

Gilson Abimed HPLC, detector UV 212 nm, columna: Daicel Chiralpak AD-H 5 μ m; 250 x 20 mm; flujo: 15 ml/min; eluyente A: iso-hexano, eluyente B: 0,2% de ácido acético/1% de agua/2-propanol; isocrático.

Ejemplo 25A

Compuesto 2R

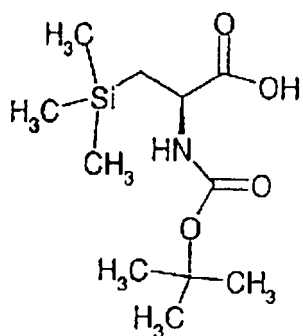


HPLC preparativa: $R_t = 4,16$ min

$[\alpha]_D^{20} = +1,1$ (c = 0,83, metanol)

Ejemplo 26A

Compuesto 2S

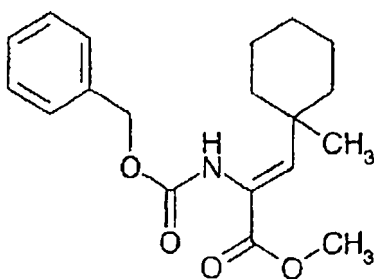


HPLC preparativa: $R_t = 9,27$ min

$[\alpha]_D^{20} = -1,6$ (c = 0,66, metanol)

Ejemplo 27A

Éster metílico del ácido (2Z)-2-[(benciloxi)carbonil]aminol-3-(1-metilciclohexil)acrílico



ES 2 330 221 T3

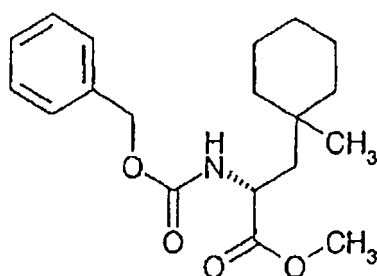
Se disuelve 1-metilciclohexancarbaldehído (2,66 g, 21,08 mmol) y acetato de metil{[(benciloxi)carbonil]-amino}(dimetoxifosforilo) (6,63 g, 20,02 mmol, 0,95 equivalentes) en 75 ml de tetrahidrofurano y se enfría hasta -78°C. A -78°C se añade gota a gota N,N,N,N-tetrametilguanidina (27,92 g, 0,24 mol, 11,5 equivalentes) y luego se agita durante 15 min a -78°C, luego durante 4 días a temperatura ambiente. Luego se agita con acetato de etilo (dos veces 100 ml) y agua, las fases orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de cloruro de sodio y se secan sobre sulfato de sodio. Después de concentrar, se cromatografía el producto crudo (Biotage 40M, ciclohexano/acetato de etilo 6/1, 27,5 ml/min). Se obtienen 0,91 g (13% d. t.) del compuesto del título.

LC-MS (Método 26): $R_t = 2,74$ min,

MS (ESIpos.): m/z (%) = 332,3 (70) $[M + H]^+$.

Ejemplo 28A

Éster metílico del ácido N-[(benciloxi)carbonil]-3-(1-metilciclohexil)-D-alanínico



El compuesto de ejemplo 27A (310 mg, 0,94 mmol) se disuelve en etanol p.a. (60 ml). Con una cánula, se introduce argón durante aproximadamente 5 min, luego se añade triflato de (-)-1,2-bis-[(2R,5R)-dietilfosfolano]bencen(ciclooctadien)rodio (I) (2,7 mg, 4 μ mol, 0,004 equivalentes) y se disuelve en baño de ultrasonido. Se hidrogena durante 3 días a 3 bar de presión de hidrógeno y a temperatura ambiente. La preparación se mezcla con otra porción (2,7 mg, 4 μ mol, 0,004 equivalentes) del catalizador y se hidrogena otro día más a 3 bar de presión de hidrógeno. La adición de catalizador se repite a intervalos de 24 h, hasta completar la reacción. El control de la reacción se realiza a través de LC-MS (Método 35). Luego se filtra por gel de sílice (acetato de etilo) y se concentra el eluato. Rendimiento: 181 mg (58% d. t.) del compuesto del título.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 0,94$ (s, 3H), 1,23-1,55 (m, 11H), 1,78 (dd, 1H), 3,71 (s, 3H), 4,42 (m, 1H), 5,02 (m, 1H), 5,11 (s, 1H), 7,36 (m, 5H).

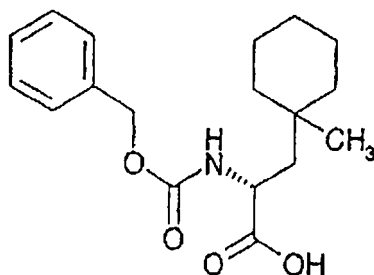
LC-MS (Método 35): $R_t = 2,85$ min,

MS (ESIpos.): m/z (%) = 334 (25) $[M + H]^+$.

MS (DCI): m/z (%) = 351 (100) $[M + \text{NH}_4]^+$

Ejemplo 29A

N-[(benciloxi)carbonil]-3-(1-metilciclohexil)-D-alanina



ES 2 330 221 T3

El compuesto del Ejemplo 28 A (180 mg, 0,54 mmol) se disuelve en THF (3 ml). A 0 °C se añade gota a gota hidróxido de litio (2 M en agua, 0,59 ml, 1,19 mmol, 2,2 equivalentes) y luego se agita durante 4 h a 0 °C. Luego se deja reposar durante la noche a 7 °C. La preparación se mezcla bajo enfriamiento con hielo con ácido trifluoroacético (0,12 ml, 1,62 mmol, 3 equivalentes), se extrae con acetato de etilo y el extracto orgánico se seca sobre sulfato de sodio. El producto crudo se purifica con HPLC preparativa (Método 31). Rendimiento: 135 mg (78% d. t.) del compuesto del título.

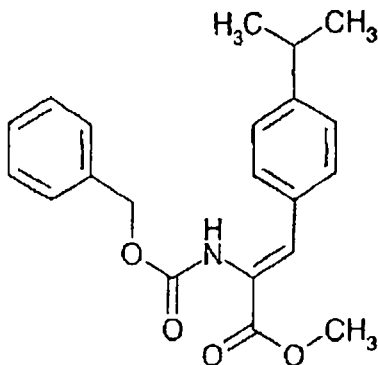
¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = 0,95 (s, 3H), 1,20-1,54 (m, 11 H), 1,90 (m, 1 H), 4,43 (m, 1 H), 5,01 (d, 1H), 5,13 (s, 2H), 7,28-7,40 (m, 5H).

HPLC (Método 18): R_t = 4,8 min.

MS (Método ESI: m/z (%) = 318,1 (4), [M - H]⁻.

Ejemplo 30A

Éster metílico del ácido (2Z)-2-[[[(benciloxi)carbonil]amino]-3-(4-isopropilfenil)acrílico



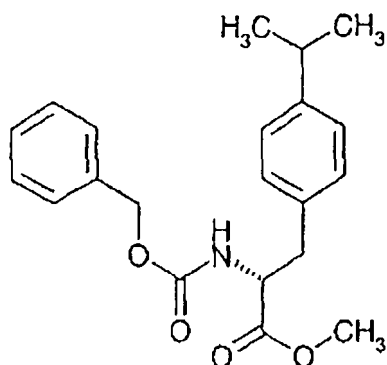
Se disuelven 4-isopropilbenzaldehído (2,00 g, 13,50 mmol) y [[[(benciloxi)carbonil]amino}-(dimetoxifosforil)acetato de metilo (3,58 g, 10,80 mmol, 0,8 equivalentes) en tetrahidrofurano (20 ml) y se enfrían hasta -78 °C. A -78 °C se añade gota a gota N,N,N-tetrametilguanidina (27,92 g, 0,24 mol, 11,5 equivalentes) y luego se agita durante 3 h a -78 °C, luego durante 3 días a temperatura ambiente. Luego se agita con acetato de etilo (dos veces 100 ml) contra agua, las fases orgánicas combinadas se lavan con solución saturada de cloruro de sodio y se seca sobre sulfato de sodio. Después de concentrar, se cromatografía el producto crudo (Biotage 40M, ciclohexano/acetato de etilo 5/1). Se obtienen 3,47 g (73% d. t.) del compuesto del título.

¹H RMN (300 MHz, CDCl₃): δ = (1,25 (d, 6H), 2,90 (sept, 1H), 3,80 (s, 3H), 5,13 (s, 2H), 6,22 (br s, 1H), 7,20 (d, 2H), 7,37 (m, 5H), 7,46 (d, 2H).

HPLC (Método 28): R_t = 5,10 min.

MS (DCI): m/z (%) = 371,1 (100) [M + NH₄]⁺

Ejemplo 31A

Éster metílico de (N-benciloxicarbonil)-4-isopropil-D-fenilalanina

El compuesto del título del Ejemplo 30A (3,47 g, 9,82 mmol) se disuelve en etanol p.a. (60 ml). Con una cánula, se introduce argón durante aproximadamente 10 min, luego se añade triflato de (-)-1,2-bis-((2R,5R)-dietil-fosfolano) bencen(ciclooctadieno)rodio (I) (28 mg, 39 μ mol, 0,004 equivalentes) y se disuelve en baño de ultrasonido. Se hidrogena durante 3 días a 3 bar y a temperatura ambiente. La preparación se mezcla con otra porción (28 mg, 39 μ mol, 0,004 equivalentes) del catalizador y se hidrogena otro día a 3 bar. La adición de catalizador se repite a intervalos de 24 h, hasta completar la reacción. El control de la reacción se realiza por medio de LC-MS (Método 26). Luego se filtra sobre gel de sílice (acetato de etilo) y se concentra el eluato. Rendimiento: 3,27 g (89% d. t.) del compuesto del título.

^1H RMN (300 MHz, CDCl_3): δ = 1,21 (d, 6H), 2,87 (sept, 1H), 3,08 (d, 1H), 3,68 (s, 3H), 4,63 (m, 1H), 5,10 (s, 2H), 5,20 (m, 1H), 7,01 (d, 2H), 7,13 (d, 2H), 7,42 (m, 5H).

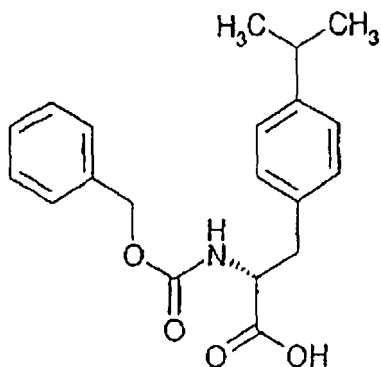
HPLC (Método 36): R_t = 3,88 min.

LC-MS (Método 26): R_t = 2,84 min,

MS (ESIpos.): m/z (%) = 356 (15) $[\text{M} + \text{H}]^+$

MS (DCI): m/z (%) = 373 (100) $[\text{M} + \text{NH}_4]^+$

Ejemplo 32A

(N-benciloxicarbonil)-4-isopropil-D-fenilalanina

El compuesto del Ejemplo 31A (240 mg, 0,68 mmol) se disuelve en tetrahidrofurano (3 ml). A 0°C se añade gota a gota hidróxido de litio (2 M en agua, 0,74 ml, 1,49 mmol, 2,2 equivalentes) y luego se agita durante 1 h a 0°C. La preparación se mezcla bajo enfriamiento con hielo con ácido trifluoroacético (0,16 ml, 2,03 mmol, 3 equivalentes), se extrae con acetato de etilo y el extracto orgánico se seca sobre sulfato de sodio. El producto crudo se purifica con HPLC preparativa (Método 31). Rendimiento: 86% d. t.

ES 2 330 221 T3

^1H RMN (200 MHz, CDCl_3): δ = 1,22 (d, 6H), 2,87 (sept, 1H), 3,13(m, 2H), 4,69 (m, 1H), 5,10 (s, 2H), 5,18(s, 1H), 7,05 (d, 2H), 7,15 (d, 2H), 7,36 (m, 5H).

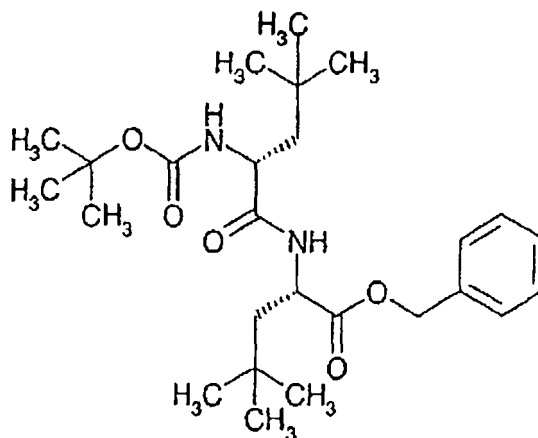
HPLC (Método 36): R_t = 3,64 min.

MS (DCI): m/z (%) = 359,1 (100) $[\text{M} + \text{NH}_4]$.

Ésteres dipeptídicos

Ejemplo 33A

Éster bencílico de N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alanil-3-terc-butil-L-alanina



De acuerdo con la disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) se hacen reaccionar N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alanina (3,28 g, 13,4 μmol) y clorhidrato de 3-terc-butil-L-alaninato de bencilo (4,0 g, 14,7 μmol ; J. X. He, W. L. Cody, A. M. Doherty, J. Org. Chem. 1995, 60, 8262-8266). Después del procesamiento acuoso, se obtienen 6,0 g de producto (97% d. t.). El producto se puede purificar por medio de HPLC preparativa (Método 16).

^1H RMN (400 MHz, d_6 -DMSO): δ = 0,85 (s, 9H, tBu), 0,86 (s, 9H, tBu), 1,31 (s, 9H, OtBu), 1,35 (m, 2H, β - CH_2), 1,55 (m, 2H, (3- CH_2), 3,98 (m, 1 H, α -CH), 4,22 (m, 1 H, α -CH), 5,04 (d, J = 1,8 Hz, 2H, CH_2Ph), 6,72 (d, J = 9,2Hz, 1H, NH), 7,25-7,35 (m, 5H, Ph), 7,94 (d, J = 7,8 Hz, 1H, NH).

$[\alpha]^{20}_{\text{Na}} = + 17^\circ$ (c = 0,1 en cloruro de metileno).

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 9,6 min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 250-275 (w).

LC-MS (Método 26): R_t = 3,09 min;

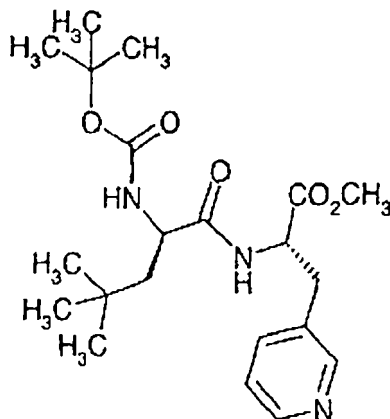
MS (ESIpos.): m/z (%) = 363 (30) $[\text{M} - \text{Boc} + \text{H}]^+$, 463 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$, 926 (50) $[2\text{M} + \text{H}]^+$.

HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{26}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_5$ calc. 463,3172, exp. 463,3185 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

ES 2 330 221 T3

Ejemplo 34A

Éster metílico de N-(terc-butoxicarbonil)-3-(terc-butil)-D-alanil-3-(3-piridil)-L-alanina



A una solución de N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alanina (1,0 equivalente, 1,2 mmol) y éster metílico de 3-(3-piridil)-L-alanina (1,0 equivalente, 1,2 mmol) en diclorometano seco (3 ml) se añaden a -30°C lentamente N-metilmorfolina (5 equivalentes, 6,0 mmol), EDC (2,5 equivalentes, 3,0 mmol) y HOBt (2,5 equivalentes, 3,0 mmol). La mezcla de reacción se calienta lentamente (aproximadamente 12 h) a temperatura ambiente, donde se observa una reacción completa por medio de HPLC (Método 36). Para elaborar, la mezcla de reacción se diluye con diclorometano (20 ml) y se lava con solución saturada de hidrógeno-carbonato de sodio (10 ml). La fase orgánica se seca por medio de sulfato de magnesio, se filtra y se concentra. El producto crudo se purifica por medio de cromatografía flash (gel de sílice, gradiente de diclorometano 100% a diclorometano/metanol: 4/1), obteniendo 466 mg (96% d. t.) de producto.

¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO): δ = 0,78 (s, 9H, tBu), 1,17(m, 2H, β-CH₂), 1,36 (s, 9H, OtBu), 3,00 (m, 2H, β-CH₂), 3,64 (s, 3H, OMe), 3,98 (m, 1H, α-CH), 4,49 (m, 1H, α-CH), 6,80 (d, J = 7,0 Hz, 1H, NH), 7,26 (dd, J = 4,0, 6,5 Hz, 1 H, PyrH), 7,63 (d, J = 6,5 Hz, 1 H, PyrH), 8,27 (d, J = 6,5 Hz, 1 H, NH), 8,40 (d, J = 4,0 Hz, 1 H, PyrH), 8,42 (s, 1 H, PyrH).

[α]²⁰_{Na} = +5° (c = 0,19 en metanol).

HPLC/UV-Vis (Método 28): R_t = 4,0 min.

HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,80 min.

¹³C RMN (500 MHz, d₆-DMSO): δ = 172,9, 171,6, 154,7, 150,2, 147,7, 136,6, 132,6, 123,1, 77,8, 52,6, 51,9, 51,4, 44,9, 33,6, 30,0, 29,2, 28,1.

LC-MS (Método 26): R_t = 1,75 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 308 (60), 352 (100), 408 (100) [M + H]⁺;

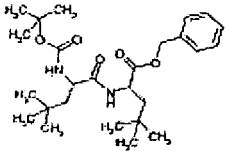
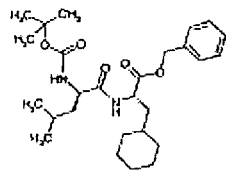
MS (ESIneg.): m/z (%) = 332 (100), 406 (5) [M - H]⁻.

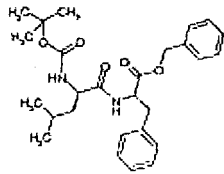
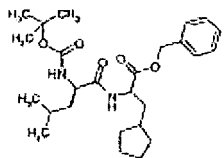
HR-TOF-MS (Método 21): C₂₁H₃₄N₃O₅ [M + H]⁺ calc. 408,2498, exp. 408,2458.

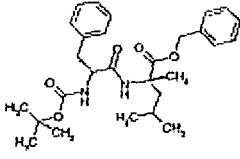
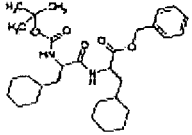
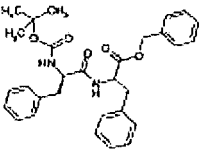
ES 2 330 221 T3

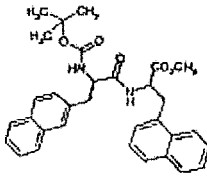
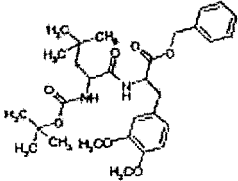
TABLA 1

Ésteres dipeptídicos

N.º de ejemplo	Estructura Nombre	Datos analíticos Método de preparación
35A	 éster bencílico de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-L-alanil-3-terc-butil-L-alanina	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -44^\circ$ (c = 0,1 en cloruro de metileno). HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 9,5$ min. ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO): $\delta = 0,81$ (s, 9H, tBu), $0,83$ (s, 9H, tBu), $1,31$ (s, 9H, OtBu), $1,36$ (m, 2H, β-CH₂), $1,57$ (m, 2H, β-CH₂), $3,99$ (m, 1H, α-CH), $4,22$ (m, 1H, α-CH), $5,04$ (d, J = 1,8 Hz, 2H, CH₂Ph), $6,72$ (d, J = 9,2 Hz, 1H, NH), $7,29$ (m, 5H, Ph), $7,95$ (d, J = 7,8 Hz, 1 H, NH). HR-TOF-MS (Método 21): C₂₆H₄₃N₂O₅ [M + H]⁺ calc. 463,3172, exp. 463,3196. Disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) a partir de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-L-alanina (0,8 mmol) y clorhidrato de éster bencílico de de 3-terc-butil-L-alanina. Rendimiento: 95% d. t.
36A	 éster bencílico de N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-3-	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +16$ (c = 0,1 en cloruro de metileno). HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 9,9$ min. HR-TOF-MS (Método 21): C₂₇H₄₃N₂O₅ [M + H]⁺ calc. 475,3172, exp. 475,31 62.

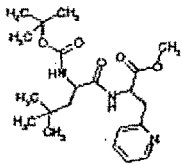
5	ciclohexil-L-alanina	Disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) a partir de
10		terc-butoxicarbonil-D-leucina (0,97 mmol) y clorhidrato de éster
15	37A	bencílico de 3-ciclohexil-L-alanina Rendimiento: 90% d. t.
20		HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 9,07$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,94$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 369 (50) [M- Boc + H] ⁺ , 469 (100) [M + H] ⁺ .
25	éster bencílico de N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-L-fenilalanina	Disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) a partir de N-
30		terc-butoxicarbonil-D-leucina (3,12 mmol) y clorhidrato de éster
35		bencílico de L-fenilalanina (3,43 mmol). Rendimiento: 98% d. t.
40	38A	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 9,47$ min. HPLC/UV-Vis (Método 28): $R_t = 5,3$ min
45		LC-MS (Método 29): $R_t = 7,1$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 361 (80) [M- Boc + H] ⁺ , 461 (100) [M + H] ⁺ .
50	éster bencílico de N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-3-ciclopentil-L-alanina	Disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) a partir de N-
55		terc-butoxicarbonil-D-leucina (0,34 mmol) y clorhidrato de éster
60		bencílico de 3-ciclopentil-L-alanina (0,37 mmol). Rendimiento: 94% d. t.
65		

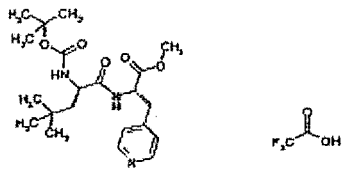
39A	 éster bencílico de N-terc-butoxicarbonil-D-fenilalanil-2-metil-L-leucina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 9,48$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 3,09$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 383 (100) $[M - \text{Boc} + \text{H}]^+$, 483 (90) $[M + \text{H}]^+$. Disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) a partir de N-terc-butoxicarbonil-D-fenilalanina (0,17 mmol) y clorhidrato de éster bencílico de 2-metil-L-leucina. Rendimiento: 81% d. t.
40A	 éster bencílico de N-terc-butoxicarbonil-3-ciclohexil-D-alanil-3-ciclohexil-L-alanina	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +13^\circ$ (c = 0,5 en cloruro de metileno). HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{30}\text{H}_{47}\text{N}_2\text{O}_5$ $[M + \text{H}]^+$ calc. 515,3485, exp. 515,3494. Disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) a partir de N-terc-butoxicarbonil-3-ciclohexil-D-alanina (1,22 mmol) y clorhidrato de éster bencílico de 3-ciclohexil-L-alanina (1,34 mmol). Rendimiento: 85% d. t. (ee >99%)
41 A	 éster bencílico de N-terc-butoxicarbonil-D-fenilalanil-L-fenilalanina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 9,16$ min. HPLC/UV-Vis (Método 18): $R_t = 5,1$ min. HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{30}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_5$ $[M + \text{H}]^+$ calc. 503,2546, exp. 503,2566. Disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) a partir de N

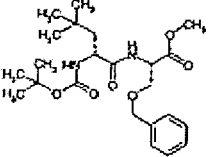
		terc-butoxicarbonil-D-fenilalanina (3,77 mmol) y clorhidrato de éster bencílico de L-fenilalanina (4,15 mmol). Rendimiento: 96% d. t.
42A	 éster metílico de N-terc-butoxicarbonil-3-(2-naftil)-D-alanil-3-(1-naftil)-L-alanina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 9,24$ min. HPLC/UV-Vis (Método 28): $R_t = 5,3$ min; $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 222 nm (s), 282 (m). LC-MS (Método 22): $R_t = 2,78$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 427 (80) [M - Boc + H]⁺, 527 (100) [M + H]⁺. HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{32}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_5$ [M + H]⁺ calc. 527,2546, exp. 527,2552. Disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) a partir de N-terc-butoxicarbonil-3-(2-naftil)-D-alanina (0,75 mmol) y clorhidrato de L-éster bencílico de 3-(1-naftilo). Rendimiento: 92% d. t.
43A	 éster bencílico de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-3-(3,4-dimetoxifenil)-L-alanina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 8,89$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,87$ min; (ESIpos.): m/z (%) = 443 (80) [M - Boc + H]⁺, 543 (100) [M + H]⁺. HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{30}\text{H}_{43}\text{N}_2\text{O}_7$ [M + H]⁺ calc. 543,3070, exp. 5473,3066. Disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) a partir de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-

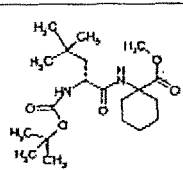
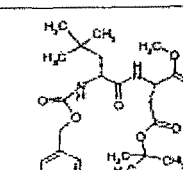
5		alanina (6,35 mmol) y clorhidrato de éster bencílico de 3-(3,4 dimetoxifenil)-L-alanina. Rendimiento: 77% d. t.
10	44A	éster bencílico de N-terc-butoxicarbonil-4-fenil-D-fenilalanil-4-fenil-L-fenilalanina [α]_{Na}²⁰ = +16,7 (c = 0,6 en cloruro de metileno). HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 10,31 min. HPLC/UV-Vis (Método 18): R_t = 5,7 min. HR-TOF-MS (Método 21): C₄₂H₄₂N₂O₅Na [M + Na]⁺ calc. 677,2991, exp. 677,3014. Disposición general de trabajo 6 (aquí 5 equivalentes de N-metilmorfolina) a partir de N-terc-butoxicarbonil-4-fenil-D-fenilalanina (0,62 mmol) y clorhidrato de éster bencílico de 4-fenil-L-fenilalanina (0,68 mmol). Rendimiento: cuant.
40	45A	éster metílico de ácido N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-(1-amino-4-metoxi-ciclohexilcarboxílico) Diastereómero 1: LC-MS (Método 26): R_t = 2,39 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 315 (100) [M - Boc + H]⁺, 415 (90) [M + H]⁺. Diastereómero 2: LC-MS (Método 26): R_t = 2,44 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 315 (100) [M - Boc + H]⁺, 415 (70) [M + H]⁺. Disposición general de trabajo 6 a partir de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanina (2,04 mmol) y éster metílico de ácido 1-amino-4-metoxi-ciclohexilcarboxílico (2,24

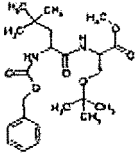
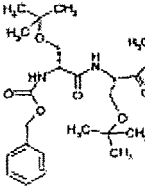
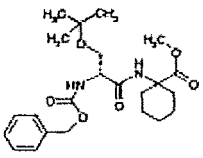
		mmol). Rendimiento: 8% d. t. (mezcla diastereomérica).
5	46A	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 8,74$ min.
10		HPLC/UV-Vis (Método 18): $R_t = 5,13$ min.
15	Éster metílico del ácido N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-(1-amino-4-(trifluorometil)ciclohexilcarboxílico)	LC-MS (Método 26): $R_t = 2,76$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 353 (50)
20		$[M - \text{Boc} + \text{H}]^+$, 397 (60), 453 (100) $[M + \text{H}]^+$.
25		HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{21}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_5\text{F}_3$ $[M + \text{H}]^+$ calc. 453,2576, exp. 453,2581.
30		Disposición general de trabajo 6 a partir de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanina (2,04 mmol) y éster metílico del ácido 1-amino-4-
35		(trifluorometil)ciclohexilcarboxílico (2,24 mmol).
40		Rendimiento: 63% d. t. (mezcla diastereomérica).
45	47A	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 8,03$ min.
50		LC-MS (Método 37): $R_t = 2,52$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 338 (20) $[M - \text{Boc} + \text{H}]^+$, 379 (30), 382 (100), 438 (30) $[M + \text{H}]^+$.
55	éster metílico de N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-4-nitro-L-fenilalanina	Disposición general de trabajo 6 (aquí 2,5 equivalentes trietilamina como base) a partir de N-terc-butoxicarbonil-D-leucina (4,40 mmol) y clorhidrato de éster metílico de 4-nitro-L-fenilalanina (4,0 mmol).
60		
65		

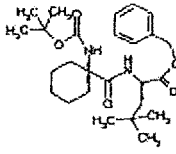
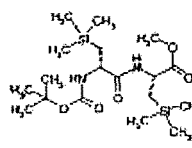
		Rendimiento: 95% d. t.
5	48A	HPLC/UV-Vis (Método 28): $R_t = 4,1$ min.
10		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,82$ min.
15	éster metílico de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-3-(2-piridil)-L-alanina	LC-MS (Método 26): $R_t = 2,07$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 352 (100), 408 (95) $[M+H]^+$; MS (ESIneg.): m/z (%) = 332 (100), 406 (5) $[MH]^-$.
20		IR $\nu_{\max}$ (NaCl, cm^{-1}): 3414, 1639, 1617, 1542, 1438, 1385, 1175, 620.
25		^1H RMN (400 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 0,93$ (s, 9H, tBu), 1,31–1,36 (m, 1H, β -CH), 1,41 (s, 9H, OtBu), 1,88 (m, 1 H, β -CH), 3,31 (m, 2H, β -CH ₂), 3,68 (s, 3H, OMe), 4,18 (m, 1 H, α -CH), 4,79 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 4,92 (m, 1H, α -CH), 7,12–7,16 (m, 2H), 7,60 (dt, $J = 2,0, 8,0$ Hz, 1 H), 7,76 (d, $J = 6,5$ Hz, 1 H), 8,50 (d, $J = 4,0$ Hz, 1 H, NH).
30		^{13}C RMN (500 MHz, CDCl_3): = 172,7, 171,8, 157,1, 155,2, 149,1, 136,7, 123,8, 121,9, 79,9, 52,4, 52,3, 51,6, 46,0, 38,3, 30,4, 29,6, 28,3.
35		HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_5$ $[M + H]^+$ calc. 408,2498, exp. 408,2494.
40		A partir de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanina (2,0 mmol) y diclorhidrato de éster metílico de 2-piridil-L-alanina (2,0 mmol).
45		
50		
55		
60		
65		

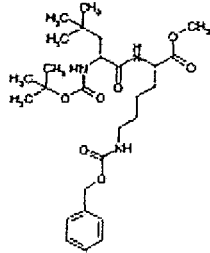
		Rendimiento: 41% d. t.
5	49A	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = -18$ (c = 0,28 en MeOH).
		HPLC/UV-Vis (Método 28): $R_t = 4,0$ min.
10		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,80$ min.
15	Trifluoroacetato del éster metílico de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-3-(4-piridil)-L-alanina-	LC-MS (Método 26): $R_t = 1,61$ min;
20		MS (ESIpos.): m/z (%) = 352 (100), 408 (20) $[M+H]^+$;
		MS (ESIneg.): m/z (%) = 332 (100), 406 (20) $[MH]^-$.
25		IR $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl, cm^{-1}) 3414, 2959, 1680, 1509, 1203.
30		^1H RMN (500 MHz, d_6 -DMSO): $\delta = 0,77$ (s, 9H, tBu), 1,19–1,36 (m, 1H, β -CH),
35		1,36 (s, 9H, OtBu), 3,18 (m, 1 H, 3-CH), 3,36 (m, 2H, 3-CH), 3,66 (s, 3H, OMe),
40		3,88 (m, 1 H, α -CH), 4,70 (m, 1 H, α -CH), 6,85 (d, J = 8,5, 1 H), 7,83 (d, J = 6,0
45		Hz, 2H), 8,36 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,76 (m, 2H).
50		^{13}C RMN (500 MHz, d_6 -DMSO): = 173,1, 171,1,
55		158,4, 158,1, 154,9, 142,7, 127,4, 78,0, 52,2, 51,6,
60		44,8, 36,1, 30,7, 30,1, 29,4, 29,0, 28,2.
65		HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{O}_5$ $[M + H]^+$ calc. 408,2498, exp. 408,2525.
		A partir de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanina (1,26 mmol) y

		diclorhidrato de éster metílico de 4-piridil-L-alanina (1,26 mmol). Rendimiento: 75% d. t.
50A	 éster metílico de N-(ter-butoxicarbonil)-3-ter-butil-D-alanil-O-bencil-L-serina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 5,01$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,73$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 437,3 (50) [M + H]⁺. ¹H RMN (300 MHz, d_6-DMSO): $\delta = 0,89$ (s, 9H), 1,38 (s, 9H), 1,42–1,60 (m, 2 H), 3,60 (dd, 1 H), 3,61 (s, 3H), 3,75 (dd, 1 H), 4,07 (m, 1 H), 4,46–4,51 (m, 3H), 6,96 (d, 1 H), 7,25–7,40 (m, 5H), 7,95 (d, 1 H). Disposición general de trabajo 14 a partir de éster bencilico de O-bencil-L-serina y N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alanina. Tamaño de la preparación: 0,96 mmol. Rendimiento: 64% d t.

51 A	 1-[(N-(tert-butoxycarbonyl)-3-tert-butyl-D-alanyl)amino]ciclohexancarboxilato de metilo	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,99$ min. ^1H RMN (300 MHz, dfi DMSO): $\delta = 0,89$ (s, 9H), 1,39 (s, 9H), 1,40–2,00 (m, 12 H), 3,52 (s, 3H), 4,00 (m, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,57 (s, 1H). MS (DCI): m/z (%) = 402,2 [M + NH_4]$^+$. Disposición general de trabajo 15 a partir de metilaminociclohexancarboxilato y N-(tert-butoxycarbonyl)-3-tert-butyl-D-alanina. Tamaño de la preparación: 1,29 mmol. Rendimiento: 61 % d. t.
52A	 (2S)-2-[(2-[(benciloxi)carbonil]amino)-3-tert-butyl-D-alanyl]amino-4-tert-butoxi-4-oxobutanoato de metilo	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,94$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,69$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 465,3 (70) [M + H]$^+$. ^1H RMN (400 MHz, ds-DMSO): $\delta = 0,89$ (s, 9H), 1,38 (s, 9H), 1,50 (m, 2H), 2,58 (dd, 2H), 2,68 (dd, 2H), 3,61 (s, 3H), 4,10 (m, 1 H), 4,58 (m, 1 H), 5,00 (d, 1H), 5,06 (d, 1H), 7,25–7,38 (m, 5H), 7,42 (d, 1H), 8,27 (d, 1H). Disposición general de trabajo 14 a partir de L-aspartato de O⁴-tert-butyl O¹-metil y N-[(bencil)carbonil]-3-tert-butyl-D-alanina. Tamaño de la preparación: 1,3 mmol.

		Rendimiento: 69% d. t.
5	53A	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,84$ min.
10		LC-MS (Método 26): $R = 2,70$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 437,3 (70)
15	éster metílico de N- [(benciloxi)carbonyl]-3-terc-butil- D-alanil-O-(terc-butil)-L- serina	$[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 15, sin HPLC, el producto crudo se sigue haciendo reaccionar a partir de O-(terc-butil)-L-serinato de metilo y N-[(benciloxi)carbonyl] 3-terc-butil-D-alanina. Tamaño de la preparación: 0,43 mmol. Rendimiento: 24% d. t.
30	54A	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,89$ min.
35		Disposición general de trabajo 14 a partir de O-(terc-butil)-L-serinato de metilo y N-[(benciloxi)carbonyl]- O-(terc-butil)-D-serina. Tamaño de la preparación: 2,85 mmol. Rendimiento: 32% d. t.
40	éster metílico de N- [(benciloxi)carbonyl]-O-(terc- butil)-D-seril-O-(terc-butil)-L- serina	
45	55A	HPLC (Método 36): $R_t = 4,92$ min.
50		LC-MS (Método 26): $R_t = 2,87$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 435,4 (100) $[M + H]^+$.
55	1-{ [N [(benciloxi)carbonyl]-O- (terc-butil)-D-seril]amino} Ciclohexancarboxilato de metilo	^1H RMN (300 MHz, dfi DMSO): 5 = 1,10 (s, 9H), 1,39-1,68 (m, 8H), 1,89 (d, 1H), 2,00 (d, 1H), 3,39-3,49 (m, 2H), 3,55 (s, 3H), 4,19 (m, 1H), 5,01 (d, 1H), 5,05 (d, 1 H), 7,08 (d, 1 H), 7,30-7,38 (m, 5H), 7,71 (s, 1 H).
60		Disposición general de trabajo 14 a partir de aminociclohexancarboxilato

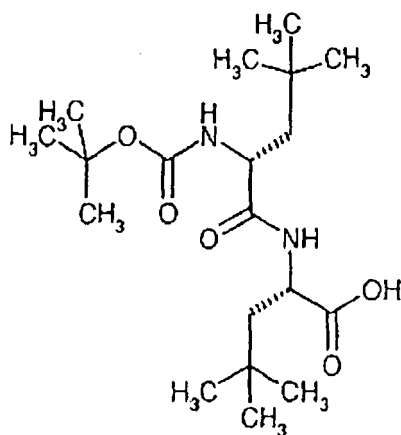
		de metilo y N-[(benciloxi)-carbonil]-O-(terc- butil)-D-serina. Tamaño de la preparación: 2,03 mmol. Rendimiento: 86% d. t.
56A	 bencil-N-({ 1-[(terc-butoxi- carbonil)-amino]ciclohexil carbonil)-4-metil-L- leucinato de bencilo	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 5,39 min. LC-MS (Método 26): $R_t = 3,05$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 461,4 (80) [M + H]⁺. Disposición general de trabajo 16 a partir de ácido 1-[(terc- butoxicarbonil)amino] ciclohexancarboxílico y bencil-L- leucinato. En lugar de cromatografía flash RP-HPLC en fase C₁₈ se lava con acetato de etilo contra hidrógeno-carbonato de sodio y luego 5% de ácido cítrico, se seca y se concentra). Tamaño de la preparación: 0,82 mmol. Rendimiento: 90% d. t.
57A	 N-(terc-butoxicarbonil)-3- (trimetilsilil)-D-alanil-3- (trimetilsilil)-L- Alaninato de metilo	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 5,33 min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,82$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 419 (100) [M + H]⁺. Disposición general de trabajo 14 a partir de 25A y éster metílico de 3- tri-metilsilil)-L-alanina. Tamaño de la preparación: 1,63 mmol. Rendimiento: 35% d. t.

58A	 éster metílico de N-(terc-butoxicarbonil)- 3-terc-butil-D-alanil-N⁶-[(benciloxi)-carbonil]-L-lisina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,86$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,49$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 522 (20) $[M + H]^+$. ^1H RMN (300 MHz, d_6-DMSO): $\delta = 0,89$ (s, 9H), 1,20–1,35 (m, 2H), 1,40–2,77 (m, 4H), 2,95 (dd, 2H), 3,60 (s, 3H), 4,06 (m, 1H), 4,18 (m, 1H), 5,00 (s, 2H), 6,79 (d, 1 H), 7,18 (m, 1 H), 7,29–7,40 (m, 5H), 7,96 (d, 1 H). Disposición general de trabajo 16 a partir de éster metílico de N⁶-[(benciloxi)carbonil]-L-lisina y N-(terc-butoxicarbonil)- 3-terc-butil-D-alanina. Tamaño de la preparación: 0,99 mmol. Rendimiento: 61% d. t.
-----	---	--

Ácidos dipeptídicos

Ejemplo 59A

N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alanil-terc-butil-L-alanina



Se hace reaccionar éster bencilico de N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alanil-3-terc-butil-L-alanina (Ejemplo 33A, 285 mg, 0,62 mmol) de acuerdo con la disposición general de trabajo 8. Se obtienen 225 mg (98% d. t.) de producto.

ES 2 330 221 T3

^1H RMN (400 MHz, d_6 -DMSO): δ = 0,83 (s, br, 18H, tBu), 1,31 (s, 9H, OtBu), 1,40 (d, J = 6,1 Hz, 2H, β -CH₂), 1,48 (dd, J = 14,1, 9,4 Hz, 1H, 3-CH), 1,59 (dd, J = 14,1, 2,7 Hz, 1H, β -CH), 3,98 (m, 1H, α -CH), 4,12 (m, 1H, α -CH), 6,73 (d, J = 9,1 Hz, 1H, NH), 7,72 (d, J = 7,9 Hz, 1H, NH), 12,42 (s, br, 1H, CO₂H).

^{13}C RMN (125 MHz, d_6 -DMSO): = 28,49 (3C), 29,66 (3C), 29,78 (3C), 30,52, 30,58, 44,63 (β -CH₂), 45,24 (β -CH₂), 49,67 (α -CH), 52,40 (α -CH), 78,29, 155,05, 172,97, 174,61.

$[\alpha]^{20}_{\text{Na}} = +25^\circ$ (c = 0,1 en cloroformo).

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 7,95 min.

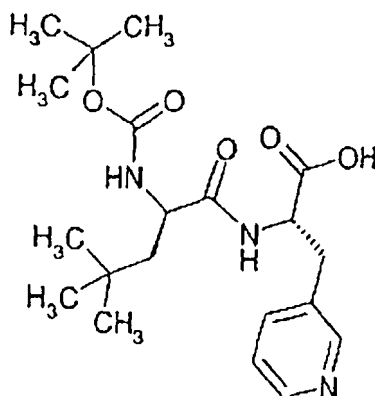
LC-MS (Método 22): R_t = 2,26 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 373 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$.

HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{19}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_5$ calc. 373,2702, exp. 373,2717 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

Ejemplo 60A

N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-3-(3-piridil)-L-alanina



A una solución 34A (1,0 equivalentes, 12,8 mmol) en tetrahidrofurano (104 ml) y agua (6,2 ml) se añade a -20°C una solución de hidrato de hidróxido de litio (2,5 equivalentes, 31,9 mmol) en agua (1,2 ml). La mezcla de reacción se calienta (aproximadamente 1,5 h) a $+15^\circ\text{C}$, en donde se observa una conversión completa por medio de HPLC/UV-Vis (Método 36). Para la elaboración, se añade hidrogenofosfato de potasio (10 equivalentes, 127 mmol) (pH 7). La mezcla de reacción se filtra y se concentra al vacío. El producto crudo (5,5 g) se purifica por cromatografía en gel (Método 6, eluyente metanol/acetona 4/1), donde se obtienen 3,7 g (70% d. t.) de producto.

$[\alpha]^{20}_{\text{Na}} = +39,3^\circ$ (c = 0,33 en metanol).

HPLC/UV-Vis (Método 28): R_t = 3,8 min.

HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,64 min.

LC-MS (Método 26): R_t = 1,59 min;

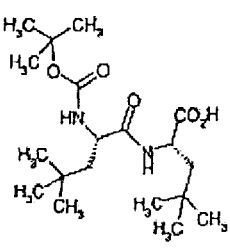
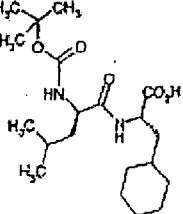
MS (ESIpos.): m/z (%) = 338 (100), 394 (40) $[\text{M} + \text{H}]^+$;

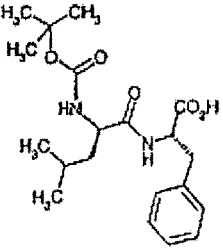
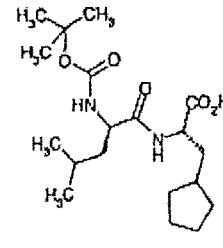
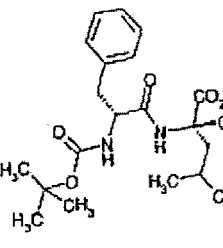
MS (ESIneg.): m/z (%) = 318 (60), 392 (100) $[\text{M} - \text{H}]^-$.

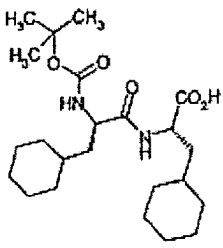
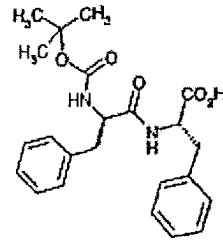
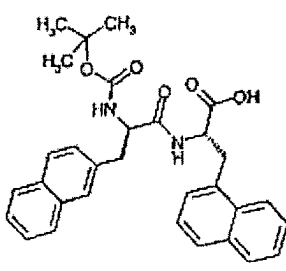
HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ calc. 394,2342, exp. 394,2322.

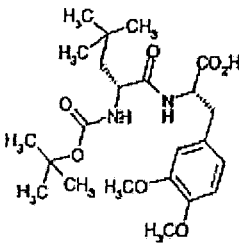
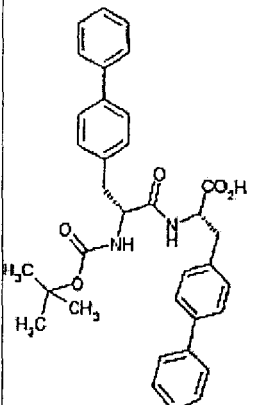
TABLA 2

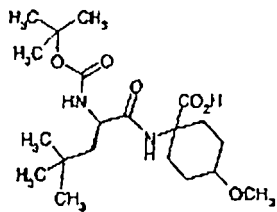
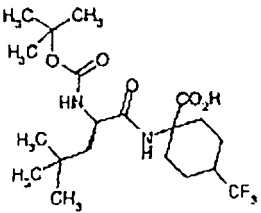
Ácidos dipeptídicos N-protectados

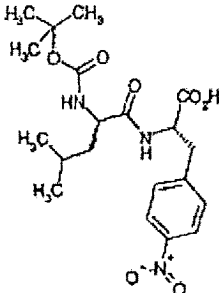
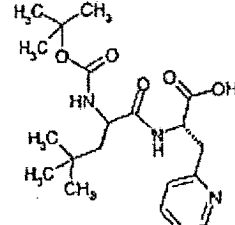
N.º de ejemplo	Estructura Nombre	Datos analíticos Método de preparación
61 A	 N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-L-alanil-3-terc-butil-L-alanina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,8$ min. ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO, TMS): $\delta = 0,88$ (s, br, 18H, tBu), 1,36 (s, 9H, OtBu), 1,41 (dd, $J = 13,9$, 9,2 Hz, 1H, 3-CH), 1,49 (dd, $J = 13,9$, 3,2 Hz, 1H, β-CH'), 1,54 (dd, $J = 13,9$, 9,1 Hz, 1H, β-CH''), 1,65 (dd, $J = 14,1$, 2,5 Hz, 1H, β-CH'''), 4,02 (m, 1H, α-CH), 4,25 (m, 1H, α-CH), 6,87 (d, $J = 8,9$ Hz, 1H, NH), 7,85 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H, NH), 12,48 (s, br, 1H, CO_2H). HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{19}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ calc. 373,2702, exp. 373,2680. Disposición general de trabajo 8 a partir del Ejemplo 35A (0,6 mmol). Rendimiento: 98% d. t.
62A	 N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-3-ciclohexil-L-alanina	BPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 8,2$ min. HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ calc. 385,2702, exp. 385,2693. Disposición general de trabajo 8 a partir del Ejemplo 36A (0,65 mmol). Rendimiento: 99% d. t.

