

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 929 799**

51 Int. Cl.:

C07D 417/14 (2006.01)
A61K 31/5395 (2006.01)
A61K 31/549 (2006.01)
A61P 19/08 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)
C07D 417/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.12.2018** **PCT/JP2018/047450**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.07.2019** **WO19131582**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.12.2018** **E 18893819 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.09.2022** **EP 3733665**

54 Título: **Compuestos que contienen resto de 2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-ilo con actividad agonista del receptor EP₄**

30 Prioridad:

25.12.2017 JP 2017248173

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.12.2022

73 Titular/es:

ASAHI KASEI PHARMA CORPORATION (100.0%)
1-1-2 Yurakucho, Chiyoda-ku
Tokyo 100-0006, JP

72 Inventor/es:

SHIKANAI DAISUKE;
ISHIGURO NORIKO y
OMORI OSAMU

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 929 799 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos que contienen resto de 2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-ilo con actividad agonista del receptor EP₄

5 Campo técnico

La presente invención se refiere a compuesto cíclicos de 6 miembros que contienen nitrógeno novedosos y a medicamentos que los usan como ingrediente activo.

10 Antecedentes técnicos

Una fractura ósea es una alteración en la que un hueso se interrumpe o deforma parcial o completamente mediante una fuerza externa dada debido a un accidente o caída. Las fracturas óseas se clasifican en fractura completa (rotura) y fractura incompleta (fisura), fractura simple (hay una línea de fractura) y fractura conminuta (rotura complicada de hueso), fractura cerrada (la parte fracturada no está expuesta fuera del organismo) y fractura abierta (la parte fracturada está expuesta fuera del organismo) o similares. Las fracturas óseas imponen graves problemas en las actividades de la vida cotidiana de los pacientes, y la curación de las mismas tarda un periodo de tiempo considerablemente largo, aunque depende de la parte fracturada y de la presencia o ausencia de deslizamiento (dislocación) del hueso. Una alteración de la consolidación del hueso sin corrección de la dislocación se denomina "consolidación defectuosa". En cuanto a alteraciones de fractura ósea, aunque depende de la parte fracturada y el tipo de fractura ósea, pueden existir alteraciones tales como "consolidación retardada" en que la consolidación no se obtiene incluso de 3 a 9 meses después de lesionarse debido a diversos factores tales como envejecimiento, diabetes y tabaquismo, y "seudoarticulación" en que la consolidación no se obtiene incluso 9 meses después de lesionarse, y se sospecha detención del proceso de curación de la fractura. En casos tales como consolidación defectuosa, consolidación retardada y seudoarticulación, cursan con dolor o malestar, la curación funcional normal de las partes fracturadas no se obtiene y, por lo tanto, la calidad de vida de los pacientes con fractura se degrada notablemente.

Problemas considerados especialmente graves en el tratamiento de fracturas son las fracturas concomitantes con osteoporosis. Las fracturas concomitantes con osteoporosis frecuentemente se producen en las metáfisis de los huesos de las extremidades y la columna vertebral y, en particular, la fractura del cuello femoral, la fractura por compresión vertebral, la fractura del extremo distal del radio y la fractura del extremo proximal del húmero se consideran cuatro fracturas importantes observadas en osteoporosis. Las fracturas concomitantes con osteoporosis tienen el problema de que la reintegración de las mismas es difícil debido a la fragilidad del hueso, e incluso si se realiza osteosíntesis, apenas puede obtenerse suficiente estabilidad, y la fijación inapropiada provoca consolidación defectuosa, consolidación retardada y también seudoarticulación. Además, como las actividades diarias se restringen durante el periodo de tratamiento de una fractura, se induce una espiral negativa de reducción de masa ósea por inactividad y se acelera la atrofia muscular, y ello invita nuevamente a caídas y fracturas. En particular, el retardo de la curación normal de una fractura en el centro o fractura en el cuello femoral obliga a los pacientes a estar encamados. Las tasas incidentes de complicaciones diversas y cruciales tales como debilidad muscular, contractura articular, úlcera por decúbito, demencia, infección del aparato urinarios e hipofunción cardiopulmonar concurrentes a la inactividad sistémica en estos pacientes son extremadamente altas, y se ha informado de reducción significativa de la tasa de supervivencia después de la lesión (documento que no es patente 1).

Como se describe anteriormente, las fracturas, especialmente las fracturas concurrentes con osteoporosis, inducen degradación de la calidad de vida, complicaciones importantes y también influencia significativa en el pronóstico vital y, por lo tanto, plantan problemas sociales extremadamente graves tales como aumentos de los costes de asistencia sanitaria y la carga de cuidados. Los tratamientos de las fracturas actualmente se realizan devolviendo el estado del hueso al de la posición anatómica normal, y realizando fijación con el objetivo de obtener curación al nivel funcional antes de la lesión lo más posible mediante un mecanismo de proceso de restablecimiento del hueso normal evitando complicaciones tales como consolidación defectuosa, consolidación retardada y seudoarticulación.

En cuanto a tratamientos para promover positivamente la curación de fracturas, se usan aparatos de tratamiento ultrasónico de fracturas, y en cuanto a fármacos terapéuticos, se usan clínicamente preparaciones de proteína morfogenética ósea (BMP), preparaciones de hormona paratiroidea, preparaciones de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y similares, o se han intentado aplicaciones clínicas de los mismos. Sin embargo, a pesar de los usos o intentos de uso de dicha diversidad de fármacos como se menciona anteriormente, el número de pacientes de enfermedades óseas, tales como fractura, crece continuamente cada año, por ejemplo, el número de pacientes con fractura del cuello femoral se supone en 1.700.000 en todo el mundo en 1990, y se prevé que aumente a 6.300.000 en 2050. A este respecto, se desea el desarrollo de nuevos fármacos innovadores que tengan efecto profiláctico y/o terapéutico para enfermedades óseas tales como fractura.

Se sabe que la prostaglandina E₂ (en adelante abreviada como PGE₂) tiene diversas funciones fisiológicas tales como acción productora de dolor y acción oxitóica, y también se sabe que desempeña una función importante en el metabolismo óseo. Cuando se añade PGE₂ a un sistema de cultivo celular de médula, aumenta la actividad fosfatasa alcalina, que es un marcador de formación de nódulos calcificados similares al hueso y de diferenciación de osteoblastos. También se ha revelado que cuando realmente se administra PGE₂ a animales de laboratorio tales como

ratas o seres humanos, se eleva la osteogénesis y aumenta la masa ósea. Además, cuando se administra PGE₂ por vía tópica a un hueso en forma de preparación de liberación mantenida, se promueve la osteogénesis en el sitio de administración y, por lo tanto, puede esperarse un efecto promotor positivo de la osteogénesis de forma sistémica o local para PGE₂.

Sin embargo, como PGE₂ presenta reacciones secundarias tales como acción productora de dolor y acción oxitóica como se describe anteriormente, que debe evitarse para administración a largo plazo continua, se desea un derivado selectivo de PGE₂ que actúa de forma segura y eficaz sobre los tejidos óseos. Por ejemplo, en cuanto a los receptores de PGE₂, cuatro tipos de ellos, receptores EP₁, EP₂, EP₃ y EP₄, se han presentado hasta ahora para ratón, rata, perro, ser humano y similares, y como los sitios de expresión de los mismos y los sistemas de transducción de señales intracelulares a activarse por ello son diferentes, se han creado compuestos selectivos para cada subtipo.

Se ha sugerido que, entre los cuatro tipos de receptores sobre los que actúa PGE₂, los receptores EP₂ y EP₄ desempeñan funciones importantes en el metabolismo óseo en las células y animales, y ambos se conjugan con la proteína Gs para aumentar el AMPc en osteoblastos. Se han desarrollado agonistas selectivos de EP₂, agonistas selectivos de EP₄ y agonistas de EP₂/EP₄ hasta ahora, y se ha demostrado la acción significativa de osteogénesis o efecto promotor de la curación de fracturas de los mismos en modelos animales mediante administración sistémica o local. En cuanto a compuestos que actúan sobre los receptores de PGE, por ejemplo, se conocen los compuestos descritos en los documentos de patente 1 a 8.

Referencias de la técnica anterior

Documentos que son patente

Documento que es patente 1: publicación de patente internacional WO02/24647
Documento que es patente 2: publicación de patente internacional WO02/42268
Documento que es patente 3: publicación de patente internacional WO03/007941
Documento que es patente 4: publicación de patente internacional WO03/035064
Documento que es patente 5: publicación de patente internacional WO2004/063158
Documento que es patente 6: publicación de patente internacional WO2004/085430
Documento que es patente 7: patente de Estados Unidos n.º 6.747.037
Documento que es patente 8: publicación de patente internacional WO2006/080323; el documento US2007/060590 también describe compuestos que pueden usarse como agente promotor de la osteogénesis.

Documentos que no son patente

Documento que no es patente 1: C. Cooper *et al.*, Am. J. Epidemiol., 137, 1001-1005, 1993

Sumario de la invención

Objeto a conseguir por la invención

Un objeto a conseguir por la presente invención es proporcionar un compuesto novedoso que tenga actividad agonista del receptor EP₄ superior. Preferiblemente, el objeto es proporcionar un compuesto novedoso que tenga una actividad agonista selectiva del receptor EP₄ superior. Otro objeto es proporcionar un compuesto novedoso útil como ingrediente activo de un medicamento para tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad, que se refiere al agonismo del receptor EP₄, por ejemplo, un compuesto novedoso útil como ingrediente activo de un medicamento para tratamiento terapéutico de fracturas y/o promoción de curación de fracturas. Otro objeto más es proporcionar un medicamento que contenga dicho compuesto.

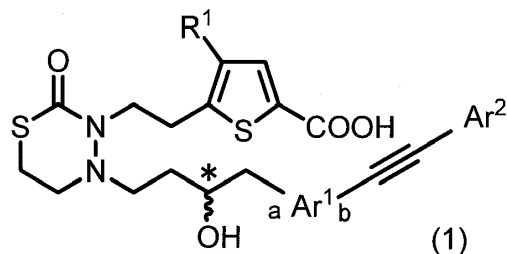
Medio para conseguir el objeto

Para conseguir los objetos mencionados anteriormente, los autores de la presente invención realizaron diversas investigaciones. Como resultado, descubrieron que los compuestos de la presente invención representados por la siguiente fórmula (1) tienen actividad agonista del receptor EP₄ superior, en particular, los compuestos de acuerdo con una determinada realización de la presente invención tienen actividad agonista selectiva del receptor EP₄ superior, y esos compuestos son útiles para tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad, que se refiere al agonismo del receptor EP₄, por ejemplo, tratamiento terapéutico y/o promoción de la curación de fracturas, y llegaron a conseguir la presente invención. Se considera que es preferible proporcionar un compuesto que tiene una actividad agonista selectiva del receptor EP₄ por las siguientes razones. Concretamente, aunque se observa el receptor EP₄ en osteoblastos y osteoclastos en osteoblastos cultivados humanos y tejidos óseos, no se ha detectado la expresión del receptor EP₂ (P. Sarrazin, G *et al.* Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids, 64, 203-210, 2001; I. Fortier *et al.*, Prostaglandins Leukot. Essent. Fatty Acids, 70, 431-439, 2004) y, por lo tanto, se considera que la diana más importante de PGE₂ para la acción en tejidos óseos es el receptor EP₄, y un agonista selectivo del receptor EP₄ puede ser un medicamento seguro y eficaz para el tratamiento de la osteoanagénesis. Por supuesto, los compuestos que tienen una actividad agonista del receptor EP₂ no se excluyen de los compuestos de la presente invención.