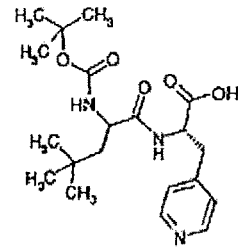
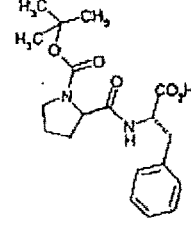
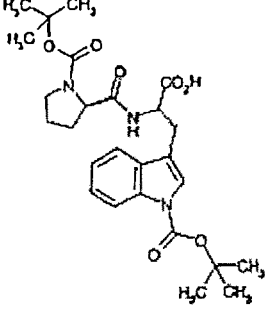
63A	 N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-L- fenilalanina	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +43^{\circ}$ (c = 0,1 en cloruro de metileno). HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,52$ min. LC-MS (Método 22): $R_t = 2,12$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 279 (100) $[M - \text{Boc} + \text{H}]^+$, 379 (60) $[M + \text{H}]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{20}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_5$ $[M + \text{H}]^+$ calc. 379,2233, exp. 379,2227. Disposición general de trabajo 8 a partir del Ejemplo 37A (1,49 mmol). Rendimiento: 94% d. t.
64A	 N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-3- cilopentil-L- alanina	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +3^{\circ}$ (c = 0,1 en cloruro de metileno). HPLC (UV-Vis (Método 28): $R_t = 4,7$ min. HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{19}\text{H}_{35}\text{N}_2\text{O}_5$ $[M + \text{H}]^+$ calc. 371,2546, exp. 371,2537. Disposición general de trabajo 8 a partir del Ejemplo 38A (0,24 mmol). Rendimiento: 86% d. t.
65 ^a	 N-terc-butoxicarbonil-D-fenilalanil- 2-metil-L-leucina	HPLC/UV-Vis (Método 18): $R_t = 4,6$ min HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{N}_2\text{O}_5$ $[M + \text{H}]^+$ calc. 393,2389, exp. 393,2370. Disposición general de trabajo 8 a partir del Ejemplo 39A (0,11 mmol). Rendimiento: 95% d. t.

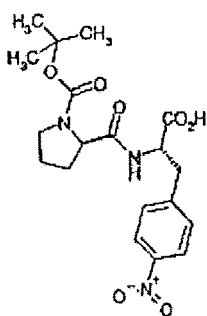
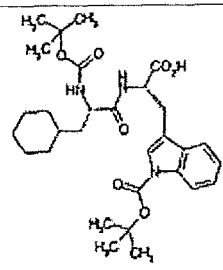
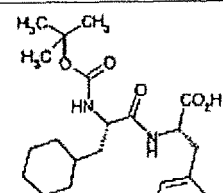
66A	 N-terc-butoxicarbonil-3-ciclohexil-D-alanil-3-ciclohexil-L-alanina	HPLC/UV-Vis (Método 18): $R_t = 5,1$ min. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{23}H_{41}N_2O_5$ $[M + H]^+$ calc. 425,3015, exp. 425,3018. Disposición general de trabajo 8 a partir del Ejemplo 40A (0,96 mmol). Rendimiento: 88% d. t.
67A	 N-terc-butoxicarbonil)-D-fenilalanil-L-fenilalanina	$[\alpha]^{20}_{Na} = +33^\circ$ ($c = 0,6$ en cloruro de metileno). HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 6,64$ min. HPLC/UV-Vis (Método 28): $R_t = 4,4$ min. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{23}H_{29}N_2O_5$ $[M + H]^+$ calc. 413,2076, exp. 413,2082. Disposición general de trabajo 8 a partir del Ejemplo 41A (1,12 mmol). Rendimiento: 98% d. t.
68A	 N-terc-butoxicarbonil-3-(2-naftil)-D-alanil-3-(1-nafti)-L-alanina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 8,66$ min. HPLC/UV-Vis (Método 28): $R_t = 5,0$ min. LC-MS (Método 29): $R_t = 6,6$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 413 (100) $[M - Boc + H]^+$, 513 (80) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{31}H_{33}N_2O_5$ $[M + H]^+$ calc. 513,2389, exp. 513,2388. Disposición general de trabajo 7 a partir del Ejemplo 42A (0,49

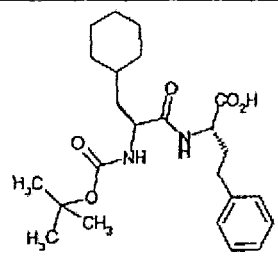
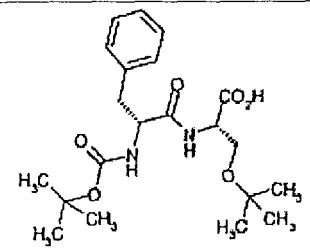
		mmol).
		Rendimiento: 67% d. t.
5	69A	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +31,6^\circ$ (c = 0,6 en cloruro de metileno).
10		HPLC/UV-Vis (Método 18): $R_t = 4,3$ min.
15		HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,7$ min.
20	N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-3-(3,4-dimetoxifenil)-L-alanina	HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{23}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_7$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ calc. 453,2601, exp. 453,2576.
25		Disposición general de trabajo 8 a partir del Ejemplo 43A (0,46 mmol).
30		Rendimiento: cuant.
30	70A	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +31^\circ$ (c = 0,1 en metanol).
35		HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 9,15$ min.
40		HPLC/UV-Vis (Método 28): $R_t = 5,30$ min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 202 nm (s), 254 (m).
45		LC-MS (Método 22): $R_t = 2,80$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 465 (100) $[\text{M} - \text{Boc} + \text{H}]^+$ 509 (50), 565 (90) $[\text{M} + \text{H}]^+$, 1129 (30).
50	N-terc-butoxicarbonil-4-fenil-D-fenilalanil-4-fenil-L-fenilalanina	HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{35}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ calc. 565,2702, exp. 565,2686.
55		Disposición general de trabajo 8 a partir del Ejemplo 44A (0,53 mmol).
60		Rendimiento: 84% d. t.

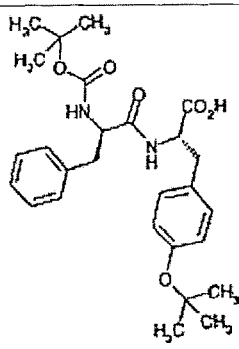
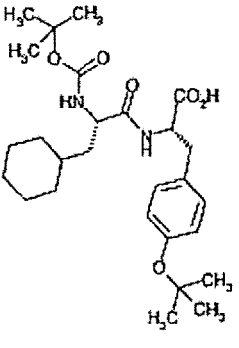
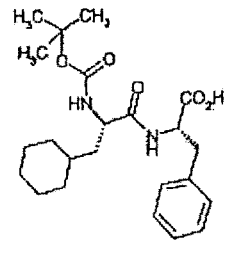
71 A	 N- ácido terc-butoxicarbonil-3-terc- butil-D-alani)-L-1 amino-4-metoxi- ciclohexilcarboxílico	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +47,9^\circ$ (c = 0,5 en cloruro de metileno). HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,07$ min. HPLC/UV-Vis (Método 18): $R_t = 4,30$ min. HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ calc. 401,2652, exp. 401,2667. Disposición general de trabajo 7 (aquí 2 equivalentes de hidrato de hidróxido de litio) a partir del Ejemplo 45A (0,66 mmol). Rendimiento: 48% d. t.
72A	 ácido N-terc-butoxicarbonil-3-terc- butil-D-alani)-L-1- amino-4- (trifluorometil)ciclohexilcarboxílico	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +37,0$ (c = 1,05 en CH_2Cl_2). HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 8,07$ min. HPLC/LUV-Vis (Método 18): $R_t = 4,79$ min. LC-MS (Método 22): $R_t = 2,32$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 339 (60) $[\text{M} - \text{Boc} + \text{H}]^+$, 383 (80), 439 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{20}\text{H}_{34}\text{O}_5\text{F}_3$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ calc. 439,2420, exp. 439,2398. Disposición general de trabajo 7 (aquí 2 equivalentes de hidrato de hidróxido de litio) a partir del Ejemplo 46A (1,10 mmol). Rendimiento: 80% d. t.

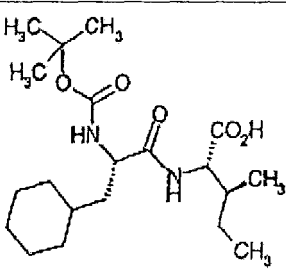
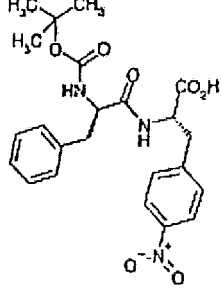
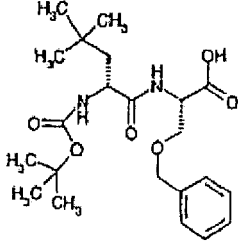
73A	 N-terc-butoicarbonil-D-leucil-4-nitro-L-fenilalanina	El producto crudo se hace reaccionar directamente en el Ejemplo 178. Disposición general de trabajo 7 (aquí 2 equivalentes de hidrato de hidróxido de litio) a partir del Ejemplo 47A (0,50 mol). Rendimiento: 85% d. t.
74A	 N-terc-butoxicarbonil-3-terc-buti-D-alanil-3-(2-piridil)-L-alanina	$[\alpha]_{\text{Na}}^{20} = +53,8^\circ$ ($c = 1,05$ en CHCl_3). HPLC/UV-Vis (Método 28): $R_t = 3,9$ min. HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,60$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,70$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 338 (100), 394 (70) $[\text{M}+\text{H}]^+$; MS (ESI neg.): m/z (%) = 318 (60), 392 (100) $[\text{M}-\text{H}]^-$. $\nu_{\text{máx}}$ (NaCl, cm^{-1}) : 3407, 2957, 1709, 1650, 1522, 1367, 1170. HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{20}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_5$ $[\text{M} + \text{H}]^+$ calc. 394,2342, exp. 394,2342. A partir del Ejemplo 48A (12,8 mmol). Rendimiento: 70% d. t.

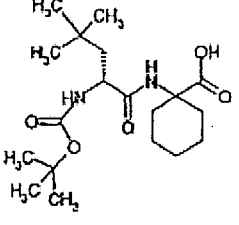
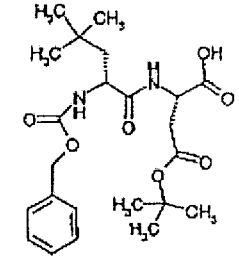
75A  N-tert-butoxycarbonyl-3-tert-butyl-D-alanyl-3-(4-pyridyl)-L-alanine	HPLC/UV-Vis (Método 28): $R_t = 3,9$ min. HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,60$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,54$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 338 (100), 394 (30) $[M+H]^+$; MS (ESIneg.): m/z (%) = 318 (60), 392 (100) $[M-H]^-$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{20}H_{32}N_3O_5$ $[M + H]^+$ calc. 394,2342, exp. 394,2320. A partir del Ejemplo 49A (0,25 mmol). Rendimiento: 87% d. t.
76A  N-tert-butoxycarbonyl-D-proli)-L-phenilalanina	HPLC/EM (Método 26): $R_t = 2$ min, MS (ESIneg.): m/z (%) = 361 (57) $[M - H]^-$ Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de N-(9-fluorenilmetoxicarbonyl)-L-phenilalanina y N-(tert-butoxycarbonyl)-D-prolina. Rendimiento: 40% d. t.
77A  N-tert-butoxycarbonyl-D-proli)-N-tert-butoxycarbonyl-L-triptófano	HPLC/MS (Método 26): $R_t = 2,55$ min, MS (ESIneg.): m/z (%) = 500 (66) $[M - H]^-$ Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de Fluorenilnletoxicarbonyl)-N-tert-butoxycarbonyl-L-triptófano y N-(tert-butoxycarbonyl)-D-prolina. Rendimiento: 39% d. t.

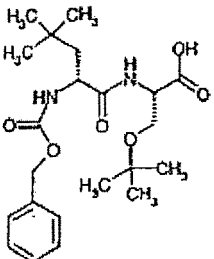
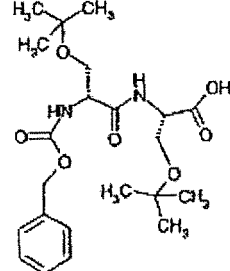
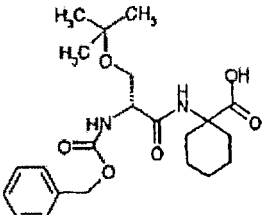
78A	 N-terc-butoxycarbonil-D-prolil-4-nitro-L-fenilalanina	HPLC/MS (Método 26): $R_t = 2,02$ min, MS (ESI^{neg.}): m/z (%) = 406 (36) $[M - H]^-$ Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de N-(9-fluorenilmetoxycarbonil)-4-nitro-L-fenilalanina y N-(terc-butoxycarbonil)-D-prolina. Rendimiento: 44% d. t.
79A	 N-terc-butoxycarbonil-3-ciclohexil-L-alanil-N^{indol}-terc-butoxycarbonil-L-triptófano	HPLC/MS (Método 26): $R_t = 3,03$ min, MS (ESI^{neg.}): m/z (%) = 557 (36) $[M - H]^-$ Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de fluorenilmetoxycarbonil-N-terc-butoxycarbonil-L-triptófano y N-(terc-butoxycarbonil)-3-ciclohexil-L-alanina. Rendimiento: 29% d. t.
80A		HPLC/MS (Método 26): $R_t = 2,54$ min, MS (ESI^{neg.}): m/z (%) = 462 (20) $[M - H]^-$

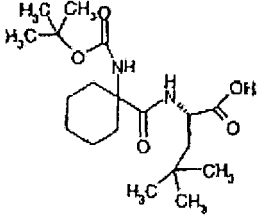
5		Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de N-(9-fluorenilmetoxycarbonil)-4-nitro-L-fenilalanina y
10		N-(terc-butoxicarbonil)-3-ciclohexil-L-alanina.
15		Rendimiento: 31 % d. t.
20	81A	HPLC/MS (Método 26): $R_t = 2,65$ min,
25		MS (ESI ^{neg.}): m/z (%) = 431 (22) [M - H] ⁻
30	N-terc-butoxicarbonil-3-ciclohexil-L-alanil-3-bencil-L-alanina	Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de N-(9-fluorenilmetoxycarbonil)-3-bencil-L-alanina y
35		N-(terc-butoxicarbonil)-3-ciclohexil-L-alanina.
40	82A	HPLC/MS (Método 26): $R_t = 2,66$ min,
45		MS (ESI ^{neg.}): m/z (%) = 521 (54) [M - H] ⁻
50	N-terc-butoxicarbonil-D-fenilalanilo ³ -terc-butil-L-serina	Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de N-(9-fluorenilmetoxycarbonil)-O-(terc-butil)-L-serina
55		y N-(terc-butoxicarbonil)-D-fenilalanina.
60		Rendimiento: 29% d. t.

83A	 N-tert-butoxycarbonyl-D-fenilalanil-O-tert-butil-L-tirosina	HPLC/MS (Método 26): $R_t = 2,8$ min, MS (ESI^{neg.}): m/z (%) = 489 (27) [M - H]⁻ Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de N-(9-fluorenilmetoxycarbonil)-O-tert-butil-L-tirosina y N-(tert-butoxycarbonil)-D-fenilalanina. Rendimiento: 58% d. t.
84A	 N-tert-butoxycarbonyl-3-ciclohexil-1-alanil-O-tert-butil-L-tirosina	HPLC/MS (Método 26): $R_t = 2,42$ min, MS (ESI^{neg.}): m/z (%) = 449 (35) [M - H]⁻ Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de N-(9-fluorenilmetoxycarbonil)-O-tert-butil-L-tirosina y N-(tert-butoxycarbonil)-3-ciclohexil-L-alanina. Rendimiento: 27% d. t.
85A	 N-tert-butoxycarbonyl-3-ciclohexilalanil-L-fenilalanina	HPLC/MS (Método 26): $R_t = 1,95$ min, MS (ESI^{neg.}): m/z (%) = 359 (21) [M - H]⁻ Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) aus N-(9-Fluorenilmetoxycarbonil)-L-fenilalanina y N-(tert-butoxycarbonil)-3-ciclohexil-L-alanin. Rendimiento: 21 % d. t.

86A	 N-tert-butoxycarbonyl-3-ciclohexil-L-alanil-L-isoleucina	HPLC/MS (Método 26): $R_t = 2,89$ min, MS (ESI^{neg.}): m/z (%) = 588 (55) [M - H]⁻. Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de N-(9-fluorenilmetoxycarbonyl)-L-isoleucina y N-(tert-butoxycarbonyl)-3-ciclohexil-L-alanina. Rendimiento: 41 % d. t.
87A	 N-tert-butoxycarbonyl-D-fenilalanil-4-nitro-L-fenilalanina	HPLC/MS (Método 26): $R_t = 2,37$ min, MS (ESI^{neg.}): m/z (%) = 516 (46) [M - H]⁻. Disposición general de trabajo 12 (1 mmol) a partir de N-(9-fluorenilmetoxycarbonyl)-4-nitro-L-fenilalanina y N-(tert-butoxycarbonyl)-D-fenilalanina. Rendimiento: 45% d. t.
88A	 N-(tert-butoxycarbonyl)-3-tert-butil-D-alanil-O-bencil-L-serina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,68$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,49$ min, MS (ESI^{pos.}): m/z (%) = 423 (100) [M + H]⁺ ¹H RMN (200 MHz, d₆-DMSO): $\delta = 0,89$ (s, 9H), 1,48 (s, 9H), 1,42–1,60 (m, 2H), 3,60 (dd, 1H), 3,75 (dd, 1 H), 4,07 (m, 1 H), 4,40–4,50 (m, 3H), 7,02 (d, 1 H), 7,25–7,40 (m, 5H), 7,80 (d, 1 H). Disposición general de trabajo 17 a

		partir del Ejemplo 50A. Tamaño de la preparación: 0,99 mmol. Rendimiento: 76% d. t.
89A	 ácido 1-[[N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alanil]amino]ciclohexan-carboxílico	HPLC/LTV-Vis (Método 36): $R_t = 4,99$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,17$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 371 (100) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 17, tiempo de reacción: 12 h a temperatura ambiente a partir del Ejemplo 51A. Tamaño de la preparación: 0,99 mmol. Rendimiento: 46% d. t.
90A	 ácido (2S)-2-[[2-[[[(benziloxy)carbonyl]amino]-3-terc-butil-D-alanil]amino]-4-terc-butoxi-4-oxobutírico	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,61$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,24$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 451 (100) $[M + H]^+$. ^1H RMN (300MHz, d_6-DMSO): $\delta = 0,89$(s,9H),1,48 (s, 9H), 1,45–1,60 (m, 2H), 2,56 (dd, 2H), 2,68 (dd, 2H), 4,10 (m, 1H), 4,50 (m, 1H), 4,97(d, 1H), 5,06 (d, 1 H), 7,25–7,38 (m, 5H), 7,42 (d, 1 H), 8,00 (d, 1 H). Disposición general de trabajo 17 a partir del Ejemplo 52A. Tamaño de la preparación: 1,26 mmol.

5 91A 10 15 20 25 30 35	 N-[(benciloxy)carbonil]-3-terc-butyl-D-alanil-O-(terc-butyl)-L-serina	Rendimiento: 78% d. t. IHPLC/U-Vis (Método 36): $R_t = 4,62$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,24$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 423 (100), $[M + H]^+$. ^1H RMN (300 MHz, d_6-DMSO): $\delta = 0,89$ (s, 9H), 1,09 (s, 9H), 1,48–1,60 (m, 2H), 3,48 (dd, 1H), 3,61 (dd, 1H), 4,12 (m, 1H), 4,35 (m, 1H), 5,01 (d, 1H), 5,06 (d, 1H), 7,30–7,40 (m, 5H), 7,53 (d, 1H), 7,65 (d, 1H), 12,65 (br s, 1H). Disposición general de trabajo 17 a partir del Ejemplo 53A. Tamaño de la preparación: 0,38 mmol. Rendimiento: 79% d. t.
40 92A 45 50 55	 N-[(benciloxy)carbonil]-O-(terc-butyl)-D-seril-O-(terc-butyl)-L-serina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,55$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,57$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 439,4 (100) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 17 a partir del Ejemplo 54A. Tamaño de la preparación: 0,91 mmol. Rendimiento: 54% d. t.
60 93A 65		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,56$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,72$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 435,4 (100) $[M + H]^+$.

		¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO): δ = 1,10 (s, 9H), 1,39–1,68 (m, 8w, 1,91 (d, 1 H), 2,03 (d, 1 H), 3,39–3,49 (m, 2H), 4,20 (m, 1 H), 5,04(s, 2H), 7,28–7,40 (m, 5H), 7,71 (s, 1H), 12,08 (br s, 1H). Disposición general de trabajo 17 a partir del Ejemplo 55A. Tamaño de la preparación: 1,69 mmol. Rendimiento: 90% d. t.
94A	 N-({1-[(terc-butoxicarboni))-amino]ciclohexil}carbonyl)-4-metil-L-leucina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 4,56 min. LG-S (Método 26): R_t = 2,36 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 371,3 (100) [M + H]⁺. ¹H RMN (300 MHz, d₆-DMSO): δ = 0,88 (s, 9H), 1,10–1,26 (m, 2H), 1,33 (s, 9H), 1,33–1,68 (m, 8H), 1,97(m, 2H), 4,23 (m, 1H), 6,53 (br s, 1H), 7,29 (d, 1H), 12,38 (br s, 1H). Disposición general de trabajo 18 a partir del Ejemplo 56A. Tamaño de la preparación: 1,05 mmol. Rendimiento: 90% d. t.

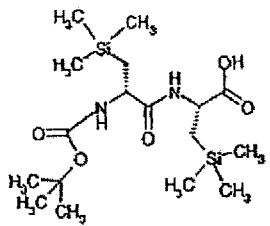
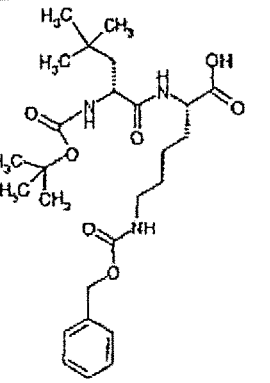
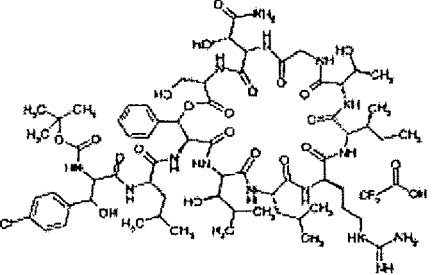
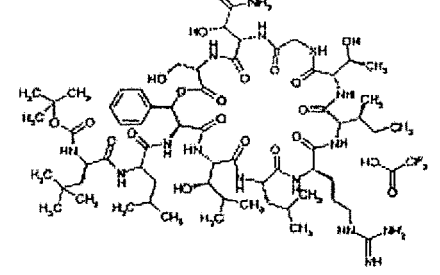
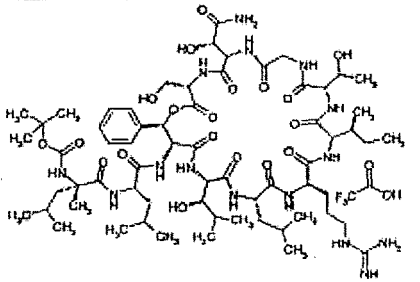
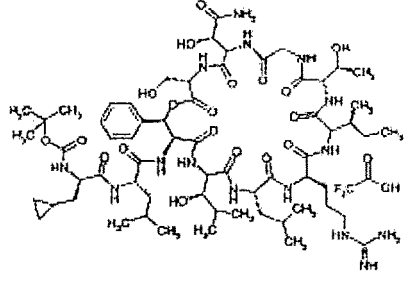
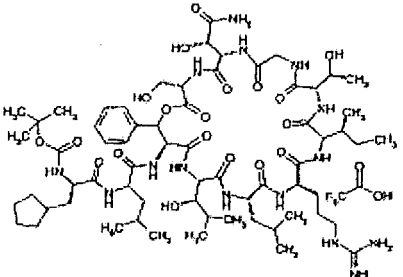
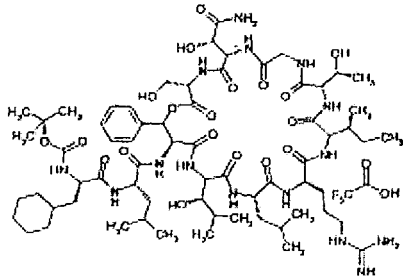
95A	 N-(terc-butoxicarboni)-3-trimetilsilil-D-alanil-3-(trimetilsilil)-L-alanina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,96$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,67$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 405,3 (100) $[M + H]^+$. ^1H RMN (400 MHz, d_6-DMSO): $\delta = 0,00$ (s, 18H), 0,85–1,08 (m, 4H), 1,38 (s, 9H), 4,04 (m, 1H), 4,16 (m, 1H), 6,77 (d, 1H), 7,72 (d, 1H), 12,45 (br s, 1H). Disposición general de trabajo 17 a partir del Ejemplo 57A. Tamaño de la preparación: 2,13 mmol. Rendimiento: 53% d. t.
96A	 N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alanil-N⁶-[(benciloxi)carbonil]-L-lisina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,57$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,27$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 508 (100) $[M + H]^+$. ^1H RMN (400 MHz, d_6-acetona): $\delta = 0,95$ (s, 9H), 1,40 (s, 9H), 1,40–1,98 (m, 6H), 3,16 (m, 2H), 4,19 (m, 1 H), 4,42 (m, 1 H), 5,08 (s, 2H), 6,16 (d, 1 H), 6,42 (br s, 1H), 7,29–7,40 (m, 5H), 10,80 (br s, 1H). Disposición general de trabajo 17 a partir del Ejemplo 58A. Tamaño de la preparación: 0,3 mmol. Rendimiento: 91% d. t.

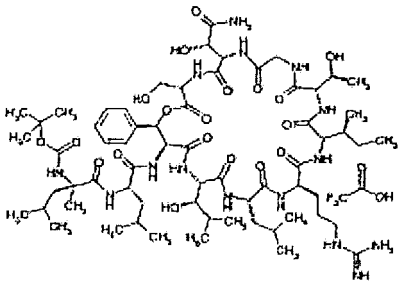
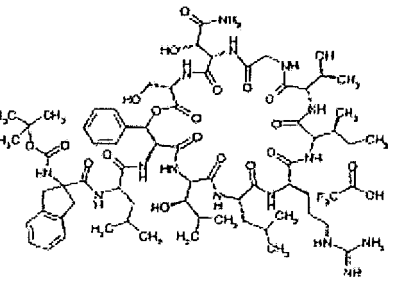
TABLA 3

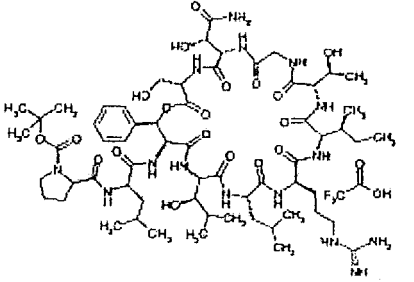
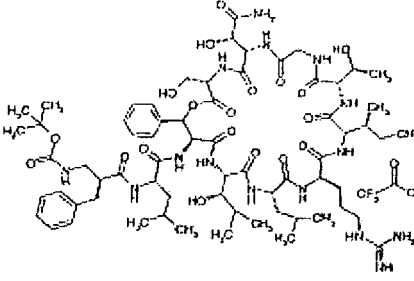
Nonadepsipéptidos N-protectados

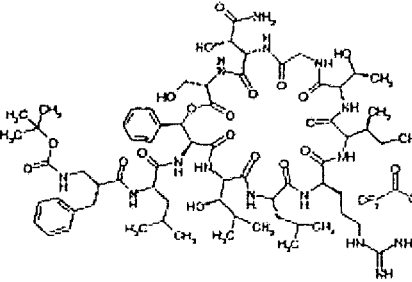
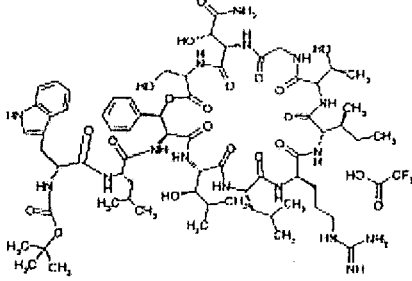
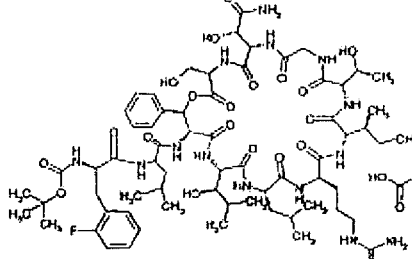
N.º de ejemplo	Estructura Nombre	Datos analíticos Método de preparación
97A	 trifluoroacetato de [N-terc-butoxicarbonil-3-(4-clorofenil)-treo-rac-seril]-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,17$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,18$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 681 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 1461 (20) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 11 a partir del Ejemplo 11A (0,04 mmol) y N-terc-butoxicarbonil-3-(4-clorofenil)-treo-rac-serina (0,17 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 34% d. t. (mezcla diastereomérica separable).
98A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanildes(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,38$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,18$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 646(90) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 1050 (20), 1391 (100) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 11 A (0,01 mmol) y N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanina (0,04 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 65% d. t.

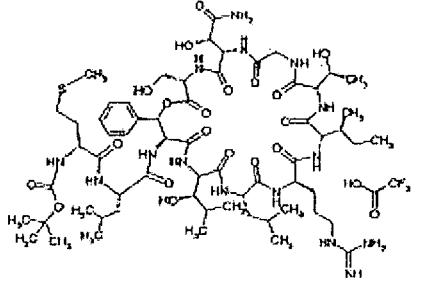
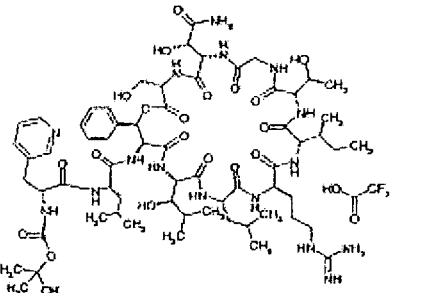
99A	 trifluoroacetato de N-terc- butoxicarbonil-2-metil-L- leucil- des(1-D- leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,19$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,09$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 646 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^+$, 1391 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 11 a partir del Ejemplo 11A (0,11 mmol) y N-(terc-butoxicarbonil)-2-metil-L-leucina (0,43 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 13% d. t.
100A	 trifluoroacetato de N-terc- butoxicarbonil-3-ciclopropil-D- alanil-des(1-D- leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,28$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,15$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 638 638 (80) $[M - \text{Boc} + 2H]^+$, 688 (100), 1376 (15) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 11 A (0,01 mmol) y N-ciclohexilciclohexan-aminio-N-terc-butoxicarbonil-3-ciclopropil-D-alaninato (0,04 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 34% d. t.

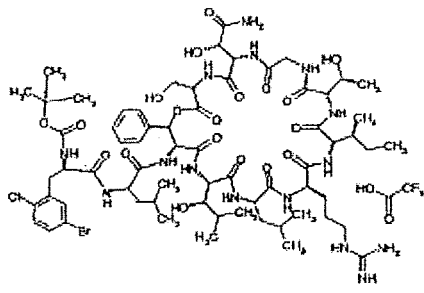
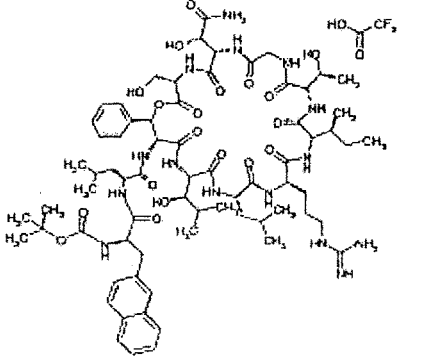
101 A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-cilopentil-D-alanil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,41$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,29$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 652 (70) $[M - \text{Boc} + 2H]^+$, 702 (100), 1404 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 11A (0,01 mmol) y N-terc-butoxicarbonil-3-ciclopentil-D-alanina (0,04 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 57% d. t.
102A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-ciclohexil-D-alanildes(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,85$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,35$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 709 (100) $[M + 2H]^+$, 718 (20) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 11A (0,01 mmol) y N-terc-butoxicarbonil-3-ciclohexil-D-alanina (0,04 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 50% d. t.

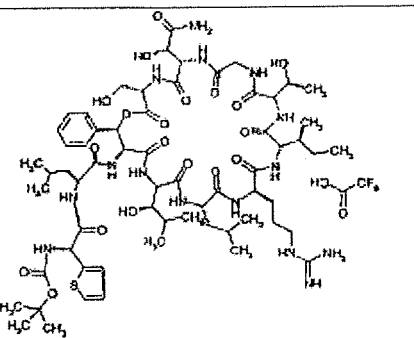
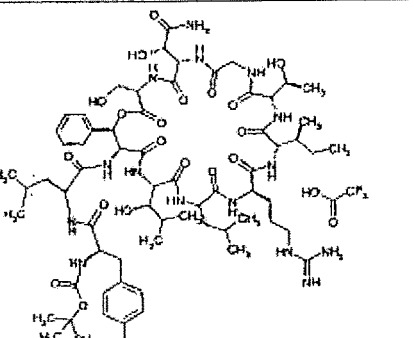
103A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-2-metil-D-leucildes(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,23$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,30$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 646 (100) $[M - Boc + 2H]^{2+}$, 1391 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 11A (0,01 mmol) y N-terc-butoxicarbonil-2-metil-D-leucina (0,04 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 67% d. t.
104A	 trifluoroacetato de (N-terc-butoxicarbonil-2-amino-2,3-dihidro-1H-indenilcarbonyl)-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,25$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,17$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 662 (100) $[M - Boc + 2H]^{2+}$, 1423 (30) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{67}H_{104}N_{15}O_{19}$ $[M + H]^+$ calc. 1422,7633, exp. 1422,7612. Disposición general de trabajo 11 a partir del Ejemplo 11A (0,07 mmol) y ácido N-terc-butoxicarbonil-2-amino-2,3-dihidro-1H-indenil-carboxílico (0,29 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 76% d. t.

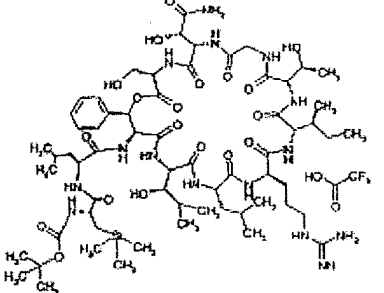
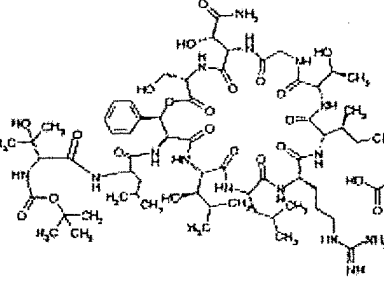
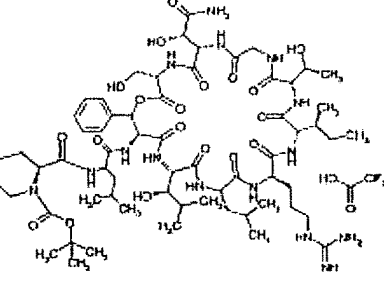
105A	 trifluoroacetato de N-terc- butoxicarbonil-D-protil-des(1- D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,04$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,10$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 631 (90) $[M - \text{Boc} + 2H]^2+$, 681 (100), 1361 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 11A (0,01 mmol) y N-terc-butoxicarbonil-D-prolina (0,04 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 55% d. t.
106A	 trifluoroacetato de (2S)-2- bencil-3-(terc- butoxicarbonil)amino- propanoil-des(1-D-leucil) lisobactina	LC-MS (Método 26): $R_t = 2,25$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 1424,9(15) $[M + H]^+$; (ESIneg.): m/z (%) = 711,0 (11) $[M - 2H]^2-$, 1469,1 (18) $[M + \text{HCOOH} - H]^+$.
		A partir de 50 mg del Ejemplo 11A y ácido (2S)-2-bencil-3-(terc-butoxicarbonil)amino-propiónico (2 equivalentes) de acuerdo con la disposición general de trabajo 4 (2

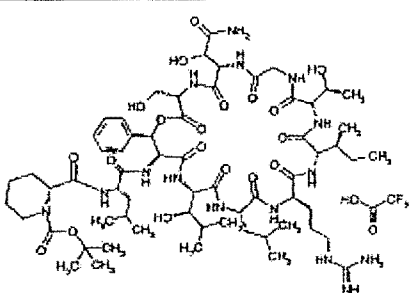
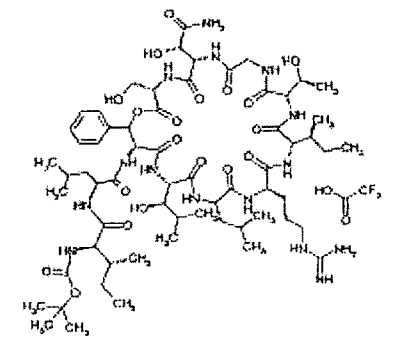
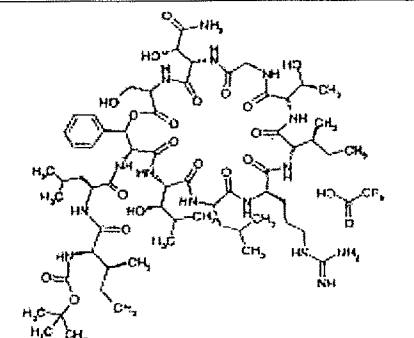
		equivalentes de HATU y 4,5 equivalentes de N-metilmorfolina) en dimetilformamida a temperatura ambiente y cromatografía (Método 8).
107A	 trifluoroacetato de (2R)-2-bencil-3-(terc-butoxicarbonil)amino-propanoil-des(1-D-leucil) lisobactina	LC-MS (Método 26): $R_t = 2,22$ min (100%); MS (ESIpos.): m/z (%) = 1424,7(15) $[M + H]^+$; MS (ESIneg.): m/z (%) = 711,1(100) $[M - 2H]^{2-}$, 1468,9 (28) $[M + HCOOH - H]^-$. Análogamente al Ejemplo 106A a partir del Ejemplo 11A y ácido (2R)-2-bencil-3-(terc-butoxicarbonil)amino-propiónico.
108A	 trifluoroacetato de N-(tertbutoxicarbonil)-D-triptofil-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,13$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,12$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 725,9 (100) $[M + 2H]^{2+}$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-D-triptófano (36 mol). Rendimiento: 84% d. t.
109A		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,26$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,23$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1430,2 $[M + H]^+$.

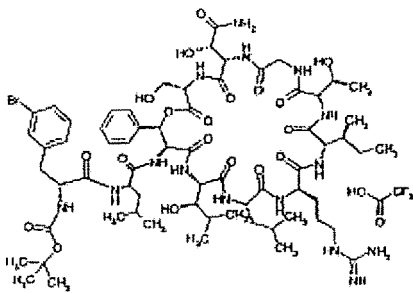
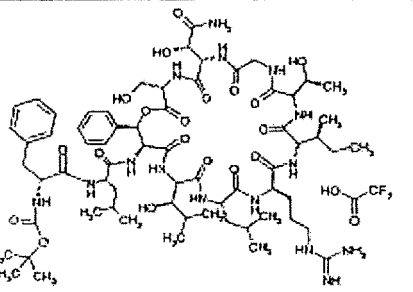
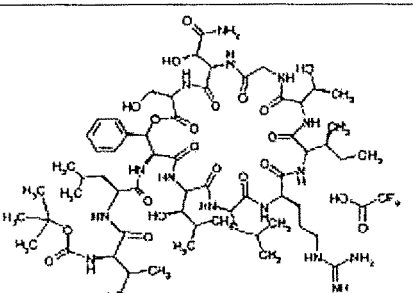
		Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11 A (40 mol) y N-terc-butoxicarbonil-2-fluoro-D-fenilalanina. Rendimiento: 76% d. t.
110A	 bistrifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-D-metionil-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,12$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,13$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 698,3 $[M + 2H]^{2+}$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (140 Umol) y N-terc-butoxicarbonil-D-metionina. Rendimiento: 64% d. t.
111 A	 trifluoroacetato de [N-(terc-butoxicarbonil)-3-pirid-3-il-D-alanil]-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,58$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,85$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 706,9 (100) $[M + 2H]^{2+}$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 μmol) y (N-terc-butoxicarbonil-3-(3-piridil)-D-alanina. Rendimiento: 68% d. t.

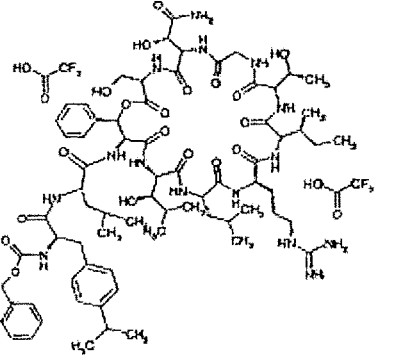
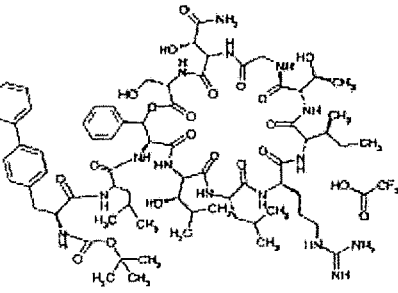
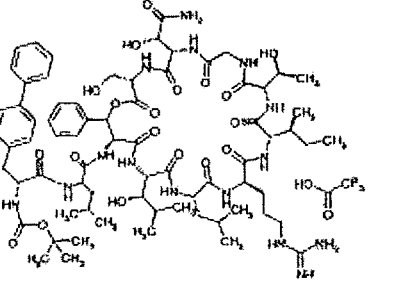
112A	 trifluoroacetato de [3-bromo-N-(terc-butoxicarbonil)-6-cloro-D-fenilalanil]-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,46$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,38$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1522,9 $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1522,6348, exp. 1522,6373 $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11 A (36 μmol) y 3-bromo-N-(terc-butoxicarbonil)-6-cloro-D-fenilalanina. Rendimiento: 85% d. t.
113A	 trifluoroacetato de N-[(terc-butoxicarbonil)-3-(2-naftil)-D-alanil]-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,39$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,40$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1461,2 (10) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-3-(2-naftil)-D-alanina. Rendimiento: 72% d. t.

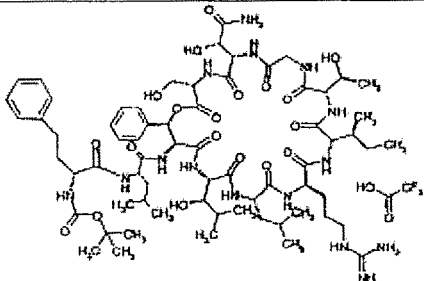
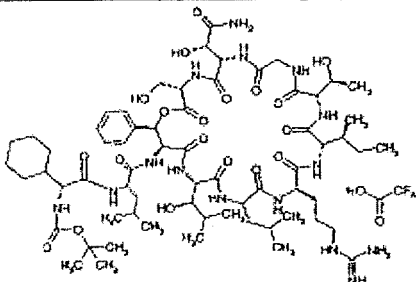
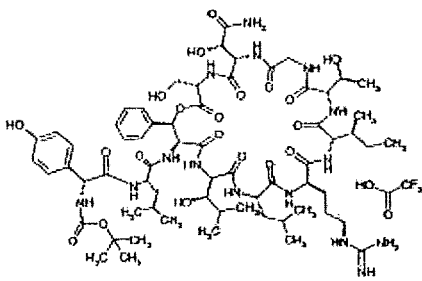
114A	 trifluoroacetato de (2R –[(terc- butoxicarbonil)amino]–(2– tienil)acetil–des(1–D–leucil) lisobactina	HPLC/UV–Vis (Método 36): $R_t = 4,03$ min. LC–MS (Método 26): $R_t = 2,11$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1402,1 (1) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 μmol) y ácido (2R)–butoxicarbonilamino–(2–tienil)acético. Rendimiento: 20% d. t.
115A	 N–(terc–butoxicarbonil)–D– tirosil–des(1–D–leucil)– lisobabutoxicarbonil)–D– tirosina.	HPLC/UV–Vis (Método 36): $R_t = 4,43$ min. LC–MS (Método 26): $R_t = 2,35$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1482,8 (10) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 mol) y N–(terc–butoxicarbonil)–D–tirosina. Rendimiento: 70% d. t.

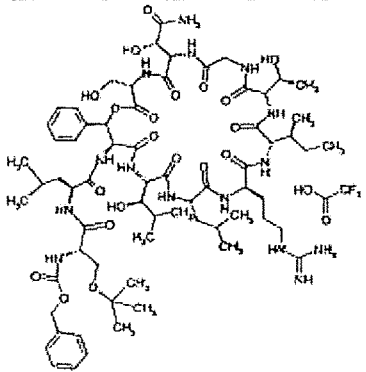
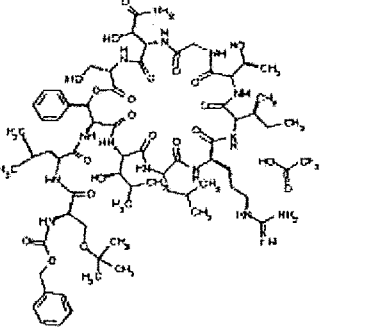
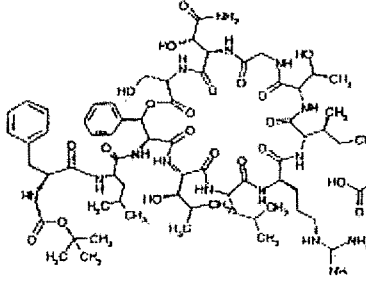
116A	 trifluoroacetato de N-(terc- butoxicarbonil)-3-(trimetilsilil)- L-alanil-des(1-D-leucil) lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,41$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,28$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1407 (15) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (287 mol) y Ejemplo 26A Rendimiento: 75% d. t.
117A	 trifluoroacetato de N-(terc- butoxicarbonil)-(3- hidroxi)-D-valil-des(1-D- leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,91$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,92$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1379,1 (20) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 mol) y N- (terc-butoxicarbonil)-(3-hidroxi)-D- valina. Rendimiento: 54% d. t.
118A	 trifluoroacetato de N-(terc- butoxicarbonil)-L-pipecolil-	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,38$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,26$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1375,0 (10) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 mol) y ácido

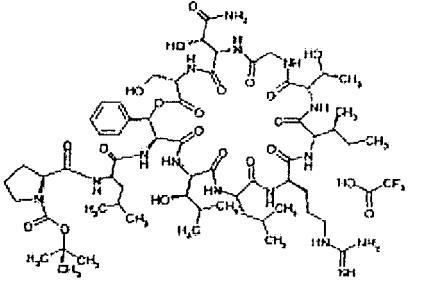
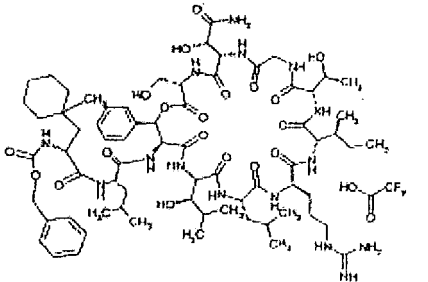
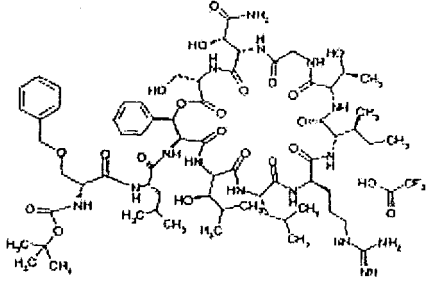
	des(1 -D-leucil)- lisobactina	N-(terc-butoxicarbonil)-L-pipecolínico. Rendimiento: 62% d. t.
119A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-D-pipecolil-des(1 -D-leucil)- lisobactina	IPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,3$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,21$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1375,0 (10) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 mol) y ácido N-(terc-butoxicarbonil)-D-pipecolínico. Rendimiento: 64% d. t.
120A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-D-isoleucil-des(1-D-3leucil)-lisobactina	LC-MS (Método 26): $R_t = 2,23$ min, MS (ESIneg.): m/z (%) = 1375,3 (20) $[M - H]^-$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-D-isoleucina. Rendimiento: 58% d. t.
121A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-D-alloisoleucil-des(1-D-leucil)-lisobactina	LC-MS (Método 26): $R_t = 2,15$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1377,2 (20) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-D-alloisoleucina. Rendimiento: 49% d. t.

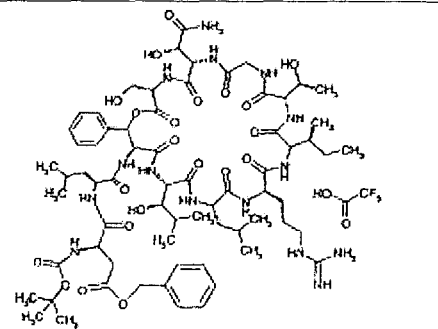
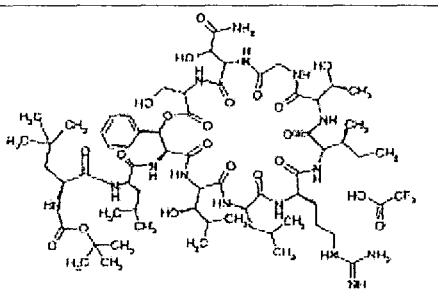
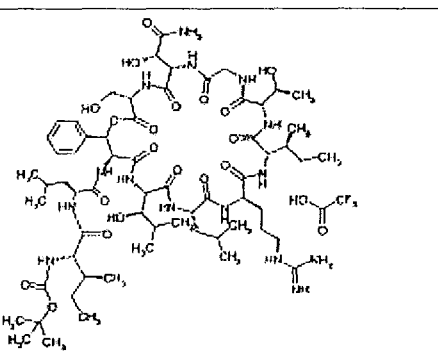
122A	 trifluoroacetato de 3-bromo-N-(terc-butoxicarbonil)-D-fenilalanil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,4$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,32$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1488,9 (1) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11 A (36 mol) y 3-bromo-N-(terc-butoxicarbonil)-D-fenilalanina. Rendimiento: 44% d. t.
123A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-D-fenilalanil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = \text{min.}$ LC-MS (Método 26): $R_t = 2,18$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1411,2 $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (80 μmol) y N-(terc-butoxicarbonil)-D-fenilalanina. Rendimiento: 55% d. t.
124A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-D-valil-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,16$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,16$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1361,7/20 $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (50 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-D-valina. Rendimiento: 58% d. t.

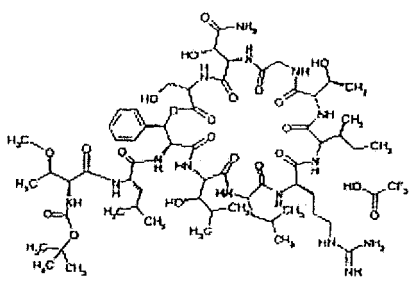
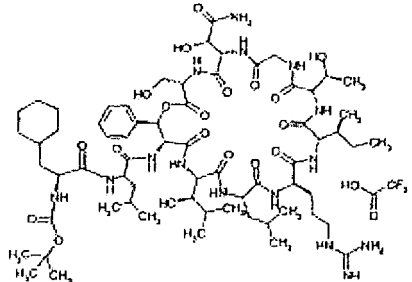
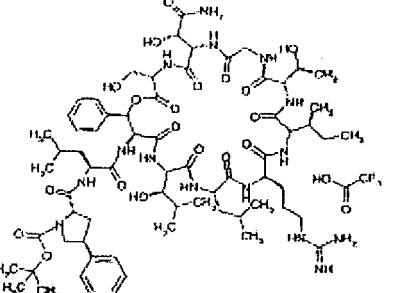
125A	 trifluoroacetato de N-(4-isopropil-D-fenilalanil)-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,48$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,42$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1487,3 (20) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (36 mol) y Ejemplo 32A. Rendimiento: 68% d. t.
126A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-3-bifenil-L-alanil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,42$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,09$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1487,1 (10) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 μmol) y N-(terc-butoxicarbonil)-2-amino-3-bifenil-L-alanina. Rendimiento: 66% d. t.
127A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-3-bifenil-D-alanildes(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,43$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,16$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1487,1 (10) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1486,7946, exp. 1486,8008 $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 μmol) y N-

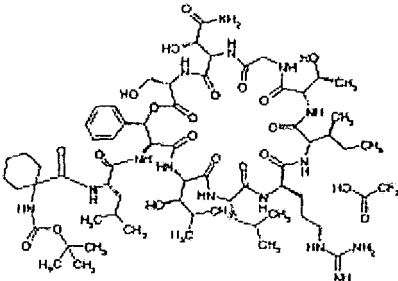
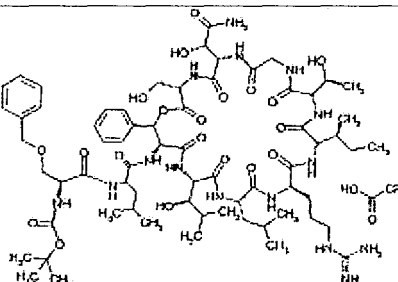
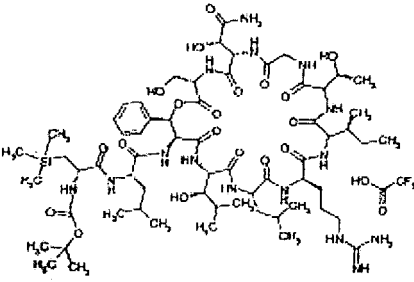
5		(terc-butoxicarbonil)-2-amino-3-bifenil-D-alanina. Rendimiento: 62% d. t.
10	128A	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,32$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,01$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1425,2 (20) [M + H] ⁺ .
15		
20	trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-(2R)-2-amino-4-fenilbutanoildes(1-D-leucil)	Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (50 μ mol) y ácido N-(terc-butoxicarbonil)-(2R -2-amino-4-fenilbutírico. Rendimiento: 79% d. t.
25	lisobactina	
30	129A	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,45$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,05$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1402,3 (10) [M + H] ⁺ .
35		
40	trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-(2R-amino(ciclohexil)acetil-des(1-D-leucil)	Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (100 μ mol) y ácido N-(terc-butoxicarbonil)-(2R -amino(ciclohexil)acético. Rendimiento: 28% d. t.
45	lisobactina	
50	130A	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,81$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,71$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1413,2 (10) [M + H] ⁺ .
55		
60	trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-(2R)-amino(4-hidroxifenil)acetil-des(1-D-	Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (100 μ mol) y ácido N-(terc-butoxicarbonil)-(2R-
65		

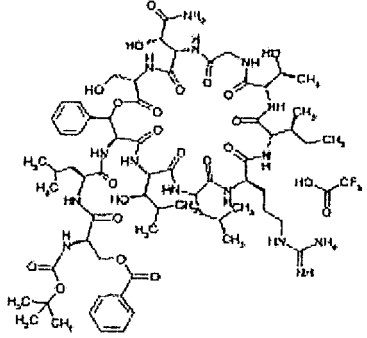
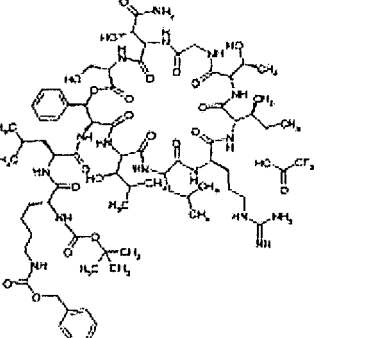
	leucil) lisobactina	amino(4-hidroxifenil)-acético. Rendimiento: 18% d. t.
131A	 trifluoroacetato de N-serina. (benciloxycarbonyl)-O (terc-butil)-L-serinides(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,25$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,06$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1441,1 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-O-(terc-butil)-L- Rendimiento: 70%.
132A	 trifluoroacetato de N-(benciloxycarbonyl)-O-(terc-butil)-D-serinides(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,11$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,08$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1441,0 (80) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (310 μmol) y N-(terc-butoxicarbonil)-O-(terc-butil)-D-serina. Rendimiento: 47% d. t.
133A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-L-	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,23$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,30$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1411,0 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-L-fenilalanina.

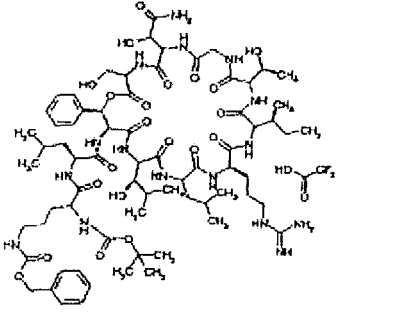
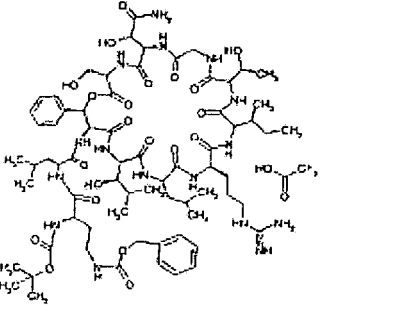
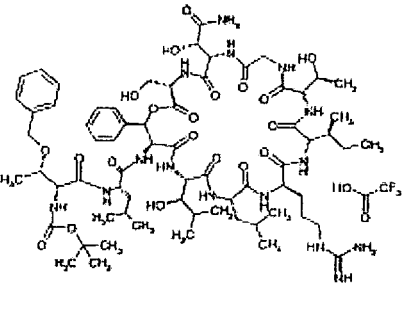
	fenilalanildes(1-D-leucil)lisobactina	Rendimiento: 72% d. t.
134A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-L-protil-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,18$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,96$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1361,1 (10) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (70 μmol) y N-(terc-butoxicarbonil)-L-prolina. Rendimiento: 73% d. t.
135A	 trifluoroacetato de 3-(1-metilciclohexil)-D-alanil-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,54$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,15$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1465,2 (40) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (90 mol) y Ejemplo 29A. Rendimiento: 66% d. t.
136A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-O-bencil-D-serildes(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,25$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,07$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1440,9 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-O-bencil-D-serina. Rendimiento: 56% d. t.

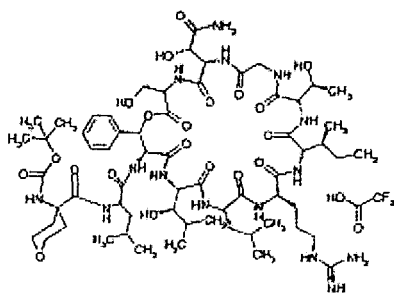
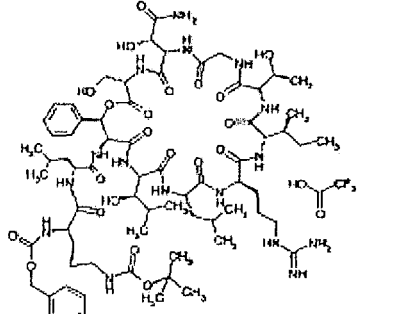
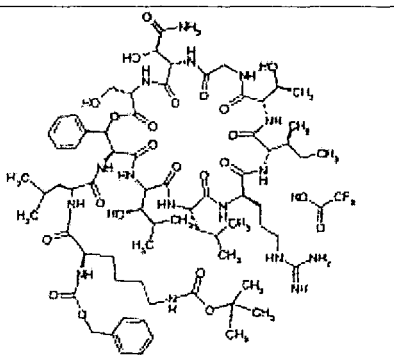
137A  trifluoroacetato de (2R)-4- (benciloxi)-2-[(terc- butoxicarbonil)amino]-4- oxobutanoil-des(1-D- leucil)lisobactina		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,25$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,21$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1569,2 (10) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (180 mol) y ácido (2R)-4-(benciloxi)-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]-4-oxo-butírico. Rendimiento: 65% d. t.
138A  trifluoroacetato de N-(terc- butoxicarbonil)-3-(terc-butil)- L-alanildes(1-D-leucil) lisobactina		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,33$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,07$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1391,4 (5) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-3-(terc-butil)-L-alanina. Rendimiento: 70% d. t.
139A  trifluoroacetato de N-(terc- butoxicarbonil)-L-isoleucil- des(1-D-leucil)-lisobactina		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,21$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,99$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1377,6 (1) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1376,7789, exp. 1376,7765 $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-L-isoleucina. Rendimiento: 80% d. t.

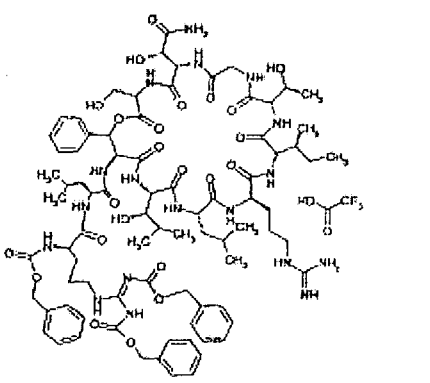
140A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-O-metil-L-treonildes(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,05$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,85$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1379,3 (80) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1378,7582, exp. 1378,7576 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-O-metil-L-treonina. Rendimiento: 47% d. t.
141A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-3-ciclohexil-L-(terc-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,45$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,11$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1417,3 (10) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1416,8102, exp. 1416,8116 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-3-ciclohexil-L-alanina. Rendimiento: 80% d. t.
142A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-(4S)-4-fenil-L-	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,44$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,13$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1437 (20) $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-(4S)-4-fenil-L-

5		butoxicarbonil)-(48)-4-fenil-L-prolina. prolides(1-D-leucil) lisobactina	Rendimiento: 63% d. t.
10	143A		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,28$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,06$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1388,9 (10) $[M + H]^+$.
15		trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-(1-aminociclohexil)carbonildes(1-D-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y ácido N-(terc-butoxicarbonil)(1-aminociclohexil)carboxílico. Rendimiento: 27% d. t.
20	144A		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,17$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,00$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1441,0 (20) $[M + H]^+$.
25		trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-(O-bencil cetarildes(1-D-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-(O-bencil)-L-serina. Rendimiento: 53% d. t.
30	145A		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,5$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,13$ min, S (ESIpos.): m/z (%) = 1407,0 (20) $[M + H]^+$.

	trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-3-(trimetilsilil)-D-alanildes(1-D-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11 A (143 μmol) y Ejemplo 25A. Rendimiento: 40% d. t.
146A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-(O-benzil)-D-serildes(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,17$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,01$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1455,0 (20) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 μmol) y N-(terc-butoxicarbonil)-(O-benzil)-D-serina. Rendimiento: 41 % d. t.
147A	 trifluoroacetato de N⁶-[(benciloxi)carbonil]-N²-(terc-butoxicarbonil)-D-lisil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,13$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,96$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1526,1 (50) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 μmol) y N⁶-[(benciloxi)carbonil]-N²-(terc-butoxicarbonil)-D-lisina. Rendimiento: 50% d. t.

148A	 trifluoroacetato de N⁵-[(benciloxi)carbonil]-N²-[(butoxi)carbonil]-D-ornitil-des(1-D-N-lisobactina	LC-MS (Método 26): R_t = 1,93 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1511,9 (30) [M + H]⁺. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N⁵-[(benciloxi)carbonil]-N²-[(terc-butoxi)carbonil]-D-ornitina. Rendimiento: 48% d. t.
149A	 trifluoroacetato de (2S)-4-[[[(benciloxi)carbonil]amino]-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]butanoil]-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 4,08 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,94 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1498,0 (20) [M + H]⁺. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 μmol) y ácido (2S)-4-[[[(benciloxi)carbonil]amino]-2-[(terc-butoxicarbonil)amino]butírico. Rendimiento: 49% d. t.
150A	 trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-O-bencil-D-treonil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 4,41 min. LC-MS (Método 26): R_t = 2,13 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1455,0 (30) [M + H]⁺. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 mol) y N-(terc-butoxicarbonil)-O-bencil-D-treonina. Rendimiento: 46% d. t.

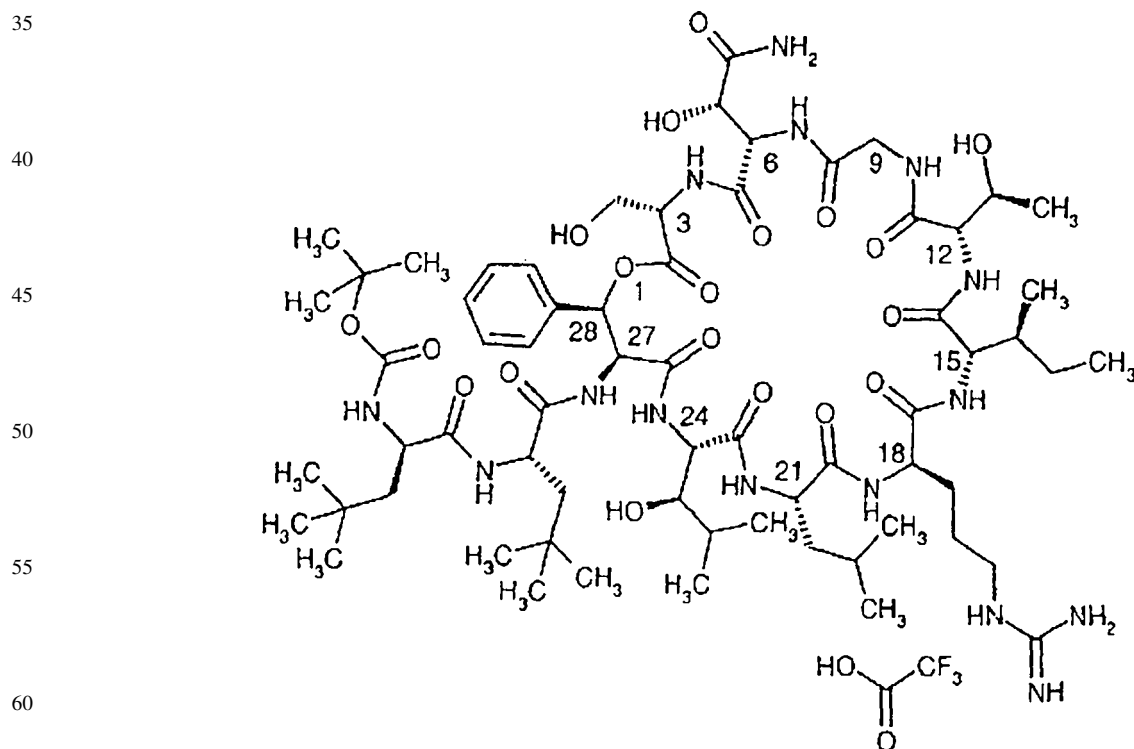
5	151A		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,60$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,78$ min, MS (ESI ^{neg.}): m/z (%) = 1390,8 [M - H] ⁻ .
10		trifluoroacetato de 4-[(terc-butoxicarbonil)amino]tetrahidro-2H-piran-4-carbonil]-des(1-D-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 μ mol) y ácido 4-[(terc-butoxicarbonil)amino]-tetrahidro-2H-piran-4-carboxílico. Rendimiento: 26% d. t.
25	152A		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,08$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,99$ min, MS (ESI ^{pos.}): m/z (%) = 1512,7 (10) [M + H] ⁺ .
30		trifluoroacetato de N ² -(benciloxycarbonil)-N ⁵ -(terc-butoxicarbonil)-D-orntil-des(1-D-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 μ mol) y N ² -(benciloxycarbonil)-N ⁵ -(terc-butoxicarbonil)-D-orntina. Rendimiento: 60% d. t.
45	153A		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,13$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,99$ min, MS (ESI ^{pos.}): m/z (%) = 1525,8 (20) [M + H] ⁺ .
50		trifluoroacetato de N ² -(benciloxycarbonil)-N ⁶ -(terc-butoxicarbonil)-D-lisil-des(1-D-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 μ mol) y N ² -(benciloxycarbonil)-N ⁶ -(terc-butoxicarbonil)-D-lisina. Rendimiento: 82% d. t.

154A		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 4,4$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,49$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1721,0 (10) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 11A (110 μmol) y N^2, N^7, N^8-tris-(benciloxycarbonil)-D-arginil-des(1-D-leucil)lisobactina. Rendimiento: 60% d. t.
------	---	--

25 Ejemplo 155A

30 *Trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alani-N¹-[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metil]propil]-21-isobutil]-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il]-3-terc-butil-L-alaninamida*

35 *{Trifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alanil-3-terc-butil-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)-liso-bactina}*



65 Se hacen reaccionar bistrifluoroacetato de des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina (Ejemplo 13A, 500 mg, 0,39 mmol) y N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D-alanil-3-terc-butil-L-alanina (Ejemplo 59A, 583 mg, 1,56 mmol) se hacen reaccionar de acuerdo con la disposición general de trabajo 4. El producto crudo se purifica por HPLC preparativa (Método 24). Se obtienen 445 mg (95% d. t.) de producto.

ES 2 330 221 T3

HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,9$ min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 26): $R_t = 2,16$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 653 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 1404 (30) $[M + H]^+$.

MS (ESIneg.): m/z (%) = 701 (100), 1403 (20) $[M - H]^-$, 1449 $[M - H + \text{HCO}_2H]^-$.

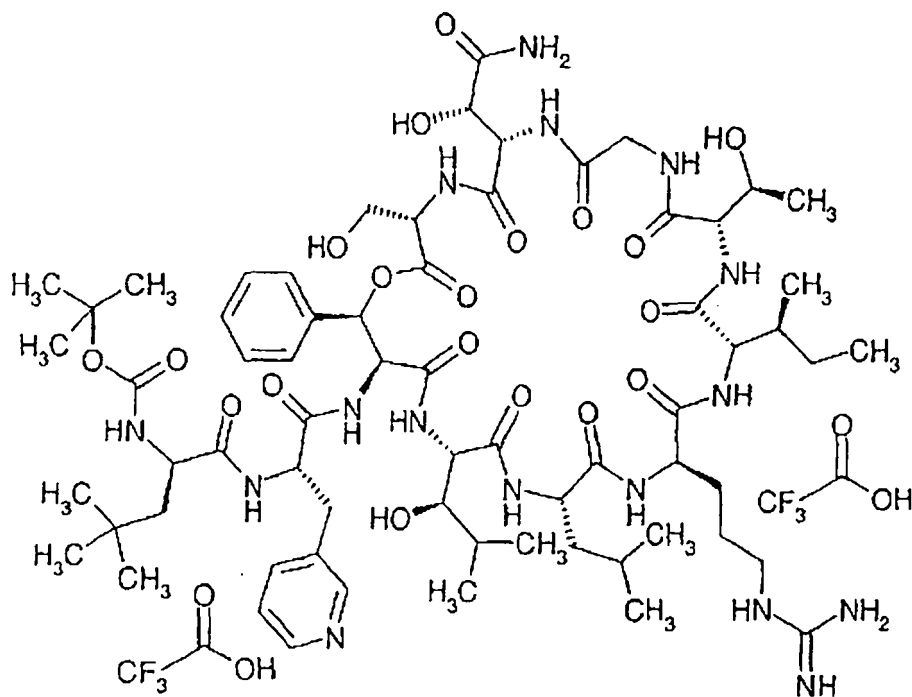
LC-MS (Método 29): $R_t = 5,5$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 653 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 1405 (90) $[M + H]^+$.

HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{65}\text{H}_{110}\text{N}_{15}\text{O}_{19}$ calc. 1404,8102, exp. 1404,8057 $[M + H]^+$.

Ejemplo 156A

Bis(trifluoroacetato) de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-3-(3-piridil)-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina



A una solución de Ejemplo 13A (1,0 equivalentes, 0,03 mmol) y Ejemplo 60A (2,5 equivalentes, 0,08 mmol) en dimetilformamida seca (2 ml) se añaden a -78°C lentamente N-metilmorfolina (4 equivalentes, 0,13 mmol) y HATU (2,6 equivalentes, 0,08 mmol). La mezcla de reacción se calienta lentamente (aproximadamente 2 h) a 0°C , tras lo cual se observa una reacción completa por medio de HPLC/UV-Vis (Método 36). La reacción se detuvo con hidrógeno-fosfato de potasio (5,0 equivalentes, 0,16 mmol). La mezcla de reacción se purifica por medio de cromatografía en gel (Método 6, eluyente metanol/acetona 4/1), obteniendo 53,6 mg (80% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,83$ min.

LC-MS (Método 26): $R_t = 2,08$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 713 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1425 (15) $[M + H]^+$;

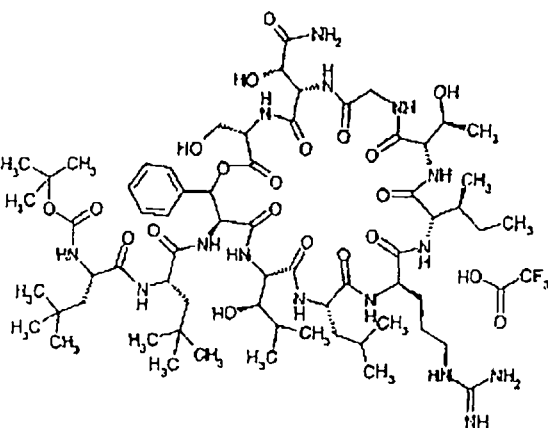
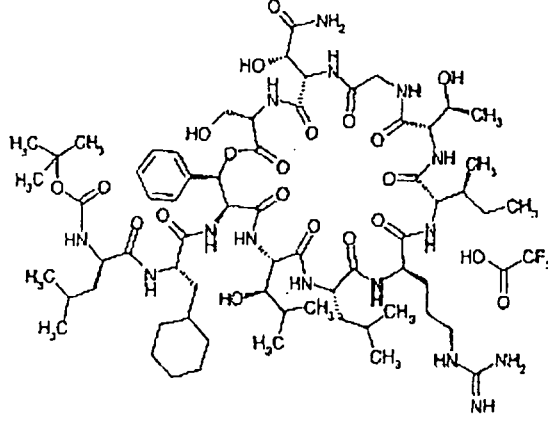
MS (ESIneg.): m/z (%) = 711 (100) $[M - 2H]^{2-}$, 1423 (30) $[M - H]^-$.

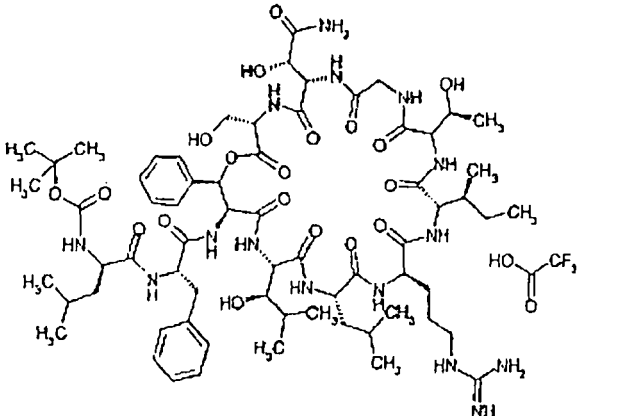
HR-TOF-MS (Método 21): $\text{C}_{66}\text{H}_{105}\text{N}_{16}\text{O}_{19}$ $[M + H]^+$ calc. 1425,7742, exp. 1425,7722.

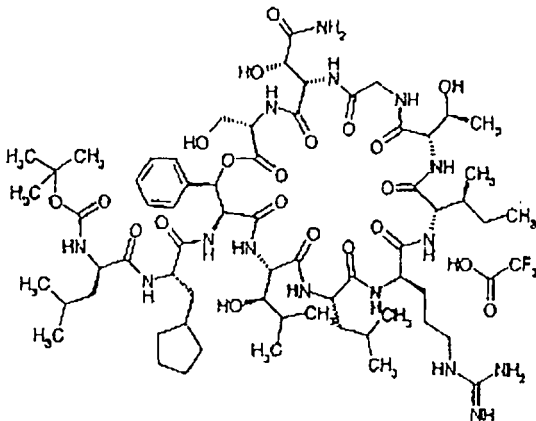
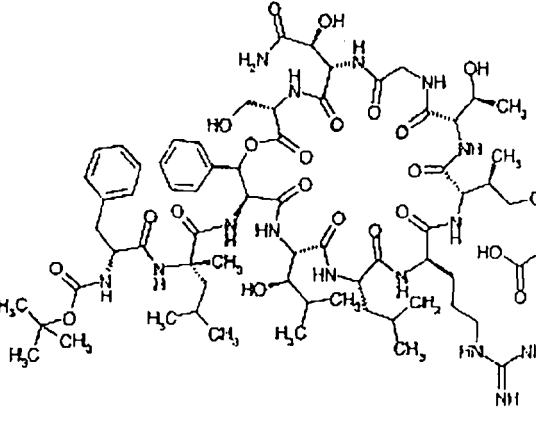
ES 2 330 221 T3

TABLA 4

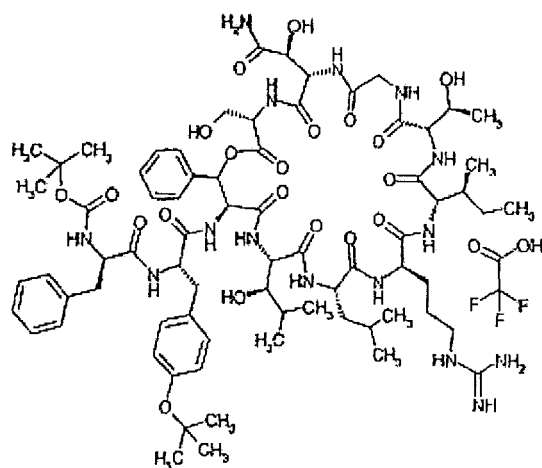
Nonadepsipéptidos N-protectados

N.º deEstructura		Datos analíticos
ejemplo Nombre		Método de preparación
157A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-tert-butil-L-alanil)-3-tert-butil-L-alanildes(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,3$ min. LC-MS (Método 27): $R_t = 2,45$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 653 (100) $[M-Boc+2H]^{2+}$, 1405(30) $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,05 mmol) y Ejemplo 61A (0,2 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 51 % d. t.
158A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-3-ciclohexil-L-alanildes(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,54$ min, λ_{max} (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (m). LC-MS (Método 29): $R_t = 5,41$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 659 (100) $[M-Boc+ 2H]^{2+}$, 1417 (80) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del

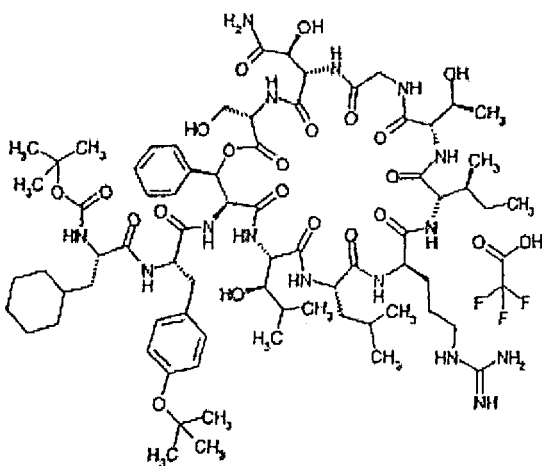
		Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 62A (0,06 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 75% d. t.
159A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-L-fenilalanildes(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 7,32 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255–270 (m). LC-MS (Método 12): $R_t =$ 5,42 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 656 (80) [M – Boc + 2H]²⁺, 1411 (100) [M + H]⁺. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 63A (0,06 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 57% d. t.

160A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-3-ciclopentil-L-alanildes(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 7,46 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255–270 (m). LC-MS (Método 12): R_t = 5,46 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 652 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 1403 (90) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir de Ejemplo 13A (0,01 mmol) y Ejemplo 64A (0,05 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 55% d. t.
161A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-fenilalanil-2-metil-L-leucil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 7,20 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255–270 (m). LC-MS (Método 29): R_t = 5,33 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 663(100) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 1425 (90) $[M + H]^+$. Disposición general de

5		trabajo 4 a partir del
10		Ejemplo 13A (0,01 mmol) y
		Ejemplo 65A (0,05 mmol).
		Purificación según el
		Método 7.
		Rendimiento 8% d. t.
15	162A	EPLC/UV-Vis (Método 13):
		$R_t =$
		7,51 min.
20		LC-MS (Método 29): $R_t =$
		5,5min;
25		MS (ESI neg.): m/z (%) =
		1515
		(100) $[M-H]^-$.
30		Disposición general de
		trabajo 4 a partir del
35		Ejemplo 13A (0,02 mmol) y
		Ejemplo 83A (0,06 mmol).
		Purificación según el
		Método 7.
40		Rendimiento 58% d. t.
45	163A	HPLC/UV-Vis (Método 13):
		$R_t =$
		7,83 min.
50		LC-MS (Método 29): $R_t =$
		5,6 min;
55		
60		Disposición general de
		trabajo 4 a partir del
65		Ejemplo 13A (0,02 mmol) y



trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-
fenilalanil-O-terc-butil-L-tirosil-des
(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina



trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-
ciclohexil-L-alanil-O-terc-butil-L-
tirosil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)

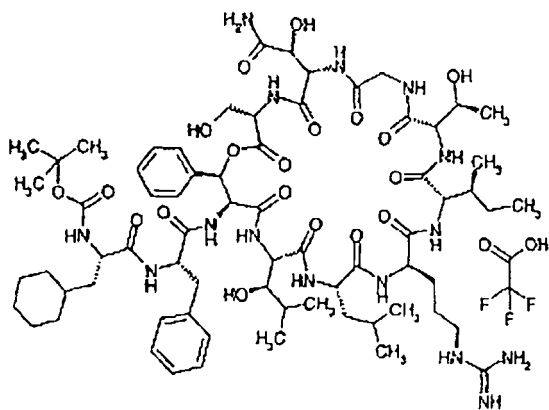
lisobactina

Ejemplo 84A (0,06 mmol).

Purificación según el
Método 7.

Rendimiento 44% d. t.

164A



trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-
ciclohexil-L-alanil-L-fenilalanil-des
(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina

HPLC/UV-Vis (Método 13):

 $R_t =$

7,48 min.

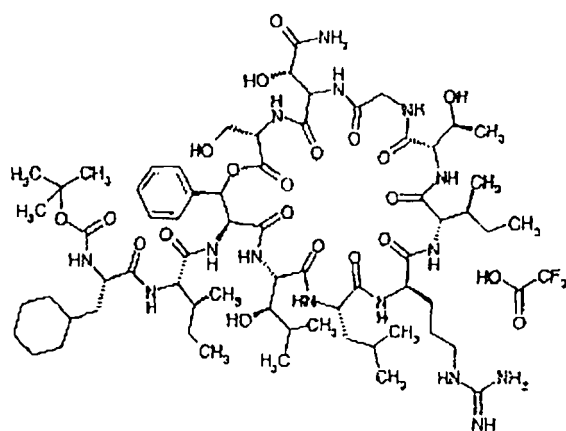
LC-MS (Método 29): $R_t =$

5,4 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) =
676 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 698 (60),
1451 $(60) [M + H]^+$.Disposición general de
trabajo 4 a partir del13A (0,02 mmol) y Ejemplo
85A (0,06 mmol).Purificación según el
Método 7.

Rendimiento 55% d. t.

165A



HPLC/UV-Vis (Método 13):

 $R_t =$

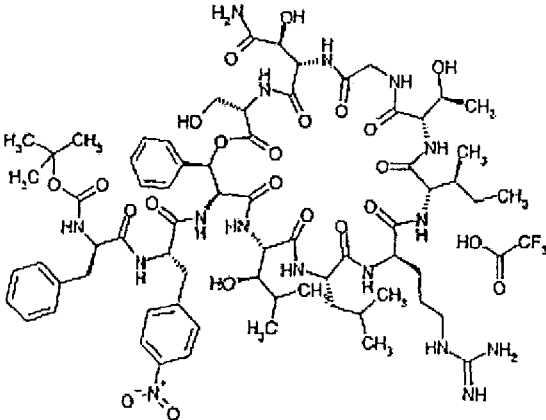
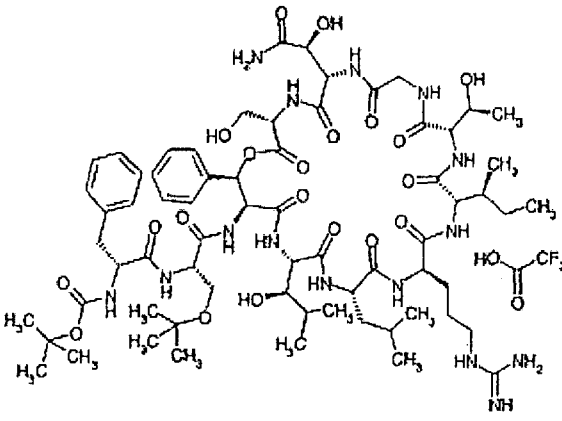
7,37 min.

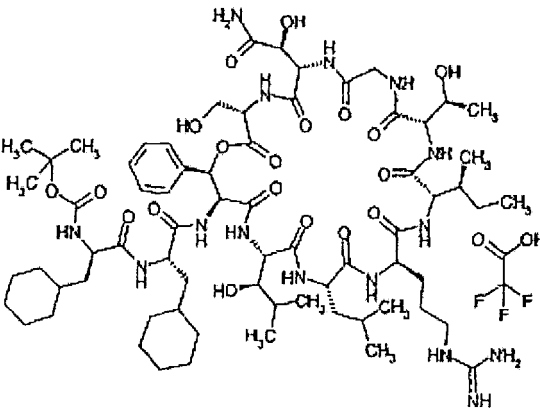
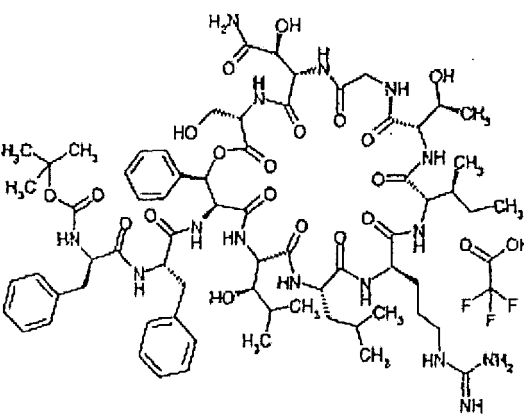
LC-MS (Método 26): $R_t =$

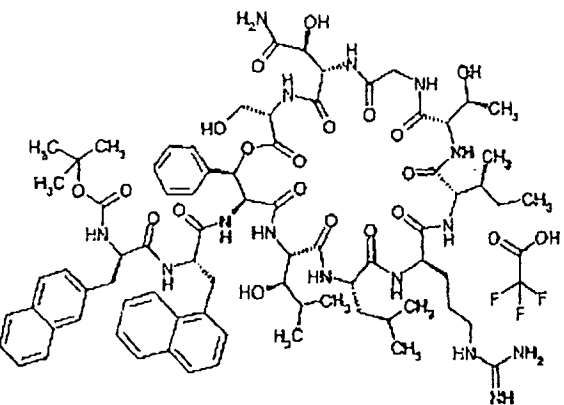
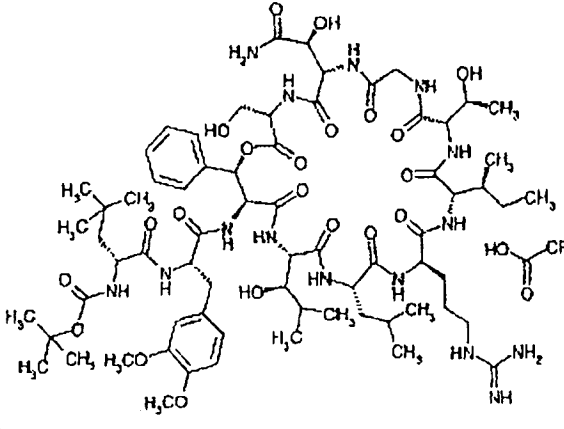
2,09

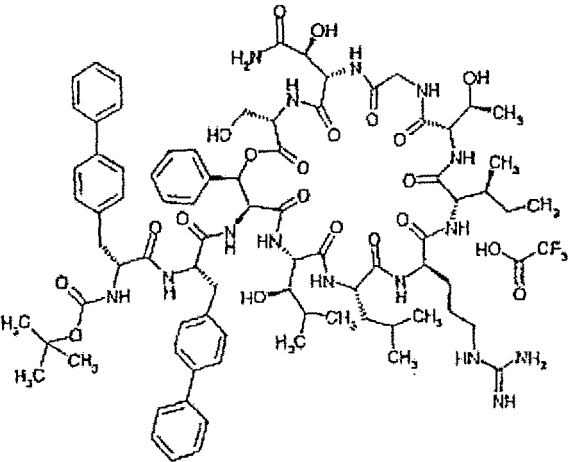
min;

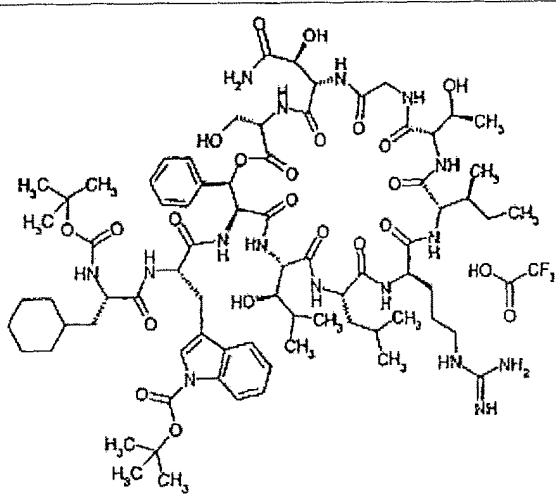
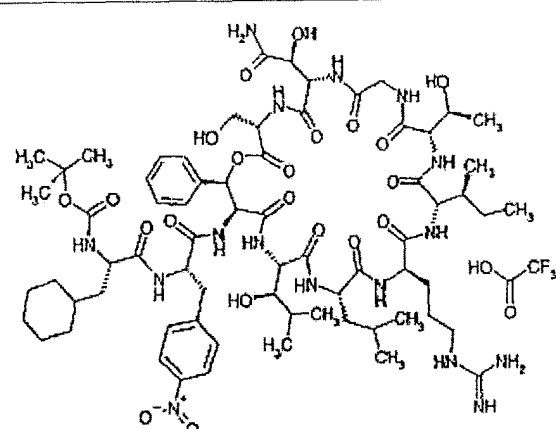
MS (ESIpos.): m/z (%) =
659 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^+$, 1417 (30)
 $[M + H]^+$.

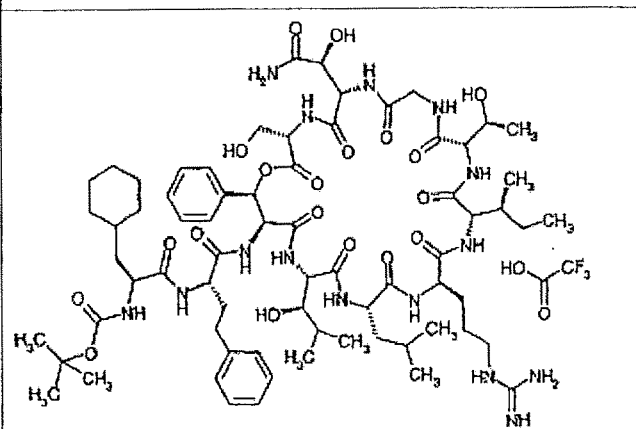
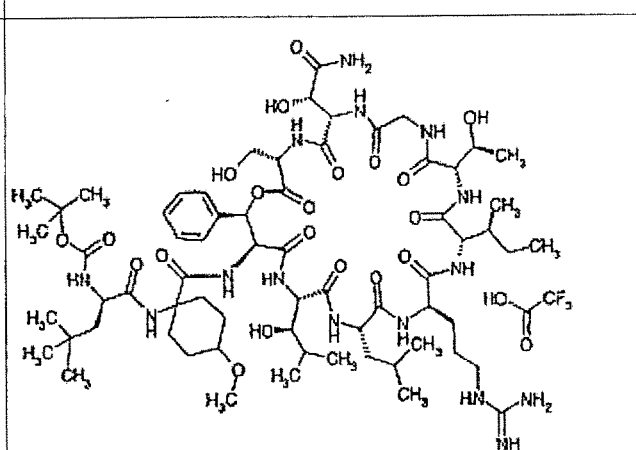
5		Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 86A (0,06 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 41 % d. t.
10		
15	166A	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,18$ min. LC-MS (Método 29): $R_t = 5,3$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 696 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^+, 1490$ (80) $[M + H]^+$.
20		
25	trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-fenilalanil-4 nitro-L-fenilalanil-des (1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 87A (0,06 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 49% d. t.
30		
35		
40		
45	167A	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,19$ min. LC-MS (Método 29): $R_t = 5,3$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 671 (60) $[M - \text{Boc} + 2H]^+, 1441$ (100) $[M + H]^+$
50		
55	trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-fenilalanil-O~terc-butyl-L-seril-des	Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,03 mmol) y
60		
65		

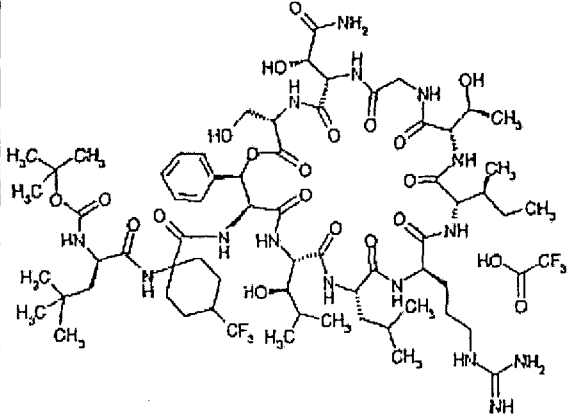
	(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	Ejemplo 82A (0,13 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 50% d. t.
168A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-ciclohexil-D-alanil-3-ciclohexil-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 7,75 min. LC-MS (Método 29): $R_t =$ 5,7 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 679 (100) $[M - Boc + 2H]^{2+}$, 1457 (100) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 66A (0,06 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 16% d. t.
169A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-phenilalanil-L-phenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 7,18 min. LC-MS (Método 29): $R_t =$ 5,31 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 673 (50) $[M - Boc + 2H]^{2+}$, 1445 (100) $[M - H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y

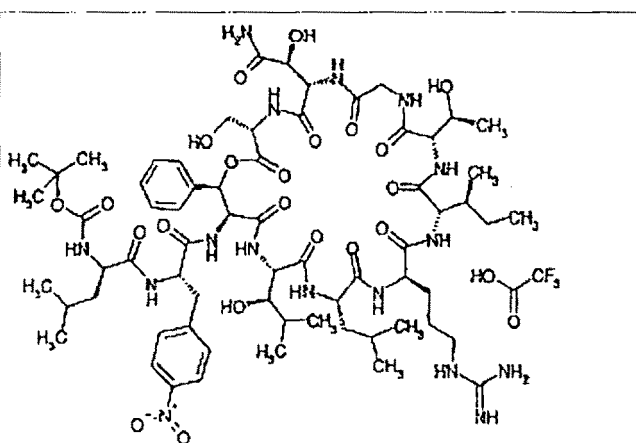
		Ejemplo 67A (0,06 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 74% d. t.
170A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-(2-naftil)-D-alanil-3-(1-naftil)-L-fenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 7,53 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 280 (m). LC-MS (Método 29): R_t = 5,52 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 723 (100) [M - Boc + 2H]²⁺, 1545 (10) [M + H]⁺. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 68A (0,06 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 33% d. t.
171A		HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 7,05 min. min; LC-MS (Método 29): R_t = 5,2min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 693 (100) [M - Boc + 2H]²⁺, 1485 (60) [M + H]⁺

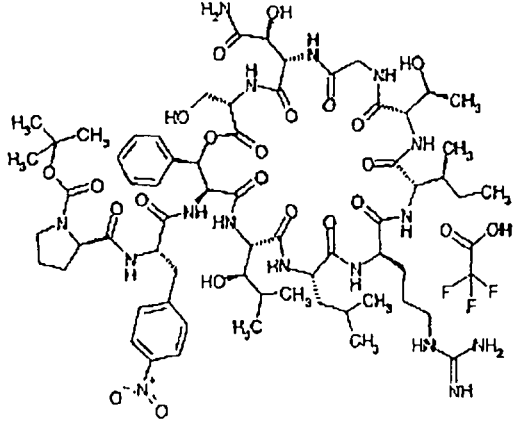
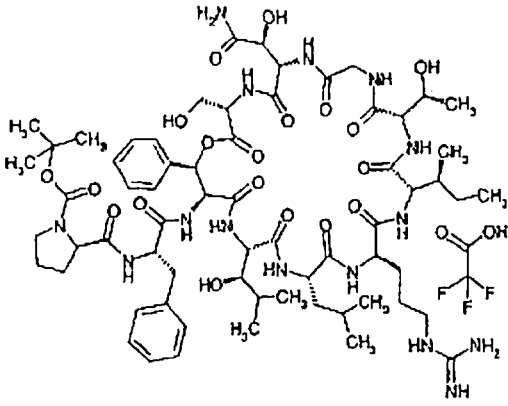
	trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3- terc-butil-D-alanil-3-(3,4- dimetoxifenil)-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L- leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 11 a partir del Ejemplo 13A (0,03 mmol) y Ejemplo 69A (0,13 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 23% d. t.
172A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-4- fenil-D-fenilalanil-4-fenil-L- fenilalanil-des(1-D-leucil-2-L- leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 7,91 min. LC-MS (Método 29): $R_t = 5,8\text{min};$ Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,03 mmol) y Ejemplo 70A (0,13 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 56% d. t.