La presente invención, por tanto, proporciona lo siguiente.

[1] Un compuesto representado por la siguiente fórmula general (1):

[Fórmula 1]

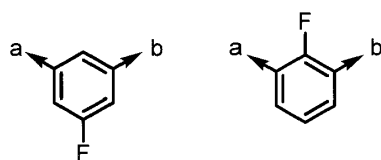


[en la que, en la fórmula (1),

R¹ representa -H o halógeno;

Ar¹ representa cualquier sustituyente seleccionado del grupo G¹, que puede estar sustituido con 1 a 3 de los mismos sustituyentes o diferentes seleccionados del grupo que consiste en -F y metilo (con la condición de que

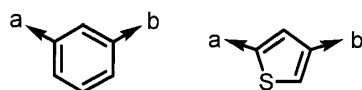
[Fórmula 2]



se excluyan),

en la que el grupo G¹ es un grupo que consiste en

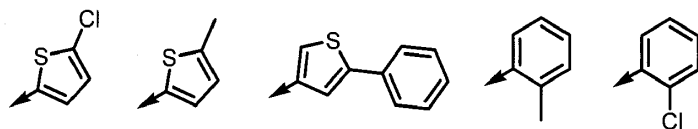
[Fórmula 3]



(a y b representan la dirección de unión);

Ar² representa cualquier sustituyente seleccionado del grupo G², que puede estar sustituido con 1 a 3 de los mismos sustituyentes o diferentes seleccionados del grupo que consiste en ciano, -Cl, metilo, metoxi y fenilo (con la condición de que

[Fórmula 4]



se excluyan),

en la que el grupo G² es un grupo que consiste en fenilo, tienilo, furilo y tiazolilo; y

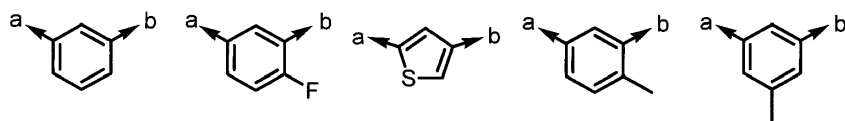
* representa un carbono asimétrico],

o una sal del mismo.

[2] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [1] mencionado anteriormente, en el que R¹ es -H, -Cl o -Br.

[3] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [2] mencionado anteriormente, en el que Ar¹ es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

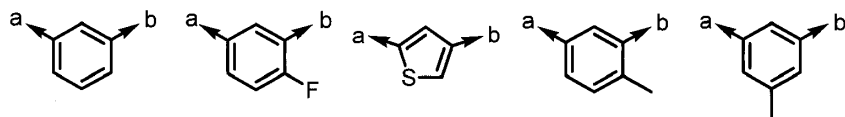
[Fórmula 5]



[3-2] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [1] o [2] mencionado anteriormente, en el que Ar¹ es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

5

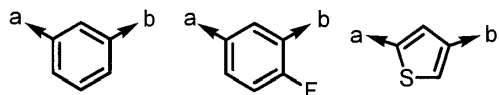
[Fórmula 6]



[3-3] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [1] o [2] mencionado anteriormente, en el que Ar¹ es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

10

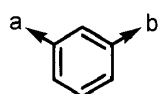
[Fórmula 7]



15

[4] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [2] mencionado anteriormente, en el que Ar¹ es

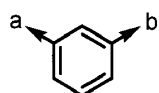
[Fórmula 8]



20

[4-2] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [1] o [2] mencionado anteriormente, en el que Ar¹ es

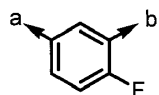
[Fórmula 9]



25

[4-3] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [1] o [2] mencionado anteriormente, en el que Ar¹ es

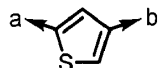
[Fórmula 10]



30

[4-4] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [1] o [2] mencionado anteriormente, en el que Ar¹ es

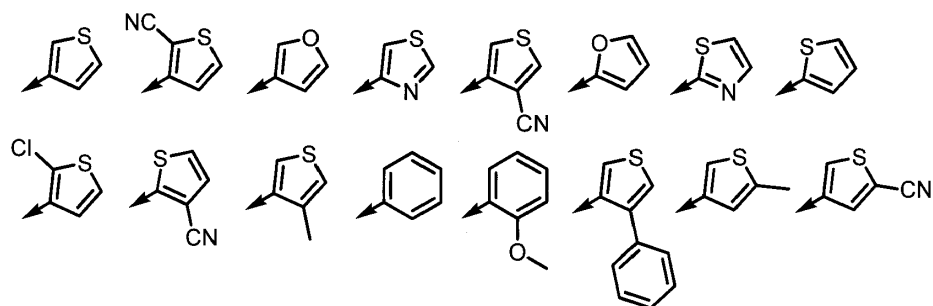
[Fórmula 11]



35

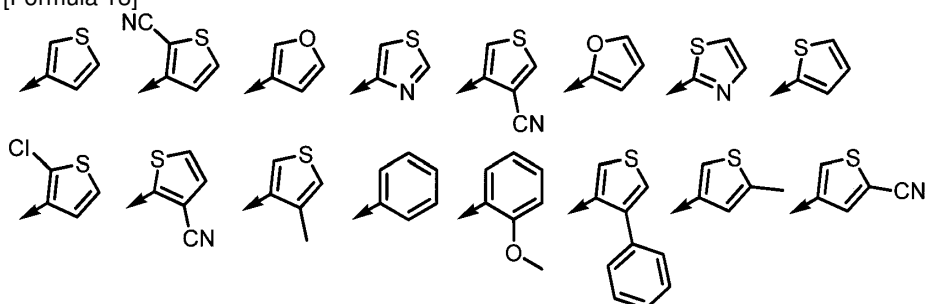
[5] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [3] o [4] mencionado anteriormente, en el que Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 12]



[5-2] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [4-4] mencionado anteriormente, en el que Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

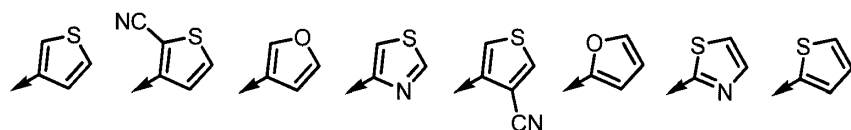
[Fórmula 13]



Quando los números de punto enumerados se indican con un intervalo tal como [1] a [4-4] mencionado anteriormente, y el intervalo incluye un punto indicado con un número que tiene un subnúmero tal como [3-2], se entiende que el punto indicado con el número que tiene un subnúmero tal como [3-2] también se menciona. Lo mismo será aplicable a las siguientes definiciones.

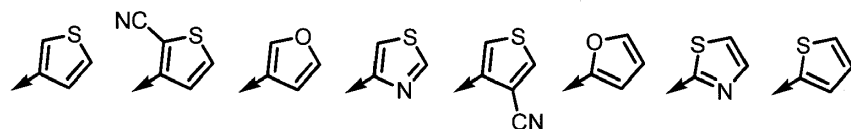
[6] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [3] o [4] mencionado anteriormente, en el que Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 14]



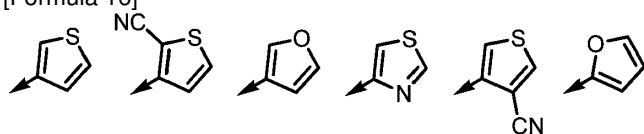
[6-2] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [4-4] mencionado anteriormente, en el que Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 15]



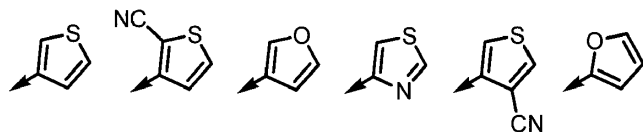
[7] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [3] o [4] mencionado anteriormente, en el que Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 16]



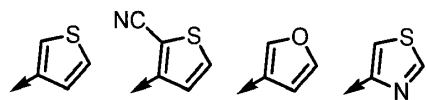
[7-2] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [4-4] mencionado anteriormente, en el que Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 17]



- 5 [7-3] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [4-4] mencionado anteriormente, en el que Ar^2 es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 18]



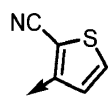
- 10 [7-4] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [4-4] mencionado anteriormente, en el que Ar^2 es

[Fórmula 19]



- 15 [7-5] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [4-4] mencionado anteriormente, en el que Ar^2 es

[Fórmula 20]



- 20 [7-6] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [4-4] mencionado anteriormente, en el que Ar^2 es

[Fórmula 21]



- 30 [7-7] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [4-4] mencionado anteriormente, en el que Ar^2 es

[Fórmula 22]



- 35 [8] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [7] mencionado anteriormente, en el que R^1 es -H.

- [8-2] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [7-7] mencionado anteriormente, en el que R^1 es -H.

- 40 [9] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [7] mencionado anteriormente, en el que R^1 es -Cl.

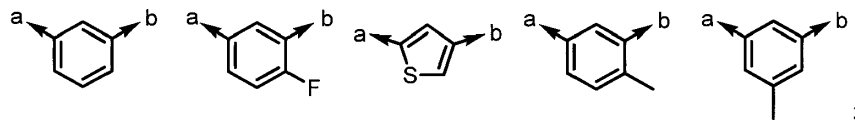
- [9-2] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [7-7] mencionado anteriormente, en el que R^1 es -Cl.

- 45 [10] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [7] mencionado anteriormente, en el que R^1 es -Br.

- [10-2] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [7-7] mencionado anteriormente, en el que R^1 es -Br.

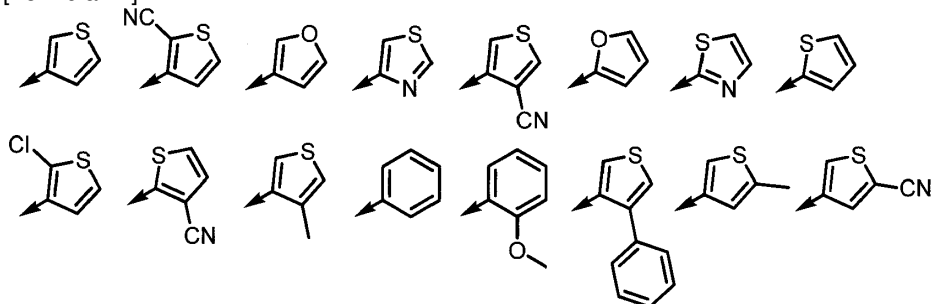
[11] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [1] mencionado anteriormente, en el que R^1 es -H, -Cl o -Br; Ar^1 es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 23]



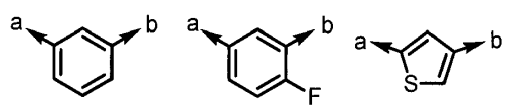
y Ar^2 es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 24]



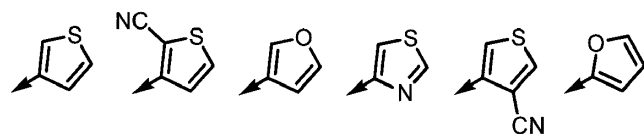
[11-2] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [1] mencionado anteriormente, en el que R^1 es -H, -Cl o -Br; Ar^1 es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 25]



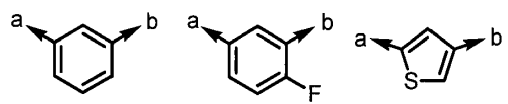
y Ar^2 es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 26]



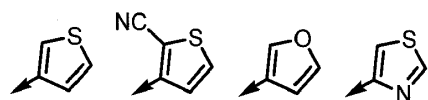
[11-3] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [1] mencionado anteriormente, en el que R^1 es -H, -Cl o -Br; Ar^1 es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 27]



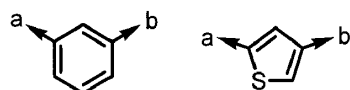
y Ar^2 es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 28]



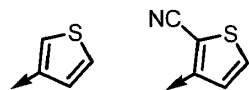
[11-4] El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con [1] mencionado anteriormente, en el que R^1 es -H, -Cl o -Br; Ar^1 es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 29]



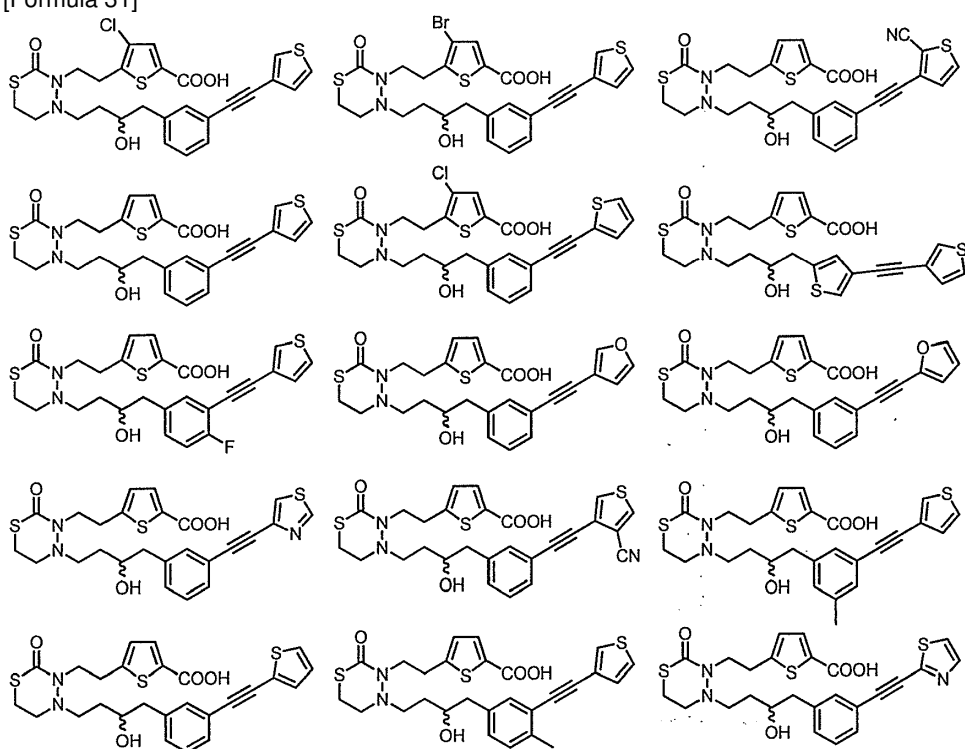
y
Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

5 [Fórmula 30]



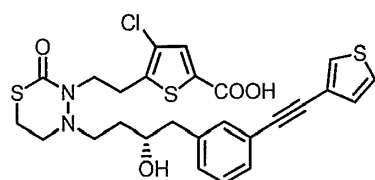
[12] Cualquier compuesto seleccionado del siguiente grupo, o una sal del mismo;

10 [Fórmula 31]



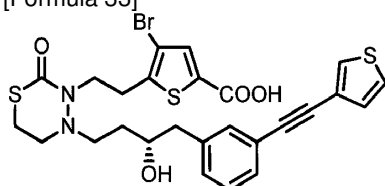
[13] El compuesto mencionado a continuación, o una sal del mismo;

15 [Fórmula 32]



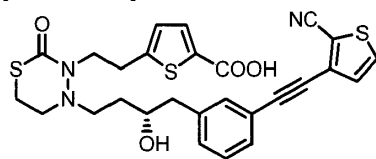
[14] El compuesto mencionado a continuación, o una sal del mismo;

20 [Fórmula 33]



[15] El compuesto mencionado a continuación, o una sal del mismo;

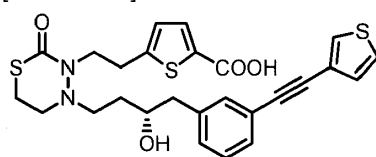
[Fórmula 34]



5

[16] El compuesto mencionado a continuación, o una sal del mismo;

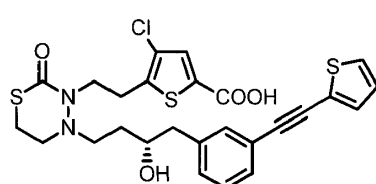
[Fórmula 35]



10

[17] El compuesto mencionado a continuación, o una sal del mismo;

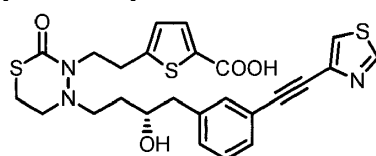
[Fórmula 36]



15

[18] El compuesto mencionado a continuación, o una sal del mismo;

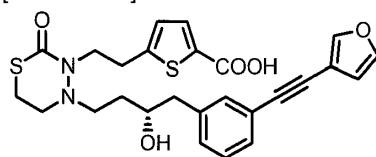
[Fórmula 37]



20

[19] El compuesto mencionado a continuación, o una sal del mismo;

[Fórmula 38]



25

[20] Un medicamento que contiene el compuesto de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [19] mencionado anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.

[21] El medicamento de acuerdo con [20] mencionado anteriormente, que es para tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad, que se refiere al agonismo del receptor EP₄.

[22] El medicamento de acuerdo con [20] mencionado anteriormente, que es para promover la osteogénesis.

[23] El medicamento de acuerdo con [20] mencionado anteriormente, que es para tratamiento terapéutico y/o promover la curación de fracturas.

[24] El medicamento de acuerdo con [20] mencionado anteriormente, que es para tratamiento terapéutico y/o promover la curación de lesiones óseas.

[25] El medicamento de acuerdo con [20] mencionado anteriormente, que es para promover la consolidación de los

huesos.

[25-2] El medicamento de acuerdo con [25] mencionado anteriormente, que es para promover la consolidación de los huesos en la fijación de la columna vertebral.

[26] Un agonista de EP₄ que contiene el compuesto de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [19] mencionado anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.

[27] Una composición farmacéutica para tratamiento terapéutico de fracturas, que contiene el compuesto de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [19] mencionado anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[28] Una preparación de microesferas que contiene el compuesto de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [19] mencionado anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un copolímero de ácido láctico/ácido glicólico.

[29] El compuesto de acuerdo con uno cualquiera de [1] a [19] mencionado anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento terapéutico de fracturas.

Efecto de la invención

Los "compuestos representados por la fórmula (1) y sales de los mismos" (en adelante también denominados simplemente "los compuestos de la presente invención") tienen una actividad agonista del receptor EP₄ superior. Los compuestos de la presente invención pueden usarse como ingrediente activo de un medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad, que se refiere al agonismo del receptor EP₄, por ejemplo, tratamiento terapéutico y/o promover la curación de fracturas. Como otra realización, los compuestos de la presente invención pueden usarse como reactivo que tiene una actividad agonista del receptor EP₄.

Modos para realizar la invención

En lo sucesivo, la presente invención se explicará específicamente.

En la presente memoria descriptiva, el átomo de carbono puede representarse simplemente como "C", el átomo de hidrógeno como "H", el átomo de oxígeno como "O", el átomo de azufre como "S" y el átomo de nitrógeno como "N". Además, el grupo carbonilo puede representarse simplemente como "-C(O)-", el grupo carboxilo como "-COO-", el grupo sulfonilo como "-S(O)-", el grupo sulfonilo como "-S(O)₂-", el enlace éter como "-O-" y el enlace tioéter como "-S-" (cada "-" en estos grupos indica un enlace).

En la presente memoria descriptiva, el alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono significa metilo, etilo, propilo, butilo o un isómero de los mismos [normal (n), iso, secundario (sec), terciario (t) y similares].

En la presente memoria descriptiva, el acilo que tiene de 2 a 6 átomos de carbono significa acetilo, propanoilo, butanoilo, pentanoilo, hexanoilo o un isómero de los mismos.

En la presente memoria descriptiva, el alcoxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono significa metoxi, etoxi, propoxi, butoxi o un isómero de los mismos.

En la presente memoria descriptiva, el halógeno significa fluoro (-F), cloro (-Cl), bromo (-Br) o yodo (-I).

En la presente invención, se incluyen todos los isómeros, salvo que se indique específicamente. Por ejemplo, el alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, alquiltio, alquilenilo, alquenilenilo y alquinilenilo incluyen grupos lineales y ramificados. Además, cualquiera de los isómeros basados en un doble enlace, anillo o anillo condensado (isómeros E o Z, o isómeros cis o trans), isómeros basados en la presencia de un carbono asimétrico y similares (isómero R o S, un isómero basado en configuración α o β, enantiómeros, diastereoisómeros y similares), sustancias ópticamente activas que muestran rotación óptica (isómeros D o L, o isómeros d o l), isómeros basados en la polaridad en separación cromatográfica (isómeros de alta polaridad o isómeros de baja polaridad), compuestos equilibrados, isómeros de rotación, mezclas de estos isómeros a relaciones arbitrarias, y racematos están dentro del alcance de la presente invención.

En la presente memoria descriptiva, como es evidente para los expertos en la materia, el símbolo:
[Fórmula 39]



indica que el enlace está en la parte posterior del plano (es decir, configuración α), el símbolo:
[Fórmula 40]



indica que el enlace está en la parte anterior del plano (es decir, configuración β), el símbolo:
[Fórmula 41]



5 significa configuración α o configuración β , o una mezcla de los mismos, y el símbolo:
[Fórmula 42]



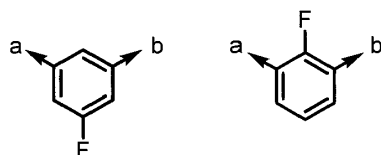
significa una mezcla de configuración α y configuración β , salvo que se indique especialmente.

10 En lo sucesivo, los compuestos representados por la fórmula (1), o sales de los mismos se explicarán en detalle.

R^1 es, por ejemplo, -H o halógeno. De acuerdo con otra realización, R^1 es, por ejemplo, -H, -Cl o -Br. De acuerdo con otra realización más, R^1 es, por ejemplo, -H.

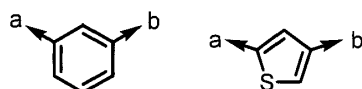
15 Ar^1 es, por ejemplo, cualquier sustituyente seleccionado del grupo G^1 , que puede estar sustituido con 1 a 3 de los mismos sustituyentes o diferentes seleccionados del grupo que consiste en -F y metilo (con la condición de que

[Fórmula 43]



20 se excluyan), en el que el grupo G^1 es un grupo que consiste en

[Fórmula 44]

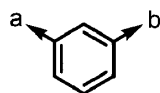


25 (a y b representan la dirección de unión).