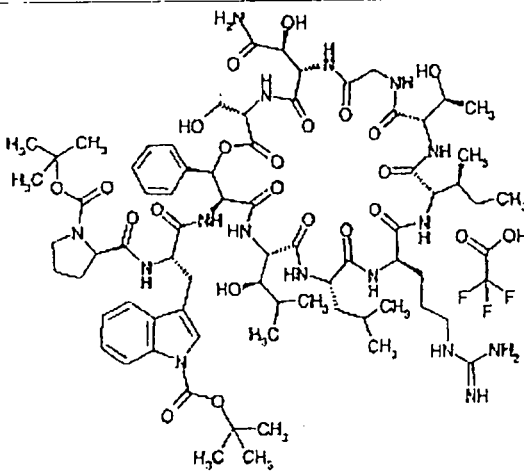
173A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-ciclohexil-L-alanil-N^{indol}-terc-butoxicarbonil-L-triptofil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 7,98 min. LC-MS (Método 29): $R_t =$ 5,7 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 746 (60) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 1590 (100) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 79A (0,06 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 29% d. t.
174A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-ciclohexil-L-alanil-4-nitro-L-phenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 7,52 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 210 nm (s), 272 (m). LC-MS (Método 29): $R_t =$ 5,5 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 699 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 1496 (90) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 80A (0,06 mmol). Purificación según el

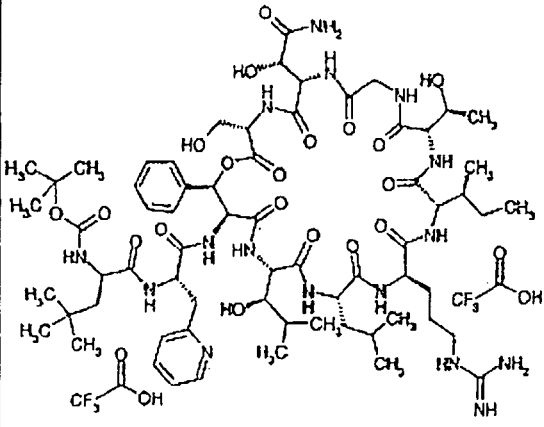
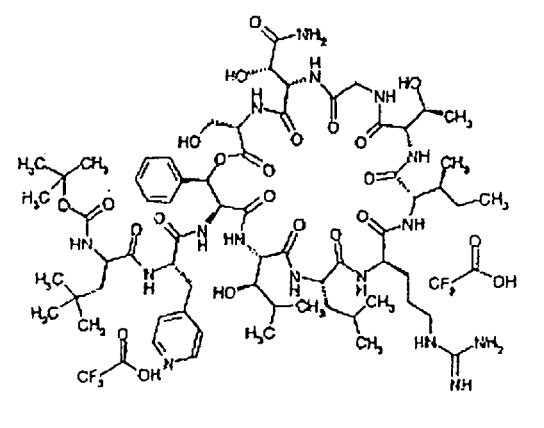
		Método 7. Rendimiento 17% d. t.
175A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-ciclohexil-L-alanil-3-bencil-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 7,64 min. LC-MS (Método 29): $R_t =$ 5,5 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 683 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^+$, 1465 (50) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 81A (0,09 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 52% d. t.
176A		HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 7,18 min. LC-MS (Método 26): $R_t =$ 2,23 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 667(100) $[M - \text{Boc} + 2H]^+$, 1050 (10), 1433 (20) $[M+H]^+$

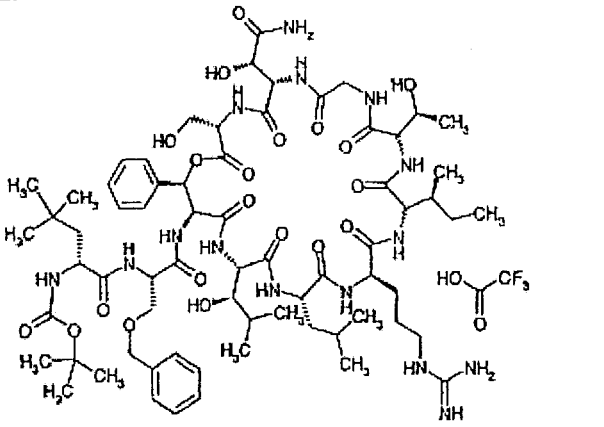
	trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-(1-amino-4-metoxi-ciclohexilcarbonil)-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 11 a partir del Ejemplo 13A (0,05 mmol) y Ejemplo 71A (0,19 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 42% d. t.
177A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-(1-amino-4-(trifluorometil)ciclohexilcarbonil)-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,69$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 2,37$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 686 (100) $[M-Boc+2H]^{2+}$, 1472 (30) $[M+H]^+$.
	trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-(1-amino-4-(trifluorometil)ciclohexilcarbonil)-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 11 a partir del Ejemplo 13A (0,05 mmol) y Ejemplo 72A (0,19 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 33% d. t.

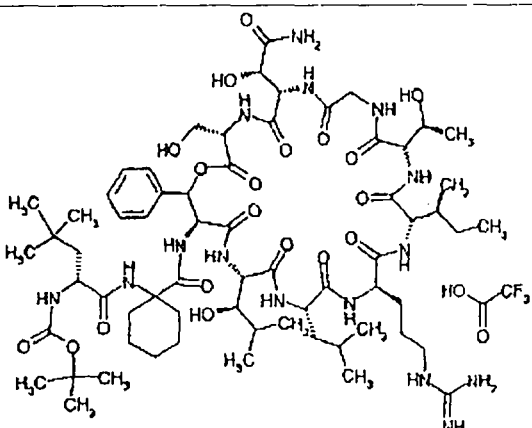
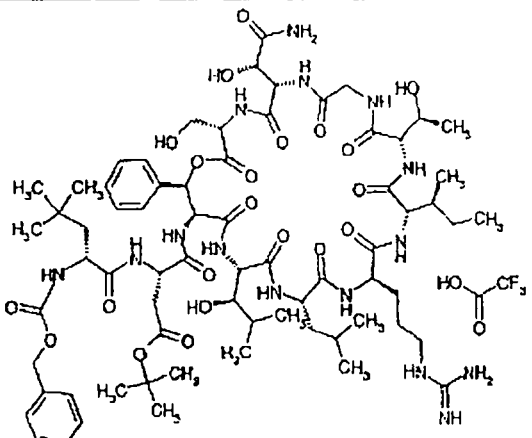
178A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-leucil-4-nitro-L-fenilalanildes(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 7,37 min. LC-MS (Método 26): $R_t =$ 2,24 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 679 (100) $[M - Boc + 2H]^{2+}$, 1456 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 11 a partir del Ejemplo 13A (0,08 mmol) y Ejemplo 73A (0,31 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 30% d. t.
-------------	--	--

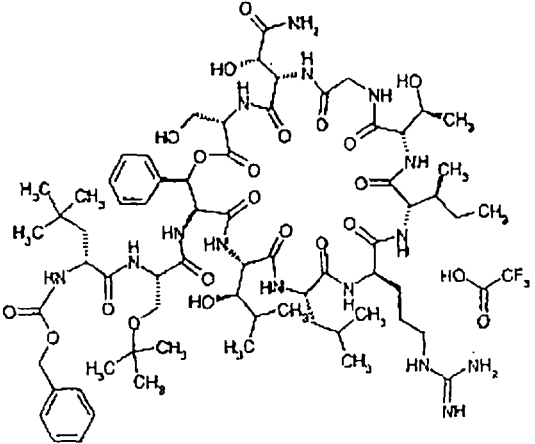
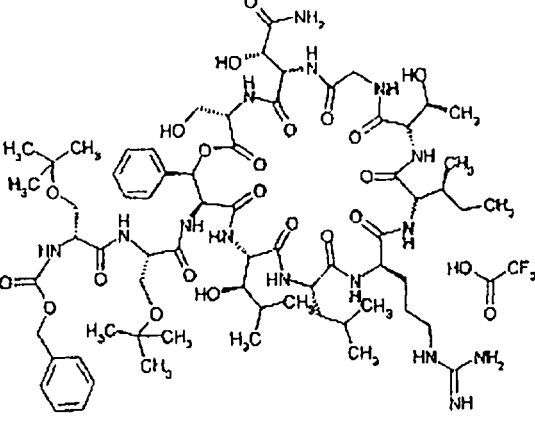
179A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-prolil-4-nitro-L-fenilalanildes(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina	HPLGL3V-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,94 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 272 (m). LC-MS (Método 29): $R_t =$ 5,2 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 671 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^+$, 1440 (70) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 78A (0,06 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 55% d. t.
180A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-protil-L-fenilalanildes(1-D-leucil-2-	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,39 min. LC-MS (Método 29): $R_t =$ 5,2 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 648 (35) $[M - \text{Boc} + 2H]^+$, 1395(100) $[M + H]^+$.

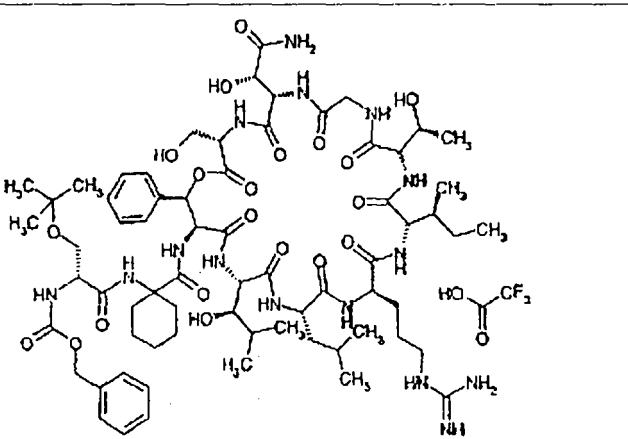
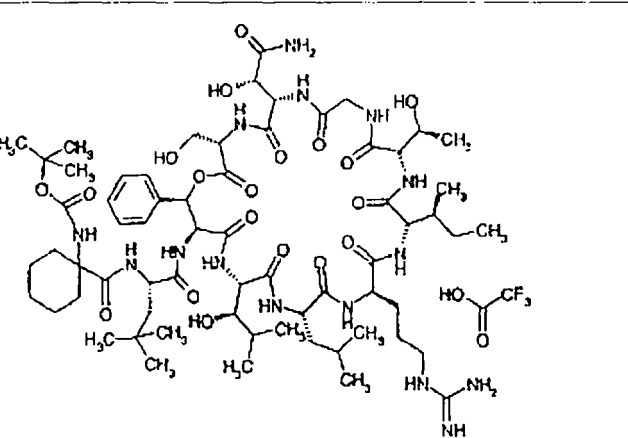
	L-leucil)lisobacina	Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,016 mmol) y Ejemplo 76A (0,063 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 40% d. t.
181 A	 trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-D-prolil-N-terc-butoxicarbonil-L-triptofildes(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 7,53$ min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 265 (m), 290 (sh). LC-MS (Método 26): $R_t = 2,16$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 718 (100) $[M - \text{Boc} + 2H]^{2+}$, 1 534 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 13A (0,02 mmol) y Ejemplo 77A (0,06 mmol). Purificación según el Método 7. Rendimiento 42% d. t.

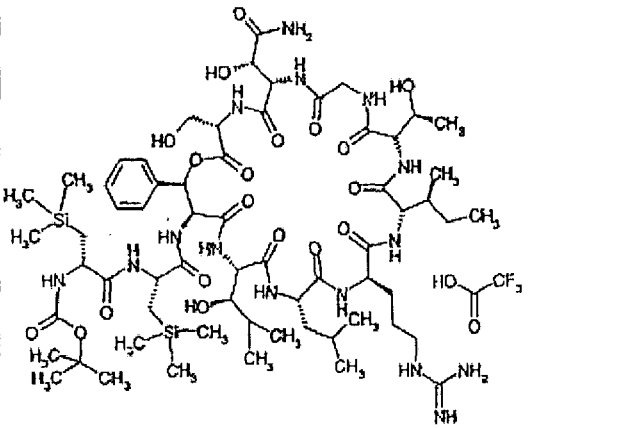
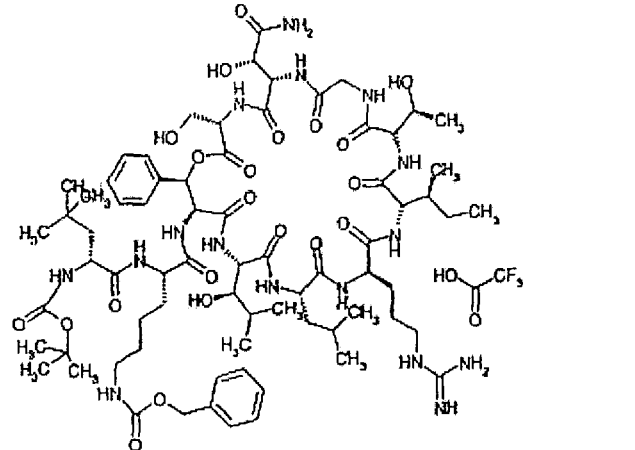
182A	 bis-trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-3-(2-piridil)-L-alanil-des(1-D-eucil-2-L-euci)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 3,80 min. LC-MS (Método 22): $R_t =$ 1,99 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 713 (100) $[M + 2H]^{2+}$ 1 425 (80) $[M + H]^+$; MS (ESIneg.): m/z (%) =711 (100) $[M - 2H]^{2-}$, 1423 (20) $[M - H]^-$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{66}H_{105}N_{16}O_{19}$ $[M + H]^+$ ber. 1425,7742, exp. 1425,7742. Disposición general de trabajo 4 a partir del Ejemplo 74A (0,23 mmol) y Ejemplo 13A (0,09 mmol). Rendimiento: 29% d. t
183A	 bis-trifluoroacetato de N-terc-butoxicarbonil-3-terc-butil-D-alanil-3-(4-piridil)-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 3,78 min. LC-MS (Método 22): $R_t =$ 2,03 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 713 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1425 (10) $[M + H]^+$; MS (ESIneg.): m/z (%) = 711 (100) $[M - 2H]^{2-}$ 1423 (20) $[M - H]^-$. HR-TOF-MS (Método 21):

		$C_{66}H_{105}N_{16}O_{19}$ $[M + H]^+$ calc. 1425,7742, exp. 1425,7773.
184A	 trifluoroacetato de [N-(terc-butoxicarbonil)- 3-terc-butil-D-alanil)-(O-bencil)-L- seril-des(1-D-leucil-2-L-leucil)	Disposición general de trabajo 4 a partir del N-terc-butoxicarbonil-3- terc-butil-D-alanil-3-(4- piridil)-L-alanina (0,15 mmol) y Ejemplo 13A (0,06 mmol). Rendimiento: 100% d. t HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 4,33 min. LC-MS (Método 26): R_t = 2,12 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1454,9 (10) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 13A (100 μmol) y

	lisobactina	Ejemplo 88A Rendimiento: 29% d. t.
5	185A	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 4,42 min.
10		Disposición general de trabajo 19
15		a partir del Ejemplo 13A (80 μmol) y
20		Ejemplo 89A. Rendimiento: 46% d. t.
25	trifluoroacetato de 1-[[N-(terc-butoxicarbonil)-3-terc-butil-D- alanil]an-amino)	
30	ciclohexancarbonil-des(1-D-leucil-2-L- leucil)lisobactina	
35	186A	HPLGLTV-Vis (Método 36): $R_t =$ 4,37 min.
40		LC-MS (Método 26): $R_t =$ 2,25 min,
45		MS (ESIpos.): m/z (%) = 1483,1 (20) [M + H] ⁺ .
50	trifluoroacetato de (2S)-2-[[[(2R)-2- [[[(benciloxi)carbonil]amino]-3-terc-butil-D- alanil]amino]-4-terc-butoxi-4-oxobutanoil- des(1-D-leucil-2-L- leucil)lisobactina	
55		
60		Disposición general de trabajo 19

		a partir del Ejemplo 13A (120 μ mol) y Ejemplo 90A. Rendimiento: 72% d. t.
187A	 trifluoroacetato de [N-(benciloxicarbonil)-3-tert-butil-D-alanil]-O-(terc-butil)-L-seril-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 4,41 min. LC-MS (Método 26): R_t = 2,47 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1455,1 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 13A (90 μmol) y Ejemplo 91 A. Rendimiento: 90% d. t.
188A	 trifluoroacetato de [N-(benciloxicarbonil)-O-(terc-butil)-D-seril]-O-(terc-butil)-L-seril-des(1-D-leucil-2-L-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 4,3 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1471,1 (30) min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1471,1 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 13A (120 μmol) y Ejemplo 92A. Rendimiento: 70% d. t.

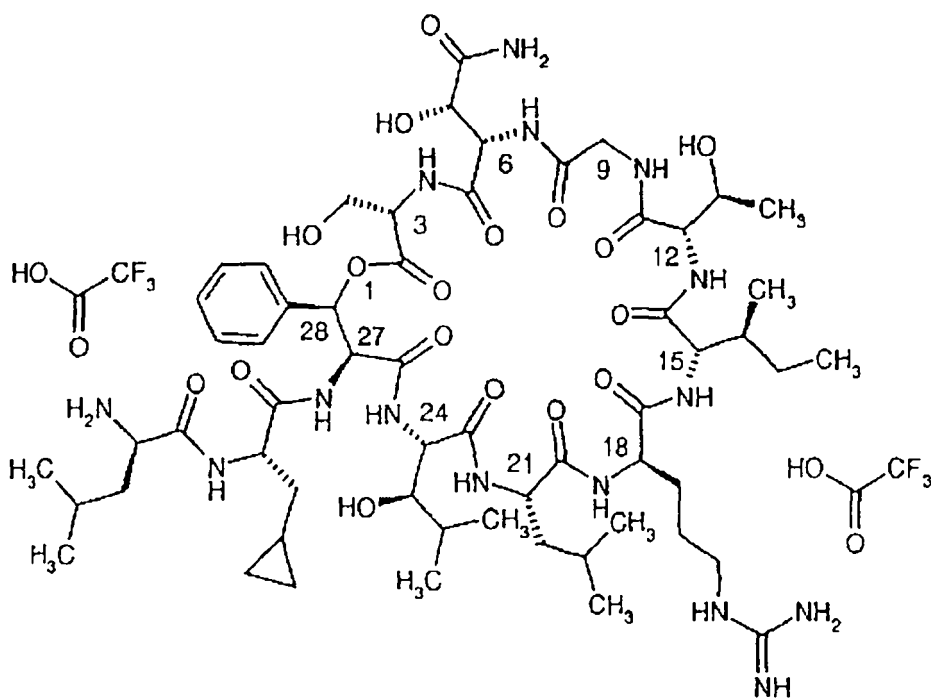
189A	 trifluoroacetato de N-[(1-[[N[(benciloxi)carbonil]-O-(terc-butil)- D-seril]amino) ciclohexil]carbonil]-des(1-D-leucil-2-L- leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 4,23 min. LC-MS (Método 26): R_t = 2,15 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1452,8 (40) $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 13A (120 μmol) y Ejemplo 93A. Rendimiento: 18% d. t.
190A	 trifluoroacetato de N-((1-[(terc- butoxicarbonil]amibo]-ciclohexil)carbonil)- 3-terc-butil-D-alanil-des(1-D-leucil-2-L- leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 4,37 min. LC-MS (Método 26): R_t = 2,21 min, MS (ESIpos). m/z (%) = 1403,1 (60) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 13A (110 μmol) y Ejemplo 94A. Rendimiento: 76% d. t.

191A	 trifluoroacetato de N-[(terc-butoxicarbonil)-3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(trimetilsilil)-L-alanil]-des(1-D-leucil-2-L-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 4,62 min. LC-MS (Método 26): $R_t =$ 2,41 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1437,1 (30) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 13A (120 μmol) y Ejemplo 95A. Rendimiento: 86% d. t.
192A	 trifluoroacetato de N-[(terc-butoxicarbonil)-4-metil-D-leucil]-N⁶-[(benciloxi)carbonil]-L-lisil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 4,41 min. LC-MS (Método 26): $R_t =$ 2,14 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1539,8 (20) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 19 a partir del Ejemplo 13A (110 μmol) y Ejemplo 96A. Rendimiento: 32% d. t.

Ejemplos de realización

Ejemplo 1

- 5 *Bistrifluoroacetato de D-leucil-N¹-{[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil)-18-(3-{[amino(imino)metil]amino)propil]-12-[(1S)-1-hidroxi-2-metilpropil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaclooctacosan-27-il]-3-ciclopropil-L-alaninamida*



De acuerdo con la disposición general de trabajo 5, se hace reaccionar el N-(terc-butoxicarbonil)-depsipéptido (Ejemplo 14A, 40 mg, 30 μ mol). Después de purificación cromatográfica por medio de HPLC preparativa (Método 8 o Método 7 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (300 μ mol) se obtienen por liofilización 36 mg (89% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 5,64 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w). LC-MS (Método 11): R_t = 2,0 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 638 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1275 (8) $[M + H]^+$.

FT-ICR-HR-MS (Método 23):

$C_{58}H_{97}N_{15}O_{17} [M + 2H]^{2+}$ calc. 637,85880, exp. 637,85878;

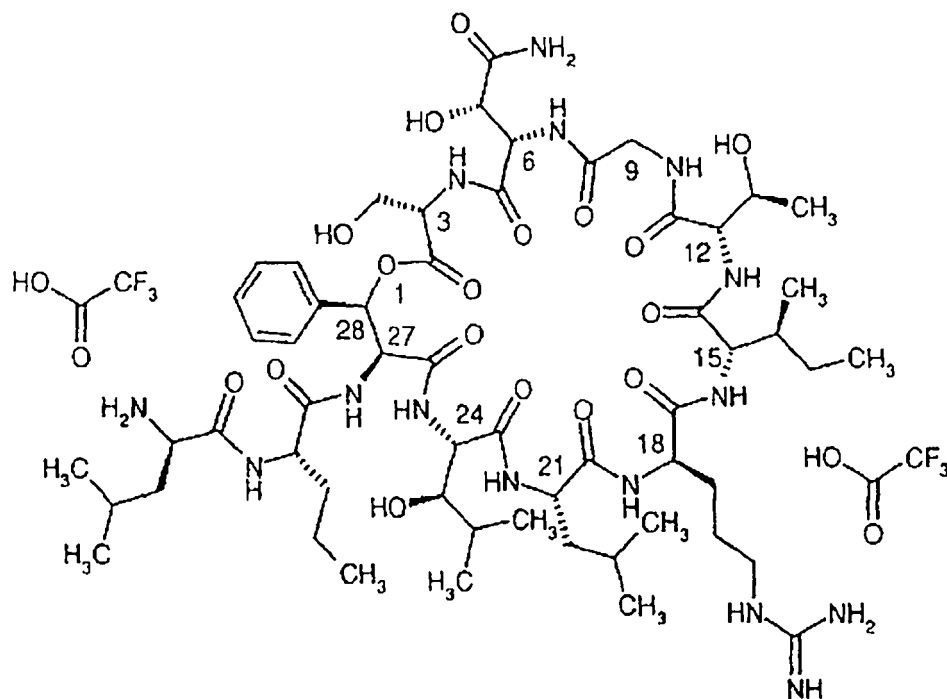
$C_{58}H_{96}N_{15}NaO_{17} [M + H + Na]^{2+}$ calc. 648,84977, exp. 648,84990.

Para la determinación de la secuencia de aminoácidos, se hidroliza una muestra analítica del producto de acuerdo con la disposición general de trabajo.

MALDI-MS (Método 20): m/z (%) = 1292,5 (100) $[M + H]^+$.

Ejemplo 2

Bistrifluoroacetato de D-leucil-N¹-{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-metilpropil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il}-3-ciclopropil-L-norvalin-amida



De acuerdo con la disposición general de trabajo 5 se hace reaccionar el N-(terc-butoxicarbonil)-depsipéptido (Ejemplo 15A, 3,1 mg, 2 μ mol). Después de purificación cromatográfica por medio de HPLC preparativa (Método 10 o Método 9 seguido de salinización posterior del producto de cromatografía por adición de TFA (30 μ mol) se obtienen por liofilización 3 mg (cuant.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 5,59 min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 11): R_t = 2,01 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 632 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1 263 (10) $[M + H]^+$;

LC-MS (Método 12): R_t = 4,05 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 632 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1 263 (10) $[M + H]^+$.

FT-ICR-HR-MS (Método 23):

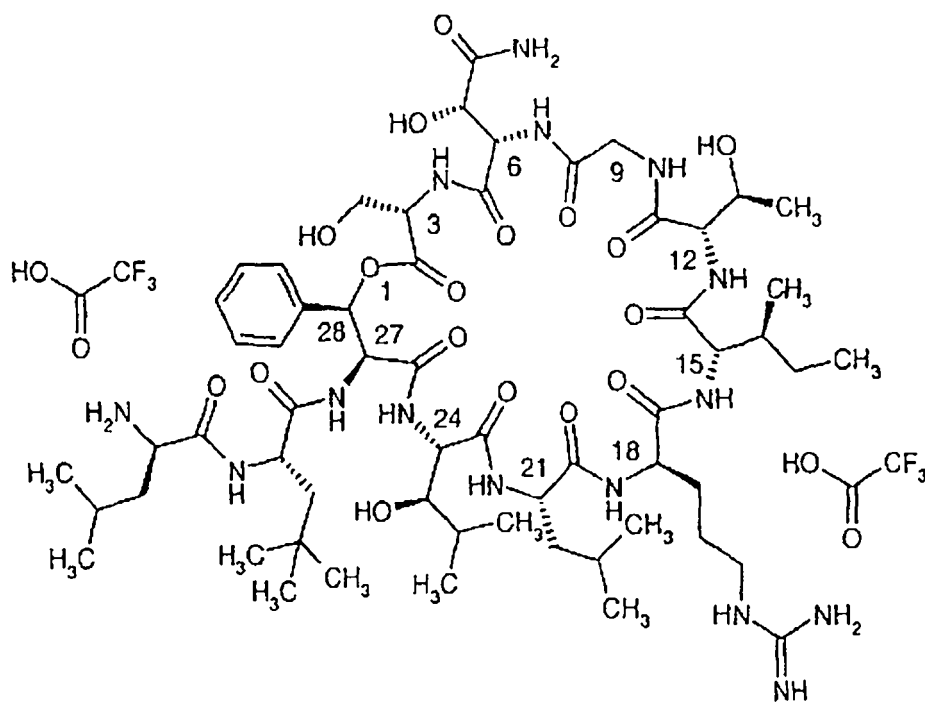
$C_{57}H_{97}N_{15}O_{17}$ $[M + 2H]^{2+}$ calc. 631,85879, exp. 631,85913.

Para la determinación de la secuencia de aminoácidos, se hidroliza una muestra analítica del producto de acuerdo con la disposición general de trabajo 10.

MALDI-MS (Método 20): m/z (%) = 1280,5 (100) $[M + H]^+$.

Ejemplo 3

Bistrifluoroacetato de D-leucil-M-[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-metilpropil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-2?-il]-3-terc-butil-L-alaninamida



De acuerdo con la disposición general de trabajo 5 se hace reaccionar el N-(terc-butoxicarbonil)-depsipéptido (Ejemplo 16A, 17 mg, 113 μ mol). Después de purificación cromatográfica por medio de HPLC preparativa (Método 15) se obtienen por liofilización 15 mg (cuant.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 5,87 min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 11): R_t = 1,95 min;

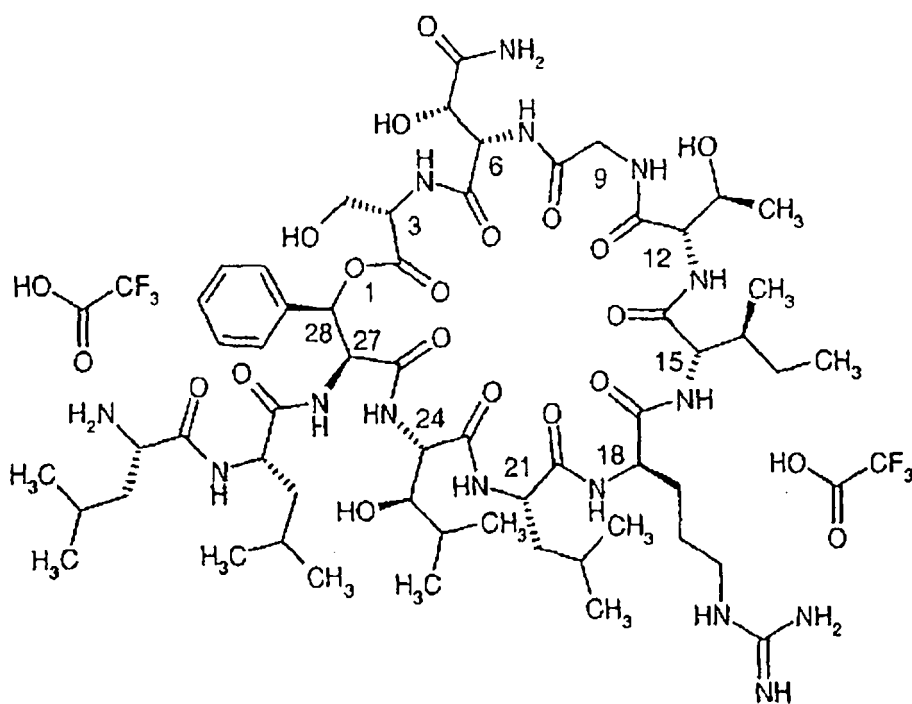
MS (ESIpos.): m/z (%) = 646 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1291 (10) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 644 (100) $[M - 2H]^{2-}$, 1289 (10) $[M - H]^-$.

Ejemplo 4

Bistrifluoroacetato de L-leucil-N¹-{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazacilooctacosan-27-il)-L-leucinamida

{Bistrifluoroacetato de epi-lisobactina}



Análogamente a la disposición general de trabajo 5 se hace reaccionar monotrifluoroacetato de N-(terc-butoxicarbonyl)-epi-lisobactina (Ejemplo 17A, 1,3 mg, 1 μ mol). El producto crudo se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 15). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtiene 1,0 mg (42% d. t.) de producto.

HPLC/W-Vis (Método 13): R_t = 5,68 min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 12): R_t = 4,35 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 639 (100) $[M+2H]^{2+}$, 1277 (5) $[M+H]^+$;

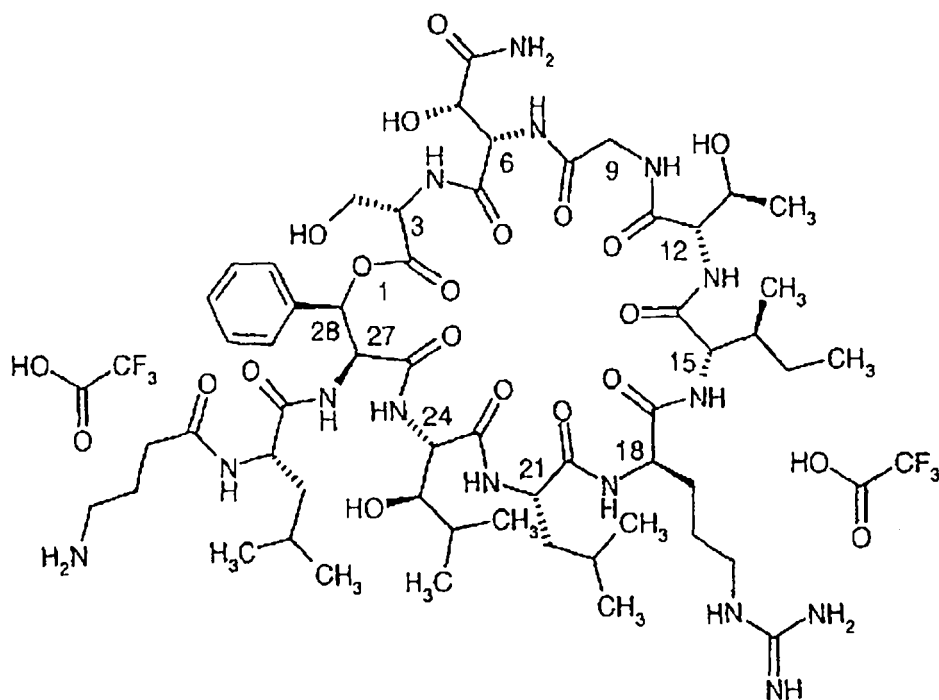
MS (ESIneg.): m/z (%) = 1275 (100) $[M-H]^-$.

HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1276,7265, exp. 1276,7261 $[M+H]^+$.

Ejemplo 5

Bistrifluoroacetato de N^2 -(4-aminobutanoil)- N^1 -[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[[amino(imino)metil]amino]propil]-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida

{Bistrifluoroacetato de 4-aminobutanoil-des(leucil)lisobactina}



Análogamente a la disposición general de trabajo 5 se hace reaccionar trifluoroacetato de {4-[(terc-butoxicarbonil)amino]butanoil}-des(leucil)lisobactina (Ejemplo 18A, 2,3 mg, 2 μ mol). El producto crudo se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 15). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 1,5 mg (35% d. t.) de producto.

LC-MS (Método 12): R_t = 3,93 min;

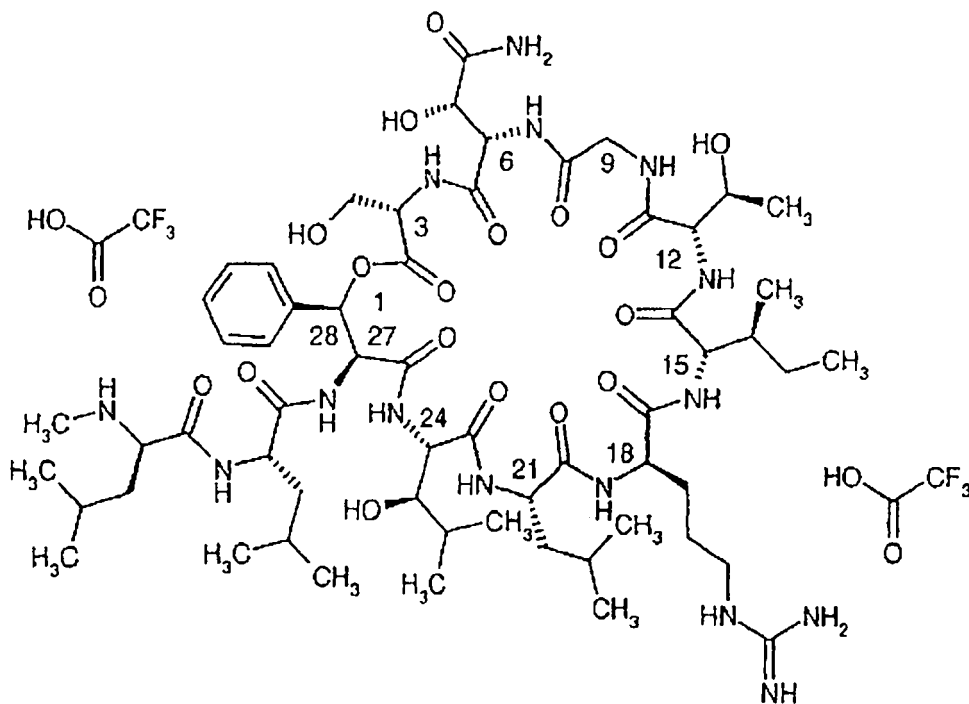
MS (ESIpos.): m/z (%) = 625 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1248 (15) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1247 (100) $[M - H]^-$.

Ejemplo 6

Bistrifluoroacetato de N-metil-D-leucil-N-[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(15S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nona-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida

{Bistrifluoroacetato de N-metil-lisobactina}



Análogamente a la disposición general de trabajo 5 se hace reaccionar monotrifluoroacetato de N-(terc-butoxi-carbonil)-N-metil-lisobactina (Ejemplo 19A, 1,9 mg, 1 μ mol). El producto crudo se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 15). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 1,8 mg (cuant.) de producto.

LC-MS (Método 12): $R_t = 4,27$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 646 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1291 (15) $[M + H]^+$;

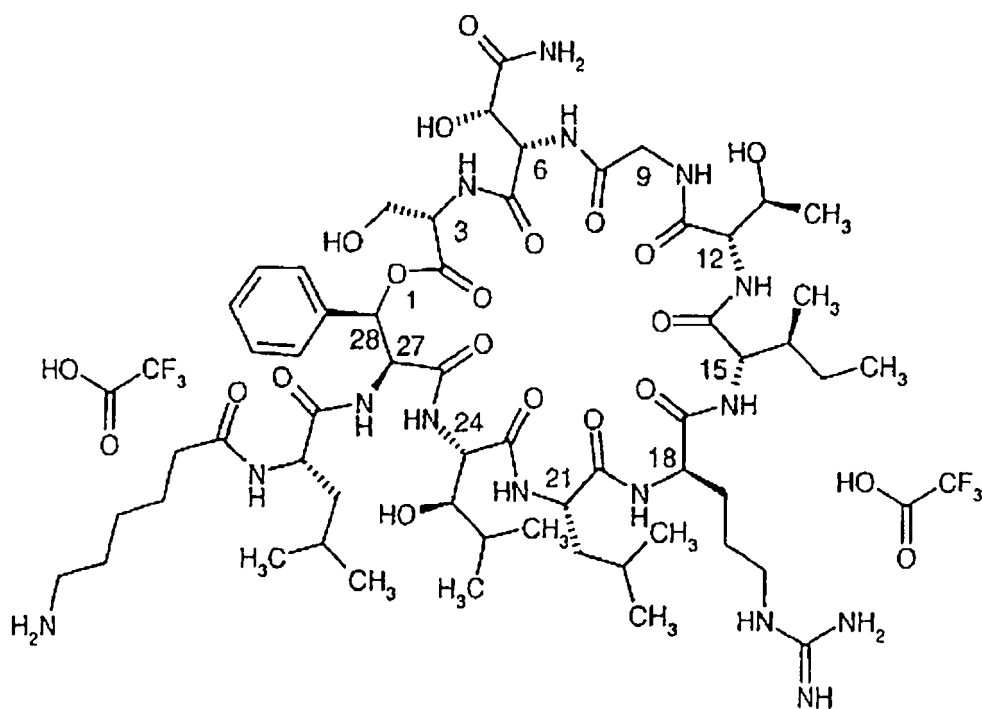
MS (ESIneg.): m/z (%) = 1289 (100) $[M - H]^-$.

HR-TOF-MS (Método 21): $C_{59}H_{100}N_{15}O_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1290,7422, exp. 1290,7415.

Ejemplo 7

Bistrifluoroacetato de N²-(6-aminohexanoil)-N¹-{(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil)-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-27-il}-L-leucinamida

{Bistrifluoroacetato de N-(6-aminohexanoil)-des(leucil)lisobactina}



Análogamente a la disposición general de trabajo 5 se hace reaccionar monotrifluoroacetato de {6-[(terc-butoxi-carbonil)amino]hexanoil}-des(leucil)lisobactina (Ejemplo 20A, 350 μ g, 1 μ mol). El producto crudo se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 15). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 300 μ g (cuant.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 5,28 min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 12): R_t = 4,00 min;

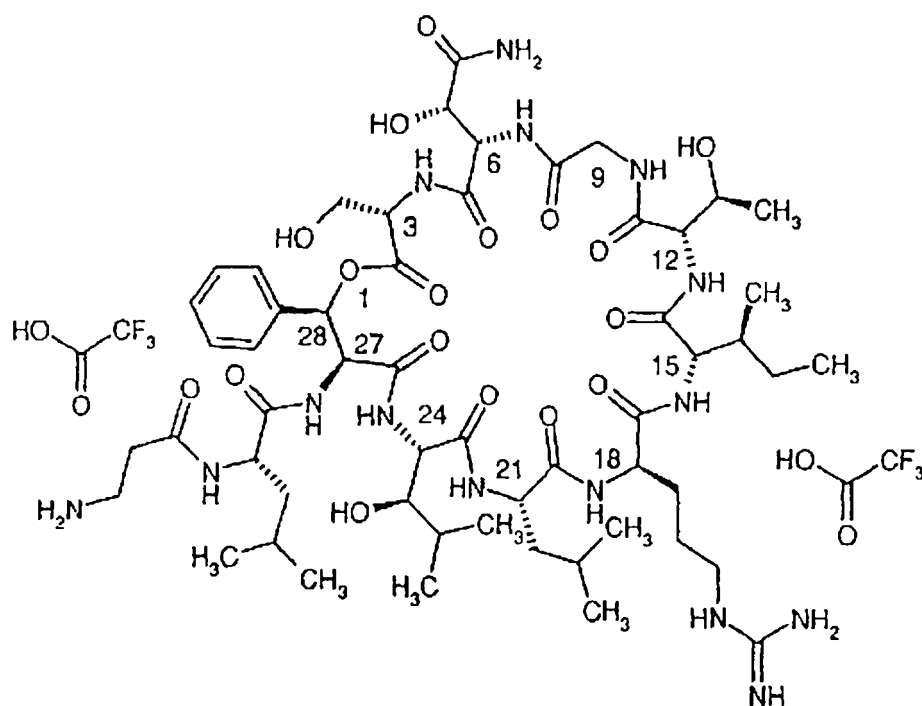
MS (ESIpos.): m/z (%) = 639 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1277 (10) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1275 (100) $[M - H]^-$.

Ejemplo 8

Bistrifluoroacetato de N²-(3-aminopropionil)-M-[(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaixo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-27-il]-L-leucinamida

{Bistrifluoroacetato de N-(3-aminopropionil)-des(leucil)lisobactina}



Análogamente a la disposición general de trabajo 5 se hace reaccionar monotrifluoroacetato de {6-[(terc-butoxi-carbonil)amino]hexanoil}-des(leucil)lisobactina (Ejemplo 21A, 2,2 mg, 1,5 μ mol). El producto crudo se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 15). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 200 μ g (11% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 4,96 min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

[C-MS (Método 12): R_t = 3,86 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 618 (100) $[M + 2H]^+$, 1235 (15) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1233 (100) $[M - H]^-$.

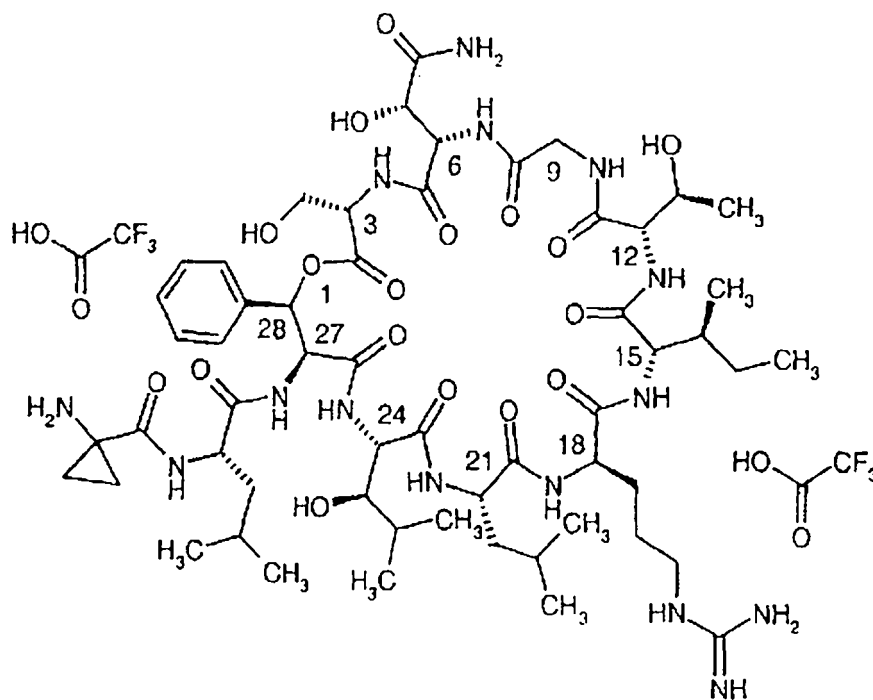
Para la determinación de la secuencia de aminoácidos, se hidroliza una muestra analítica del producto de acuerdo con la disposición general de trabajo 10.

MALDI-MS (Método 20): m/z (%) = 1252,8 (100) $[M + H]^+$.

Ejemplo 9

Bistrifluoroacetato de N^2 -({1-aminociclopropil}carbonil)- N^1 -{(3*S*,6*S*,12*S*,15*S*,18*R*,21*S*,24*S*,27*S*,28*R*)-6-[(1*S*)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1*S*)-1-hidroxietil]-3-(hidroximetil)-24-[(1*R*)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1*S*)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il}-L-leucinamida

[Bistrifluoroacetato de N -({1-aminociclopropil}carbonil)-des(leucil)lisobactina]



Análogamente a la disposición general de trabajo 5 se hace reaccionar monotrifluoroacetato de N -({1-[(terc-butoxicarbonil)amino]ciclopropil}carbonil)-des(leucil)lisobactina (Ejemplo 22A, 400 μg , 0,3 μmol). El producto crudo se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 15). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 200 μg (50% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): R_t = 5,29 min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 12): R_t = 4,08 min;

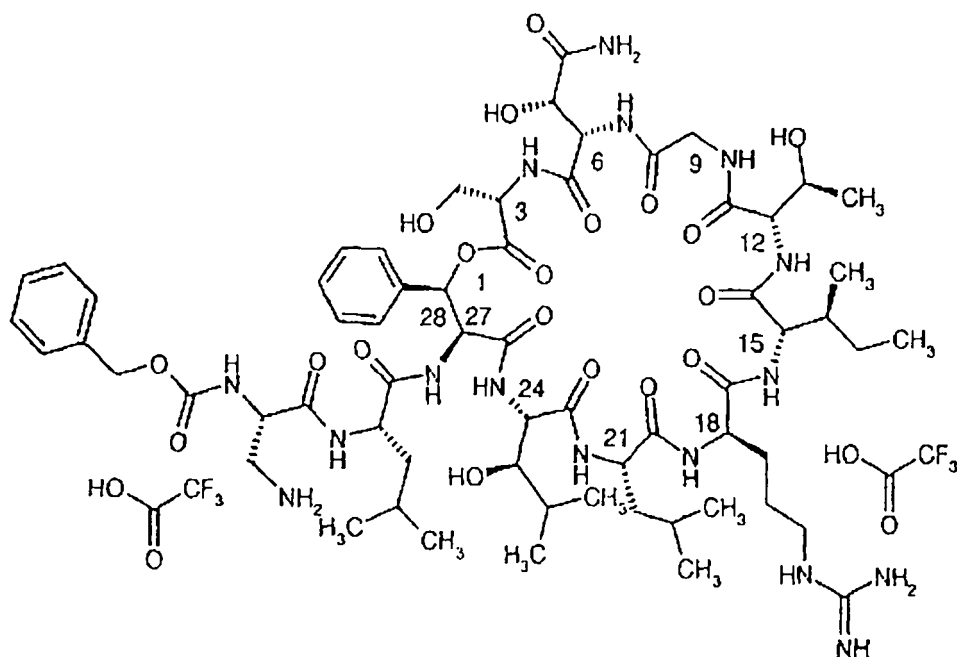
MS (ESIpos.): m/z (%) = 1247 (100) $[\text{M} + \text{H}]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 1245 (100) $[\text{M} - \text{H}]^-$.