De acuerdo con otra realización del grupo que consiste en -F y metilo mencionado anteriormente, el grupo consiste en, por ejemplo, -F, y de acuerdo con otra realización más, el grupo consiste en, por ejemplo, metilo.

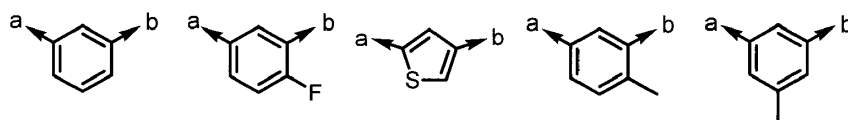
30 De acuerdo con otra realización del grupo G^1 , el grupo consiste en, por ejemplo,

[Fórmula 45]



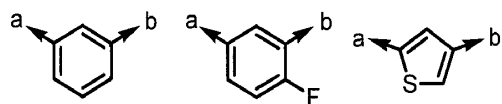
35 De acuerdo con otra realización de Ar^1 , Ar^1 es, por ejemplo, cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 46]



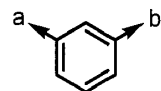
40 De acuerdo con otra realización más de Ar^1 , Ar^1 es, por ejemplo, cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

45 [Fórmula 47]



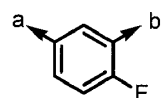
De acuerdo con otra realización más de Ar^1 , Ar^1 es, por ejemplo,

5 [Fórmula 48]



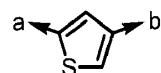
De acuerdo con otra realización más de Ar^1 , Ar^1 es, por ejemplo,

10 [Fórmula 49]



De acuerdo con otra realización más de Ar^1 , Ar^1 es, por ejemplo,

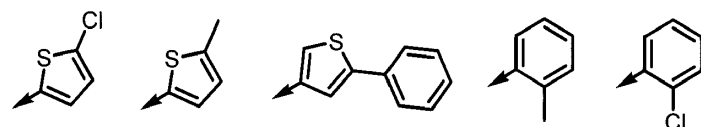
15 [Fórmula 50]



20 Cuando Ar^1 está sustituido con 1 a 3 de los mismos sustituyentes o diferentes seleccionados del grupo que consiste en -F y metilo, de acuerdo con otra realización, Ar^1 está sustituido, por ejemplo, con 1 o 2 de los mismos sustituyentes o diferentes seleccionados del grupo que consiste en -F y metilo, y de acuerdo con otra realización más, Ar^1 está sustituido, por ejemplo, con uno de -F o metilo. Ar^1 sin sustituir también es una realización preferida.

25 Ar^2 es, por ejemplo, cualquier sustituyente seleccionado del grupo G^2 , que puede estar sustituido con 1 a 3 de los mismos sustituyentes o diferentes seleccionados del grupo que consiste en ciano, -Cl, metilo, metoxi y fenilo (con la condición de que

[Fórmula 51]



se excluyan).

30 El grupo G^2 mencionado anteriormente es un grupo que consiste en fenilo, tienilo, furilo y tiazolilo.

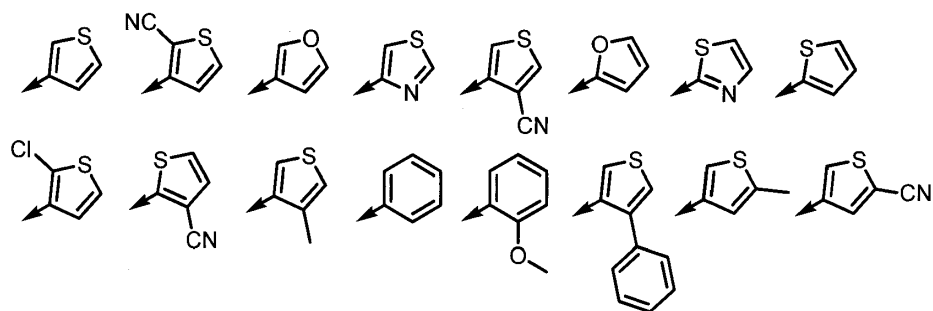
De acuerdo con otra realización del grupo que consiste en ciano, -Cl, metilo, metoxi y fenilo, el grupo consiste en, por ejemplo, ciano.

35 De acuerdo con otra realización del grupo G^2 , G^2 es, por ejemplo, un grupo que consiste en tienilo y furilo.

De acuerdo con otra realización más del grupo G^2 , el grupo consiste en, por ejemplo, tienilo.

40 De acuerdo con otra realización de Ar^2 , Ar^2 es, por ejemplo, cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

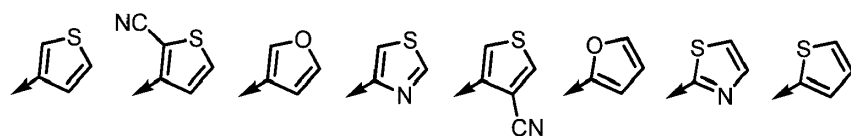
[Fórmula 52]



De acuerdo con otra realización más de Ar^2 , Ar^2 es, por ejemplo, cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

5

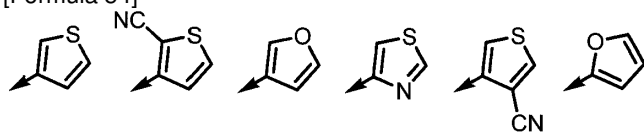
[Fórmula 53]



De acuerdo con otra realización más de Ar^2 , Ar^2 es, por ejemplo, cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

10

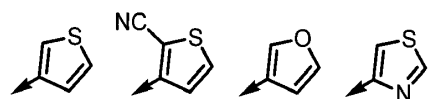
[Fórmula 54]



De acuerdo con otra realización más de Ar^2 , Ar^2 es, por ejemplo, cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

15

[Fórmula 55]



20

De acuerdo con otra realización más de Ar^2 , Ar^2 es, por ejemplo,

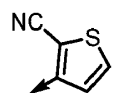
[Fórmula 56]



25

De acuerdo con otra realización más de Ar^2 , Ar^2 es, por ejemplo,

[Fórmula 57]



30

De acuerdo con otra realización más de Ar^2 , Ar^2 es, por ejemplo,

[Fórmula 58]



35

De acuerdo con otra realización más de Ar^2 , Ar^2 es, por ejemplo,

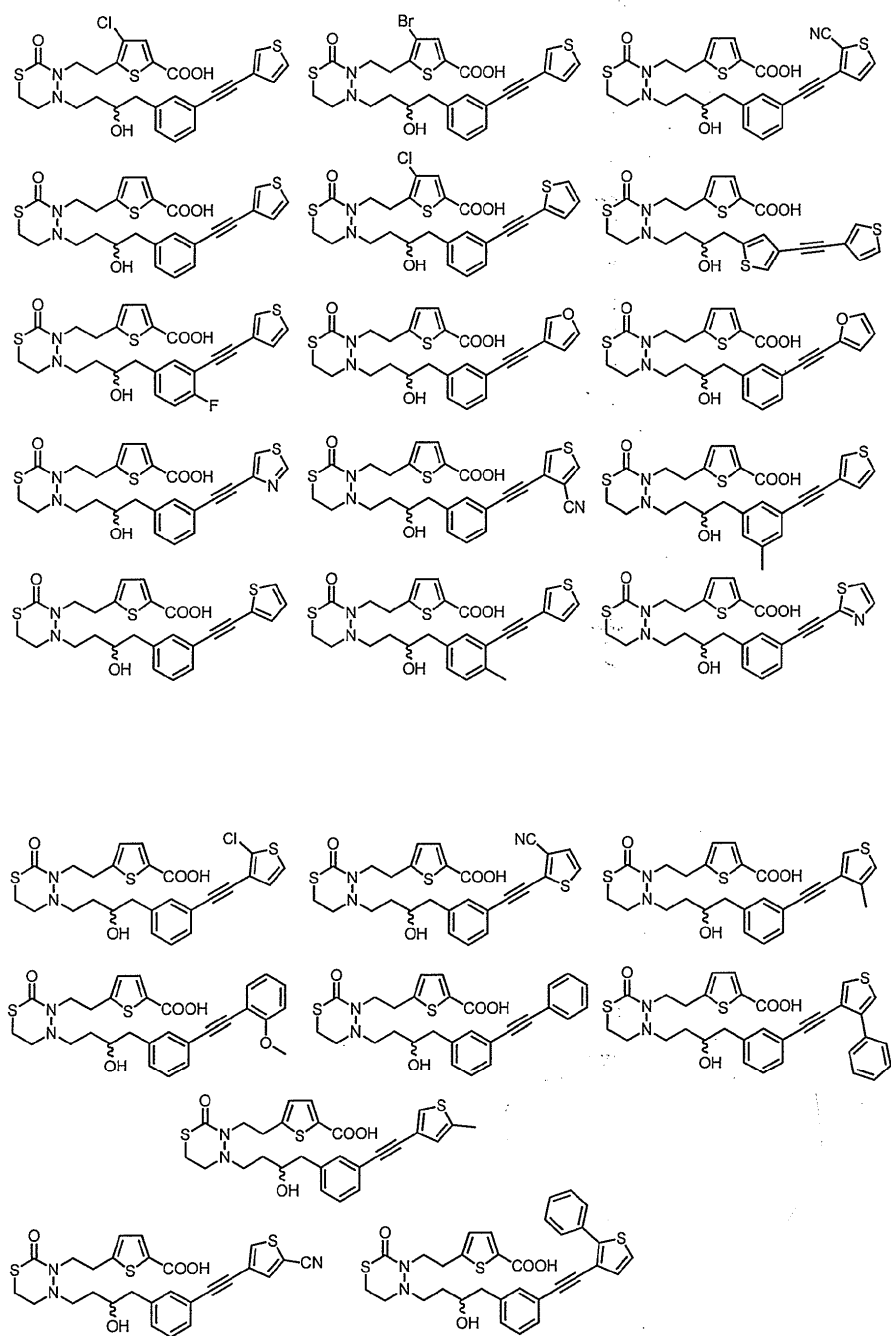
[Fórmula 59]



- 5 Cuando Ar^2 está sustituido con 1 a 3 de los mismos sustituyentes o diferentes seleccionados del grupo que consiste en ciano, -Cl, metilo, metoxi y fenilo, de acuerdo con otra realización, Ar^2 está sustituido, por ejemplo, con 1 o 2 de los mismos sustituyentes o diferentes seleccionados del grupo que consiste en ciano, -Cl, metilo, metoxi y fenilo, y de acuerdo con otra realización más, Ar^2 está sustituido, por ejemplo, con 1 de ciano, -Cl, metilo, metoxi o fenilo. Ar^2 sin sustituir también es una realización preferida.

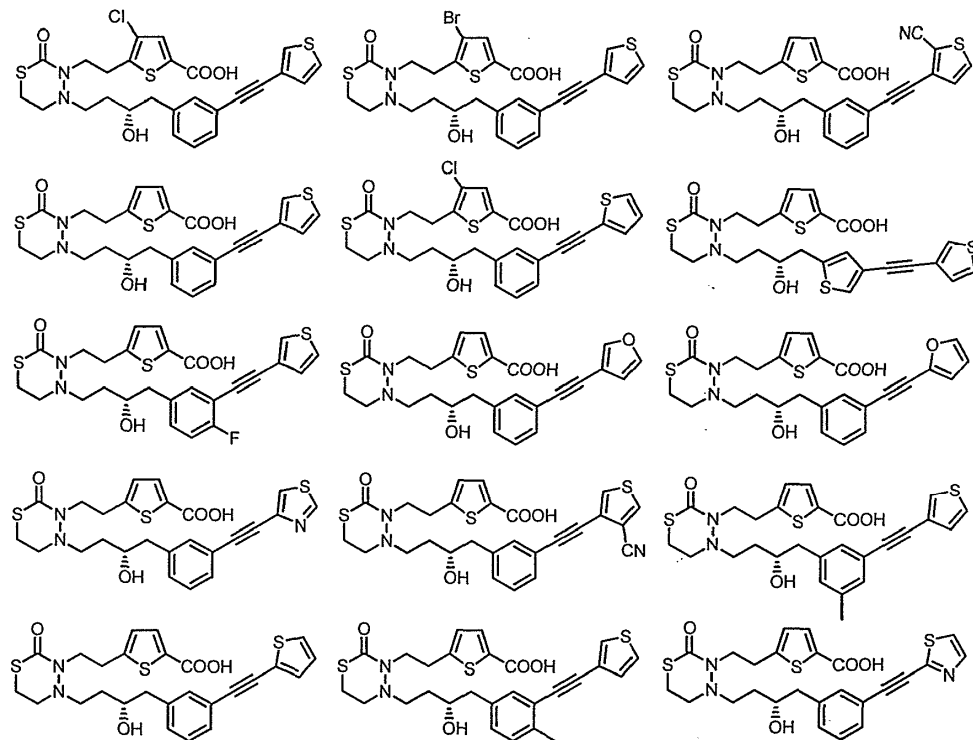
10 Como compuestos específicos que están dentro del alcance de la presente invención, pueden ejemplificarse los siguientes compuestos.

[Fórmula 60]



Como otros ejemplos específicos más de los compuestos que están dentro del alcance de la presente invención, pueden ejemplificarse los siguientes compuestos.

5 [Fórmula 61]



En esta memoria descriptiva, los "compuestos representados por la fórmula (1)" en general se entienden como los compuestos representados por la fórmula (1) en forma libre. Ejemplos de la sal de los mismos incluyen las siguientes sales.

El tipo de la sal de los compuestos representados por la fórmula (1) no está particularmente limitado, y puede ser una sal de adición de ácido, o una sal de adición de base, y puede estar en forma de un contraión intramolecular. En particular, cuando la sal se usa como ingrediente activo de un medicamento, la sal es preferiblemente una sal farmacéuticamente aceptable. Cuando la divulgación se prepara para su uso como medicamento en esta memoria descriptiva, la sal de los compuestos representados por la fórmula (1) habitualmente se entiende como una sal farmacéuticamente aceptable. Las sales de adición de ácido incluyen, por ejemplo, sales de adición de ácido con un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico y ácido fosfórico, y sales de adición de ácido con un ácido orgánico tal como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido cítrico, ácido málico, ácido tartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido aspártico y ácido glutámico. Como sales de adición de base, por ejemplo, pueden ejemplificarse sales de adición de base con una base inorgánica tal como sodio, potasio, magnesio, calcio y aluminio, sales de adición de base con una base orgánica tal como metilamina, 2-aminoetanol, arginina, lisina y ornitina y similares. Sin embargo, el tipo de la sal no se limita a estos, y puede seleccionarse apropiadamente, por supuesto, por los expertos en la materia.

Los compuestos de la presente invención pueden estar en forma de hidrato. Los compuestos de la presente invención también pueden estar en forma de anhídrido.

Los compuestos de la presente invención pueden estar en forma de solvato. Los compuestos de la presente invención pueden estar también en forma no de solvato.

Los compuestos de la presente invención pueden estar en forma de cristal. Los compuestos de la presente invención pueden estar también en una forma amorfa.

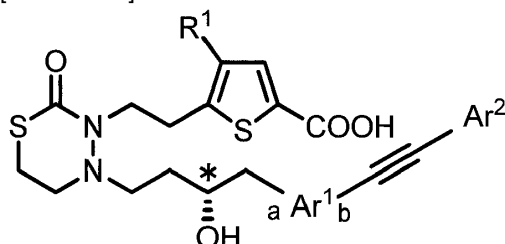
Más específicamente, los compuestos de la presente invención incluyen anhídridos y no solvatos de los "compuestos representados por la fórmula (1)", hidratos y/o solvatos de los mismos, y cristales de los mismos.

Los compuestos de la presente invención también incluyen anhídridos y no solvatos de "sales de los compuestos representados por la fórmula (1)", hidratos y/o solvatos de las sales, y cristales de los mismos.

Los compuestos de la presente invención pueden tener un carbono asimétrico. La configuración estérica de dicho carbono asimétrico no está particularmente limitada, y puede estar en la configuración S o la configuración R, o una mezcla de las dos. Cualquier sustancia ópticamente activa basada en dicho carbono asimétrico en una forma pura, estereoisómeros tales como diastereoisómeros, mezclas arbitrarias de estereoisómeros, racematos y similares están todos dentro del alcance de los compuestos de la presente invención.

En particular, la configuración estérica del carbono asimétrico indicada con "*" en la fórmula (1) no está particularmente limitada. Sin embargo, la configuración mostrada a continuación es una de las realizaciones preferidas.

[Fórmula 62]



Cuando Ar¹ es anillo de benceno entre los grupos del grupo G¹, la configuración estérica en la fórmula anterior es la configuración S, y cuando Ar¹ es anillo de tiofeno entre los grupos del grupo G¹, la configuración estérica en la fórmula anterior es la configuración R.

<Métodos de preparación de los compuestos de la presente invención>

Los compuestos de la presente invención son compuestos novedosos no descritos en la bibliografía. Aunque los compuestos de la presente invención pueden prepararse mediante, por ejemplo, los siguientes métodos, el método de preparación de los compuestos de la presente invención no se limita a los siguientes métodos.

Aunque el tiempo de reacción en cada una de las reacciones no está particularmente limitado, el progreso de las reacciones puede controlarse fácilmente mediante métodos de análisis descritos posteriormente y, por lo tanto, las reacciones pueden terminarse cuando se obtiene el rendimiento máximo de la sustancia objetivo. Cada una de las reacciones puede realizarse en una atmósfera de gas inerte, por ejemplo, en un flujo de nitrógeno o flujo de argón, según se requiera. Cuando se necesita protección con un grupo protector y posterior desprotección en cada una de las reacciones, las reacciones pueden realizarse apropiadamente utilizando los métodos descritos a continuación.

Ejemplos del grupo protector usado en la presente invención incluyen los siguientes grupos: grupos protectores para grupo carboxilo (-COOH), grupos protectores para grupo hidroxilo (-OH), grupos protectores para un grupo alquínico, grupos protectores para grupo amino (-NH₂) y similares.

Ejemplos del grupo protector para grupo carboxilo incluyen, por ejemplo, un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un alquénico que tiene de 2 a 4 átomos de carbono, un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono y sustituido con un alcoxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono y sustituido con 1 a 3 halógenos y similares. Ejemplos específicos incluyen metilo, etilo, t-butilo, alilo, metoxietilo, tricloroetilo y similares.

Ejemplos de los grupos protectores para grupo hidroxilo incluyen, por ejemplo, un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un alquénico que tiene de 2 a 4 átomos de carbono, un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono y sustituido con un alcoxi que tiene de 1 a 4 átomos de carbono, un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono y sustituido con 1 a 3 halógenos, un sililo sustituido con tres de los mismos alquilos o diferentes que tienen de 1 a 4 átomos de carbono o fenilos, tetrahidropirano, tetrahidrofurilo, propargilo, grupo trimetilsililetilo y similares. Ejemplos específicos incluyen metilo, etilo, t-butilo, alilo, metoximetilo (MOM), metoxietilo (MEM), tricloroetilo, fenilo, metilfenilo, clorofenilo, bencilo, metilbencilo, clorobencilo, diclorobencilo, fluorobencilo, trifluorometilbencilo, nitrobencilo, metoxifenilo, N-metilaminobencilo, N,N-dimetilaminobencilo, fenacilo, tritilo, 1-etoxietilo (EE), tetrahidropirano (THP), tetrahidrofurilo, propargilo, trimetilsililo (TMS), trietilsililo (TES), t-butildimetilsililo (TBDMS), t-butildifenilsililo (TBDPS), acetilo (Ac), pivaloilo, benzoilo, aliloxycarbonilo (Alloc), 2,2,2-tricloroetoxycarbonilo (Troc) y similares.

Ejemplos de los grupos protectores para alquínico incluyen trimetilsililo, 2-hidroxi-2-propilo y similares.

Ejemplos de los grupos protectores para grupo amino incluyen, por ejemplo, bencilo, metilbencilo, clorobencilo, diclorobencilo, fluorobencilo, trifluorometilbencilo, nitrobencilo, metoxifenilo, N-metilaminobencilo, N,N-dimetilaminobencilo, fenacilo, grupo acetilo, trifluoroacetilo, pivaloilo, benzoilo, aliloxycarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxycarbonilo, benciloxycarbonilo, t-butoxycarbonilo (Boc), 1-metil-1-(4-bifenil)etoxycarbonilo (Bpoc), 9-fluorenilmetoxycarbonilo, benciloximetilo (BOM), 2-(trimetilsilil)etoximetilo (SEM) y similares.

Al retirar estos grupos protectores simultáneamente con la preparación o por etapas durante el proceso de preparación o en la etapa final, los compuestos protegidos pueden convertirse en compuestos objetivo. Las reacciones de protección y desprotección pueden realizarse de acuerdo con métodos conocidos tales como los métodos descritos en, por ejemplo, *Protective Groups in Organic Synthesis*, publicado por John Wiley and Sons (2007) y similares, y pueden realizarse mediante, por ejemplo, los métodos de (1) a (6) mencionados a continuación y similares.

(1) La reacción de desprotección mediante hidrólisis alcalina se realiza, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto protegido con una base en un disolvente polar. Ejemplos de la base usada en esta reacción incluyen, por ejemplo, bases de metales alcalinos tales como hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de litio, hidróxido de bario, hidróxido de calcio, carbonato de sodio, carbonato de potasio, metóxido de sodio y t-butoxido de potasio, y bases orgánicas tales como trietilamina. Por ejemplo, habitualmente se usan en una cantidad de 1 a 20 veces molar, preferiblemente de 1 a 10 veces molar, basada en el reactante, cuando se usa una base de metal alcalino, o 1 vez molar hasta una cantidad en gran exceso, cuando se usa una base orgánica. En cuanto al disolvente de reacción, habitualmente se prefiere que la reacción se realice en un medio inactivo que no inhibe la reacción, preferiblemente un disolvente polar. Ejemplos de disolvente polar incluyen agua, metanol, etanol, tetrahidrofurano, dioxano y similares, y estos pueden usarse como una mezcla, según se requiera. En cuanto a la temperatura de reacción, se elige una temperatura adecuada, por ejemplo, de -10 °C a la temperatura de reflujo del disolvente. El tiempo de reacción es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 72 horas, preferiblemente de 1 a 48 horas, cuando se usa una base de metal alcalino, o habitualmente de 5 horas a 14 días, cuando se usa una base orgánica. Sin embargo, el progreso de la reacción puede controlarse por cromatografía de capa fina (TLC), cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) o similares y, por consiguiente, la reacción habitualmente puede terminarse cuando se obtiene el rendimiento máximo del compuesto objetivo.