Ejemplo 10

Bistrifluoroacetato de 3-amino-N-[(benciloxi)carbonil]-L-alanil-N¹-{(3S, 6S, 12S, 15S, 18R, 21S, 24S, 27S, 28R)-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-[[amino(imino)metil]amino]propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-oxoetil]-3-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,17,20,23,26-nonaoxo-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octaazaciclooctacosan-27-il}-L-leucinamida

[Bistrifluoroacetato de 3-amino-N-[(benciloxi)carbonil]-L-alanil]-des(leucil)lisobactina]



Análogamente a la disposición general de trabajo 5 se hace reaccionar monotrifluoroacetato de {N-[(benciloxi)carbonil]-3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-L-alanil}-des(leucil)lisobactina (Ejemplo 23A, 300 μ g, 0,2 μ mol). El producto crudo se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 15). Después de liofilizar las fracciones de producto, se obtienen 200 μ g (65% d. t.) de producto.

LC-MS (Método 12): $R_t = 4,20$ min;

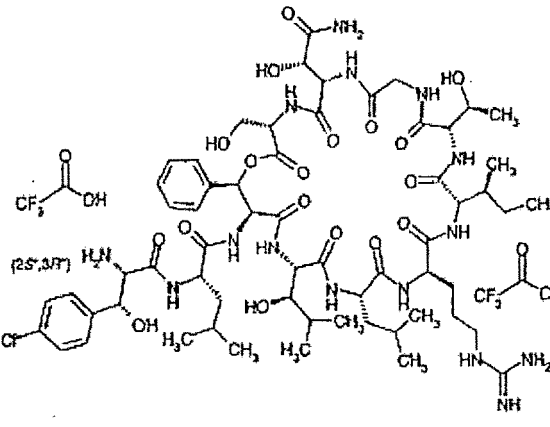
MS (ESIpos.): m/z (%) = 692,5 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1384 (5) $[M + H]^+$;

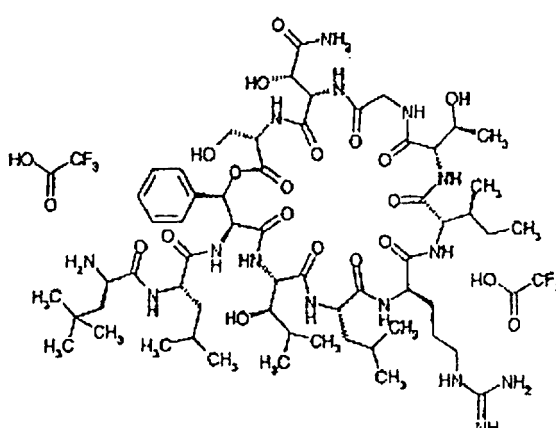
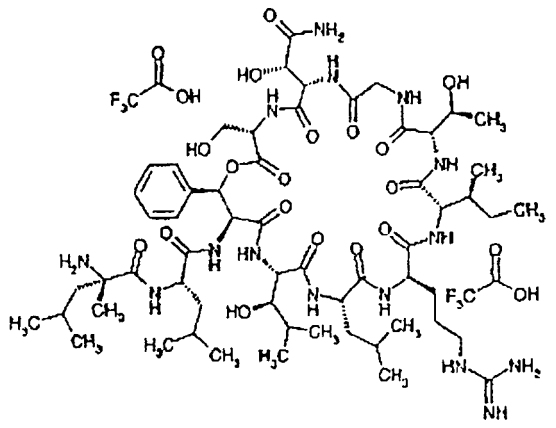
MS (ESIneg.): m/z (%) = 1382 (100) $[M - H]^-$.

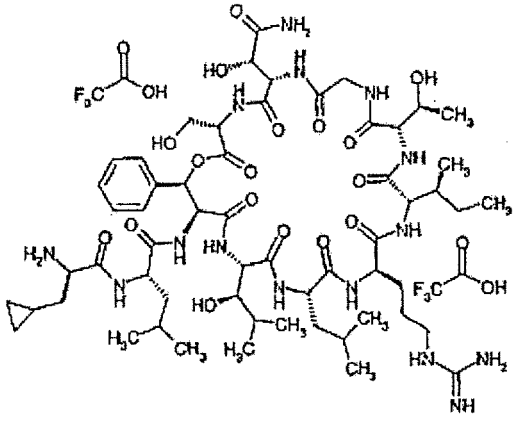
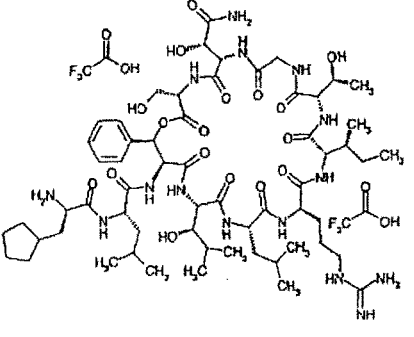
ES 2 330 221 T3

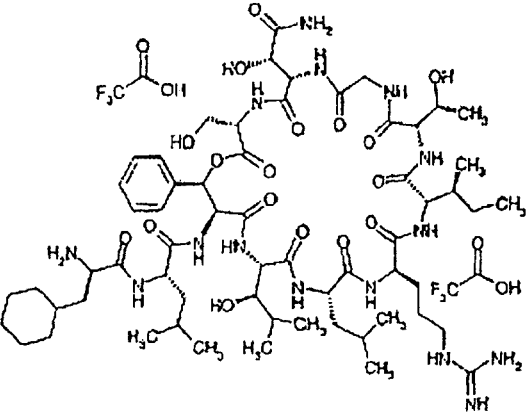
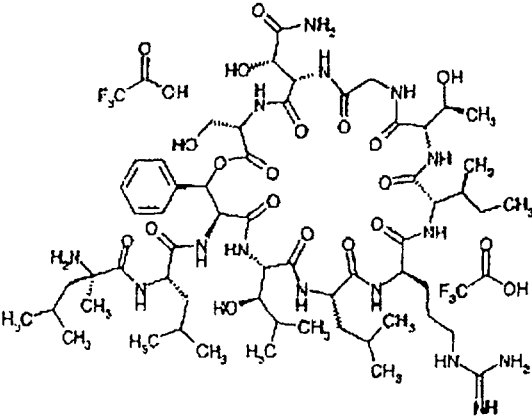
TABLA 5

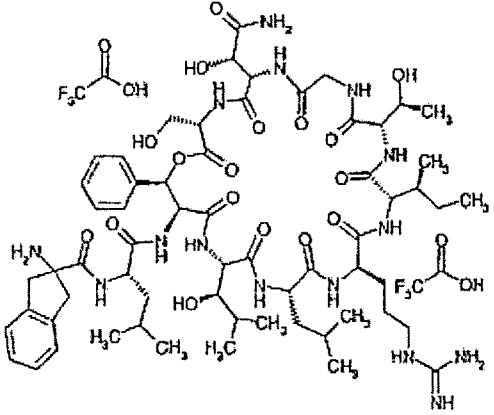
Ruta Edman^{1.0}

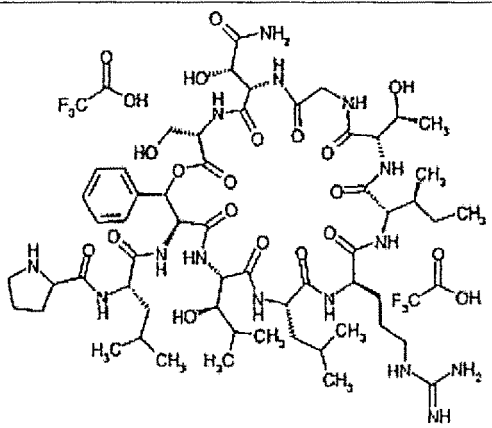
N.º de ejemplo	Estructura Nombre	Datos analíticos Método de preparación
11	 bistrifluoroacetato de [3-(4-clorofenil)-treo-rac-seril]-des(1-D-leucil)lisobactina	HR-TOF-MS (Método 21): C₆₁H₉₅N₁₅O₁₈Cl [M+H]⁺ ber. 1360,6668, exp. 1360,6697. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 97A (0,01 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 35% d. t.

12	 bis-trifluoroacetato de 3-terc-butil-D-alanil-des(1-D-leucil)isobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 6,01$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,61$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 646(100)
13		HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 5,82$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,55$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 646 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1291 (30) $[M + H]^+$.

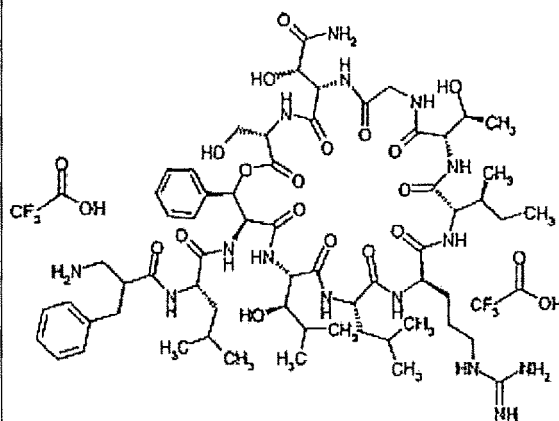
	bistrifluoroacetato de 2-metil-L-leucil-des(1-D-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 99A (0,01 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 47% d. t.
14	 bis-trifluoroacetato de 3-ciclopropil-D-alanil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,5$ min. LC-MS (Método 29): $R_t = 4,29$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 638 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1275 (30) $[M + H]^+$.
15	 bis-trifluoroacetato de 3-ciclopentil-D-alanil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 6,19$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,66$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 652 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1303 (30) $[M + H]^+$.

	alanil-des(1-D-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 101 A (0,002 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: cuant.
16	 bistrifluoroacetato de 3-ciclohexil-D-alanil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 6,17$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,73$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 659 (100) $[M + 2H]^{2+}$
17		HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 5,76$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,60$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 646 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1291 (30) $[M + H]^+$.

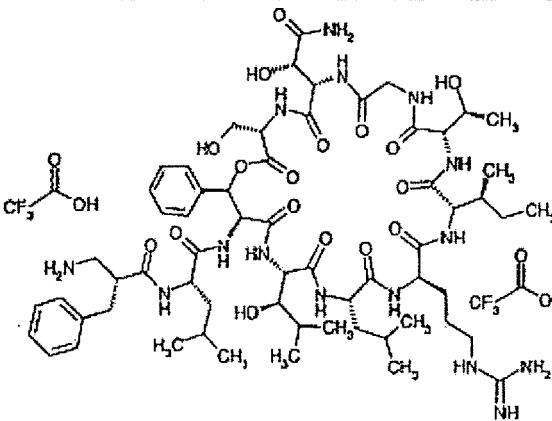
	bistri-fluoroacetato de 2-metil-D-leucil-des(1-D-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 103A (0,01 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 68% d. t.
18		HPLC/LTV-Vis (Método 13): $R_t = 5,96$ min. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{62}H_{96}N_{15}O_{17}$ $[M+H]^+$ calc. 1322,7109, exp. 1322,7076.
	bistrifluoroacetato de (2-amino-2,3-dihidro-1 I-1-inderiilcarbonil)-des(1-D-leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 104A (0,06 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 54% d. t.

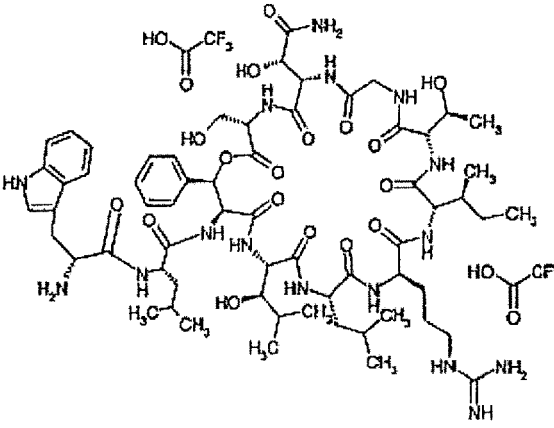
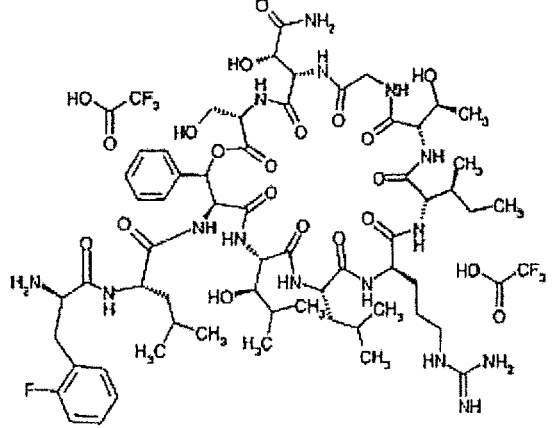
19	 bistrifluoroacetato de D-prolil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 5,79$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,45$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 1261 (100) $[M+2H]^{2+}$, 631 (30) $[M+H]^+$.
		Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 105A (0,01 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 95% d. t.

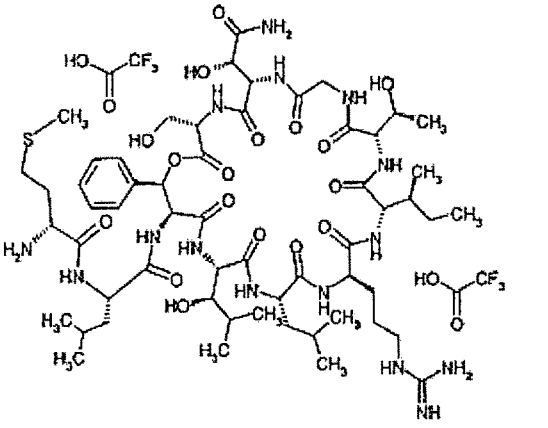
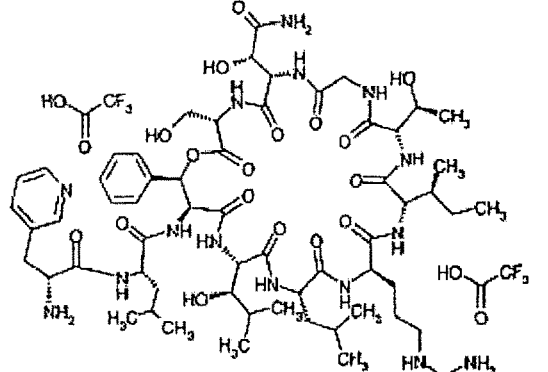
20			LC-MS (Método 26): $R_t =$
5			1,62
			min (100%);
10			MS (ESIpos.): m/z (%) =
			663,2
			(100) $[M + 2H]^{2+}$, 1324,8(8)
15			$[M +$
			$H]^+$;
			MS (ESIneg.): m/z (%) =
20			661,0
			(100) $[M - 2H]^{2-}$, 1368,9
			(30) $[M +$
25			$HCOOH - H]^-$.
			HR-TOF-MS (Método 21):
30			1324,7265, exp.
			1324,7230.
35			
40			A partir del Ejemplo 106A
			según la disposición
			general de trabajo 5 y
			cromatografía (Método 8).
45			Rendimiento: 8,3 mg
			(14%) en 2 etapas.

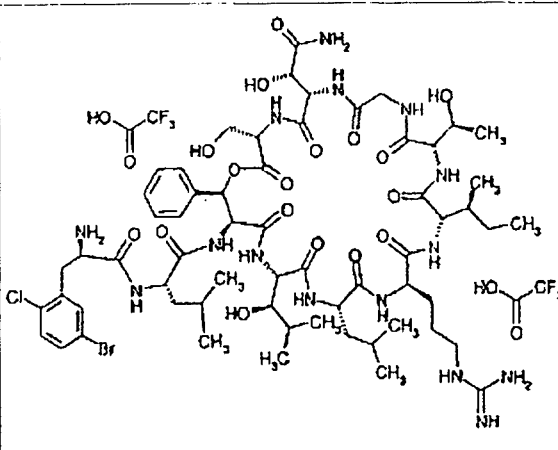
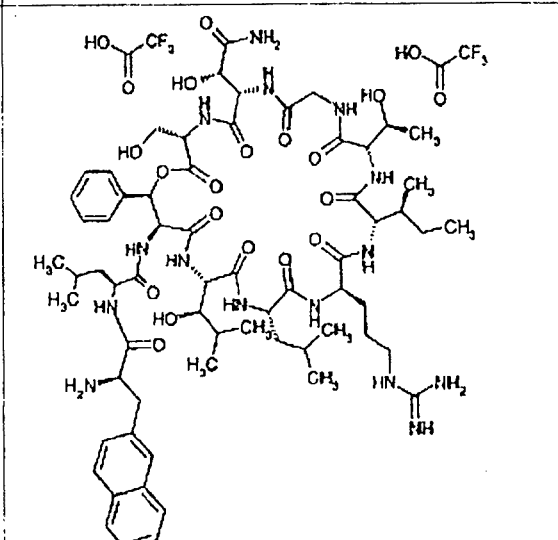


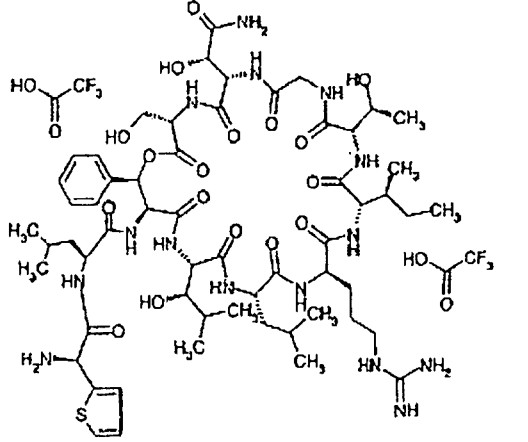
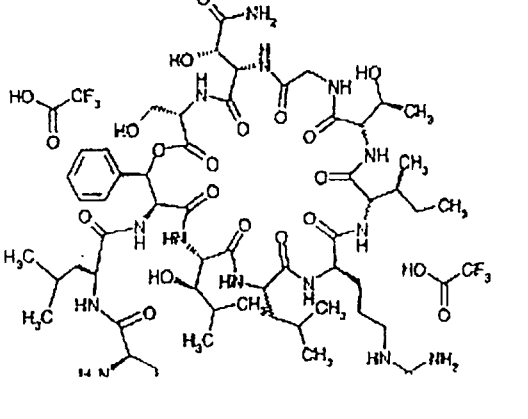
bistrifluoroacetato de ((2S)-3-amino-2-bencil-propanoil)-des(1-D-leucil)lisobactina

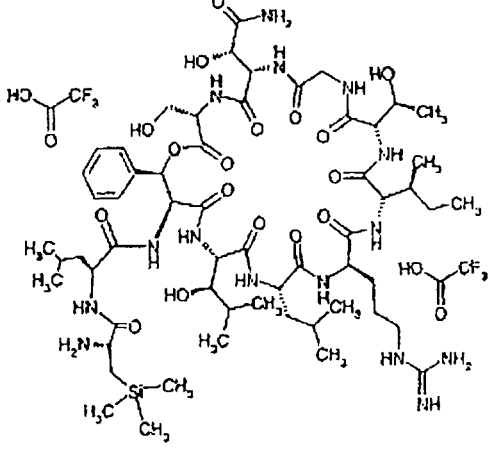
21	 bistrifluoroacetato de [(2R)-3-amino-2-bencil-propanoil]-des(1-D-leucil)lisobactina	LC-MS (Método 26): $R_t = 1,55$ min (100%); MS (ESIpos.): m/z (%) = 663,2 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1324,8(8) $[M + H]^+$; MS (ESIneg.): m/z (%) = 661,1 (100) $[M - 2H]^{2-}$, 1322,8 (25) $[M - H]^-$, 1368,9 (36) $[M + HCOOH - H]^-$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{62}H_{98}N_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1324,7265, exp. 1324,7230. A partir del Ejemplo 107A según la disposición general de trabajo 5 y cromatografía (Método 8). Rendimiento: 3,1 mg (5%) en 2 etapas
----	--	--

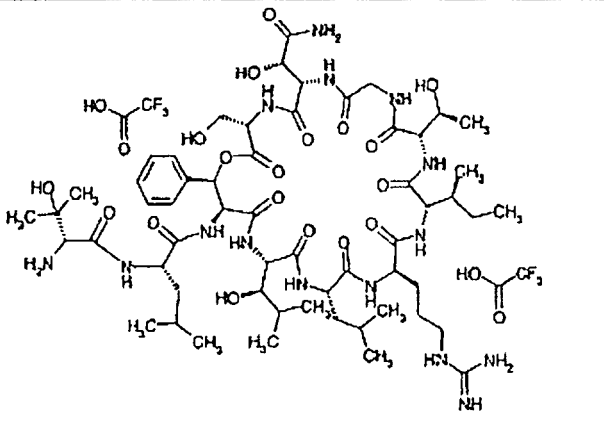
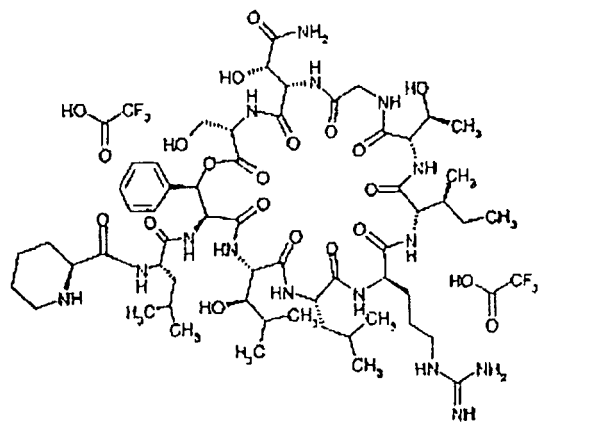
22	 bis-trifluoroacetato de D-triptyl-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,55$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,56$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 675(100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1349,7218, exp. 1349,7202 $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 108A (26 μmol). Rendimiento: 56%
23	 bis-trifluoroacetato de (2-fluoro-D-phenilalanil)-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,55$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,60$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1327 (35) $[M+H]^+$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1328,7014, exp. 1328,6971 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 20

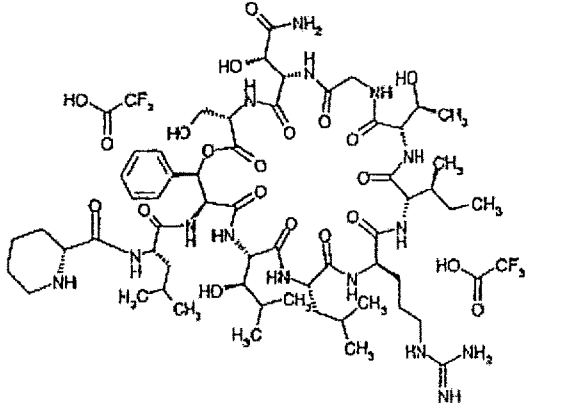
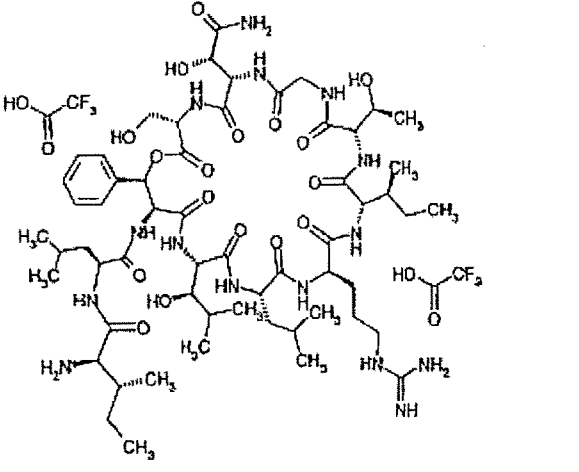
		a partir del Ejemplo 109A (26 mol). Rendimiento: 44% d. t.
24	 bistrifluoroacetato de D-metionil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,47$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,52$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1293 $[M]^+$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1294,6829, exp. 1294,6788 $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 110A (26 μmol). Rendimiento: 36% d. t.
25		HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,28$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,45$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 656,8 $[M + 2H]^{2+}$ (35).

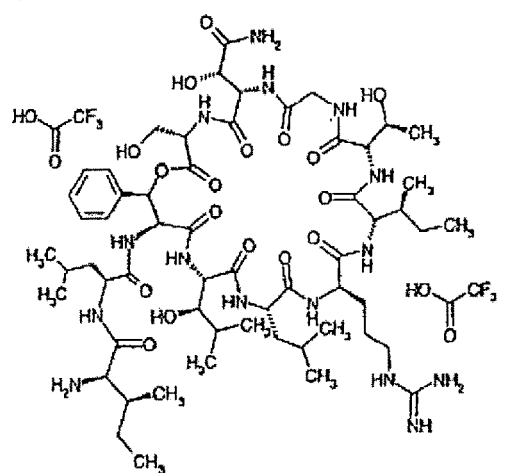
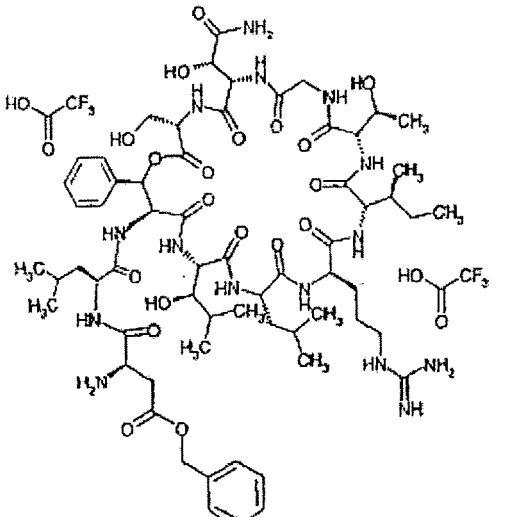
		Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 111A (24 μmol). Rendimiento: 15% d. t.
26	 bistrifluoroacetato de (3-bromo-6-cloro-D-fenilalanil)-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,65 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,75 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 711,5 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1422,5824, exp. 422,5838 $[M + H]^+$
27		HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,68 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,82 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 681,3 (100) $[M]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc.

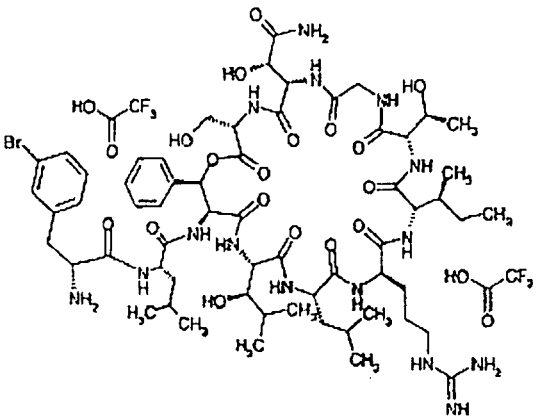
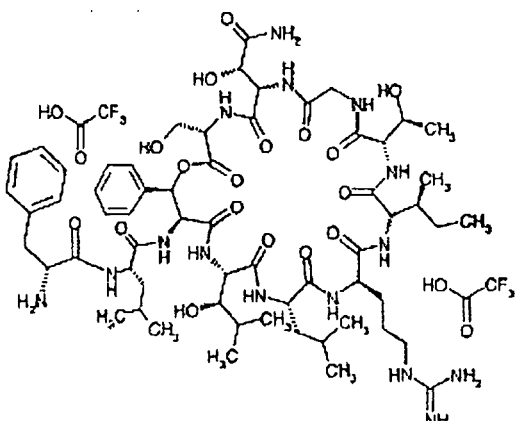
		1360,7265, exp. 1360,7285 [M+H]⁺. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 113A (25 µmol). Rendimiento: 37%
28	 bistrifluoroacetato de [(2R)-amino(2-tienil)acetil]-des(1-D-leucil)- lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,46 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,60 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1303 (5) [M+H]⁺. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1302,6694, exp. 1302,6698 [M+H]⁺. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 114A (8 µmol). Rendimiento: 45%
29		HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,39 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,43 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 664,3

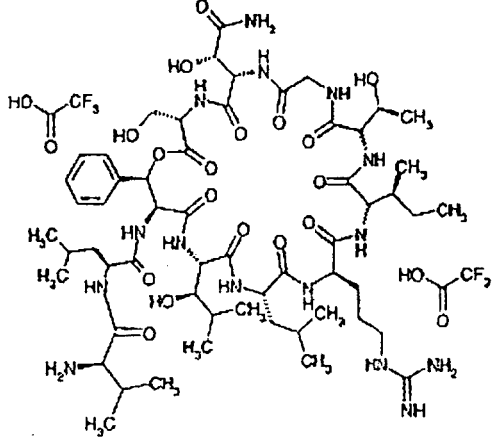
		(100) $[M + 2H]^{2+}$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1326,7058, exp. 1326,7032 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 115A (25 μmol). Rendimiento: 50%
30	 bistrifluoroacetato de [3-(trimetilsilil)-L-alani]]-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,64$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,56$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 654,3(100) $[M + 2H]^{2+}$; 1307 (2) $[M+H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1306,7191, exp. 1306,721 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 116A (216 mol). Rendimiento: 36%

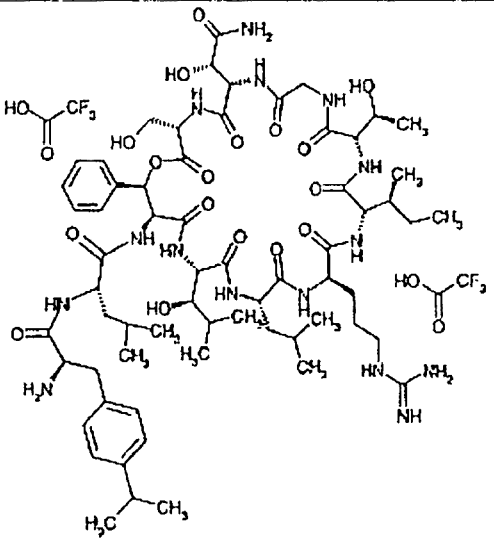
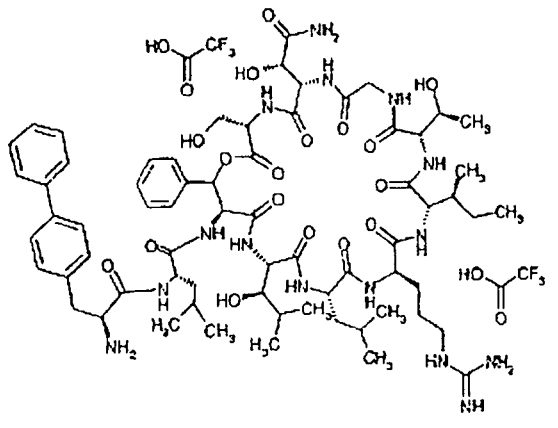
31	 bistrifluoroacetato de (3-hidroxi-D-valil)-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,39$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,59$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 640,1 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1278,7058, exp. 1278,7039 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 117A (19 μmol). Rendimiento: 22% d. t.
32	 bistrifluoroacetato de L-pipecolil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,39$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,35$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 638,3 (100) $[M + 2H]^{2+}$ 1274,7109, exp. 1274,7087 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo

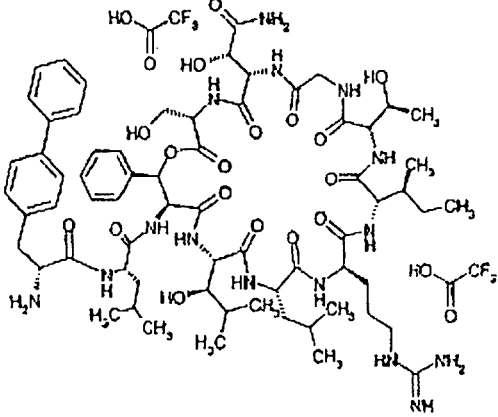
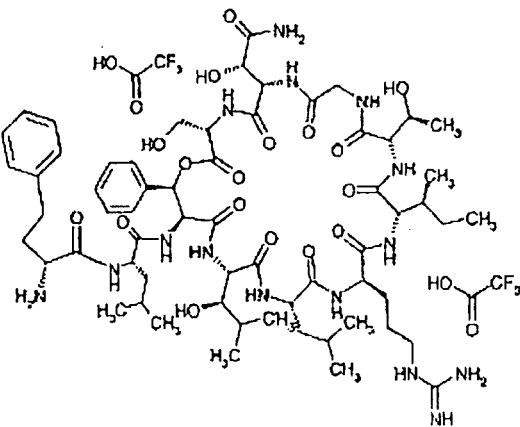
		118A (21 μ mol). Rendimiento: 40% d. t.
33	 bistrifluoroacetato de D-pipecolil-des(1-D-leucil) lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,42 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,38 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1275 (10) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1274,7109, exp. 1274,083 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 119A (22 pmol). Rendimiento: 36% d. t.
34	 bistrifluoroacetato de D-isoleucil-des(1-D-leucil) lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,55 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,54 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 639,3 (100) $[M+2H]^{2+}$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 120A (20 μmol). Rendimiento: 36% d. t.

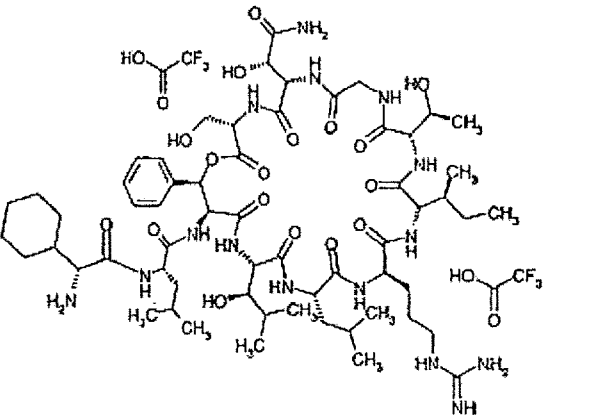
35	 bistrifluoroacetato de D-alloisoleucil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,56$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,57$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 639,3 (100) $[M+2H]^{2+}$ Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 121A (17 μmol). Rendimiento: 6% d. t.
36	 bistrifluoroacetato de [(2R)-2-amino-4-(benciloxi)-4-oxobutanoil]-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,62$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,60$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 685(100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1368,7133, exp. 1368,7163 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 137A (117 mol). Rendimiento: 28% d. t.

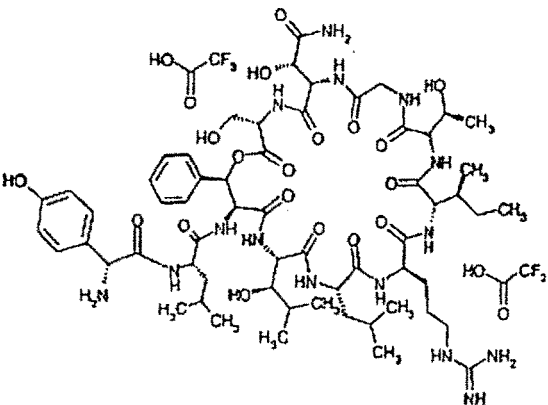
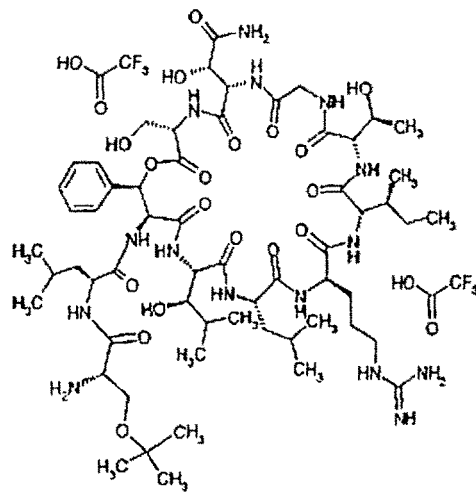
37	 bistrifluoroacetato de (3-bromo-D- fenilalanil)-des(1 -D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,64 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,70 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 695,1 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1388,6214, exp. 1388,6243 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 122A (22 mol). Rendimiento: 22% d. t.
38	 bistrifluoro-acetato de D-fenilalanil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,56 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,59 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 656(100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1310,7157, exp. 1310,7109 $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 20

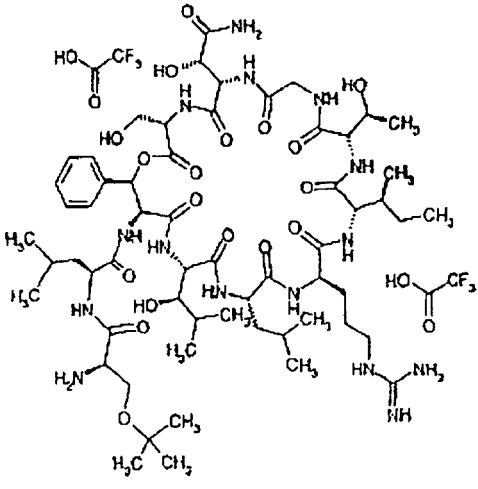
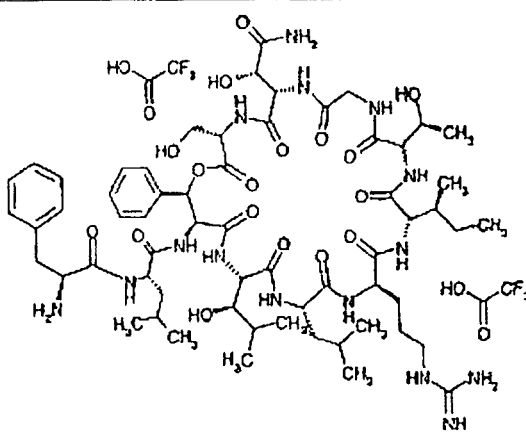
		a partir del Ejemplo 123A (43 μ mol). Rendimiento: 33% d. t.
39	 bistrifluoroacetato de D-valil-des(1-D-leucil)isobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 4,49 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,47 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 632 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1262,7168, exp. 1262,7109 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 124A (29 μmol). Rendimiento: 39% d. t.

40	 bistrifluoroacetato de (4-isopropil-D-fenilalanil)-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,76$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,75$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 677,4 (100) $[M + 2H]^{2+}$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1352,7578, exp. 1352,7510 $[M+H]^+$.
		Disposición general de trabajo 22 a partir del Ejemplo 125A (24 mol). Rendimiento: 52% d. t.
41	 bistrifluoroacetato de (3-bifenil-L-alanil)-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,73$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,80$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 694,3 (100) $[M + 2H]^{2+}$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1386,7422, exp. 1386,7412 $[M+H]^+$.
		Disposición general de

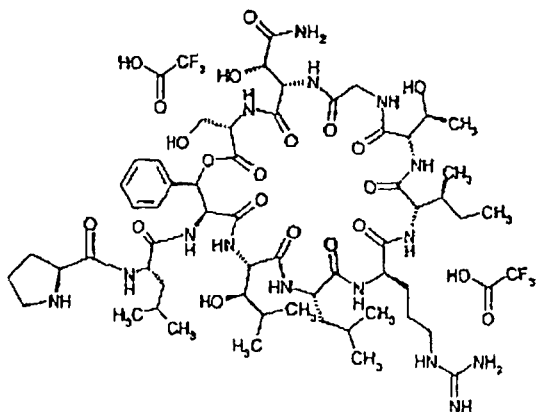
		trabajo 20 a partir del Ejemplo 126A (37 μmol). Rendimiento: 28% d. t.
42	 bistrifluoroacetato de (3-bifenil-D-alanil)-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,74 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,58 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 694,3 (100) $[M + 2H]^{2+}$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1386,7422, exp. 1386,7407 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 20 a partir del Ejemplo 127A (74 μmol). Rendimiento: 45% d. t.
43	 bistrifluoroacetato de ((2R)-2-amino-4-fenilbutanoil)-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,64 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,47 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 663,3 (100) $[M + 2H]^{2+}$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1324,7265, exp.

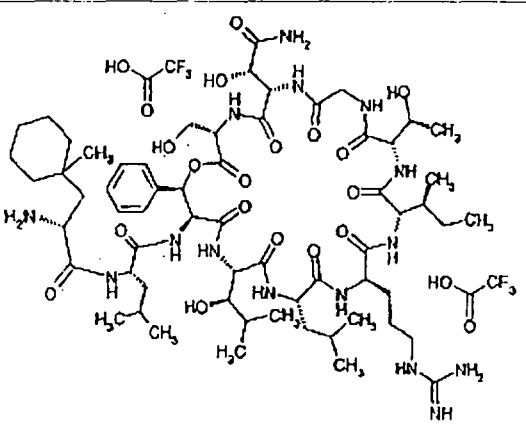
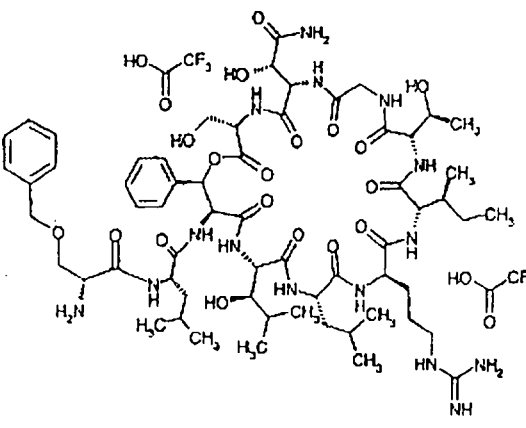
		13234,7226 [M+H]⁺. Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 128A (37 µmol). Rendimiento: 27% d. t.
44	 bistrifluoroacetato de [(2R)- amino(ciclohexil)acetil]-des(1-D-leucil)- lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,6 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,44 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 652,3 (100) [M + 2H]²⁺ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1302,7422, exp. 1302,7346 [M+H]⁺ Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 129A (36 µmol). Rendimiento: 38% d. t.

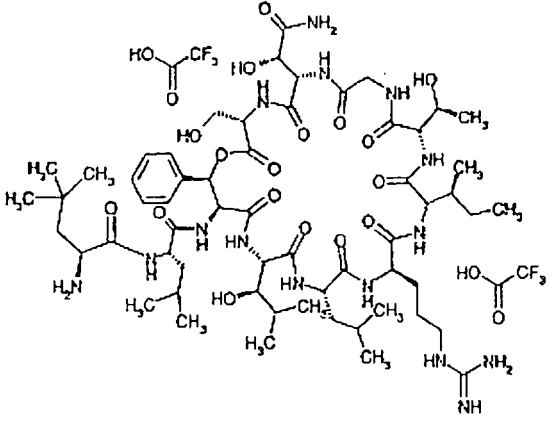
45	 bistrifluoroacetato de [(2R)-amino(4-hidroxifenil)acetil]-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,35$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,24$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 657,3 (100) $[M + 2 H]^{2+}$, 1313,1 (3) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1312,6901, exp. 1312,6916 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 130A (37 μmol). Rendimiento: 24% d. t.
46	 bis-trifluoroacetato de [O-(terc-butil)-L-seril]-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,52$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,54$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1307 (3) $[M+H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1306,7371, exp. 1306,7307 $[M+H]^+$. Disposición general de

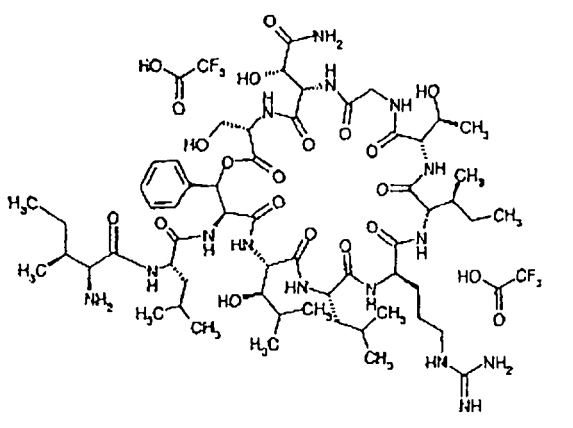
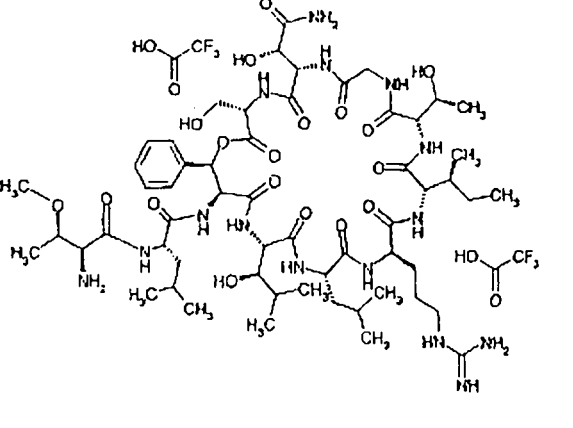
		trabajo 22 a partir del Ejemplo 131A (76 μmol). Rendimiento: 48% d. t.
47	 bistrifluoroacetato de [O-(terc-butil)-D-seril]-des(1-D-leucil)isobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,56 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,47 MS (ESIpos.): m/z (%) = 1306,9 (3)[M+H]⁺. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1306,7371, exp. 1306,7393 [M+H]⁺. Disposición general de trabajo 22 a partir del Ejemplo 132A (37 mol). Rendimiento: 79% d. t.
48	 bistrifluoroacetato de L-fenilalanil-des(1-D-leucil)	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,52 min. LC-MS (Método 26): R_t 1,44 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1311,1 (5) [M + H]⁺. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1310, 7109, exp. 1310, 7153

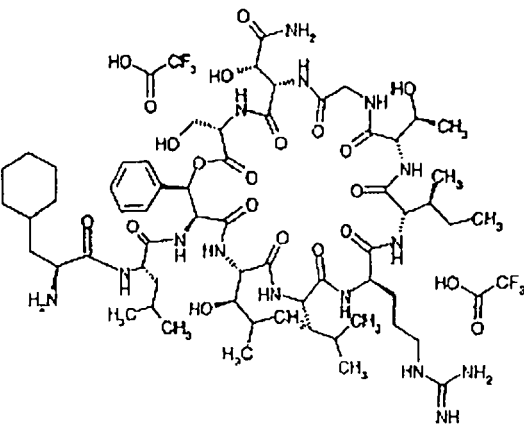
	lisobactina	[M+H] ⁺
5		Disposición general de
10		trabajo 21
		a partir del Ejemplo
		133A (77 µmol).
		Rendimiento: 63% d. t.
15	49	HPLC/UV-Vis (Método
20		36): R _t =
		3,32 min.
		LC-MS (Método 26):
		R _t 1,20 min,
25		MS (ESIpos.): m/z (%)
		= 631,2
		(100) [M+2H] ²⁺
30		HR-TOF-MS (Método
		21): calc.
	bistrifluoroacetato de L-prolil-des(1-D-	1260,6952, exp.
	leucil)lisobactina	1260,6962
35		[M+H] ⁺
40		Disposición general de
		trabajo 21
		a partir del Ejemplo
		134A (52 µmol).
45		Rendimiento: 64% d. t.