(2) La reacción de desprotección en condiciones ácidas se realiza, por ejemplo, en un disolvente orgánico (diclorometano, cloroformo, dioxano, acetato de etilo, anisol y similares) en presencia de un ácido orgánico (ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico y similares), un ácido de Lewis (tribromuro de boro, trifluoruro de boro, bromuro de aluminio, cloruro de aluminio y similares), o un ácido inorgánico (ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y similares), o una mezcla de los mismos (bromuro de hidrógeno/ácido acético y similares) a una temperatura de -10 a 100 °C. También hay un método de añadir etanotiol, 1,2-etanoditiol o similares como aditivo.

(3) La reacción de desprotección por hidrogenólisis se realiza, por ejemplo, en un disolvente [disolventes de tipo éter (tetrahidrofurano, dioxano, dimetoxietano, éter dietílico y similares), disolventes de tipo alcohol (metanol, etanol y similares), disolventes de tipo benceno (benceno, tolueno y similares), disolventes de tipo cetona (acetona, metil etil cetona y similares), disolventes de tipo nitrilo (acetonitrilo y similares), disolventes de tipo amida (dimetilformamida y similares), disolventes de tipo éster (acetato de etilo y similares), agua, ácido acético, mezclas de dos o más tipos de esos disolventes y similares] en presencia de un catalizador (paladio/carbono en polvo, óxido de platino (PtO₂), níquel activado y similares) y una fuente de hidrógeno tal como gas hidrógeno de presión normal o presurizado, formiato amónico o hidrato de hidrazina a una temperatura de -10 a 60 °C.

(4) La reacción de desprotección de grupo sililo se realiza, por ejemplo, usando fluoruro de tetra-n-butilamonio o similares en un disolvente orgánico miscible en agua (tetrahidrofurano, acetonitrilo y similares) a una temperatura de -10 a 60 °C.

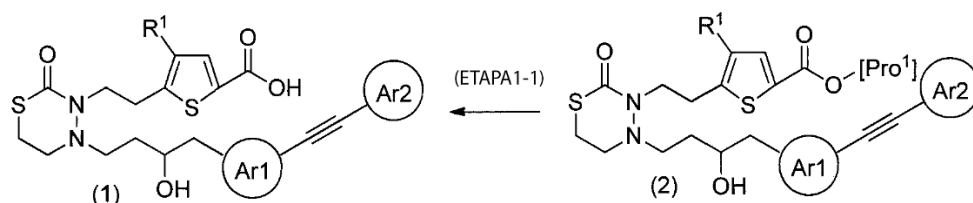
(5) La reacción de desprotección usando un metal se realiza, por ejemplo, en un disolvente ácido (ácido acético, tampón de pH 4,2 a 7,2, una mezcla de dicha solución y un disolvente orgánico tal como tetrahidrofurano) en presencia de polvo de cinc con o sin ultrasonificación a una temperatura de -10 a 60 °C.

(6) La reacción de desprotección usando un complejo metálico se realiza, por ejemplo, en un disolvente orgánico (diclorometano, dimetilformamida, tetrahidrofurano, acetato de etilo, acetonitrilo, dioxano, etanol y similares), agua o una mezcla de los mismos en presencia de un reactivo de retención (hidruro de tributilestano, trietilsilano, dimedona, morfolina, dietilamina, pirrolidina y similares), un ácido orgánico (ácido acético, ácido fórmico, ácido 2-etilhexanoico y similares) y/o una sal de ácido orgánico (2-etilhexanoato de sodio, 2-etilhexanoato de potasio y similares) en presencia o ausencia de un reactivo de tipo fosfina (trifenilfosfina y similares) usando un complejo metálico [tetraquitrifenilfosfina paladio (0), dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II), acetato de paladio (II), cloruro de tris(trifenilfosfina) rodio(I) y similares] a una temperatura de -10 a 60 °C.

Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (1) pueden prepararse, por ejemplo, de acuerdo con las siguientes rutas de reacción. En los siguientes esquemas, "ETAPA" significa cada etapa, por ejemplo, "ETAPA 1-1" significa etapa 1-1.

Etapas 1-1

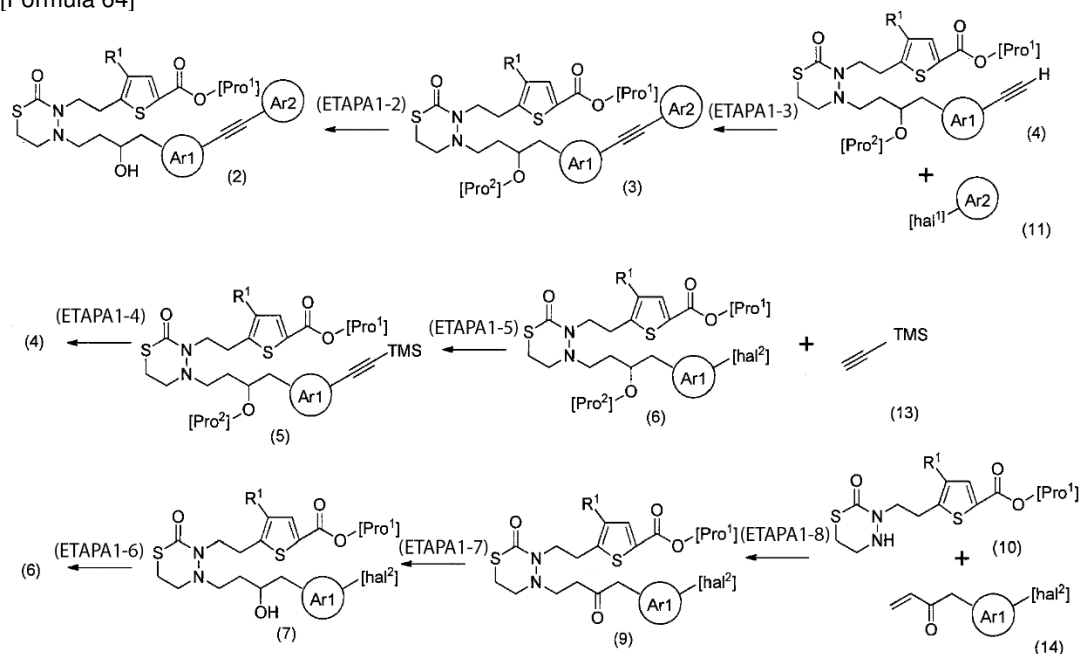
[Fórmula 63]



Los compuestos representados por la fórmula (1) pueden prepararse mediante desprotección de un compuesto representado por la fórmula (2) [en la fórmula (2), "Pro¹" representa un grupo protector de carboxilo en la fórmula (1)] para el grupo protector Pro¹. La reacción de desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, los métodos descritos en Protective Groups in Organic Synthesis, publicado por John Wiley and Sons (2007) y similares.

Pro¹ no está particularmente limitado siempre que sea el grupo protector de carboxilo mencionado anteriormente, y ejemplos del mismo incluyen, por ejemplo, un alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono.

[Fórmula 64]



Etapa 1-2

Los compuestos representados por la fórmula (2) pueden prepararse mediante desprotección de un compuesto representado por la fórmula (3) [en la fórmula (3), "Pro²" representa un grupo protector de grupo hidroxilo en la fórmula (1), y "Pro¹" tiene el mismo significado que el definido anteriormente] para el grupo protector del compuesto representado por la fórmula (3). La reacción de desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, los métodos descritos en Protective Groups in Organic Synthesis, publicado por John Wiley and Sons (2007) y similares.

Aunque Pro² no está limitado particularmente siempre que sea el grupo protector mencionado anteriormente de grupo hidroxilo, Pro² es preferiblemente un grupo distinto de TMS para realizar selectivamente la desprotección para Pro² con respecto a TMS en la fórmula (5). Ejemplos de Pro² incluyen, por ejemplo, grupo *tert*-butilo, grupo MOM, grupo MEM, grupo THP, grupo acetilo y grupo TBDMS.

Etapa 1-3

Los compuestos representados por la fórmula (3) pueden prepararse acoplando un compuesto representado por la fórmula (4) [en la fórmula (4), "Pro¹" y "Pro²" tienen los mismos significados que los definidos anteriormente], y un compuesto representado por la fórmula (11) [en la fórmula (11), "hal¹" representa bromo o yodo] en presencia de una base y un catalizador de paladio. En cuanto a la cantidad del compuesto representado por la fórmula (11) usado en la reacción del compuesto representado por la fórmula (4) y el compuesto representado por la fórmula (11), pueden usarse de 1/5 a 20 equivalentes, preferiblemente de 1/2 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes

del compuesto representado por la fórmula (11) con respecto al compuesto representado por la fórmula (4). Sin embargo, la cantidad del compuesto representado por la fórmula (11) a usar puede determinar apropiadamente teniendo en consideración la pureza, el rendimiento, la eficacia de purificación y similares del compuesto representado por la fórmula (4).

En cuanto a la base, por ejemplo, puede usarse carbonato de cesio, carbonato de sodio, carbonato de potasio y similares, y se prefiere carbonato de cesio. En cuanto a la cantidad de la base a usar, puede usarse en una cantidad de cantidad equivalente a cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (4), que sirve como material de partida.

En cuanto al catalizador de paladio, por ejemplo, pueden añadirse catalizadores comercializados tales como tetraquis(trifenilfosfina)paladio, tetraquis(metildifenilfosfina)paladio, diclorobis(trifenilfosfina)paladio, diclorobis(tri-*o*-tolilfosfina)paladio, diclorobis(triciclohexilfosfina)paladio, diclorobis(trietilfosfina)-paladio, acetato de paladio, cloruro de paladio, cloruro de bis(acetonitrilo)paladio, bis(dibencilidenoacetona)paladio, tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloruro de bis(difenilfosfinoferroceno)paladio al sistema de reacción tal cual, o puede añadirse un catalizador preparado por separado de acetato de paladio, tris(dibencilidenoacetona)dipaladio o similares, y un ligando arbitrario y aislado. Puede prepararse un catalizador que se considere que realmente participa en el sistema de reacción mezclando acetato de paladio, tris(dibencilideno-acetona)dipaladio o similares, y un ligando arbitrario. La valencia del paladio puede ser 0 o +2. En particular, puede mencionarse cloruro de bis(acetonitrilo)paladio como ejemplo preferido.

En cuanto al ligando usado para preparar un catalizador de paladio a partir de un ligando arbitrario, se ejemplifican ligandos de fosfina tales como trifenilfosfina, tri(*o*-tolil)-fosfina, tri(ciclohexil)fosfina, tri(*t*-butil)fosfina, diciclohexilfenilfosfina, 1,1'-bis(di-*t*-butilfosfino)ferroceno, 2-diciclohexilfosfino-2'-dimetilamino-1,1'-bifenilo, 2-(di-*t*-butilfosfino)bifenilo, 2-(diciclohexil-fosfino)bifenilo, 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo, xantphos y tri(*tert*-butil)fosfina. Se ejemplifican también 2-diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenilo, 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo, 1,2,3,4,5-pentametil-1'-(di-*t*-butilfosfino)ferroceno y similares, y puede mencionarse preferiblemente 2-diciclohexil-2',4',6'-triisopropilbifenilo.