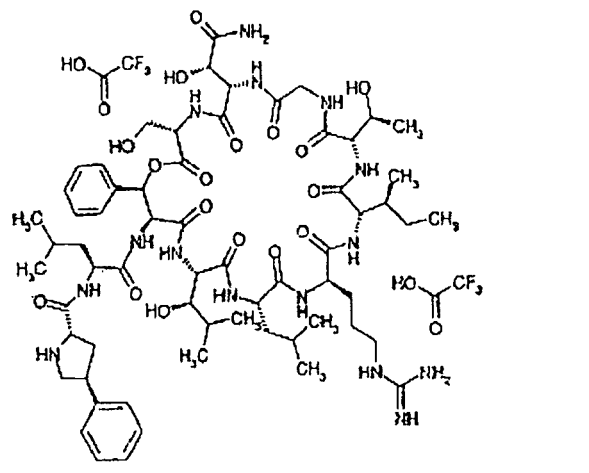
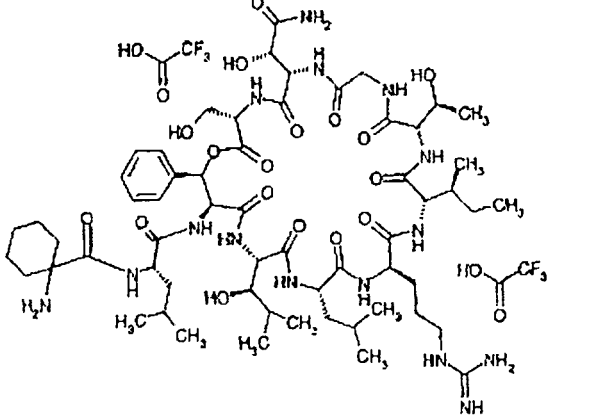


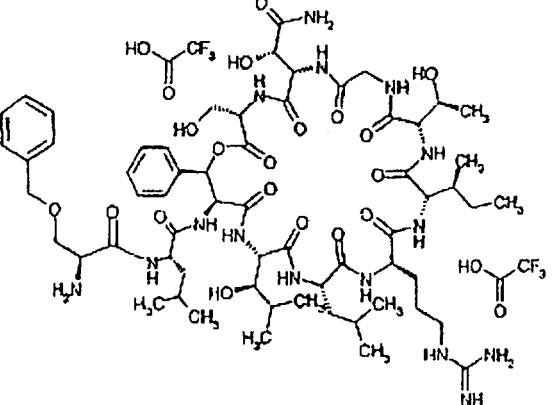
50 5 10 15 20 25 30 35 40	 bistrifluoroacetato de [3-(1-metilciclohexil)-D-alanil]-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,71$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,61$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 666,3 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1330,7735, exp. 1330,7759 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 22 (como disolvente se usa ácido acético puro del Ejemplo 135A (57 μmol). Rendimiento: 30% d. t.
51 45 50 55 60 65	 bistrifluoroacetato de (O-bencil-D-seril)-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,57$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,51$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 671,3 (100) $[M+2H]^{2+}$, 1340,9 (1) $[M+H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): calc.

		1340,7214, exp. 1340,7155 [M+H]⁺. Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 136A (67 µmol). Rendimiento: 28% d. t.
52	 bis- trifluoroacetato de [3-(terc-butil)-L-alanil]- des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,57 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,59 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 646,4 (100) [M + 2H]²⁺ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1290,7422, exp. 1290,7373 Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 138A (74 mol). Rendimiento: 41 % d. t.

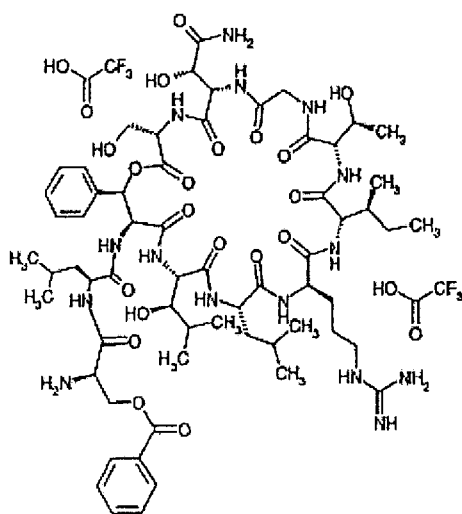
53	 bistrifluoroacetato de L-isoleucil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,46$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,50$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 639,4 (100) $[M + 2H]^{2+}$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1276,7265, exp. 1276,7290 $[M+H]^+$ Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 139A (95 μmol). Rendimiento: 33% d. t.
54	 bistrifluoroacetato de (O-metil-L-treonil)-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,31$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,32$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 640,2 (100) $[M + 2H]^{2+}$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1278,7058, exp. 1278,7037. Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo

		140A (50 μ mol). Rendimiento: 77% d. t.
55	 bistrifluoroacetato de 3-ciclohexil-L-alanil-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,63 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,61 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 659,3 (100) $[UM + 2H]^{2+}$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1316,7578, exp. 1316,7532 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 141A (95 μmol). Rendimiento: 40% d. t.

56	 bistrifluoroacetato de (4S)-4-fenil-L-prolil- des(1-D-leucil)isobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,65$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,54$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 669,1 (100) $[M + 2H]^{2+}$
57	 bistrifluoroacetato de N-(1-aminociclohexil)carbonil-des(1-D-leucil)- isobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,48$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,50$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 645,2 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1288,7264, exp. 1288,7291 $[M+H]^+$

		Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 143A (28 mol). Rendimiento: 92% d. t.
58	 bistrifluoroacetato de (O³-bencil)-L-seril-des(1-D-leucil)isobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,45 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,55 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 1340,8 (5) [M+H]⁺. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1340,7214, exp. 1340,7214 [M+H]⁺. Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 144A (55 μmol). Rendimiento: 71 % d. t.

60



bistri-fluoroacetato de (d-benzoil)-D-seril-
des(1-D-leucil)lisobactina

HPLC/UV-Vis (Método

36): $R_t =$

3,56 min.

LC-MS (Método 26):

 $R_t = 1,52$

min,

MS (ESIpos.): m/z (%)

 $= 678,2$ $(100) [M + 2H]^{2+}$

HR-TOF-MS (Método

21): calc.

1340,7007,

exp.

1354,6946

 $[M+H]^+$.

Disposición general

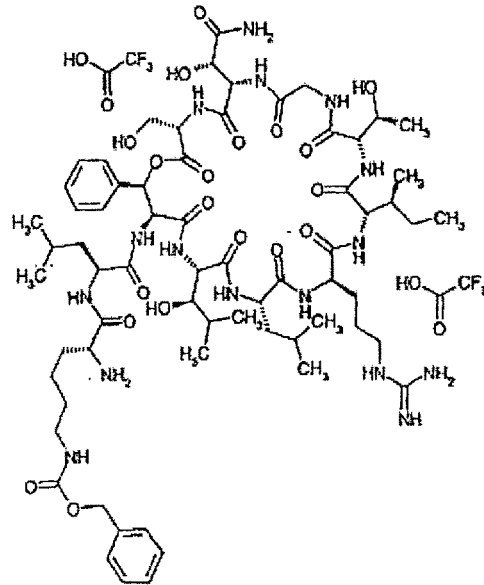
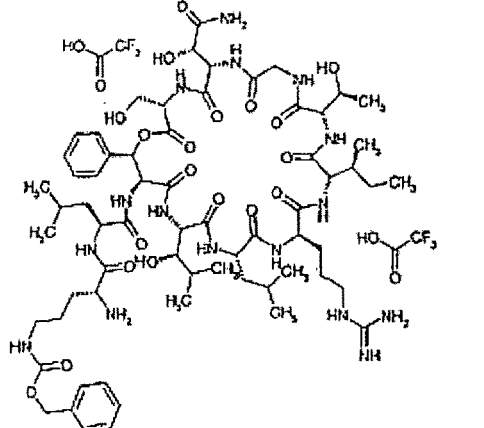
de trabajo 21

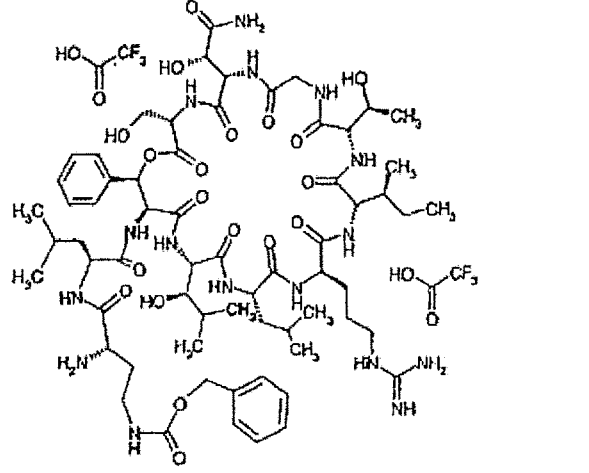
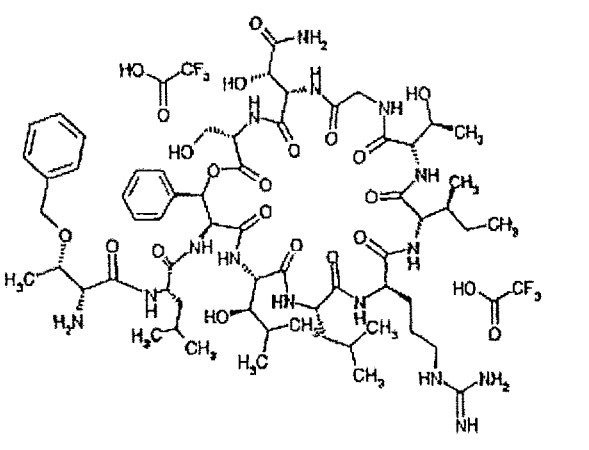
a partir del Ejemplo

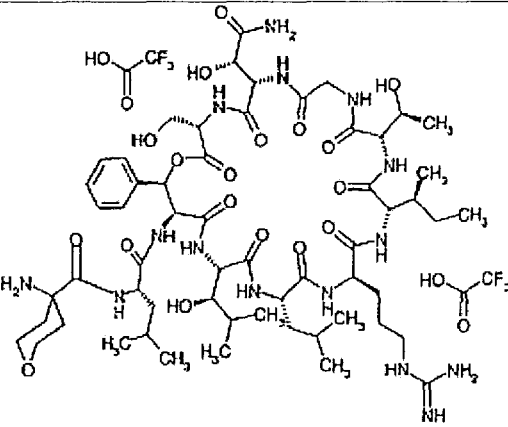
146A (31 μ mol).

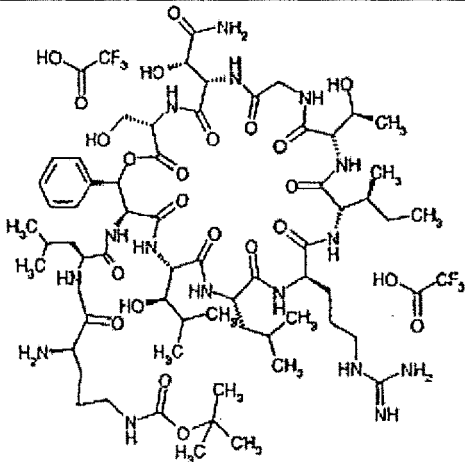
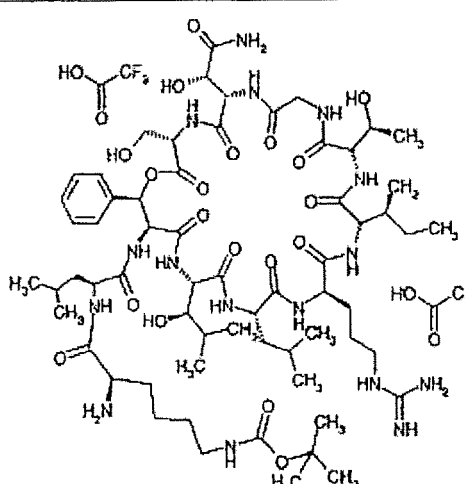
Rendimiento: 58 %

d. t.

61	 bistrifluoroacetato de N⁶-[(benciloxi)carbonil]-D-lisil-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,64$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,48$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 713,7 (100) $[M + 2H]^{2+}$. HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1425,7742, exp. 1425,7769 $N^6-[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 147A (54 μmol). Rendimiento: 51% d. t.
62	 bistrifluoroacetato de N-[(benciloxi)carbonil]-D-ornitil-des(1-D-leucil)-lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,60$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,43$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 706,8 (100) $[M + 2H]^{2+}$ $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo

		148A (51 μ mol). Rendimiento: 63% d. t.
63	 bistrifluoroacetato de (2S)-2-amino-4- {[(benciloxi)carbonil]amino}-butanoil- des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,55 min. (Método 26): R_t = 1,48 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 699,7 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1397,7429, exp. 1397,7367 $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 149A (52 μ mol). Rendimiento: 48% d. t.
		HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,67 min.
64	 bistri-fluoroacetato de O⁶-bencil-D- treonil-des(1-D-leucil)lisobactina	LC-MS (Método 26): R_t = 1,54 min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 678,1 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1354,7371, exp. 1354,7358 $[M + H]^+$

		Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 150A (50 μmol). Rendimiento: 46% d. t.
65	 bistrifluoroacetato de N-[(4-ambotetrahydro-2H-piran-4-il)carbonil]-des(1-D-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,36 min. LC-MS (Método 26): R_t = 1,43 MS (ESIpos.): m/z (%) = 646,1 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1290,7058, exp. 1290,7075 $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 151A (28 μmol). Rendimiento: 7% d. t.

66	 bistrifluoroacetato de N-(terc- butoxicarbonil)-D-ornitil-des(1-D-leucil)- lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,56$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,49$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 689,7 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1377,7742, exp. 1377,7769 $[M+H]^+$.
67	 bistrifluoroacetato de N^6-(terc- butoxicarbonil)-D-lisil-des(1-D-leucil)- lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,60$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,48$ min, MS (ESIpos.): m/z (%) = 696,8 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1391,7898, exp. 1391,7869 $[M + H]^+$.

Disposición general de
trabajo 23

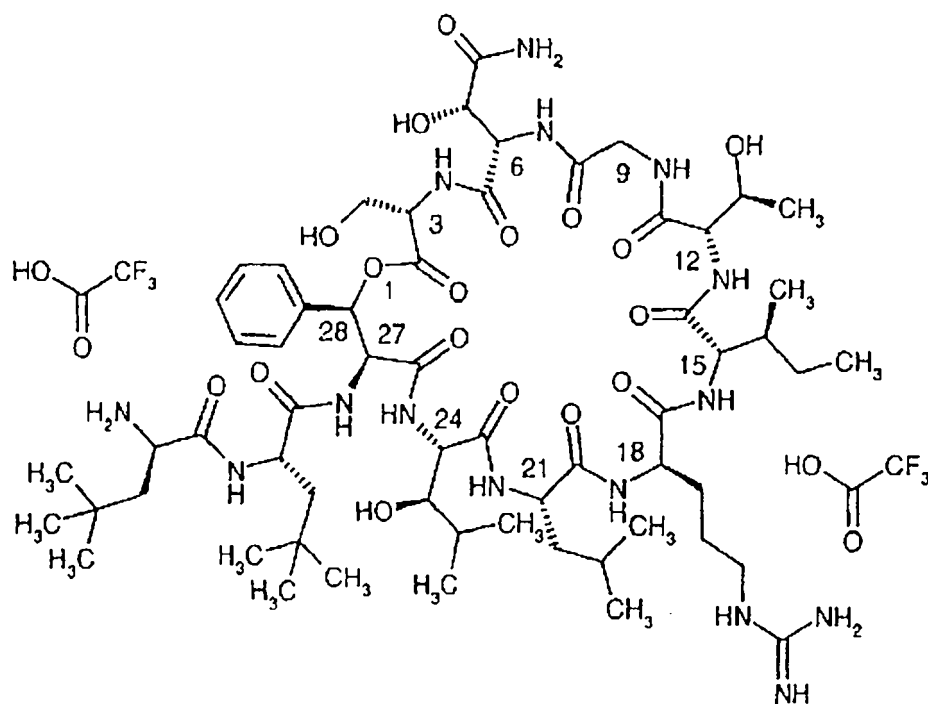
a partir del Ejemplo
153A (69 p mol).

Rendimiento: 46% d. t.

Ejemplo 68

Bistrifluoroacetato de 3-terc-butil-D-alanil-N¹-(3S,6S,12S,15S,18R,21S,24S,27S,28R-6-[(1S)-2-amino-1-hidroxi-2-oxoetil]-18-(3-{[amino(imino)metil]amino}propil)-12-[(1S)-1-hidroxi-2-(hidroximetil)-24-[(1R)-1-hidroxi-2-metilpropil]-21-isobutil-15-[(1S)-1-metilpropil]-2,5,8,11,14,-17,20,23,26-nona-28-fenil-1-oxa-4,7,10,13,16,19,22,25-octazaciclooctacosan-27-il)-3-terc-butil-L-alaninamida

{Bistrifluoroacetato de 3-terc-butil-D-alanil-3-terc-butil-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina}



De acuerdo con la disposición general de trabajo 5 se hace reaccionar el N-(terc-butoxicarbonil)-depsipéptido (Ejemplo 155A, 103 mg, 0,07 mmol). Después de purificación cromatográfica por medio de HPLC preparativa (Método 25) se obtienen por liofilización 75,5 mg (73% d. t.) de producto.

HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 6,09$ min,

$\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255-270 (w).

LC-MS (Método 12): $R_t = 4,62$ min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 653 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1305 (10) $[M + H]^+$

MS (ESIneg.): m/z (%) = 651 (40) $[M - 2H]^{2-}$, 1303 (100) $[M - H]^-$.

ES 2 330 221 T3

LC-MS (Método 26): $R_t = 1,64$ min;

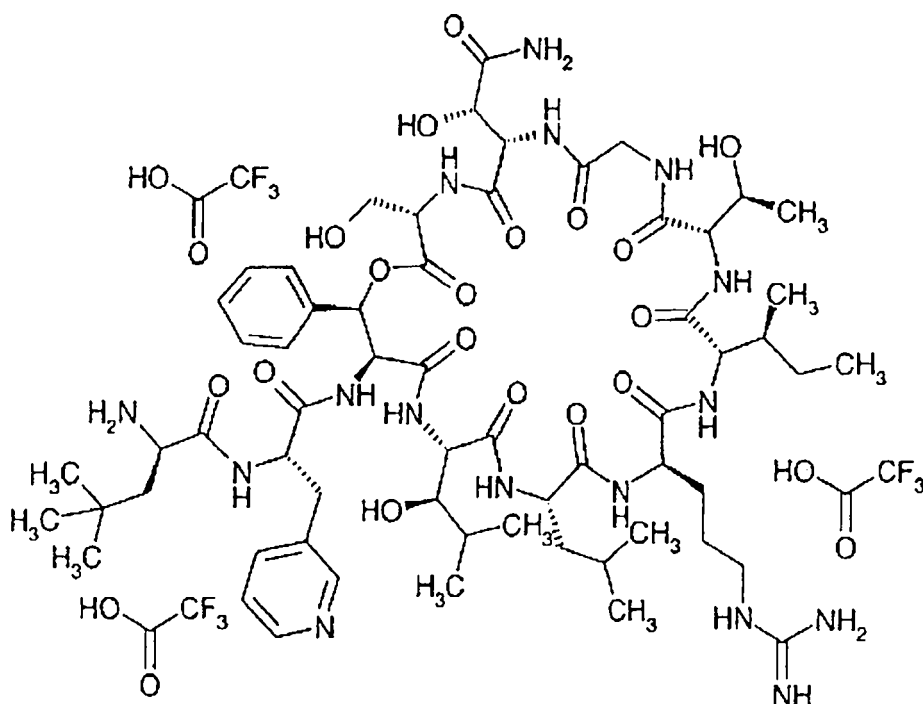
MS (ESIpos.): m/z (%) = 653 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1305 (5) $[M + H]^+$

MS (ESIneg.): m/z (%) = 651 (100) $[M - 2H]^{2-}$, 1303 (10) $[M - H]^-$.

HR-TOF-MS (Método 21): $C_{60}H_{102}N_{15}O_{17}$ calc. 1304,7578, exp. 1304,7606 $[M + H]^+$.

Ejemplo 69

Tris(trifluoroacetato) de 3-terc-butil-D-alanil-3-(3-piridil)-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina



A una solución de Ejemplo 156A (1,0 equivalentes, 0,03 mmol) en diclorometano (3 ml) se añade gota a gota a 0°C lentamente ácido trifluoroacético (13,0 mmol, 1 ml). La mezcla de reacción se agita a 0°C (50 min), por lo cual se observa una reacción completa por medio de EPLC/UV-Vis (Método 36). La mezcla de reacción se hace rotar y se purifica por medio de cromatografía en gel (Método 6, eluyente metanol/acetona 4/1). El producto crudo se purifica por medio de HPLC preparativa (Método 8), obteniendo 34 mg (59% d. t.) de producto.

$[\alpha]_{Na}^{20} = -36^\circ$ (c = 0,24 en agua)

HPLC/UV-Vis (Método 28): $R_t = 3,6$ min.

HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t = 3,28$ min.

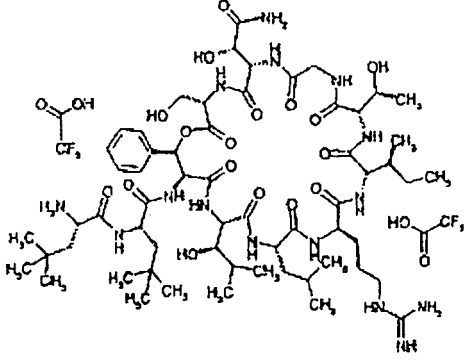
LC-MS (Método 26): $R_t = 1,49$ min;

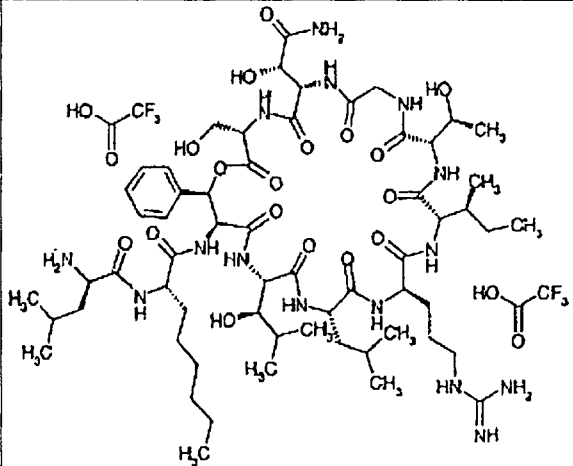
MS (ESIpos.): m/z (%) = 663 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1325 (10) $[M + H]^+$;

MS (ESIneg.): m/z (%) = 661 (100) $[M - 2H]^{2-}$, 1323 (40) $[M - H]^-$.

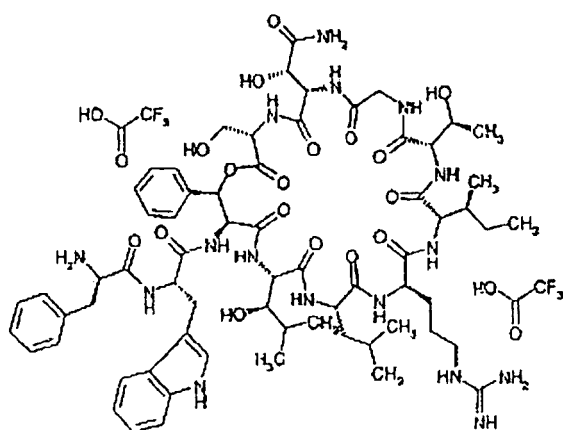
HR-MS (Método 21): $C_{61}H_{97}N_{16}O_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1325,7218, exp. 1325,7261.

TABLA 6
Ruta Edman^{2.0}

N.º de ejemplo	Estructura Nombre	Datos analíticos Método de preparación
70	 bistrifluoroacetato de 3-terc-butil-L-alanil-3-terc-butil-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 5,9$ min. LC-MS (Método 26): $R_t = 1,68$ min; MS (ESIpos.) m/z (%) = 653 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1305 (5) $[M+H]^+$. Disposición general de trabajo 5 (tiempo de reacción corto) a partir del Ejemplo 157A (0,023 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 57% d. t.

71	 bistrifluoroacetato de D-leucil-3-pentil-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,12 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255–270 (m). LC-MS (Método 29): $R_t =$ 4,61 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 653 (100) $[M+2H]^{2+}$, 1305 (5) $[M+H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{60}H_{102}N_{15}O_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1304,7578, exp. 1304,7610. Análogamente al Ejemplo 68A a partir del Ejemplo 13A (0,016 mmol) y ácido (2S)-2-[[N-(terc-butoxi-carbonil)-D-leucil] amino]-octanoico (0,063 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 16% d. t. (en 2 etapas)
----	--	---

72



bistrifluoroacetato de D-fenilalanil-L-triptofil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina

HPLE/UV-Vis (Método 13):

R_t=5,92 min

LC-MS (Método 29): R_t = 4,37 min;

MS (ESIpos.): m/z (%) = 693 (100)

[M + 2H]²⁺, 1384 (5) [M+H]⁺.

HR-TOF-MS (Método 21):

C₆₆H₉₅N₁₆O₁₇ + H]⁺ calc.

1383,7061, exp. 1383,7098.

Análogamente al Ejemplo

68A a partir del Ejemplo

13A (0,016 mmol) y N-terc-butoxicarbonil-D-

fenilalanil-L-

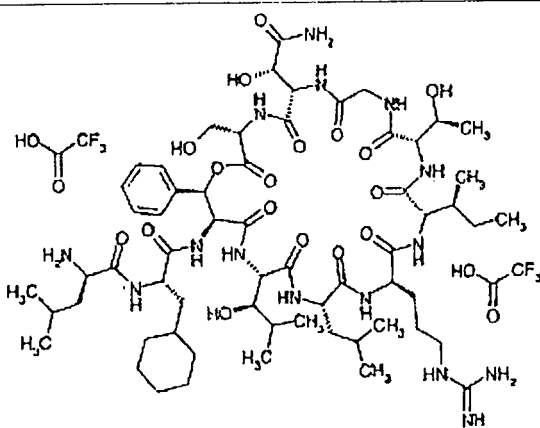
triptófano (0,063 mmol).

Purificación según el Método 8 o Método 25.

Rendimiento: 47% d. t.

(en 2 etapas)

73



bistrifluoroacetato de D-Leucil-3-ciclohexil-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina

HPLC/UV-Vis (Método 13):

R_t =

5,92 min.

HPLC/UV-Vis (Método 13):

R_t =

6,14 min.

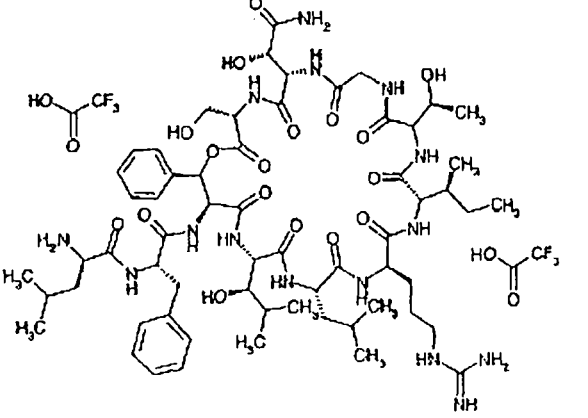
LC-MS (Método 29): R_t = 4,54 min;

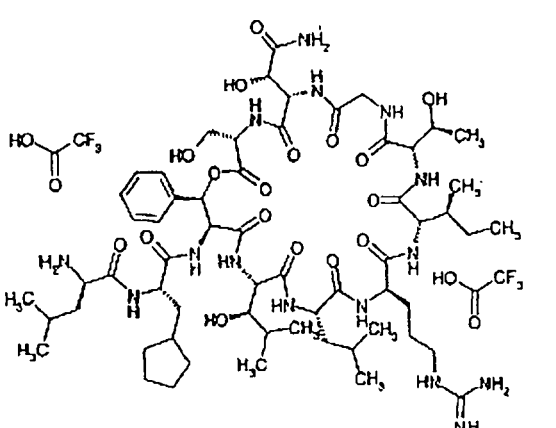
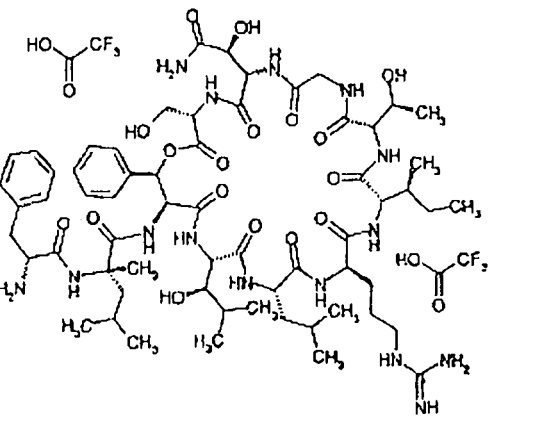
LC-MS (ESIpos.): m/z (%) = 659 (100)

[M + 2H]²⁺, 1317 (15) [M+H]⁺.

HR-TOF-MS (Método 21):

C₆₁H₁₀₂N₁₅O₁₇ [M+ H]⁺ calc.

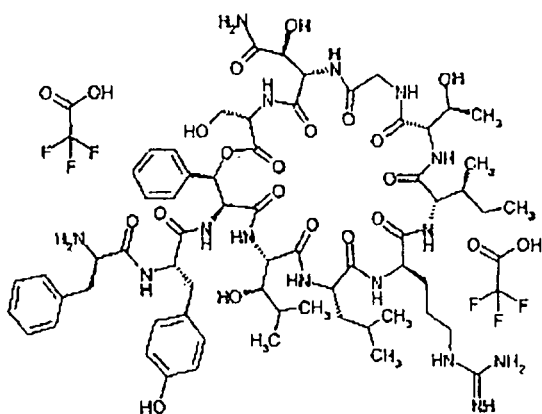
		1316,7578, exp. 1316,7616.
74	 bistrifluoroacetato de D-leucil-L- fenilalanil-des(1-D-leucil-2-L- leucil)lisobactina	Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 158A (0,01 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 49% d. t HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,03 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255–270 (m). LC-MS (Método 12): $R_t =$ 4,51 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 656 (100) $[M+2H]^{2+}$, 1311 (5) $[M+H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{61}H_{96}N_{15}O_{17}$ $[M+H]^+$ calc. 1310,7109, exp. 1310,7094. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 159A (0,01 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 74% d. t.

75	 bistrifluoroacetato de D-leucil-3-ciclopentil-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)isobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,16 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255–270 (m). LC-MS (Método 12): $R_t =$ 4,55 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 652 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1303 (20) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{60}H_{100}N_{15}O_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1302,7422, exp. 1302,7404. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 160A (0,01 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 92% d. t.
76	 bistrifluoroacetato de D-fenilalanil-2-metil-	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,02 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255–270 (m). LC-MS (Método 26): $R_t =$ 2,25 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 663 (100) $[M + 2H]^{2+}$

L-leucil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)
lisobactina

Disposición general de
trabajo 5 a partir del
Ejemplo 161A (0,012 mmol).
Purificación según el
Método 8 o Método 25.
Rendimiento: 8,5% d. t.

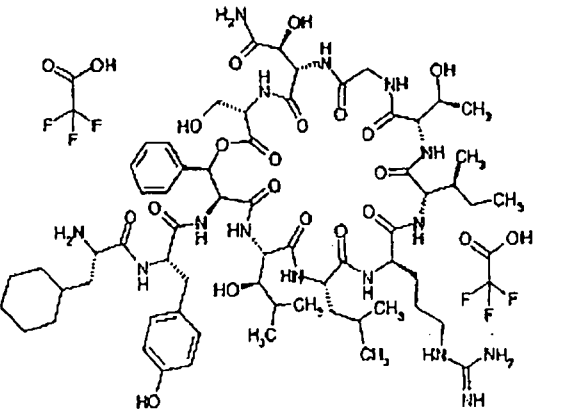
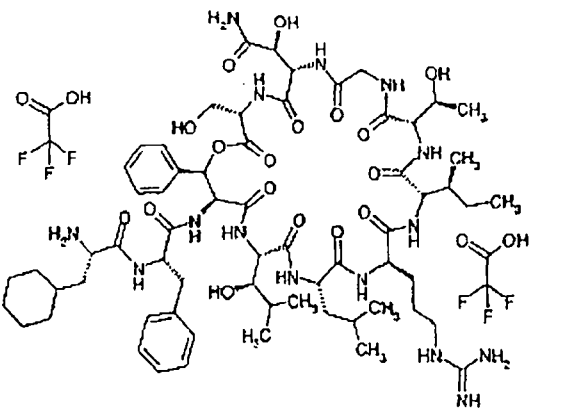
77

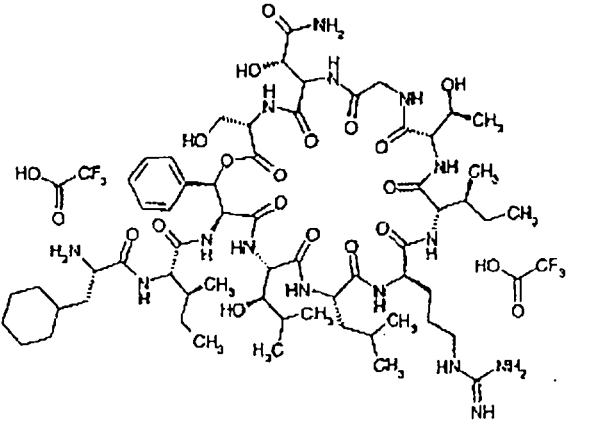
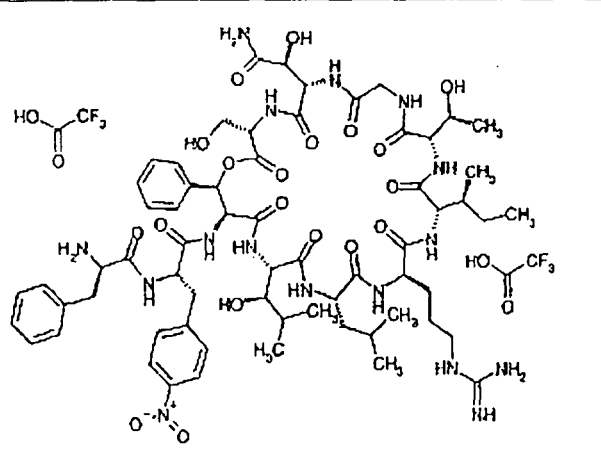


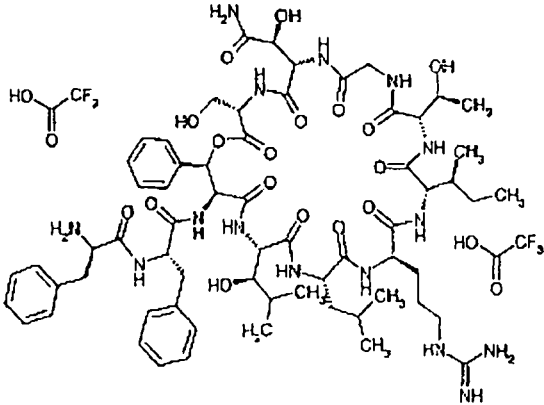
bistrifluoroacetato de D-fenilalanil-L-
tirosil-des(1-D-leucil-2-L-
leucil)lisobactina

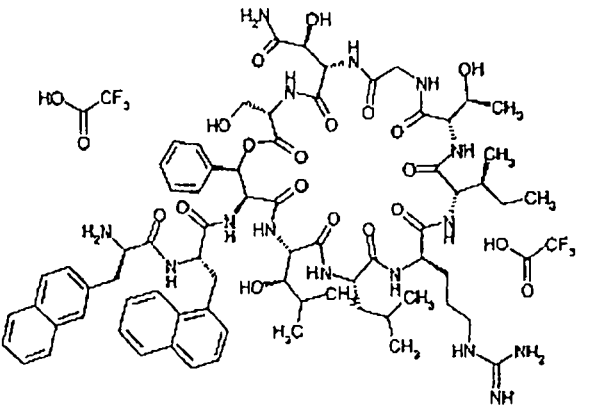
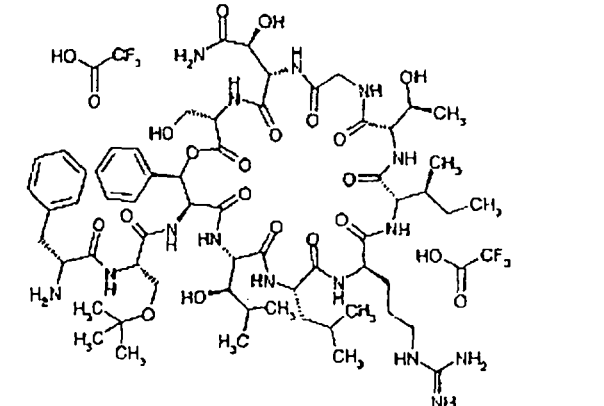
HPLC/UV-Vis (Método 13):
 $R_t =$
5,39 min.
LC-MS (Método 29): $R_t =$
4,2 min;
MS (ESIpos.): m/z (%) = 681
(100)
 $[M + 2H]^{2+}$, 1361 (10)
 $[M+H]^+$.

Disposición general de
trabajo 5 a partir del
Ejemplo
162A (0,01 mmol).
Rendimiento: 93% d. t.

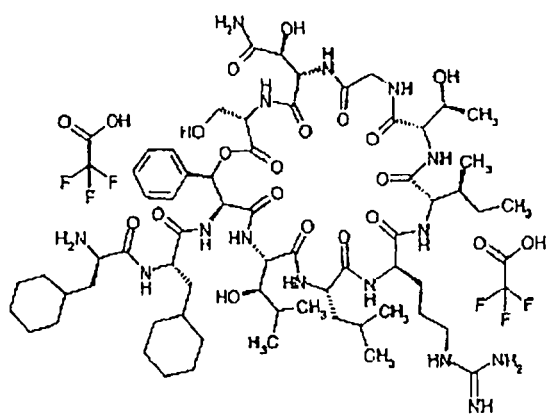
78	 bistrifluoroacetato de 3-ciclohexil-L-alanil-L-tirosil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 5,66 min. LC-MS (Método 29): $R_t =$ 4,4 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 684 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1367 (10) $[M+H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{64}H_{100}N_{15}O_{18}$ $[M+H]^+$ calc. 1366,7371, exp. 1366,7335. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 163A (0,01 mmol). Rendimiento: 97% d. t.
79	 bistrifluoroacetato de 3-ciclohexil-L-alanil-L-fenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,01 min. LC-MS (Método 29): $R_t =$ 4,6 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 677 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1352 (10) $[M +$ $H]^+$. $C_{64}H_{100}N_{15}O_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1350,7422, exp. 1350,7393.

		Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 164A (0,01 mmol). Rendimiento: 95% d. t.
80	 bistrifluoroacetato de 3-ciclohexil-L-alanil-L-isoleucil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	LC-MS (Método 26): $R_t = 1,53$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 659 (100) $[M+2H]^{2+}$, 1317(5) $[M+H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{61}H_{102}N_{15}O_{17}$ $[M+H]^+$ calc. 1316,7578, exp. 1316,7574. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 165A (0,006 mmol). Rendimiento: 99% d. t.
81	 bistrifluoroacetato de D-fenilalanil-4-nitro-L-fenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 5,83$ min. LC-MS (Método 29): $R_t = 4,5$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 696 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1390 (10) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{64}H_{93}N_{16}O_{19}$ $[M + H]^+$ calc. 1389,6803, exp. 1389,6823. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo

		166A (0,007 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 46% d. t.
82	 bistrifluoroacetato de D-fenilalanil-L-fenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t = 5,84$ min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 220 nm (s), 255–270 (m). LC-MS (Método 12): $R_t = 4,5$ min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 674 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1345 (50) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{64}H_{94}N_{15}C_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1344,6952, exp. 1344,6927. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 169A (0,06 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 82% d. t.

83	 bistrifluoroacetato de 3-(2-naftil)-D-alanil-3-(1-naftil)-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	LC-MS/UV-Vis (Método 12): $R_t = 4,8$ min; $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) = 224 nm (s), 280 (m); MS (ESIpos.): m/z (%) = 723 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1445 (10) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{72}H_{98}N_{15}O_{17}$ $[M+H]^+$ calc. 1444,7265, exp. 1444,7290. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 170A (0,005 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 86% d. t.
84	 bistrifluoroacetato de D-fenilalalanil-O³-terc-butil-L-seril-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HR-TOF-MS (método 21): $C_{62}H_{98}H_{15}O_{18}$ calc. 1340,7214 exp. 1340,7245 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 167A (0,015 mmol). Rendimiento: 94% d. t.

85



bistrifluoroacetato de 3-ciclohexil-D-alanil-3-ciclohexil-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina

HPLC/UV-Vis (Método 13):

 $R_t = 6,57$ minLC-MS/UV-Vis (Método 29): $R_t =$

4,7 min;

MS (ESI^{neg.}): m/z (%) = 1355 (100) $[M - H]^-$,

HR-TOF-MS (Método 21):

 $C_{64}H_{106}N_{15}O_{17}$ calc.

1356,7891, exp. 1356,7921

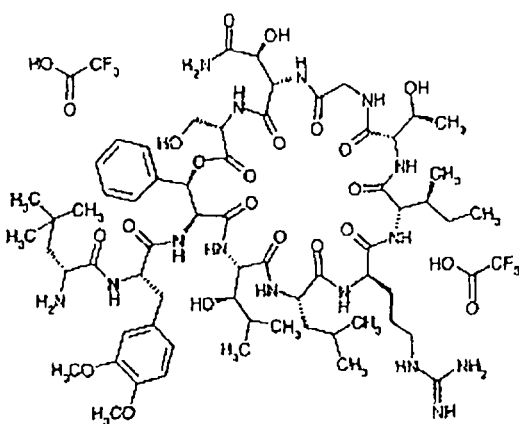
 $[M + H]^+$

Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo

168A (0,003 mmol).

Rendimiento: 94% d. t.

86



bistrifluoroacetato de 3-terc-butil-D-alanil-3-(3,4-dimetoxifenil)-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina

HPLC/UV-Vis (Método 13):

 $R_t =$

5,86 min,

LC-MS (Método 29): $R_t =$ 4,3 min;MS (ESI^{pos.}): m/z (%) = 693 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1384 (30) $[M + H]^+$.

HR-TOF-MS (Método 21):

 $C_{64}H_{102}N_{15}C_{19}$ $[M + H]^+$ calc.

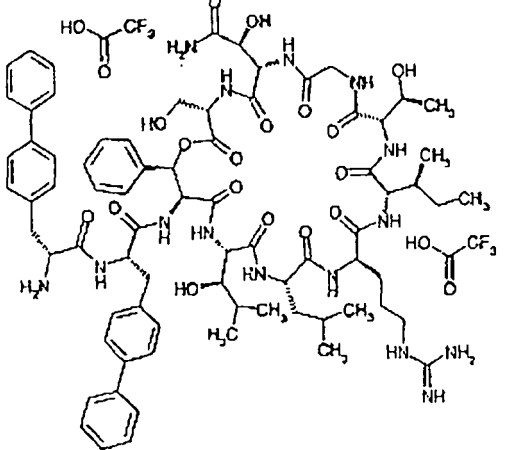
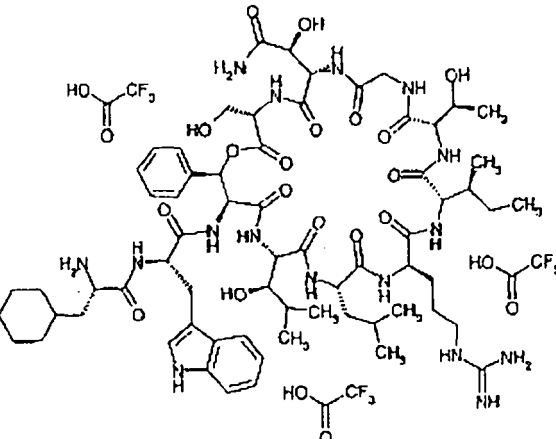
1384,7476, exp. 1384,7466

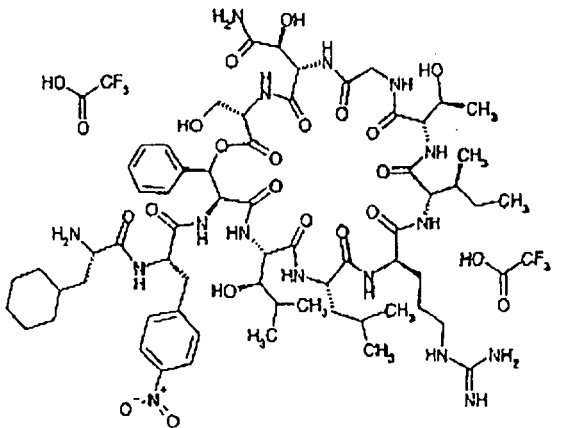
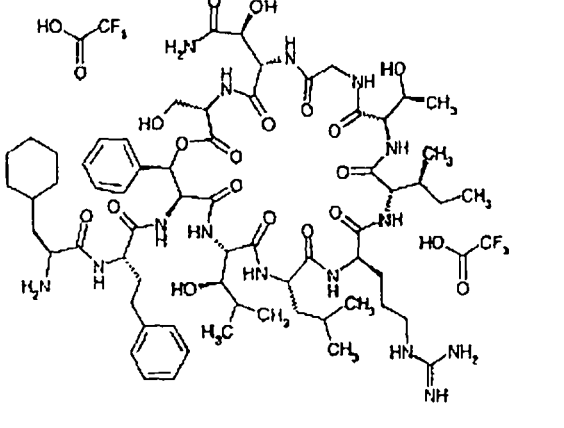
 $[M + H]^+$

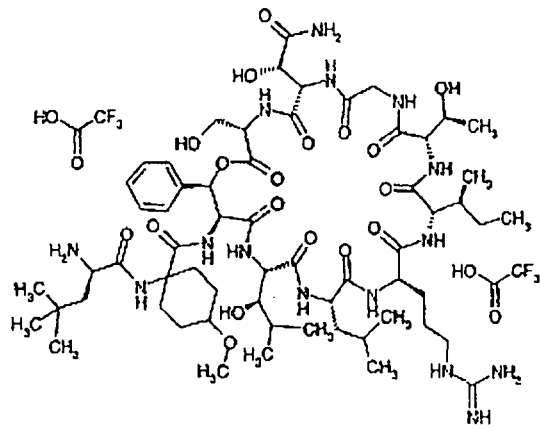
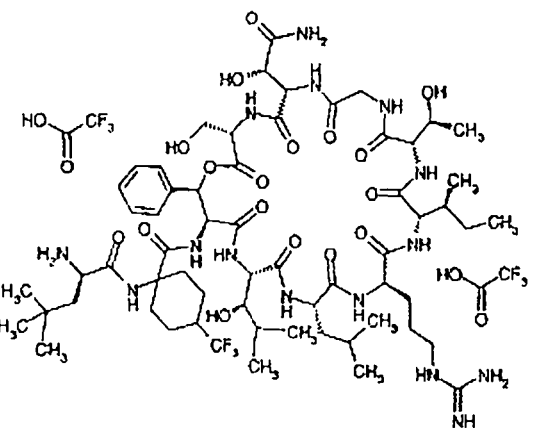
Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo

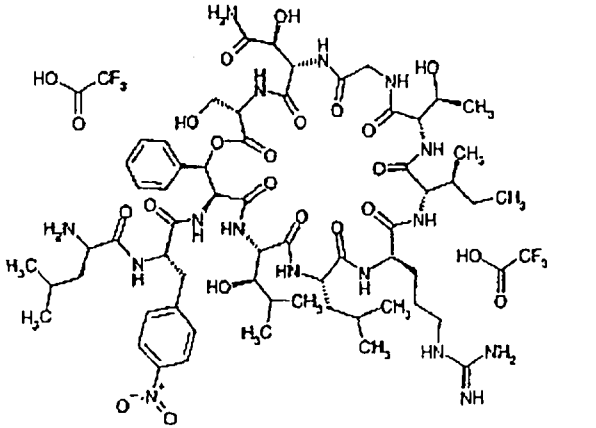
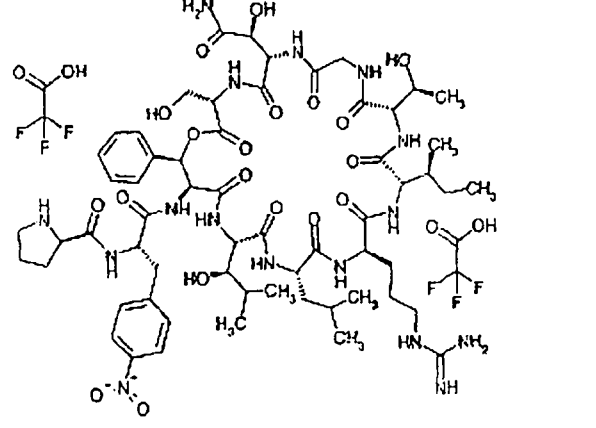
171A (0,006 mmol).