Aunque la cantidad en equivalencia del catalizador de paladio a usar puede ser una cantidad equivalente o cantidad catalítica, es preferiblemente de un 0,01 % molar o más, más preferiblemente, especialmente de un 0,10 a un 50,0 % molar, basada en la cantidad del compuesto de partida. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida, *N,N*-dimetilacetamida, acetonitrilo, xileno, tolueno, 1,4-dioxano y tetrahidrofurano, y ejemplos preferidos incluyen acetonitrilo. También pueden usarse dos o más tipos de estos disolventes como mezcla. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a -40 hasta 100 °C, preferiblemente a -20 °C hasta 60 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 48 horas, preferiblemente de 1 a 24 horas.

Etapas 1-4

Los compuestos representados por la fórmula (4) pueden prepararse por desprotección selectiva de TMD de un compuesto representado por la fórmula (5) [en la fórmula (5), "Pro¹" y "Pro²" tienen los mismos significados que los definidos anteriormente]. La reacción de desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, los métodos descritos en *Protective Groups in Organic Synthesis*, publicado por John Wiley and Sons (2007) y similares.

Específicamente, los compuestos pueden prepararse, por ejemplo, permitiendo que una base inorgánica actúe sobre un compuesto representado por la fórmula (5) en un disolvente orgánico. En cuanto a la base inorgánica, por ejemplo, puede usarse hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de cesio, carbonato de sodio, carbonato de potasio o similares, y se prefiere carbonato de potasio. En cuanto a la cantidad de la base a usar, la base puede usarse en una cantidad de cantidad equivalente a cantidad en exceso con respecto al compuesto representado por la fórmula (5), que sirve como material de partida, y la cantidad es, por ejemplo, de 1 a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen metanol y etanol, y ejemplos preferidos incluyen metanol. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a -20 hasta 60 °C, preferiblemente a 0 hasta 40 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 48 horas, preferiblemente de 1 a 24 horas.

Etapas 1-5

Los compuestos representados por la fórmula (5) pueden prepararse acoplado un compuesto representado por la fórmula (6) [en la fórmula (6), "Pro¹" y "Pro²" tienen los mismos significados que los definidos anteriormente, y "hal²" representa bromo o yodo] con un compuesto representado por la fórmula (13) en un disolvente orgánico en presencia de una base inorgánica. Los compuestos pueden prepararse de la misma manera que la de la etapa 1-3. En esta preparación, el compuesto representado por la fórmula (13) puede usarse en una cantidad de 1/5 a 20 equivalentes, preferiblemente de 1/2 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (6).

Etapa 1-6

Los compuestos representados por la fórmula (6) pueden prepararse protegiendo el grupo hidroxilo de un compuesto representado por la fórmula (7) [en la fórmula (7), "Pro¹" y "hal²" tienen los mismos significados que los definidos anteriormente]. La reacción de protección para grupo hidroxilo puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, los métodos descritos en Protective Groups in Organic Synthesis, publicado por John Wiley and Sons (2007) y similares. Aunque el grupo protector de grupo hidroxilo no está particularmente limitado siempre que se elija el grupo protector mencionado anteriormente de grupo hidroxilo, por ejemplo, puede usarse grupo *tert*-butilo, grupo MOM, grupo MEM, grupo THP, grupo acetilo, grupo TBDMS y similares.

Etapa 1-7

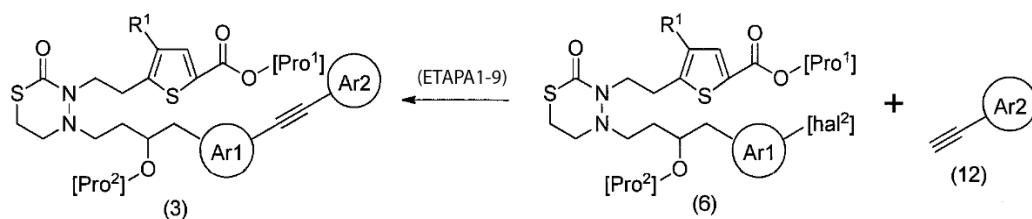
Los compuestos representados por la fórmula (7) pueden prepararse permitiendo que un agente reductor actúe sobre un compuesto representado por la fórmula (9) [en la fórmula (9), "Pro¹" y "hal²" tienen los mismos significados que los definidos anteriormente] en un disolvente orgánico. En cuanto al agente reductor, por ejemplo, puede usarse borohidruro de sodio, borohidruro de litio, triacetoxiborohidruro, cianoborohidruro y similares, y se prefiere borohidruro de sodio. En cuanto a la cantidad del agente reductor a usar, puede usarse en una cantidad de 1/4 equivalentes a cantidad en exceso con respecto al compuesto representado por la fórmula (9), que sirve como material de partida, y la cantidad es, por ejemplo, de 1/4 a 10 equivalentes, preferible de 1 a 5 equivalentes. Ejemplos del disolvente orgánico usado para la reacción incluyen metanol, etanol, isopropanol y un disolvente mixto de estos con tetrahidrofurano, y ejemplos preferidos incluyen metanol. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a -20 hasta 60 °C, preferiblemente a 0 hasta 40 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 48 horas, preferiblemente de 1 a 24 horas.

Etapa 1-8

Los compuestos representados por la fórmula (9) pueden prepararse permitiendo que un compuesto representado por la fórmula (14) [en la fórmula (14), "hal²" tiene el mismo significado que el definido anteriormente] actúe sobre un compuesto representado por la fórmula (10) [en la fórmula (10), "Pro¹" tiene el mismo significado que el definido anteriormente]. En cuanto a la cantidad del compuesto representado por la fórmula (14) a usar, puede usarse en una cantidad de cantidad equivalente a cantidad en exceso con respecto al compuesto representado por la fórmula (10), que sirve como material de partida, y la cantidad es, por ejemplo, de cantidad equivalente a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen metanol, etanol, isopropanol y un disolvente mixto de estos con agua, y ejemplos preferidos incluyen etanol. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a 0 hasta 120 °C, preferiblemente a 40 hasta 100 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 48 horas, preferiblemente de 1 a 24 horas.

Etapa 1-9

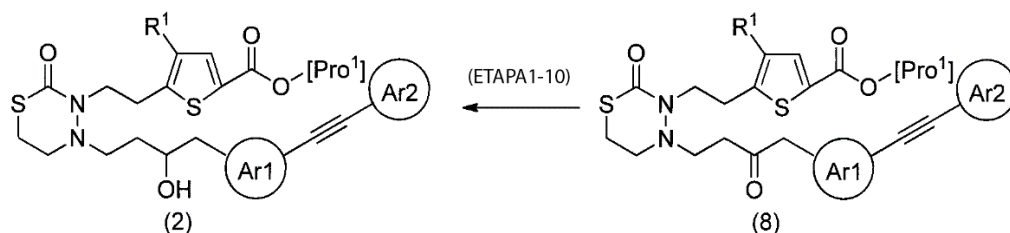
[Fórmula 65]



Los compuestos representados por la fórmula (3) también pueden prepararse a partir de un compuesto representado por la fórmula (6) [en la fórmula (6), "Pro¹", "Pro²" y "hal²" tienen los mismos significados que los definidos anteriormente], y un compuesto representado por la fórmula general (12) de la misma manera que la del método de la etapa 1-3. En cuanto a la cantidad del compuesto representado por la fórmula (12) usado en este caso, puede usarse en una cantidad de 1/5 a 20 equivalentes, preferiblemente de 1/2 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (6).

Etapa 1-10

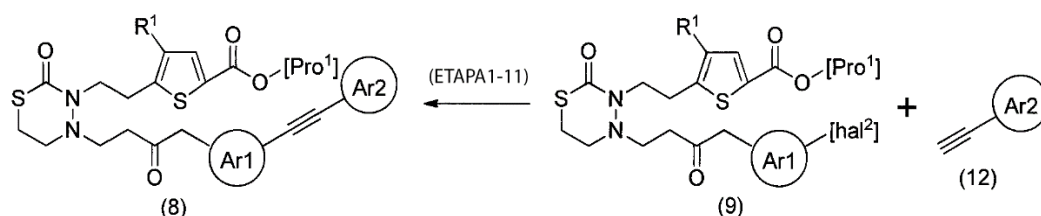
[Fórmula 66]



Los compuestos representados por la fórmula (2) también pueden prepararse a partir de un compuesto representado por la fórmula (8) [en la fórmula (8), "Pro¹" tiene el mismo significado que el definido anteriormente] de la misma manera que el método de la etapa 1-7.

Etapas 1-11

[Fórmula 67]



Los compuestos representados por la fórmula (8) se preparan acoplando un compuesto representado por la fórmula (9) en la que "hal²" es átomo de yodo [en la fórmula (9), "Pro¹" tiene el mismo significado que el definido anteriormente], y un compuesto representado por la fórmula (12) en presencia de una base, un catalizador de cobre y un catalizador de paladio. En cuanto a la cantidad del compuesto representado por la fórmula (12) usado en la reacción del compuesto representado por la fórmula (9), y el compuesto representado por la fórmula (12), puede usarse en una cantidad de 1/5 a 20 equivalentes, preferiblemente de 1/2 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (9), pero puede determinarse apropiadamente teniendo en consideración la pureza, rendimiento, eficacia de purificación y similares del compuesto representado por la fórmula (8).

En cuanto a la base, por ejemplo, puede usarse trietilamina, dietilamina, diisopropilamina, diisopropiletilamina, morfolina, piperidina, piridina y similares, y se prefieren diesteraminas. En cuanto a la cantidad de la base a usar, puede usarse en una cantidad de cantidad equivalente a cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (9), que sirve como material de partida.

Ejemplos del catalizador de cobre incluyen, por ejemplo, yoduro de cobre (I), bromuro de cobre (I), cloruro de cobre (I) y similares, y se prefiere yoduro de cobre (I).

Aunque la cantidad en equivalencia del catalizador de cobre a usar puede ser una cantidad equivalente o cantidad catalítica, se prefiere un 0,01 % molar o más, de forma particularmente preferible de un 0,10 a un 50,0 % molar, basada en el compuesto de material de partida.

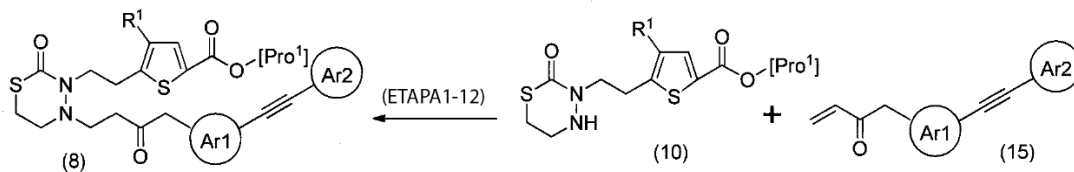
En cuanto al catalizador de paladio, por ejemplo, pueden añadirse catalizadores comercializados tales como tetraquis(trifenilfosfina)paladio, tetraquis(metildifenilfosfina)paladio, diclorobis(trifenilfosfina)paladio, diclorobis(tri-*o*-tolilfosfina)paladio, diclorobis(triciclohexilfosfina)paladio, diclorobis(trietilfosfina)-paladio, acetato de paladio, cloruro de paladio, cloruro de bis(acetonitrilo)paladio, bis(dibencilidenoacetona)paladio, tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloruro de bis(difenilfosfinoferroceno)paladio al sistema de reacción tal cual, o puede añadirse un catalizador preparado por separado de acetato de paladio, tris(dibencilidenoacetona)dipaladio o similares, y un ligando arbitrario y aislado. Puede prepararse un catalizador que se considere que realmente participa en el sistema de reacción mezclando acetato de paladio, tris(dibencilidenoacetona)dipaladio o similares, y un ligando arbitrario. La valencia del paladio puede ser 0 o +2. En particular, puede mencionarse tetraquis(trifenilfosfina)paladio como ejemplo preferido. Cuando el catalizador de paladio se prepara a partir de un ligando arbitrario, pueden usarse los mismos ligandos que los ligandos ejemplificados para la etapa 1-3.