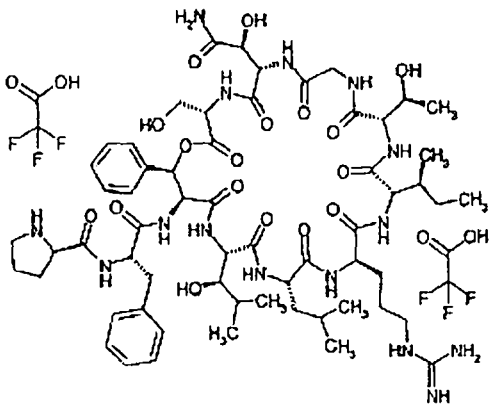
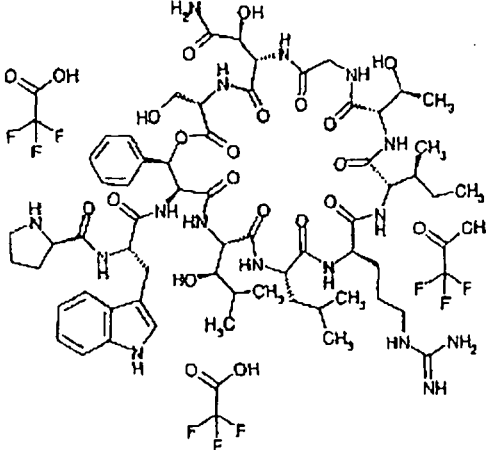
Purificación según el

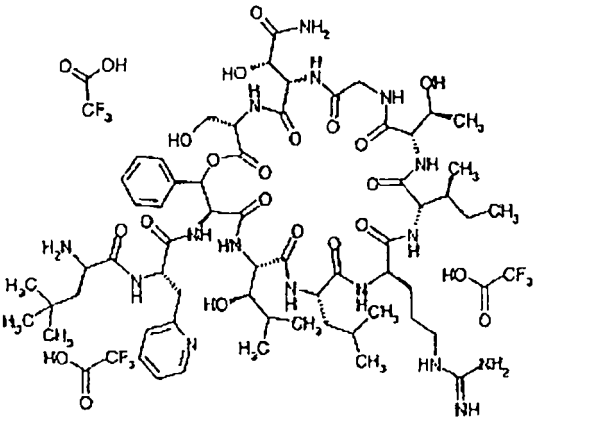
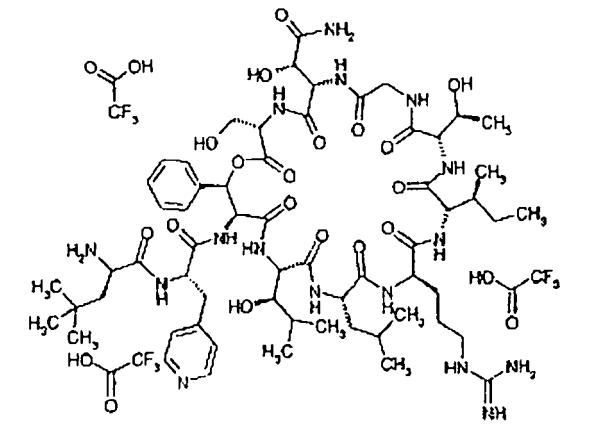
		Método 8 o Método 25. Rendimiento: 69% d. t.
87	 bistrifluoroacetato de 4-fenil-D-fenilalanil-4-fenil-L-fenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,69 min, LC-MS (Método 29): $R_t =$ 4,9 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 749(100) $[M + 2H]^{2+}$, 1497 (10) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{76}H_{102}N_{15}C_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1496,7578, exp. 1496,7604 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 172A (0,011 mmol). Rendimiento: cuant.
88	 bistrifluoroacetato de 3-ciclohexil-L-alanil-triptofil-des(1-D-leucil-2L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,8 min, LC-MS (Método 29): $R_t =$ 4,6 min; MS (ESI neg.): m/z (%) = 1388 (100) $[M - H]^-$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{66}H_{101}N_{16}C_{17}$ calc. 1389,7531, exp. 1389,7559 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo

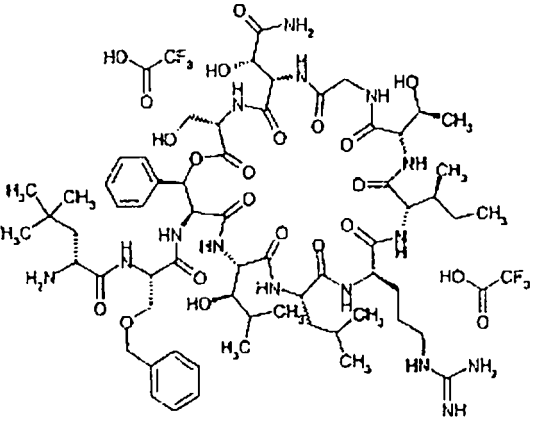
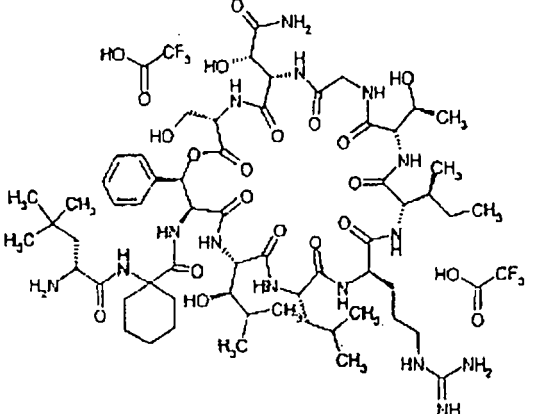
		173A (0,004 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 72% d. t.
89	 bistrifluoroacetato de 3-ciclohexil-L-alanil- 4-nitro-L-fenilalanil-des(1-D-leucil-2-L- leucil)isobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,06 min, LC-MS (Método 29): $R_t =$ 4,5 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 699 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1395 (20) $[M +$ $H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{64}H_{99}N_{16}C_{19}$ $[M + H]^+$ calc. 1395,7272, exp. 1395,7247. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 174A (0,004 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 87% d. t.
90	 bistrifluoroacetato de 3-ciclohexil-L-alanil- 3-bencil-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-	LC-MS (Método 29): $R_t =$ 4,7 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 683 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1364 (20) $[M +$ $H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{65}H_{102}N_{15}C_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1364,7578, exp. 1364,7626 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 5 a partir del

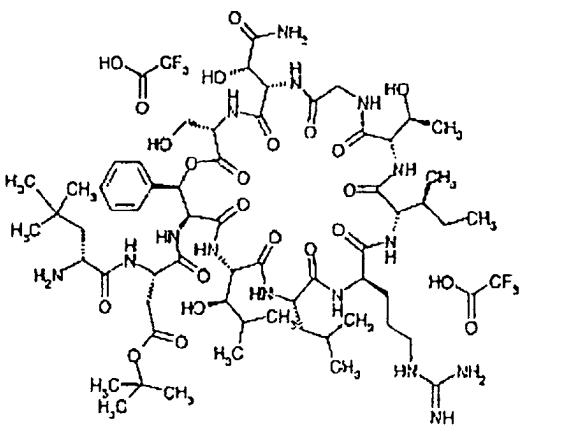
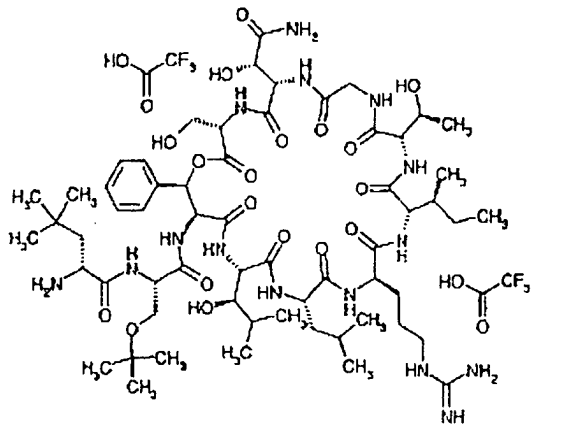
	leucil)lisobactina	Ejemplo 175A (0,012 mmol). Rendimiento: cuant.
91	 bistrifluoroacetato de 3-terc-butil-D-alanil-(1-amino-4-metoxi-ciclohexilcarbonil)-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 5,88 min, LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,52 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 667 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1051 (10) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{61}H_{102}N_{15}C_{18}$ $[M + H]^+$ calc. 1332,7527, exp. 1332,7561. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 176A (0,019 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 91% d. t.
92	 bistrifluoroacetato de 3-terc-butil-D-alanil-(1-amino-4-(trifluorometil)-ciclohexilcarbonil)-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 6,68 min, λ_{max} (cualitativo) 220 nm (s), 255-270 HR-TOF-MS (Método 21): $C_{61}H_{99}N_{15}C_{17}F_3$ $[M + H]^+$ calc. 1370,7295, exp. 1370,7263 Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 177A (0,02 mmol).

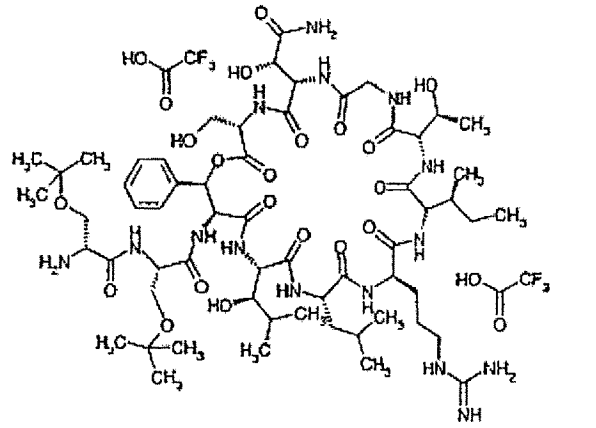
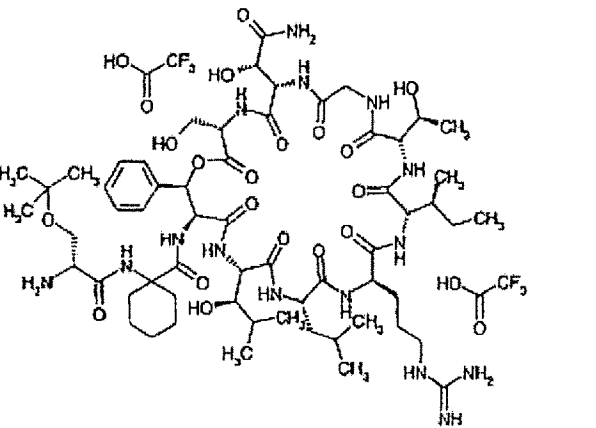
	leucil)lisobactina	Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 81% d. t.
93	 bistrifluoroacetato de D-leucil-4-nitro-L-phenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 5,96 min, $\lambda_{\text{máx}}$ (cualitativo) 220 nm (s), 255–270 LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,60 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 679 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1356 (10) $[M + H]^+$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{61}H_{95}N_{16}C_{19}$ $[M + H]^+$ calc. 1355,6959, exp. 1355,6943 Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 178A (0,02 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 40% d. t.
94	 bistrifluoroacetato de D-prolil-4-nitro-L-phenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HR-TOF-MS (Método 21): $C_{60}H_{91}N_{16}C_{19}$ calc. 1339,6646, exp. 1339,6602 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 179A (0,003 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: cuant.

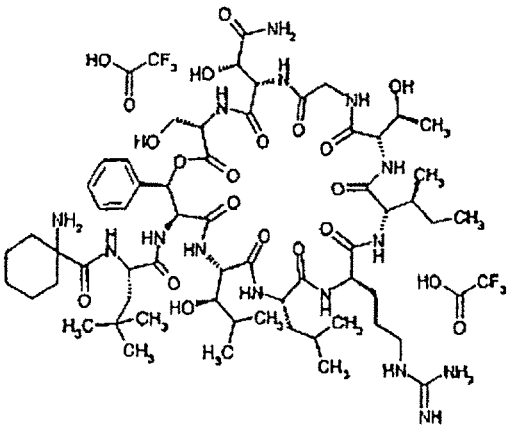
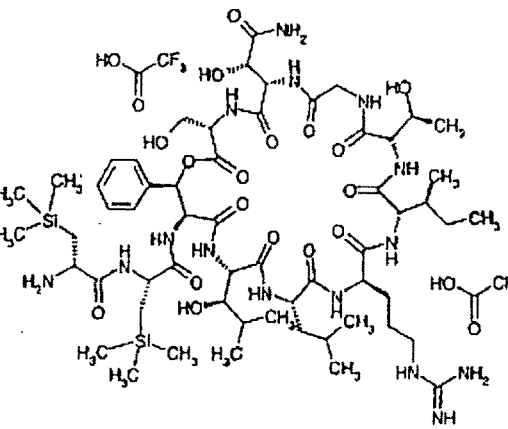
	fenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	
95	 bistrifluoroacetato de D-prolil-L-fenilalanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 5,40 min, LC-MS (Método 29): $R_t =$ 4,2 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 648 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1295 (50) $[M + H]^+$. Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 180A (0,01 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 90% d. t.
96	 bistrifluoroacetato de D-triptofil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 5,40 min, LC-MS (Método 29): $R_t =$ 4,1 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 668 (100) $[M + 2H]^{2+}$, MS (ESIneg.): m/z (%) = 1332 (100) $[M - H]^-$. HR-TOF-MS (Método 21): $C_{62}H_{93}N_{16}C_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1333,6905, exp. 1333,6885 Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo

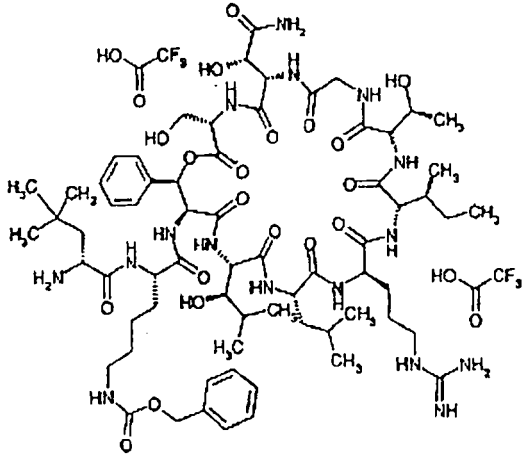
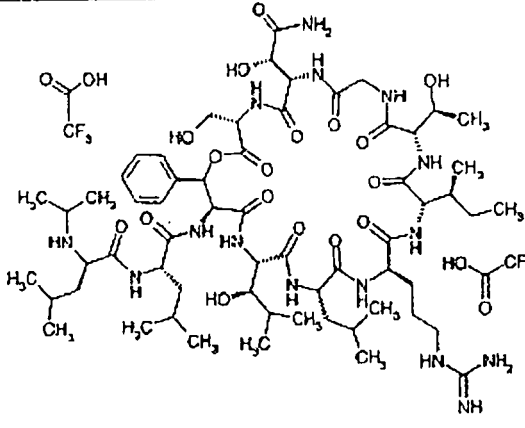
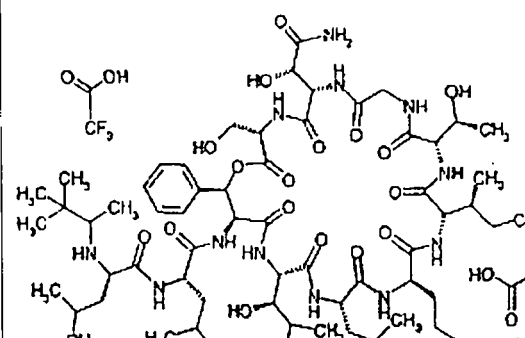
		181A (0,003 mmol). Purificación según el Método 8 o Método 25. Rendimiento: 55% d. t.
97	 bistrifluoroacetato de 3-terc-butil-D-alanil- 3-(2-piridil)-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L- leucil)isobactina	HPLC/UV-Vis (Método 13): $R_t =$ 3,53 min, LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,58 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 663 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1325 (10) $[M + H]^+$ MS (ESIneg.): m/z (%) = 661 (100) $[M - H]^{2-}$, 1323 (20) $[M - H]^-$. HR-MS (Método 21): $C_{61}H_{97}N_{16}C_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1325,7218, exp. 1325,7178 Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 182A (0,03 mmol). Rendimiento: 28% d. t.
98	 bistrifluoroacetato de 3-terc-butil-D-alanil-	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 3,24 min, LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,31 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 663 (100) $[M + 2H]^{2+}$, 1325 (5) $[M + H]^+$ MS (ESIneg.): m/z (%) = 661 (100) $[M - H]^{2-}$, 1323

5 10 15	3-(4-piridil)-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	(20) $[M - H]^-$. HR-MS (Método 21): $C_{61}H_{97}N_{16}C_{17}$ $[M + H]^+$ calc. 1325,7218, exp. 1325,7186 Disposición general de trabajo 5 a partir del Ejemplo 98A (0,05 mmol). Rendimiento: 8% d. t.
20 25 30 35 40 45	99  bistrifluoroacetato de (3-terc-butil-D-alanil-O-bencil-L-seril)-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 3,69 min, LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,60 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 678,3 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1354,7371, exp. 1354,7323 $C_{63}H_{99}N_{15}C_{18}$ $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 184A (0,05 mmol). Rendimiento: 47% d. t.
50 55 60 65	100 	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 3,64 min, LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,58 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 652,24 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21):

		calc. 1302,7422, exp. 1302,7471 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 185A (36 μmol). Rendimiento: 48% d. t.
101	 bistrifluoroacetato de (2S)-2-[(3-terc-butil-D-alanil)amino]-4-terc-butoxi-4-oxobutanoil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 3,67 min, LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,69 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 675,3 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1348,7476, exp. 1348,7478 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 22 a partir del Ejemplo 186A (85 μmol). Rendimiento: 33% d. t.
102	 bistrifluoroacetato de [(3-terc-butil-D-alanil)-O-(terc-butil)-L-seril]-des(1-D-	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 3,69 min, LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,75 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 661,3 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1320,7572, exp. 1320,7477 $[M + H]^+$ Disposición general de

	leucil-2-L-leucil)lisobactina	trabajo 22 a partir del Ejemplo 187A (77 μ mol). Rendimiento: 49% d. t.
103	 bistrifluoroacetato de [O-(terc-butil)-D-seril-O-(terc-butil)-L-seril]-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,61 min, LC-MS (Método 26): R_t = 1,64 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 669,2 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1336,7476, exp. 1336,7483 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 22 a partir del Ejemplo 188A (84 μmol). Rendimiento: 16% d. t.
104	 bistrifluoroacetato de N-[(1-([O-(terc-butil)-D-seril]amino)-ciclohexil)carbonil]-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): R_t = 3,61 min, LC-MS (Método 26): R_t = 1,62 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 1318,7 (5) $[M + H]^+$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1318,7371, exp. 1318,7351 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 22 a partir del Ejemplo 189A (24 μmol).

		Rendimiento: 75% d. t.
105	 bistrifluoroacetato de N-[(1-aminociclohexil)carbonyl]-(3-terc-butil-D-alanil)-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 3,54 min, LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,62 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 1302,9 (5) $[M + H]^+$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1302,7422, exp. 1302,7373 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 190A (35 μmol). Rendimiento: 81% d. t.
106	 bistrifluoroacetato de 3-(trimetilsilil)-D-alanil-3-(trimetilsilil)-L-alanil-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 3,74 min, LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,76 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 1336,9 (3) $[M + H]^+$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1336,7117, exp. 1336,7100 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 191A (84 μmol). Rendimiento: 63% d. t.

107	 bistrifluoroacetato de {(3-terc-butilalanil)-[N⁶-(benciloxycarbonil)silil]}-des(1-D-leucil-2-L-leucil)lisobactina	HPLC/UV-Vis (Método 36): $R_t =$ 3,67 min, LC-MS (Método 26): $R_t =$ 1,62 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 720,7 (100) $[M + 2H]^{2+}$ HR-TOF-MS (Método 21): calc. 1439,7898, exp. 1439,7909 $[M + H]^+$ Disposición general de trabajo 21 a partir del Ejemplo 192A (84 μmol). Rendimiento: 69% d. t.
108	 bistrifluoroacetato de N-(iso-propil)lisobactina	LC-MS (Método 19): $R_t =$ 2,73 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 660,4 (100) $[M + 2H]^{2+}$ Disposición general de trabajo 13 a partir del Ejemplo 1A (0,010 mmol) y acetona. Rendimiento: 21% d. t.
109	 bistrifluoroacetato de N-(iso-propil)lisobactina	LC-MS (Método 19): $R_t =$ 2,88 min; MS (ESIpos.): m/z (%) = 681,4 (100) $[M + 2H]^{2+}$ Disposición general de trabajo 13 a partir del

Ejemplo
1A (0,010 mmol) y metil-
terc-butilcetona.
Rendimiento: 27% d. t.

B. Evaluación de la eficacia fisiológica

La acción *in vitro* de los compuestos según la invención se puede mostrar en los siguientes ensayos:

Determinación de la concentración inhibidora mínima (CIM)

La CIM se determina en el ensayo de dilución en líquidos según las directivas NCCLS. Se incuban cultivos durante la noche de *Staphylococcus aureus* 133, *Enterococcus faecalis* 27159, *E. faecium* 4147 y *Streptococcus pneumoniae* G9a con las sustancias de ensayo descritas en una serie de dilución 1:2. La determinación de la CIM se lleva a cabo con una cantidad celular de 10^5 gérmenes por ml en medio Isosensitest (empresa Difco, Irvine/Estados Unidos), a excepción de *S. pneumoniae*, que se ensaya en caldo BHI (empresa Difco, Irvine/Estados Unidos) con 10% de suero de vaca con una cantidad celular de 10^6 gérmenes por ml. Los cultivos se incuban a 37°C durante 18-24 horas, *S. pneumoniae*, en presencia de 10% de CO₂.

La correspondiente concentración de sustancia más baja con la que ya no aparece ningún crecimiento de bacterias visibles, se define como CIM. Los valores de MHK se indican en µg/ml.

Los datos de actividad *in vitro* representativos para los compuestos según la invención se reproducen en la tabla A:

Ejemplo N.º	MHK <i>S. aureus</i> 133	MHK <i>S. pneumoniae</i>	MHK <i>E. faecium</i> L4001	MHK <i>E. faecalis</i> ICB 27159
1	0.125	0.125	0.5	0.5
3	0.125	0.031	0.25	0.25
18	1	2	1	1
23	0.125	0.125	0.5	1
24	0.25	0.5	1	2
30	0.25	0.25	0.5	1
38	0.125	0.063	0.5	1
47	0.25	0.25	1	2
48	0.125	0.125	0.25	0.5
57	0.5	0.25	1	1
59	0.125	<0.063	0.25	0.25
62	0.25	0.5	0.5	1
68	0.125	0.031	0.5	0.5
69	0.5	0.5	1	1
74	0.125	0.063	0.5	1
81	0.5	0.25	0.25	0.25
82	0.125	0.125	0.5	1
86	0.25	0.125	1	0.5
97	1	0.125	1	0.5
99	0.25	<0.063	0.063	0.063
101	1	0.5	1	1
105	0.5	0.063	0.5	1
107	0.25	0.25	0.5	1
1A	0.25	0.063	0.5	1

La idoneidad de los compuestos según la invención para el tratamiento de infecciones bacterianas se puede mostrar en el siguiente modelo animal:

5 *Infección sistémica con Staphylococcus aureus 133*

Se crían células de *S. aureus* 133 durante la noche en caldo BHI (empresa Oxoid, Nueva York/Estados Unidos). El cultivo de la noche se diluye 1:100 en caldo fresco BHI y se incuban durante 3 horas. Las células que se hallan en la fase de crecimiento logarítmico se centrifugan y se lavan dos veces con solución tamponada fisiológica de cloruro de sodio. Luego se ajusta fotométricamente una suspensión celular en solución de cloruro de sodio con una extinción de 50 unidades. Después de una etapa de dilución (1:15), se mezcla esta suspensión 1:1 con una solución de mucina al 10%. De esta solución infecciosa, se aplican 0,25 ml/20 g de ratón por vía intraperitoneal (equivalente a 1×10^6 gérmenes/ratón). La terapia resulta por vía intraperitoneal o intravenosa durante 30 minutos después de la infección. Para el ensayo de infección, se usan ratones hembra CFWI. La supervivencia de los animales se protocoliza durante 6 días.

Las propiedades de los compuestos según la invención respecto de la tolerancia renal se muestra en el siguiente modelo animal:

20 *Modelo murino para la determinación de efectos nefrotóxicos*

Los efectos secundarios nefrotóxicos de los nonadepsipéptidos se analizan por medio de ensayos histopatológicos de los riñones en ratones después de una dosis múltiple de una dosis determinada. Para ello, se tratan 5 - 6 animales ya sea por vía intravenosa (i.v.) o intraperitoneal (i.p.) con sustancias que se disuelven en solución acuosa o añadiendo Solutol. Los efectos tóxicos para los riñones se determinan por medio de evaluación con microscopio óptico de cortes de parafina teñidos con hematoxilina y eosina (H&E) de los riñones. Se lleva a cabo facultativamente una reacción 'Periodic-Acid Schiff (PAS)' para una mejor obtención de glucoproteínas. Los efectos nefrotóxicos se establecen semicuantitativamente para cada animal como grado de gravedad de la basofilia tubular existente y degeneración/regeneración (grado de gravedad: 0 = sin efecto; 1 = efecto mínimo; 2 = efecto leve; 3 = efecto moderado; 4 = lesiones graves). El grado de gravedad medio de la degeneración/regeneración tubular, así como la incidencia (cantidad de los animales afectados) se calcula por grupo de animales o derivado. Asimismo se enumeran modificaciones renales que van más allá de ello, así como necrosis y acumulación de material necrótico.

35 **C. Ejemplos de realización para composiciones farmacéuticas**

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

Comprimido

40 Composición:

100 mg del compuesto del Ejemplo 1, 50 mg de lactosa (monohidrato), 50 mg de almidón de maíz (nativo), 10 mg de polivinilpirolidona (PVP 25) (empresa BASF, Ludwigshafen, Alemania) y 2 mg de estearato de magnesio. Peso del comprimido 212 mg. Diámetro 8 mm, radio de curvatura 12 mm.

Preparación:

La mezcla de principio activo, lactosa y almidón se granula con una solución al 5% (m/m) de PVP en agua. El granulado se mezcla después del secado con el estearato de magnesio durante 5 min. Esta mezcla se comprime con una prensa para comprimir usual (para formato del comprimido, véase arriba). Como valor normativo para la compresión, se usa una fuerza de compresión de 15 kN.

55 *Suspensión de aplicación oral*

Composición:

1000 mg del compuesto del Ejemplo 1, 1000 mg de etanol (96%), 400 mg de Rhodigel (goma xantana de la empresa FMC, Pennsylvania, Estados Unidos) y 99 g de agua.

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

65 Preparación:

El Rhodigel se suspende en etanol, el principio activo se añade a la suspensión. Bajo agitación se realiza la adición del agua. Hasta terminar el hinchamiento del Rhodigel, se agita durante aproximadamente 6 h.

ES 2 330 221 T3

Solución de administración intravenosa

Composición:

5 100-200 mg del compuesto del Ejemplo 1, 15 g de polietilenglicol 400 y 250 g de agua para inyectables.

Preparación:

10 El compuesto del Ejemplo 1 se disuelve junto con polietilenglicol 400 en el agua bajo agitación. La solución se esteriliza por filtración (diámetro de los poros 0,22 μm) y se envasa en condiciones asépticas en viales de infusión esterilizados bajo calor. Se cierran herméticamente con tapones de infusión y tapas con borde.

15

20

25

30

35

40

45

50

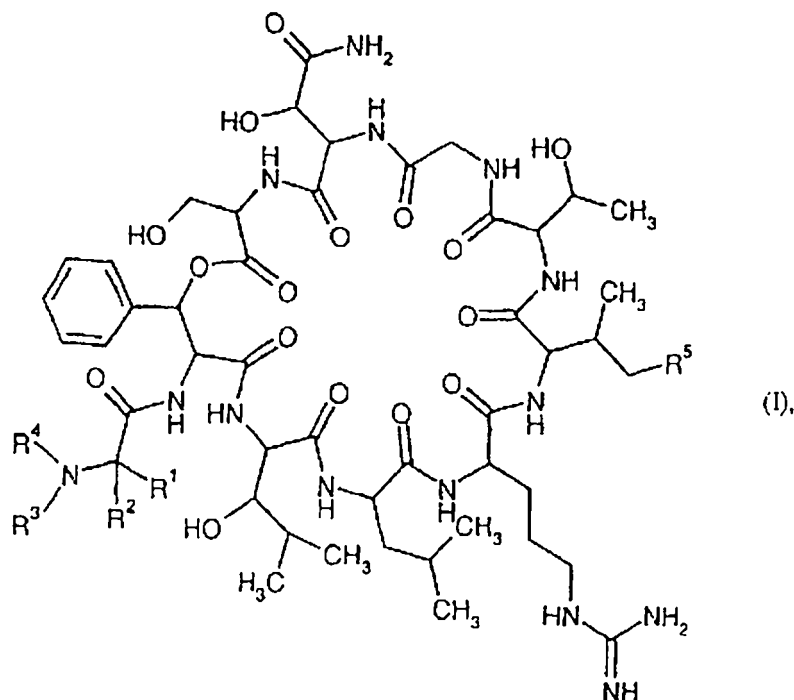
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de la fórmula



en la que

R¹ significa hidrógeno, cicloalquilo C₃-C₆, cicloalquenilo C₅-C₆, cicloalquil C₃-C₆-metilo, heterociclilmetilo de 5 a 7 miembros, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 1,1-dimetilprop-1-ilo, 1-etil-prop-1-ilo, 1-etil-1-metilprop-1-ilo, n-butilo, 2-metilbut-1-ilo, 3-metilbut-1-ilo, 1-etilbut-1-ilo, terc-butilo, 4-metilpent-1-ilo, n-hexilo, alquenilo o arilo,

en donde R¹ puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, trimetilsililo, alquilo, alcoxi, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, arilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilamino, arilamino, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo, arilcarbonilo y benciloxicarbonilamino, en donde arilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, alquilo, alcoxi fenilo,

R² significa hidrógeno o alquilo C₁-C₄,

o

R¹ y R² junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo, alcoxi y alquilcarbonilo,

R³ significa alquilo, cicloalquilo C₃-C₆, heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo, cicloalquilcarbonilo C₃-C₆, heterociclilcarbonilo de 5 a 7 miembros, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquilaminocarbonilo,

en donde alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxicarbonilo, ciclo-alquilcarbonilo, heterociclilcarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, alquilamino y fenilo,

y

en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino o alquil-amino,

y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi, alquiltio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilcarbonilamino, alcocixarbonilamino, arilcarbonilamino, arilcarboniloxi, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en donde fenilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo, alcoxi y fenilo, o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo y alcoxi, o

en donde el anillo cicloalquilo puede estar benzocondensado,

R⁴ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₄, ciclopropilo o ciclopropilmetilo, o

R³ y R⁴ junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, pudiendo estar el anillo heterociclilo sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo, alcoxi y alquilamino,

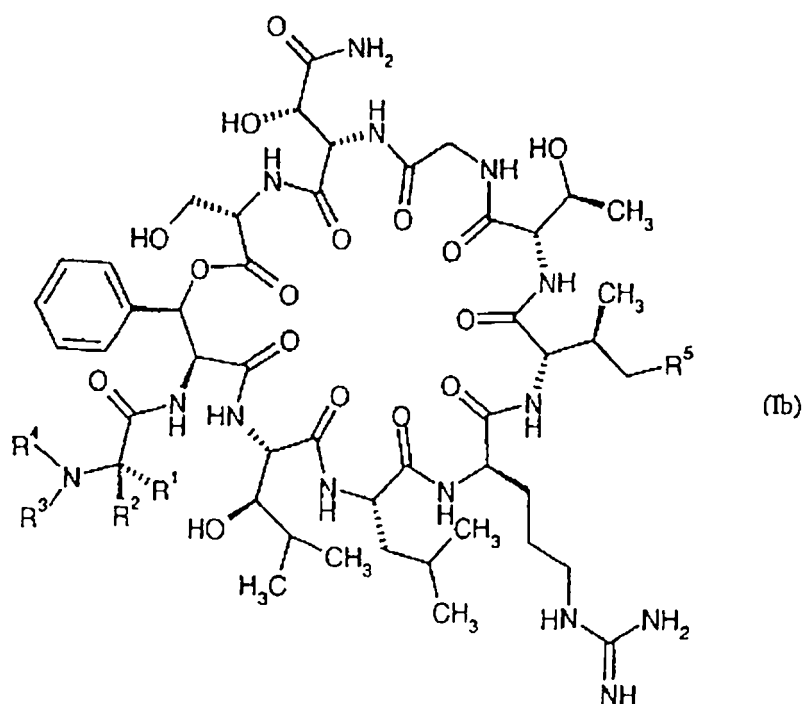
y

R⁵ significa hidrógeno o metilo,

o una de sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales,

con la condición de que, para el caso de que R¹ signifique hidrógeno, R² signifique 2-metilprop-1-ilo, R⁴ signifique hidrógeno y R⁵ signifique metilo y el átomo de carbono al que R¹ y R² están unidos tenga la configuración (S) o que R¹ signifique 2-metilprop-1-ilo, R² signifique hidrógeno, R⁴ signifique hidrógeno y R⁵ signifique metilo y el átomo de carbono al que R¹ y R² están unidos tenga configuración (S), R³ no signifique glicilo, D-alanilo, L-alanilo o D-leucilo, y con la condición de que para el caso de que R¹ signifique hidrógeno, R² signifique 2-metilprop-1-ilo, R⁴ signifique hidrógeno y R⁵ signifique hidrógeno y el átomo de carbono al que R¹ y R² están unidos tenga la configuración (S) o que R¹ signifique 2-metilprop-1-ilo, R² signifique hidrógeno, R⁴ signifique hidrógeno y R⁵ signifique hidrógeno y el átomo de carbono al que R¹ y R² están unidos tenga la configuración (S), R³ no signifique 1D-leucilo.

2. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizados** porque corresponden a la fórmula



en la que

R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 tienen el significado indicado en la reivindicación 1, o una de sus sales, sus solvatos y los solvatos de sus sales.

3. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizados** porque

R^1 significa 2-metilprop-1-ilo,

R^2 significa hidrógeno o alquilo C_1-C_4 ,

R^3 significa alquilo, cicloalquilo C_3-C_6 , heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquilcarbonilo, alcoxicarbonilo, cicloalquilcarbonilo C_3-C_6 , heterociclicarbonilo de 5 a 7 miembros, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquilaminocarbonilo,

en donde alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcoxicarbonilo, ciclo-alquilcarbonilo, heterociclicarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, alquilamino y fenilo,

y

en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino o alquil-amino, y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi, alquiltio, benciloxi, cicloalquilo C_3-C_6 , fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino, arilcarbonilamino, arilcarboniloxi, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en donde fenilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo, alcoxi y fenilo, o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C_3-C_6 o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo y alcoxi, o

en donde el anillo cicloalquilo puede estar benzocondensado,

R^4 significa hidrógeno, alquilo C_1-C_4 , ciclopropilo o ciclopropilmetilo,

o

R^3 y R^4 junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo heterociclilo puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo, alcoxi y alquilamino, y

R^5 significa hidrógeno o metilo.

4. Compuestos de acuerdo con la reivindicación 3, **caracterizados** porque

R^1 significa 2-metilprop-1-ilo,

R^2 significa hidrógeno,

R^3 significa alquilcarbonilo C_1-C_6 ,

en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino,

y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por trimetilsililo, alcoxi C_1-C_4 , metiltio, benciloxi, cicloalquilo C_3-C_6 , fenilo, naftilo, tienilo, piridilo, indolilo, alcoxi C_1-C_4 -carbonilamino, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en donde fenilo, a su vez, puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, alquilo C_1-C_4 , alcoxi C_1-C_4 y fenilo, o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C_3-C_6 , pudiendo estar el anillo cicloalquilo benzocondensado,

R⁴ significa hidrógeno,

y

R⁵ significa metilo.

5. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, **caracterizado** porque

R¹ significa hidrógeno, cicloalquilo C₃-C₆, cicloalquenilo C₅-C₆, cicloalquil C₃-C₆-metilo, heterocicilmetilo de 5 a 7 miembros, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 1,1-dimetilprop-1-ilo, 1-etil-prop-1-ilo, 1-etil-1-metilprop-1-ilo, n-butilo, 2-metilbut-1-ilo, 3-metilbut-1-ilo, 1-etilbut-1-ilo, terc-butilo, 4-metilpent-1-ilo, n-hexilo, alquenilo o arilo,

en donde R¹ puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, trimetilsililo, alquilo, alcoxi, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, arilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilamino, arilamino, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilcarbonilo, alcóxicarbonilo, arilcarbonilo y benciloxycarbonilamino, en donde arilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, nitro, alquilo, alcoxi y fenilo,

R² significa hidrógeno o alquilo C₁-C₄,

o

R¹ y R² junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo, alcoxi y alquilcarbonilo,

R³ significa alquilo, cicloalquilo C₃-C₆, heterociclilo de 5 a 7 miembros, arilo, heteroarilo de 5 ó 6 miembros, alquilcarbonilo, alcóxicarbonilo, cicloalquilcarbonilo C₃-C₆, heterocicilcarbonilo de 5 a 7 miembros, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo de 5 ó 6 miembros o alquilaminocarbonilo,

en donde alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, alcóxicarbonilo, cicloalquilcarbonilo, heterocicilcarbonilo, arilcarbonilo, heteroarilcarbonilo y alquilaminocarbonilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, alquilamino y fenilo,

y

en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino o alquil-amino,

y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, trimetilsililo, alcoxi, alquiltio, benciloxi, cicloalquilo C₃-C₆, fenilo, naftilo, heteroarilo de 5 a 10 miembros, alquilcarbonilamino, alcoxi-carbonilamino, arilcarbonilamino, arilcarboniloxi, benciloxycarbonilo y benciloxycarbonilamino,

en donde fenilo y heteroarilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo, alcoxi y fenilo, o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C₃-C₆ o un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros,

en donde el anillo cicloalquilo y el anillo heterociclilo pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por trifluorometilo, alquilo y alcoxi, o

en donde el anillo cicloalquilo puede estar benzocondensado,

R⁴ significa hidrógeno, alquilo C₁-C₄, ciclopropilo o ciclopropilmetilo, o

R³ y R⁴ junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterociclilo de 5 a 7 miembros, pudiendo estar el anillo heterociclilo sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre si, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo, alcoxi y alquilamino,

y

R⁵ significa hidrógeno o metilo.

6. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, **caracterizado** porque

R^1 significa metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, 1-metilprop-1-ilo, 2,2-dimetilprop-1-ilo, 1,1-dimetilprop-1-ilo, 1-etilprop-1-ilo, 1-etil-1-metilprop-1-ilo, n-butilo, 2-metilbut-1-ilo, 3-metilbut-1-ilo, 1-etilbut-1-ilo, terc-butilo, 4-metilpent-1-ilo o n-hexilo,

en donde R^1 puede estar sustituido con 0 ó 1 sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por trimetilsililo, alcoxi C_1-C_4 , benciloxi, cicloalquilo C_3-C_6 , fenilo, naftilo, piridilo, indolilo, alcoxi C_1-C_4 -carbonilo y benciloxi-carbonilamino,

en donde fenilo y piridilo, a su vez, pueden estar sustituidos con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, hidroxilo, nitro, alquilo C_1-C_4 , alcoxi C_1-C_4 y fenilo,

R^2 significa hidrógeno,

o

R^1 y R^2 junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C_3-C_6 , pudiendo estar el anillo cicloalquilo sustituido con 0 ó 1 sustituyentes seleccionados del grupo compuesto por trifluorometilo y alcoxi C_1-C_4 ,

R^3 significa alquil C_1-C_6 -carbonilo,

en donde alquilcarbonilo está sustituido con un sustituyente amino,

y

en donde alquilcarbonilo puede estar sustituido con otros 0, 1 ó 2 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por trimetilsililo, alcoxi C_1-C_4 , metiltio, benciloxi, cicloalquilo C_3-C_6 , fenilo, naftilo, tienilo, piridilo, indolilo, alcoxi C_1-C_4 -carbonilamino, benciloxicarbonilo y benciloxicarbonilamino,

en donde fenilo, a su vez, puede estar sustituido con 0, 1, 2 ó 3 sustituyentes seleccionados, de modo independiente entre sí, del grupo compuesto por halógeno, alquilo C_1-C_4 , alcoxi C_1-C_4 y fenilo,

o dos sustituyentes en el mismo átomo de carbono en el alquilcarbonilo junto con el átomo de carbono al que están unidos forman un anillo cicloalquilo C_3-C_6 ,

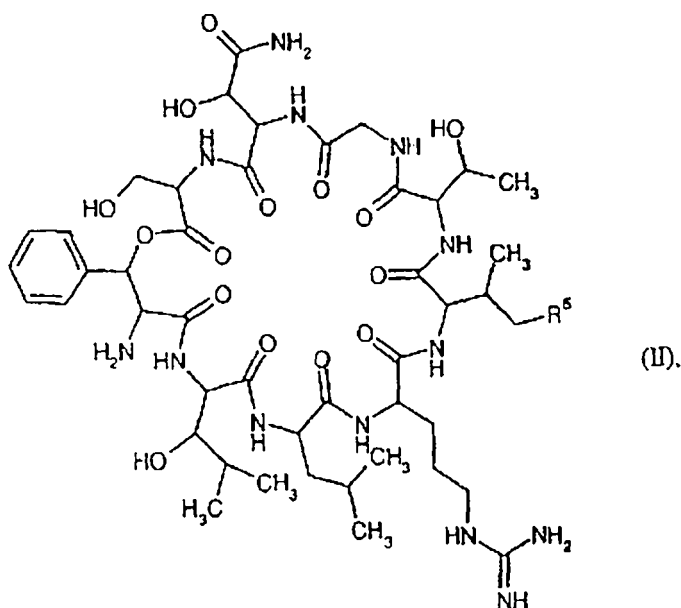
pudiendo estar el anillo cicloalquilo benzocondensado,

R^4 significa hidrógeno,

y

R^5 significa metilo.

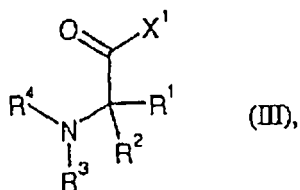
7. Procedimiento para preparar un compuesto de la fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, **caracterizado** porque un compuesto de la fórmula



en la que

R^5 tiene el significado indicado en la reivindicación 1,

se hace reaccionar con un compuesto de la fórmula



en la que

R^1 , R^2 , R^3 y R^4 tienen el significado indicado en la reivindicación 1 y

X^1 significa halógeno o hidroxilo.

8. Compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6 para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades.

9. Uso de un compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6 para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades.

10. Uso de un compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6 para la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de infecciones bacterianas.

11. Medicamento que contiene un compuesto de acuerdo con una de las reivindicaciones 1 a 6 en combinación con un coadyuvante inerte, no tóxico, farmacéuticamente apropiado.

12. Medicamento de acuerdo con la reivindicación 11 para el tratamiento y/o la prevención de infecciones bacterianas.

Fig. 1

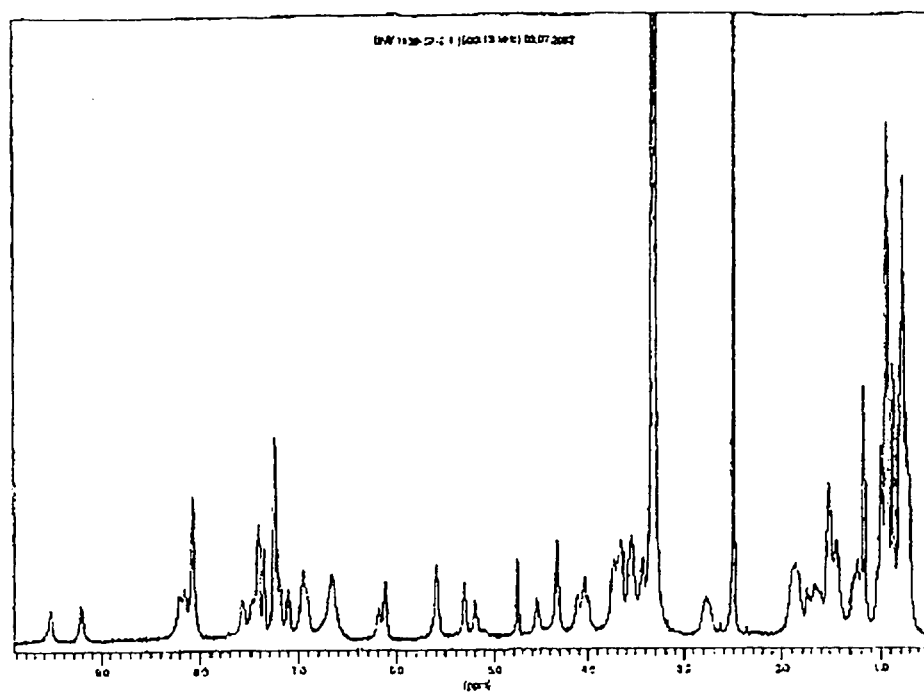


Fig. 2

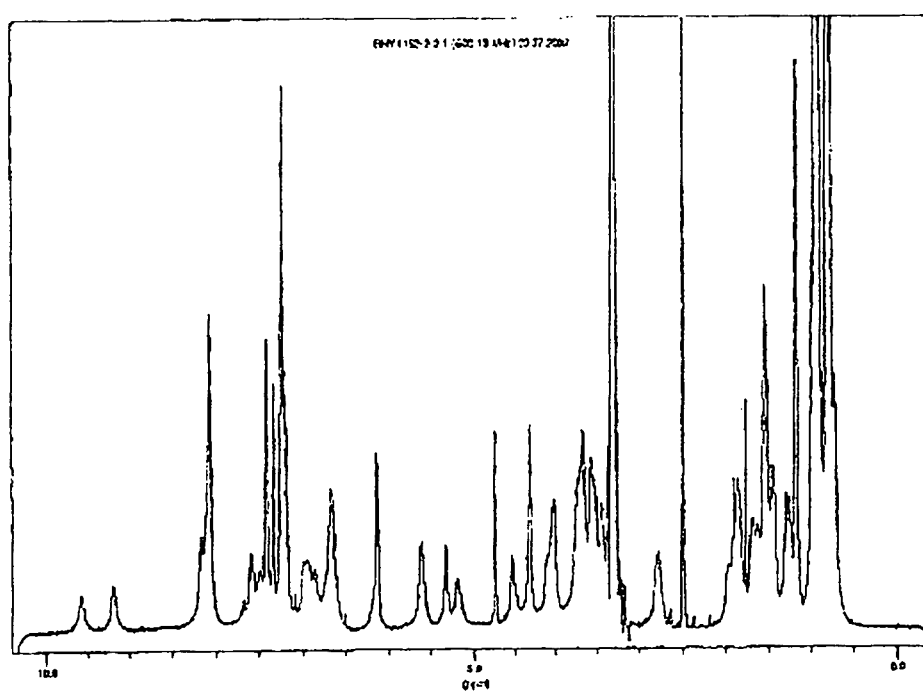


Fig 3.

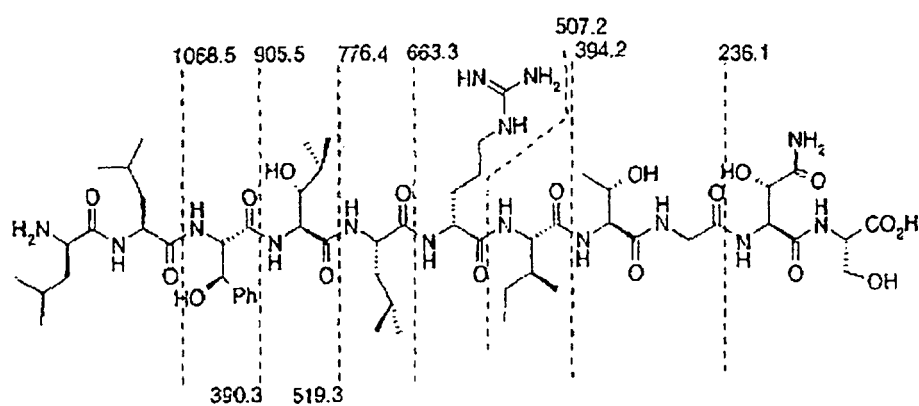


Fig. 4

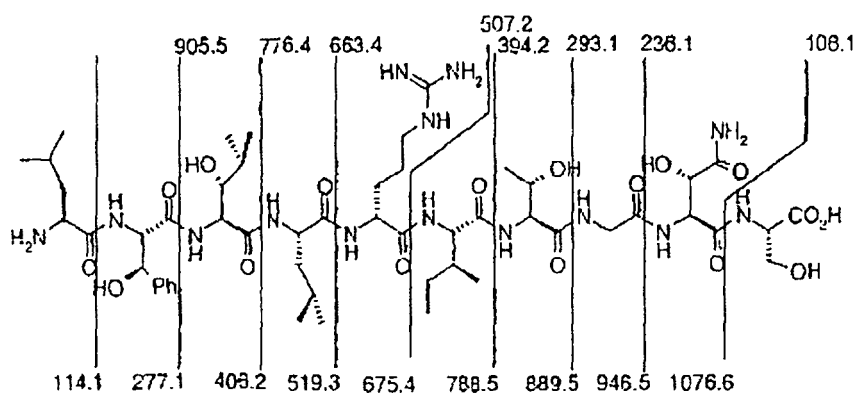


Fig. 5

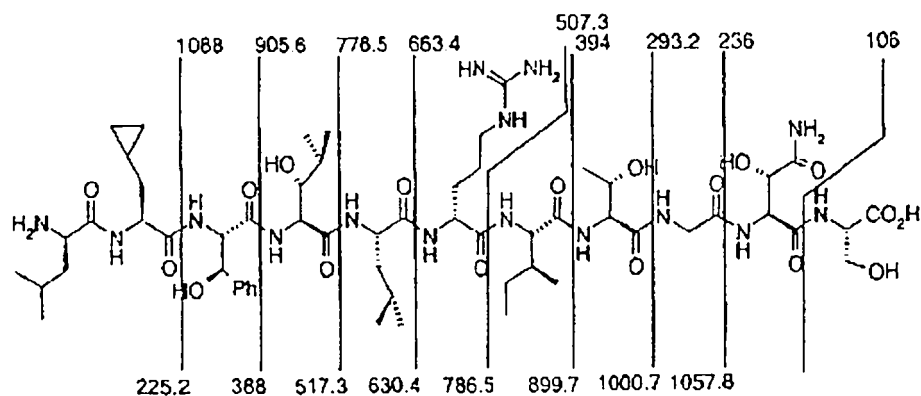


Fig. 6

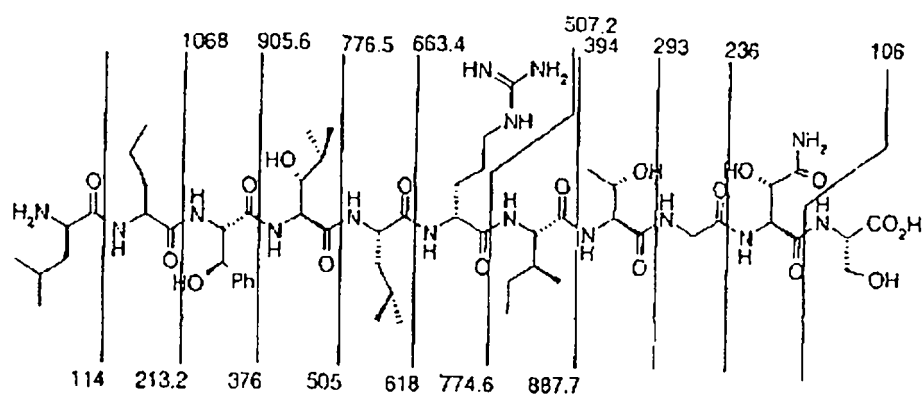


Fig. 7

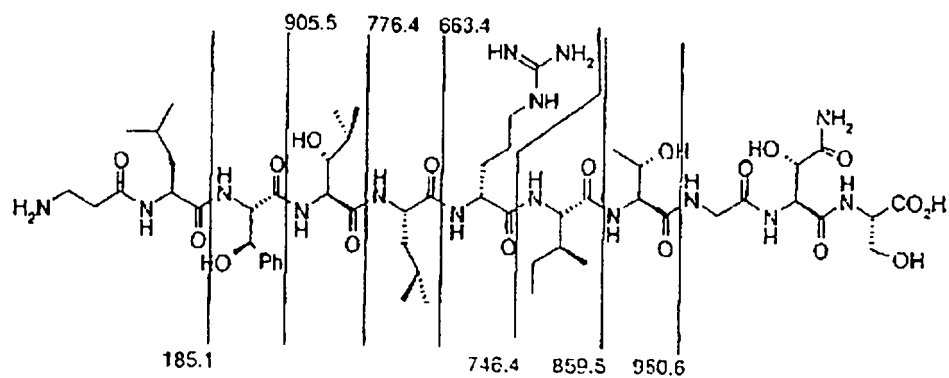


Fig. 8

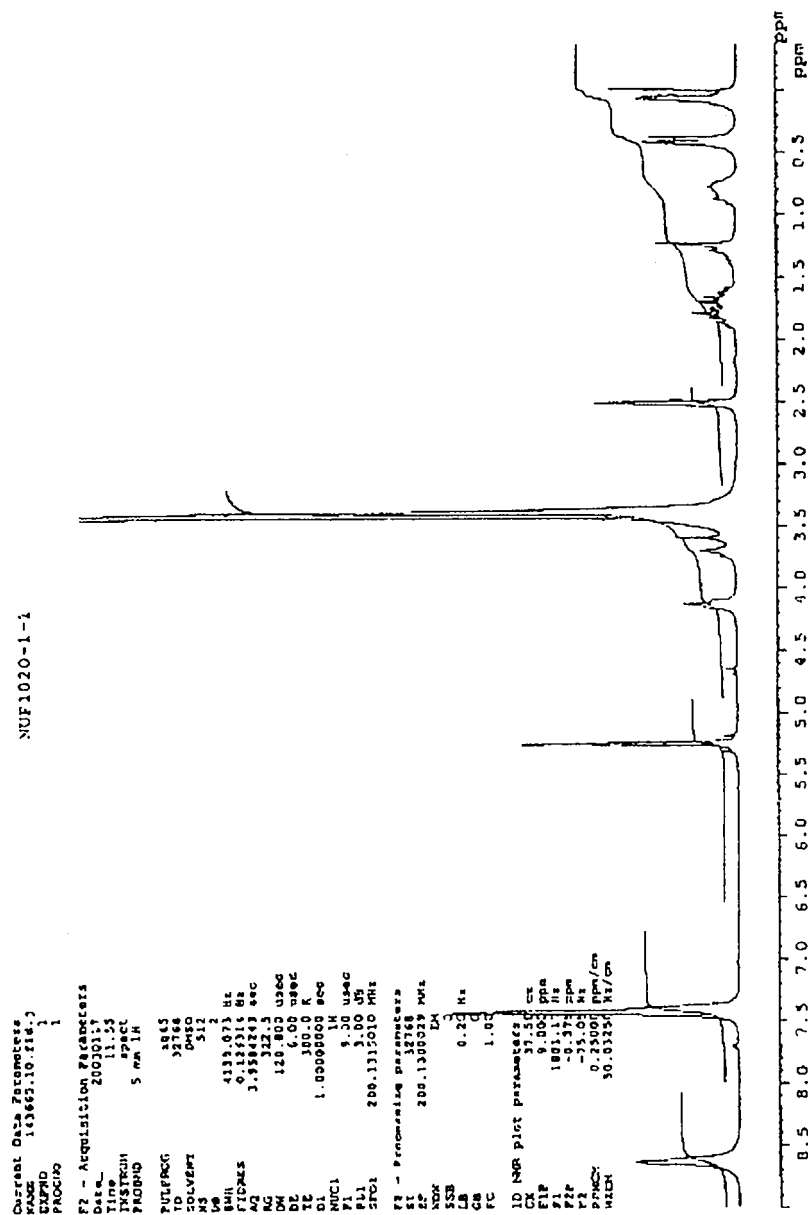


Fig. 9

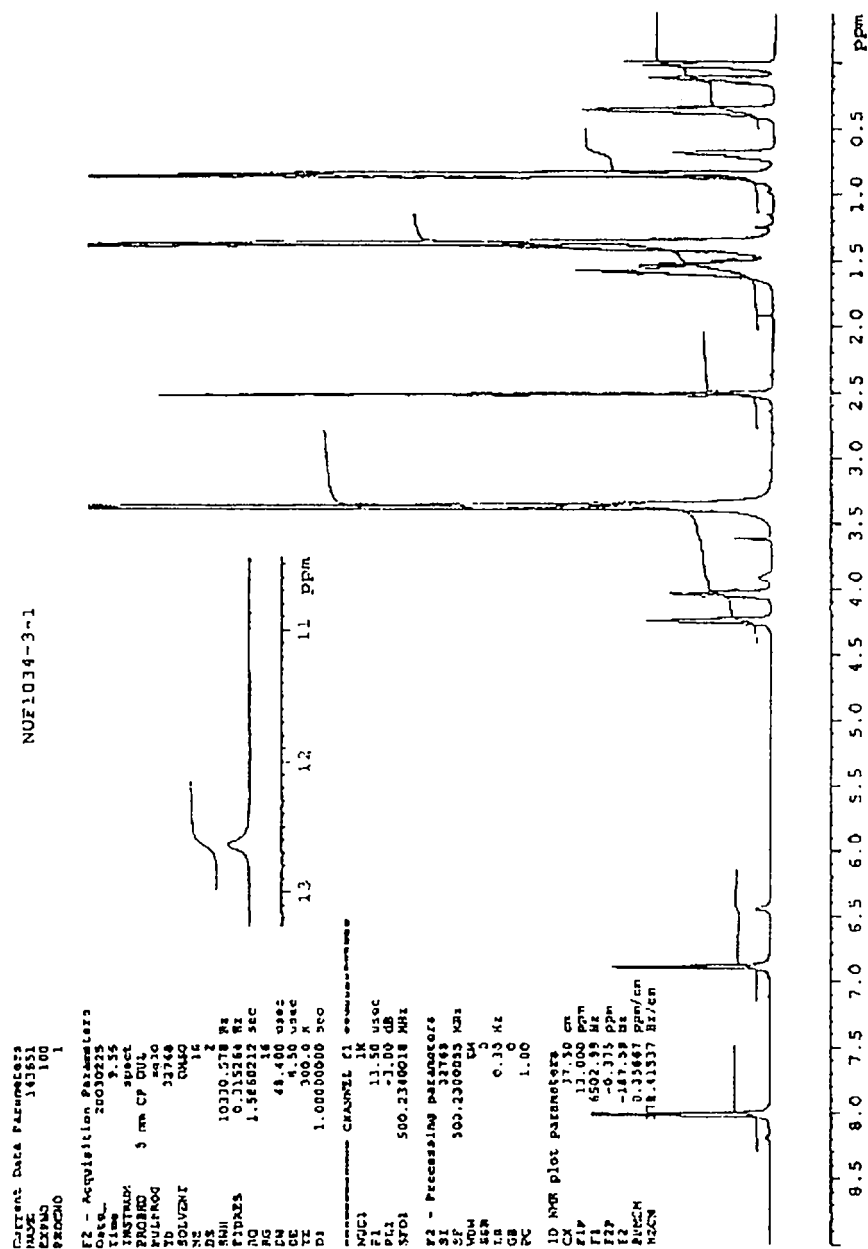


Fig. 10

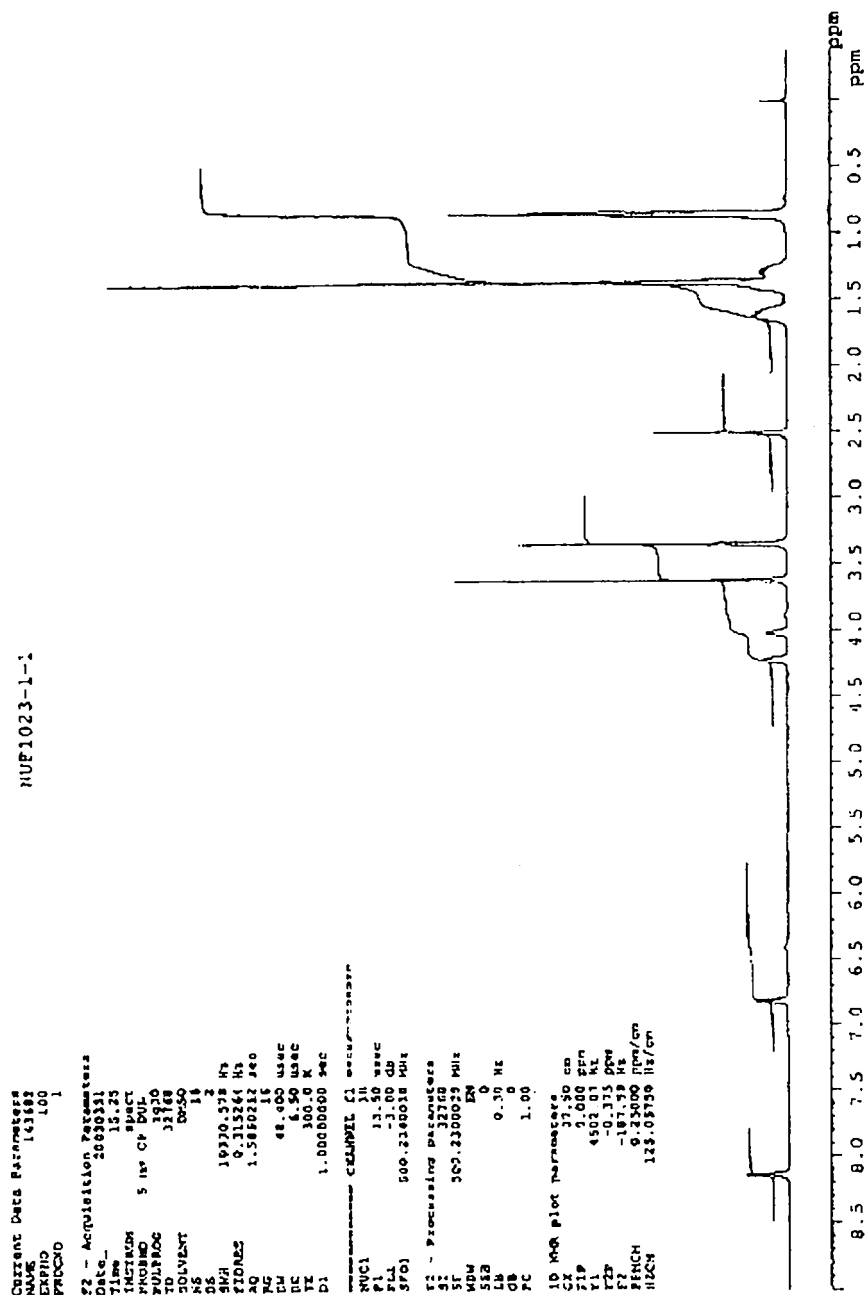


Fig. 11

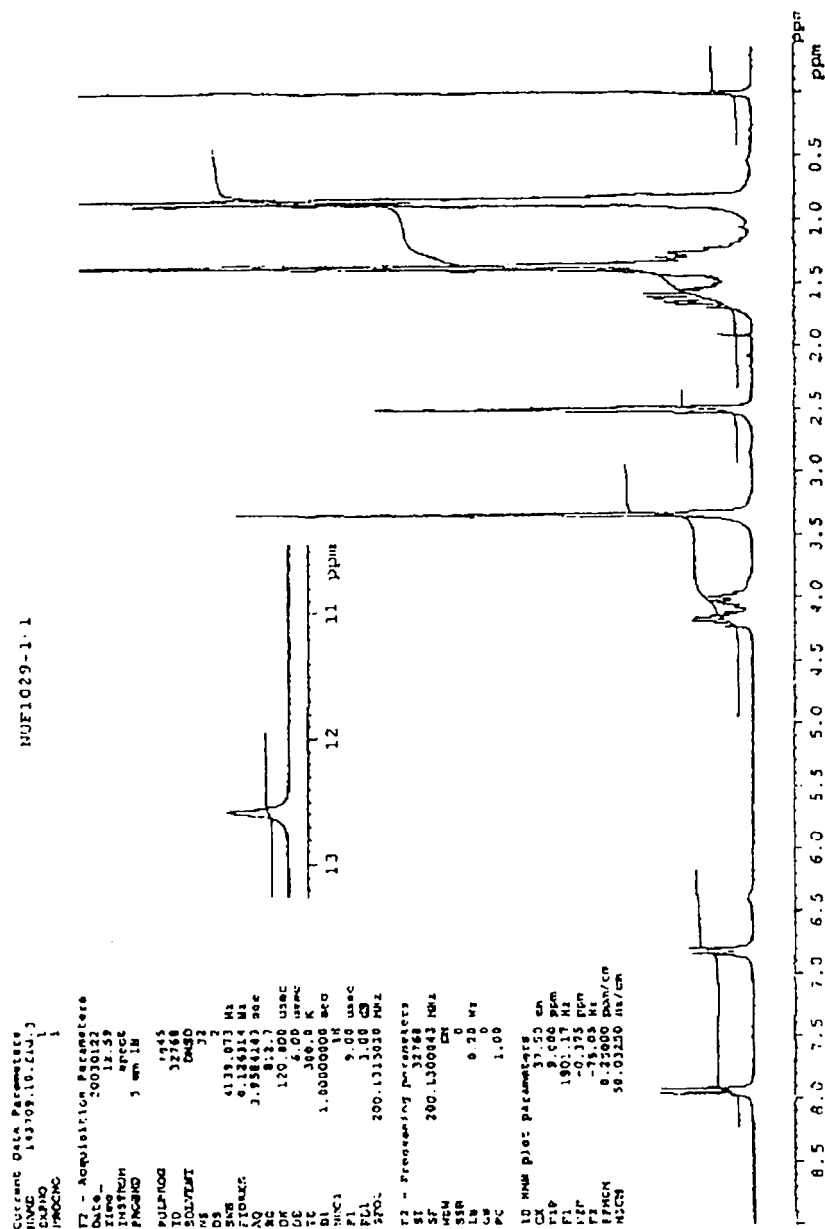


Fig. 12

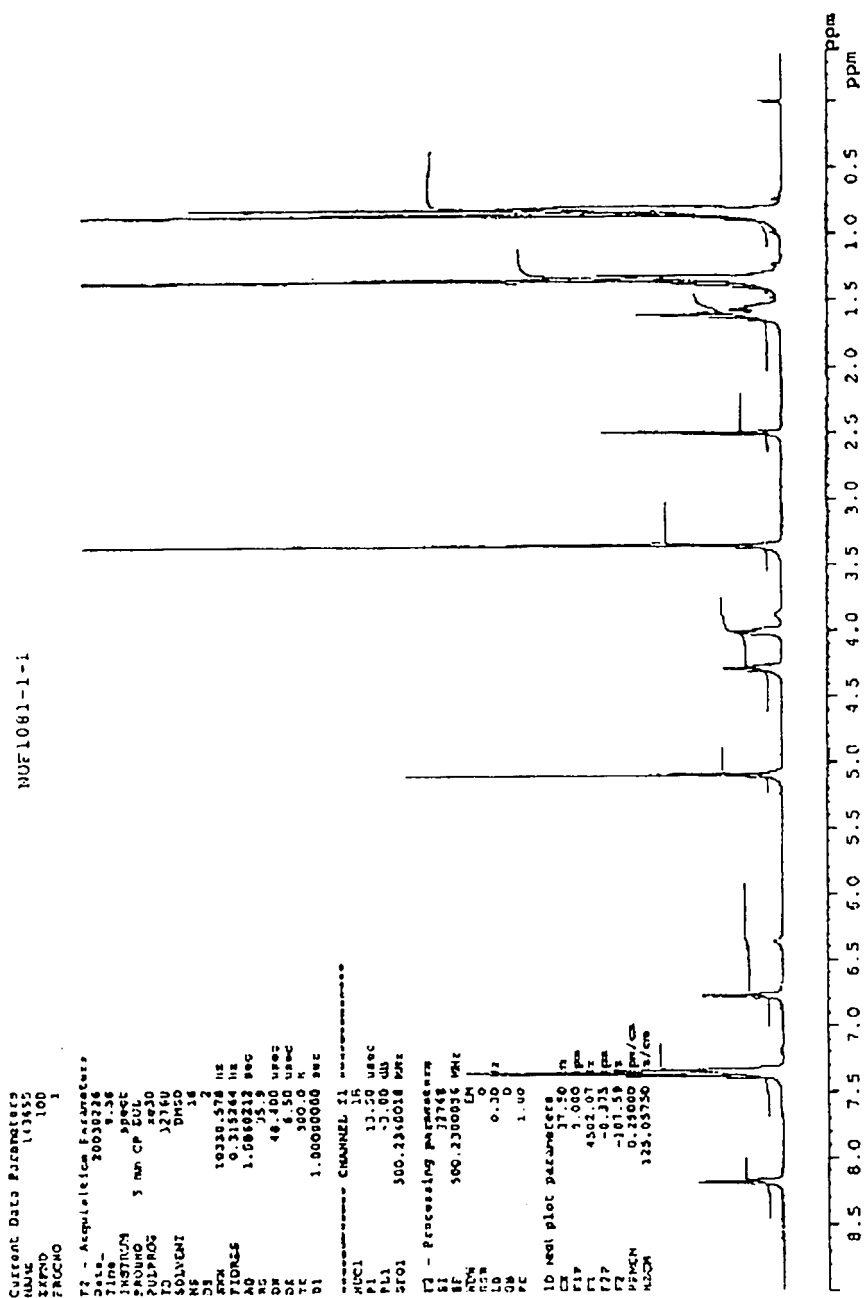


Fig. 13

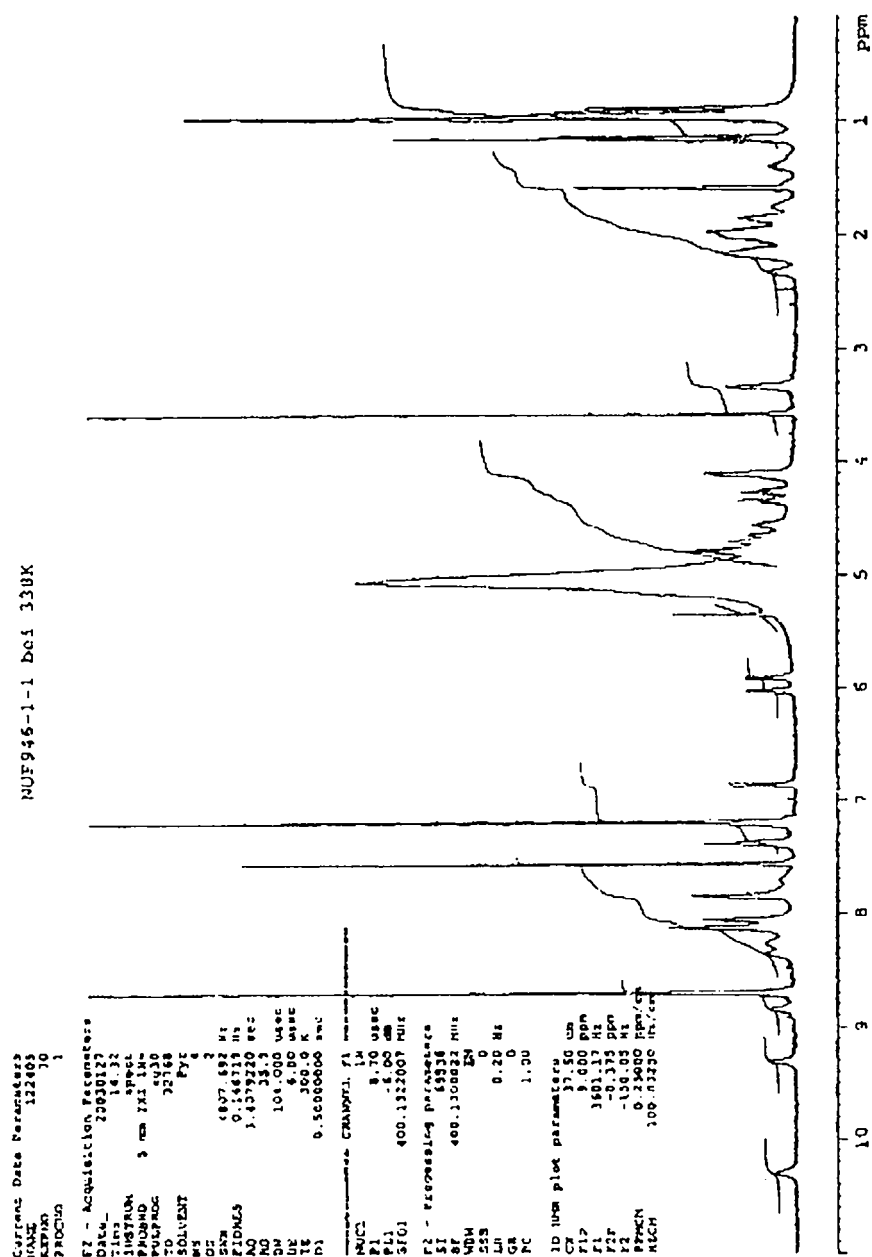
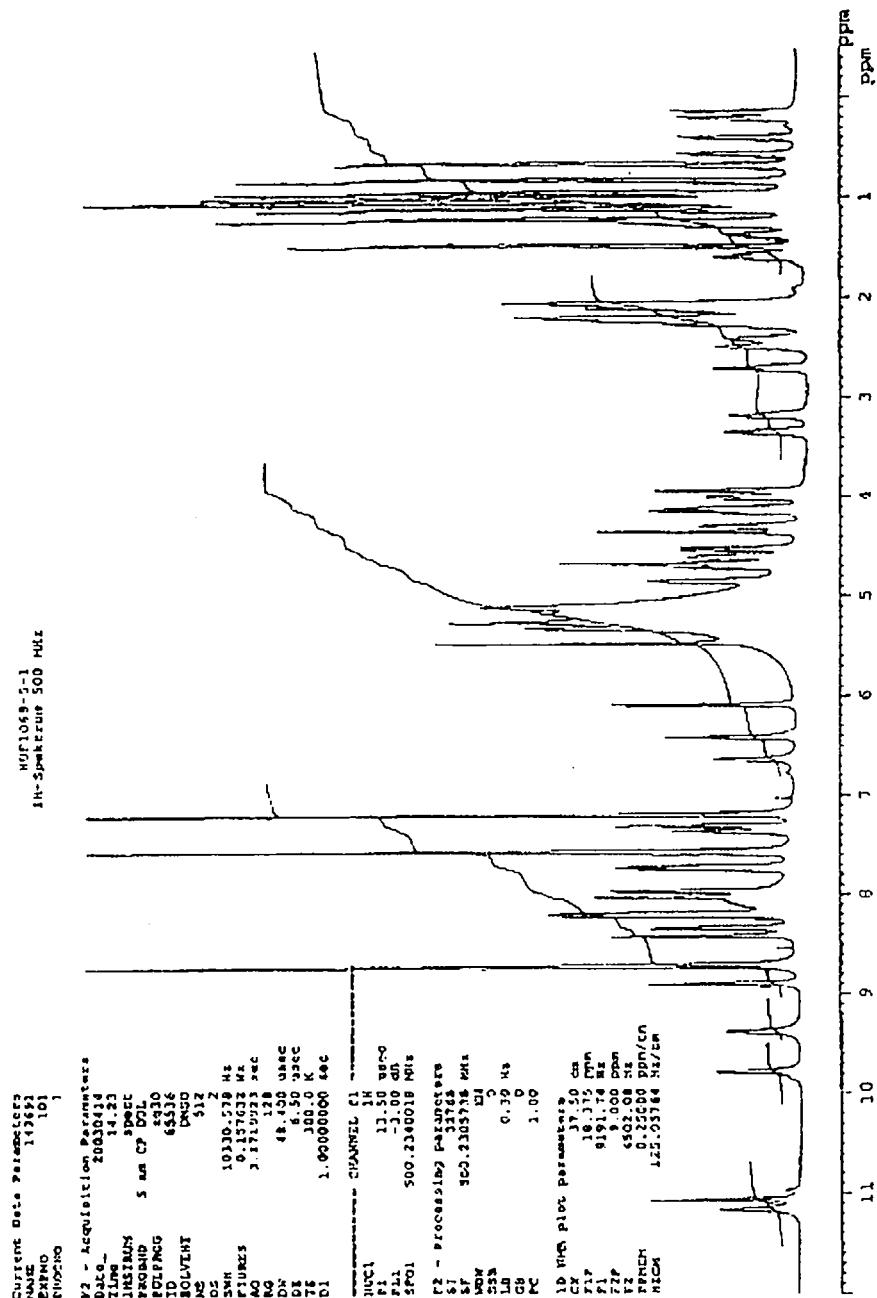


Fig. 14



[illegible]

Fig. 16

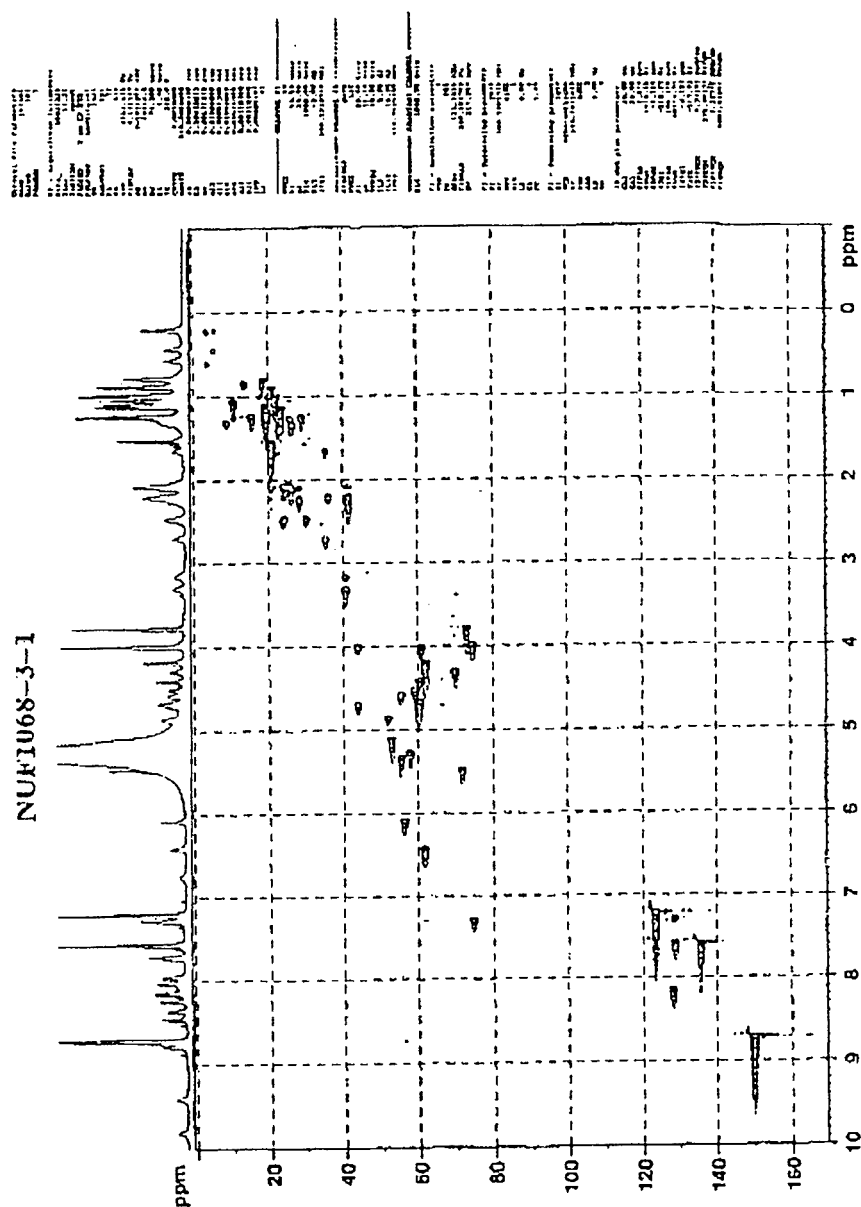


Fig. 17

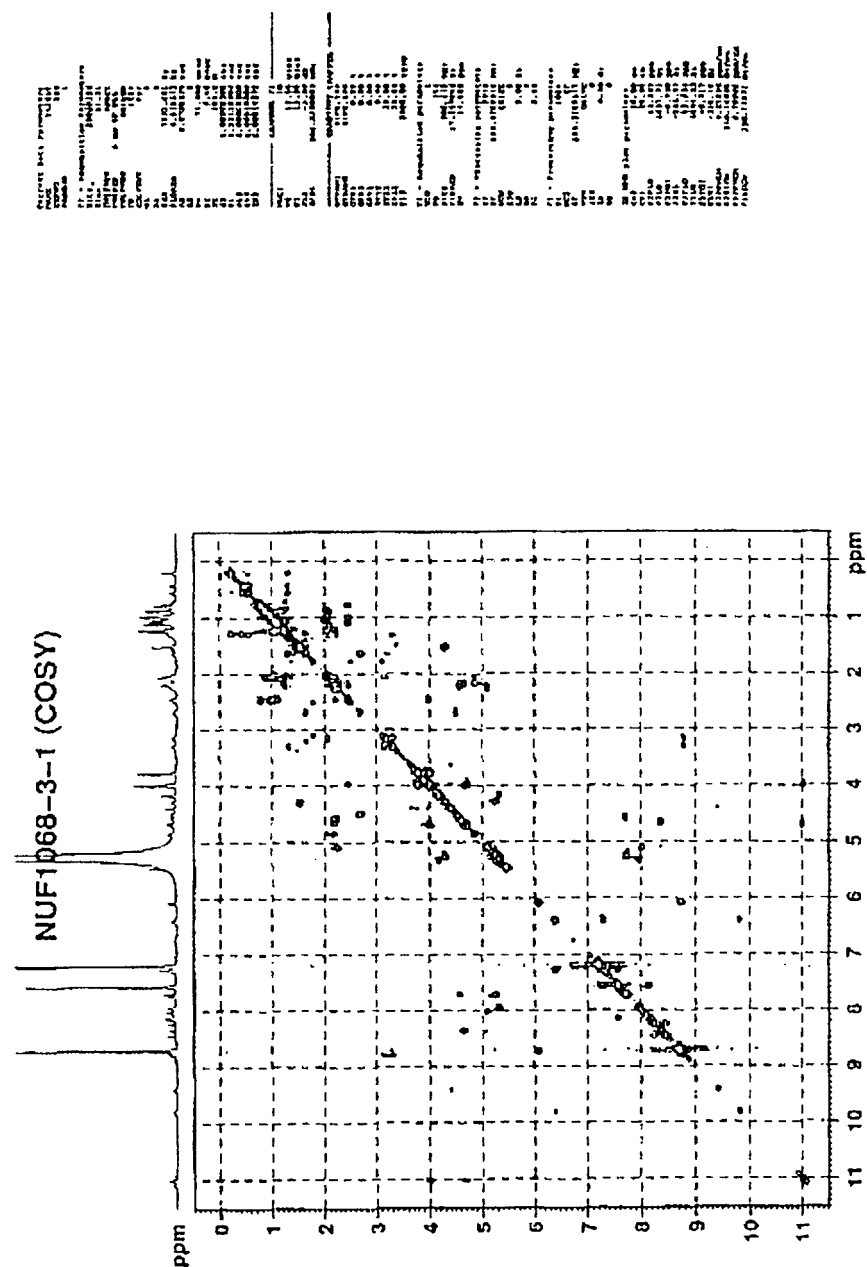


Fig. 18

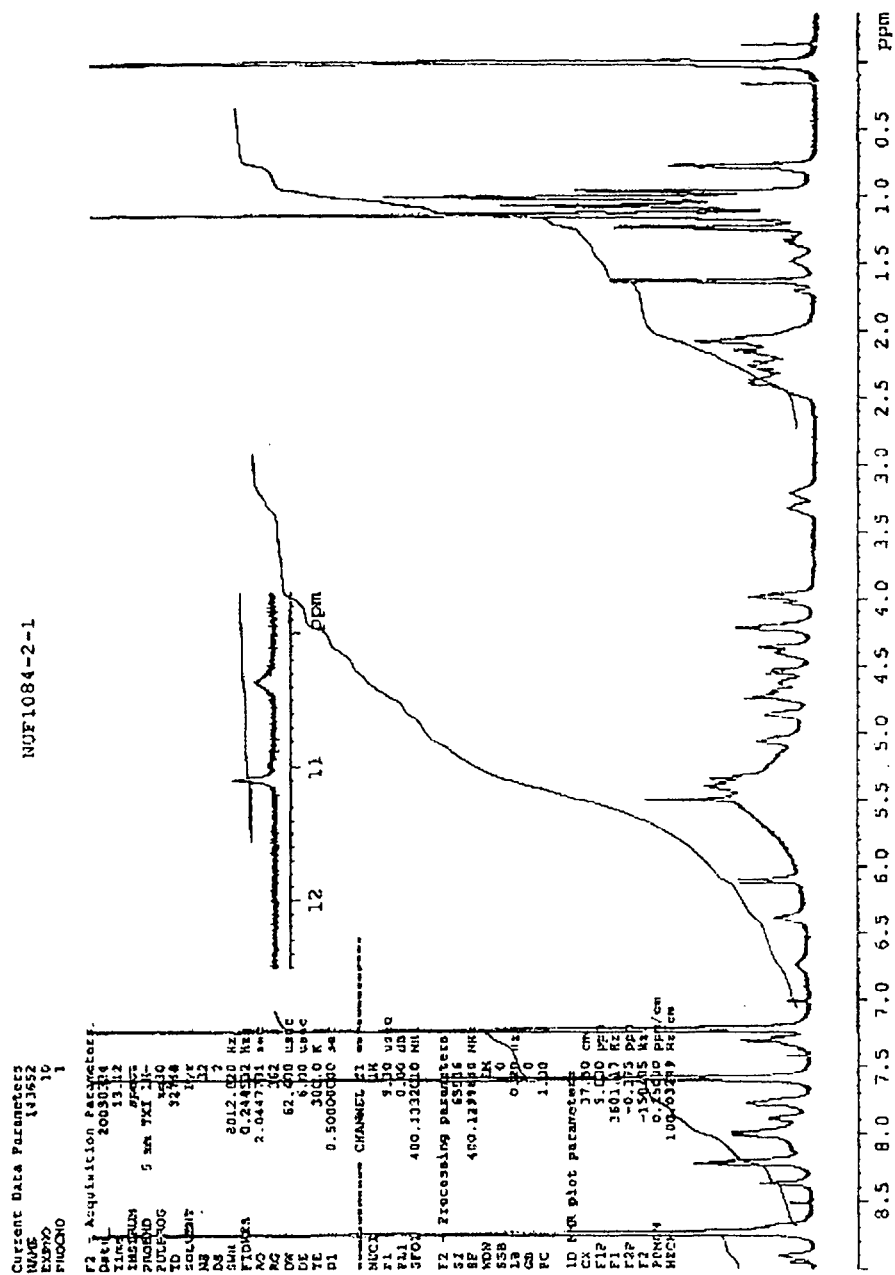
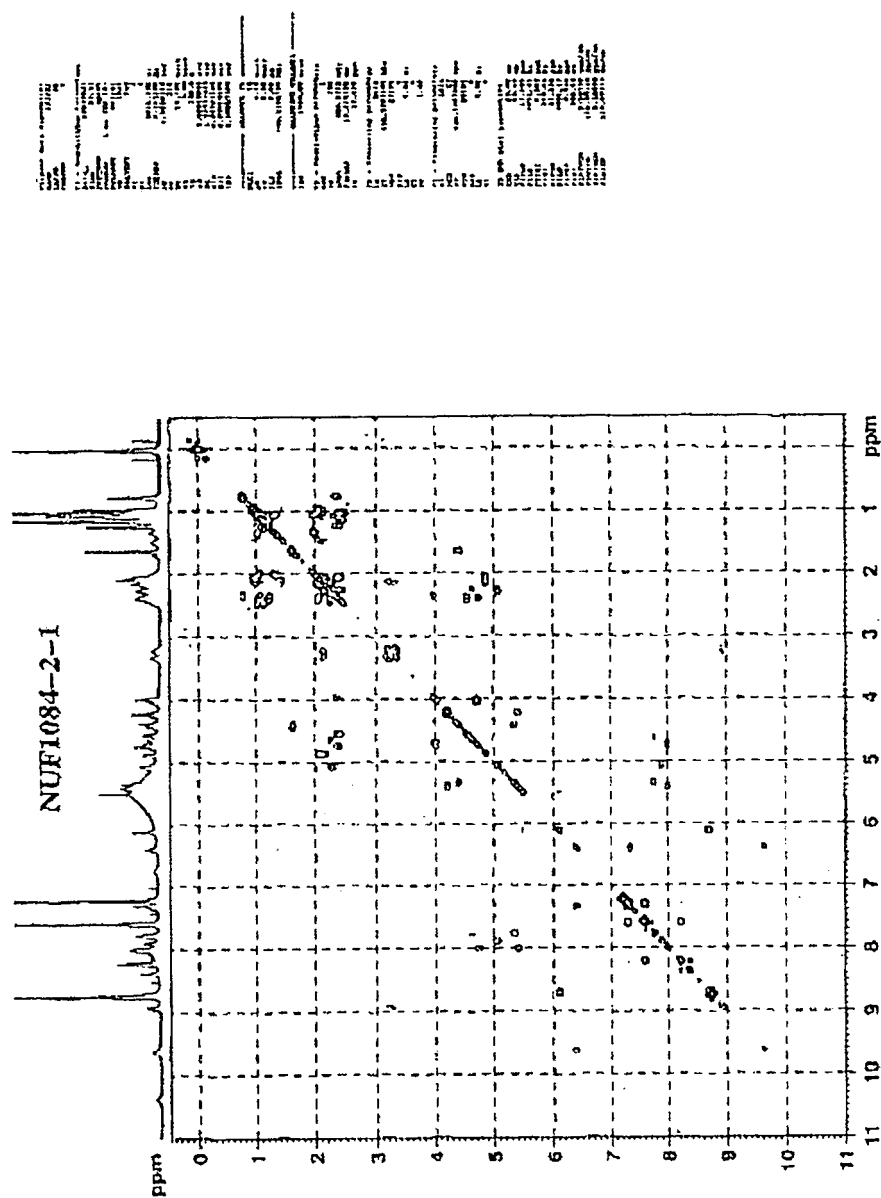


Fig. 19



NAME	NUF1084-2-I
EXPNO	1
F2 - Acquired File Name	NUF1084-2-I
PROBHD	5 mm QNP 1H/13
PROBHD2	5 mm QNP 1H/13
NUC1	13C
NUC2	1H
PCPDW	1.00000000
PCPDW2	1.00000000
PCPDW3	1.00000000
PCPDW4	1.00000000
PCPDW5	1.00000000
PCPDW6	1.00000000
PCPDW7	1.00000000
PCPDW8	1.00000000
PCPDW9	1.00000000
PCPDW10	1.00000000
PCPDW11	1.00000000
PCPDW12	1.00000000
PCPDW13	1.00000000
PCPDW14	1.00000000
PCPDW15	1.00000000
PCPDW16	1.00000000
PCPDW17	1.00000000
PCPDW18	1.00000000
PCPDW19	1.00000000
PCPDW20	1.00000000
PCPDW21	1.00000000
PCPDW22	1.00000000
PCPDW23	1.00000000
PCPDW24	1.00000000
PCPDW25	1.00000000
PCPDW26	1.00000000
PCPDW27	1.00000000
PCPDW28	1.00000000
PCPDW29	1.00000000
PCPDW30	1.00000000
PCPDW31	1.00000000
PCPDW32	1.00000000
PCPDW33	1.00000000
PCPDW34	1.00000000
PCPDW35	1.00000000
PCPDW36	1.00000000
PCPDW37	1.00000000
PCPDW38	1.00000000
PCPDW39	1.00000000
PCPDW40	1.00000000
PCPDW41	1.00000000
PCPDW42	1.00000000
PCPDW43	1.00000000
PCPDW44	1.00000000
PCPDW45	1.00000000
PCPDW46	1.00000000
PCPDW47	1.00000000
PCPDW48	1.00000000
PCPDW49	1.00000000
PCPDW50	1.00000000
PCPDW51	1.00000000
PCPDW52	1.00000000
PCPDW53	1.00000000
PCPDW54	1.00000000
PCPDW55	1.00000000
PCPDW56	1.00000000
PCPDW57	1.00000000
PCPDW58	1.00000000
PCPDW59	1.00000000
PCPDW60	1.00000000
PCPDW61	1.00000000
PCPDW62	1.00000000
PCPDW63	1.00000000
PCPDW64	1.00000000
PCPDW65	1.00000000
PCPDW66	1.00000000
PCPDW67	1.00000000
PCPDW68	1.00000000
PCPDW69	1.00000000
PCPDW70	1.00000000
PCPDW71	1.00000000
PCPDW72	1.00000000
PCPDW73	1.00000000
PCPDW74	1.00000000
PCPDW75	1.00000000
PCPDW76	1.00000000
PCPDW77	1.00000000
PCPDW78	1.00000000
PCPDW79	1.00000000
PCPDW80	1.00000000
PCPDW81	1.00000000
PCPDW82	1.00000000
PCPDW83	1.00000000
PCPDW84	1.00000000
PCPDW85	1.00000000
PCPDW86	1.00000000
PCPDW87	1.00000000
PCPDW88	1.00000000
PCPDW89	1.00000000
PCPDW90	1.00000000
PCPDW91	1.00000000
PCPDW92	1.00000000
PCPDW93	1.00000000
PCPDW94	1.00000000
PCPDW95	1.00000000
PCPDW96	1.00000000
PCPDW97	1.00000000
PCPDW98	1.00000000
PCPDW99	1.00000000
PCPDW100	1.00000000

Fig. 20