Aunque la cantidad en equivalencia del catalizador de paladio a usar puede ser una cantidad equivalente o una cantidad catalítica, es preferiblemente un 0,01 % molar o más, más preferiblemente, especialmente de un 0,10 a un 50,0 % molar, basada en el compuesto de material de partida.

5

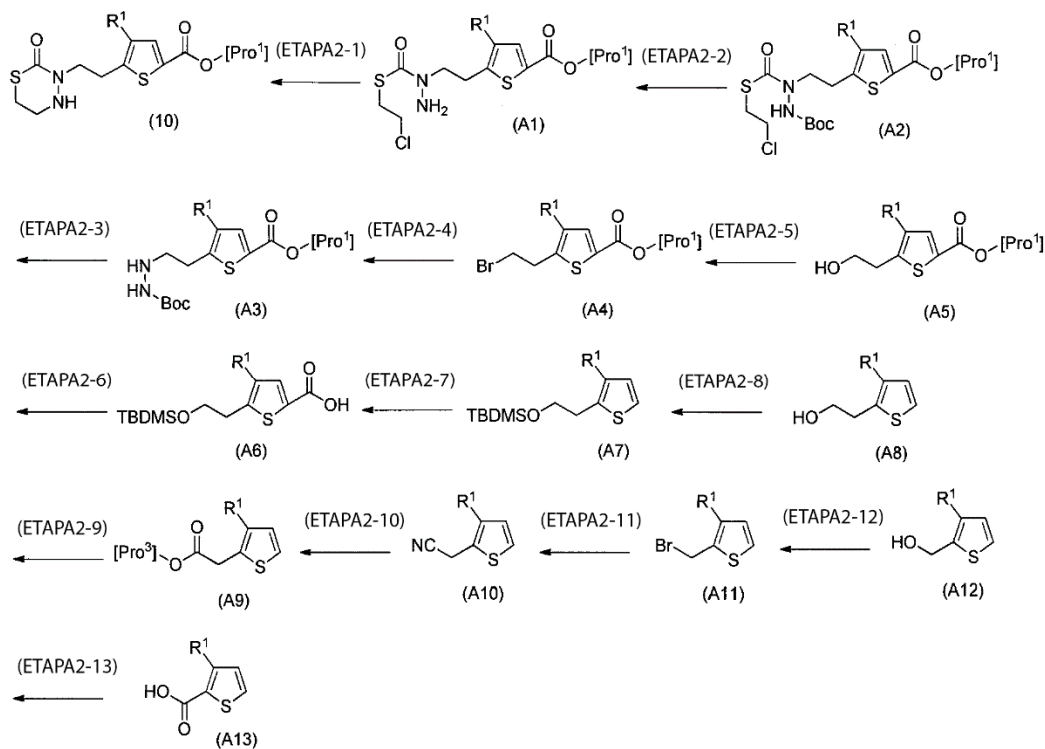
10

[Fórmula 68]



15

[Fórmula 69]



20

25

dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, acetonitrilo, tolueno, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, éter dietílico y disolventes mixtos de estos, y ejemplos preferidos incluyen acetonitrilo. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a 0 hasta 100 °C, preferiblemente a 20 hasta 60 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 48 horas, preferiblemente de 1 a 24 horas.

Etapa 2-2

Los compuestos representados por la fórmula (A1) pueden prepararse mediante desprotección de un compuesto representado por la fórmula (A2) [en la fórmula (A2), "Pro¹" tiene el mismo significado que el definido anteriormente] para el grupo protector. La reacción de desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, los métodos descritos en *Protective Groups in Organic Synthesis*, publicado por John Wiley and Sons (2007) y similares.

Etapa 2-3

Los compuestos representados por la fórmula (A2) pueden prepararse permitiendo que un éster del ácido clorotiofórmico tal como clorotioformiato de 2-cloroetilo actúe sobre un compuesto representado por la fórmula (A3) [en la fórmula (A3), "Pro¹" tiene el mismo significado que el definido anteriormente] en presencia de una base. El éster del ácido clorotiofórmico puede usarse en una cantidad de cantidad equivalente a cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 5 equivalentes, preferiblemente de 1 a 2 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (A2), que sirve como material de partida. En cuanto a la base a usar, por ejemplo, puede usarse carbonato de sodio, carbonato de potasio, hidrogenocarbonato de sodio, carbonato de cesio, hidróxido de sodio, diisopropiletilamina, trietilamina y similares, y se prefiere hidrogenocarbonato de sodio. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen diclorometano, tolueno, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, acetonitrilo y similares, y se prefiere diclorometano. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse a 0 hasta 100 °C, preferiblemente a 10 hasta 30 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 1 a 24 horas, preferiblemente de 2 a 4 horas.

Etapa 2-4

Los compuestos representados por la fórmula (A3) pueden prepararse permitiendo que t-butoxicarbonilhidrazina actúe sobre un compuesto representado por la fórmula (A4) [en la fórmula (A4), "Pro¹" tiene el mismo significado que el definido anteriormente] en presencia de una base. En cuanto a la base a usar, por ejemplo, puede usarse carbonato de sodio, carbonato de potasio, hidrogenocarbonato de sodio, carbonato de cesio, hidróxido de sodio, diisopropiletilamina, trietilamina y similares, y se prefiere hidrogenocarbonato de sodio. La cantidad de la base a usar es, por ejemplo, de 1 a 20 equivalentes, preferiblemente de 3 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (A4), que sirve como material de partida. Puede usarse yoduro de sodio o similares como aditivo. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen acetonitrilo, propionitrilo, N,N-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, N-metilpirrolidona y similares que pueden usarse, y ejemplos preferidos incluyen acetonitrilo. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a temperatura ambiente hasta 150 °C, preferiblemente a 70 °C hasta 100 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, de 3 a 36 horas, preferiblemente de 3 a 18 horas.

Etapa 2-5

Los compuestos representados por la fórmula (A4) pueden prepararse sustituyendo un átomo de bromo en el lugar del grupo hidroxilo de un compuesto representado por la fórmula (A5) [en la fórmula (A5), "Pro¹" tiene el mismo significado que el definido anteriormente]. La reacción para sustituir un átomo de bromo puede realizarse permitiendo que tetrabromuro de carbono, N-bromosuccinimida o similares actúe sobre el compuesto en presencia de trifenilfosfina o similares. La cantidad de trifenilfosfina a usar es, por ejemplo, de 1 a 5 equivalentes, preferiblemente de 1 a 2 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (A5), que es el material de partida. La cantidad de tetrabromuro de carbono o similares a usar es, por ejemplo, de 1 a 5 equivalentes, preferiblemente de 1 a 2 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (A5), que es el material de partida. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen diclorometano, tolueno, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, acetonitrilo y similares, y se prefiere diclorometano. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a -20 hasta 40 °C, preferiblemente a -10 hasta 10 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 3 a 36 horas, preferiblemente de 12 a 20 horas.

Etapa 2-6

Los compuestos representados por la fórmula (A5) pueden prepararse mediante desprotección de un compuesto representado por la fórmula (6A) para el grupo protector del grupo hidroxilo. La desprotección puede realizarse de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo, los métodos descritos en *Protective Groups in Organic Synthesis*, publicado por John Wiley and Sons (2007) y similares.

Etapa 2-6

Los compuestos representados por la fórmula (A5) pueden prepararse convirtiendo el ácido carboxílico de un compuesto representado por la fórmula (A6) en éster, y realizando la desprotección para retirar el grupo protector del grupo hidroxilo. La reacción puede hacerse progresar en un disolvente alcohólico en presencia de un ácido. Ejemplos del ácido usado para la reacción incluyen ácido sulfúrico, cloruro de hidrógeno, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido trifluoroacético y similares, y ejemplos preferidos incluyen ácido sulfúrico. En cuanto al disolvente, puede usarse metanol, etanol o similares, y ejemplos preferidos incluyen metanol. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a temperatura ambiente hasta 140 °C, preferiblemente a 50 hasta 80 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, de 2 a 24 horas, preferiblemente de 8 a 16 horas.

Etapas 2-7

Los compuestos representados por la fórmula (A6) pueden prepararse permitiendo que una base fuerte, y después dióxido de carbono, actúen sobre un compuesto representado por la fórmula (A7). En cuanto a la base fuerte, puede usarse litioamida tal como diisopropil litioamida o litiohexametil disilazida. Cuando R¹ es hidrógeno, también puede usarse un alquil-litio inferior tal como n-butil-litio, s-butil-litio y n-propil-litio, y se usa preferiblemente diisopropil litioamida. La cantidad de la base fuerte usada es, por ejemplo, de 1 a 3 equivalentes, preferiblemente de 1 a 2 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (A7), que es el material de partida. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen tetrahidrofurano, éter dietílico, 1,4-dioxano y similares, y se prefiere tetrahidrofurano. En cuanto a la temperatura para la reacción con la base fuerte, la reacción puede realizarse habitualmente a -100 hasta -20 °C, preferiblemente a -80 hasta -60 °C. La siguiente reacción con dióxido de carbono o similares puede realizarse habitualmente a -40 hasta 40 °C, y preferible a -20 hasta 10 °C. Aunque el tiempo de reacción de la reacción con la base fuerte no está particularmente limitado, es, por ejemplo, de 0,2 a 3 horas, preferiblemente de 0,5 a 1 hora. Aunque el tiempo de reacción de la reacción con dióxido de carbono o similares no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 24 horas, preferiblemente de 0,75 a 2 horas.

Etapas 2-8

Los compuestos representados por la fórmula (A7) pueden prepararse protegiendo el grupo hidroxilo de un compuesto representado por la fórmula (A8) con TBDMS. La protección del grupo hidroxilo puede realizarse usando un método similar al de la etapa 1-6.

El compuesto de fórmula (A8) en la que R¹ es H es un compuesto comercializado (2-(tiofen-2-il)etanol, Tokyo Chemicals). Por lo tanto, cuando R¹ en la fórmula (A8) es H, no se requieren las siguientes etapas.

Etapas 2-9

Los compuestos representados por la fórmula (A8) pueden prepararse reduciendo el grupo éster de un compuesto representado por la fórmula (A9) [en la fórmula (A9), "Pro³" representa un grupo protector del carboxilo del compuesto de fórmula (A8)]. Es decir, puede usarse un Pro³, por ejemplo, alquilo que tiene de 1 a 4 átomos de carbono.

En cuanto al agente reductor, por ejemplo, puede usarse hidruro de litio y aluminio, hidruro de diisobutilaluminio, hidruro de litio-trietilborano y similares, y se prefiere hidruro de litio y aluminio. La cantidad del agente reductor a usar es, por ejemplo, de 0,5 a 5 equivalentes molares, preferiblemente de 1 a 2 equivalentes molares, con respecto al compuesto representado por la fórmula (A9), que sirve como material de partida.

Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen tetrahidrofurano, éter dietílico, tolueno y disolventes mixtos de estos, y ejemplos preferidos incluyen tetrahidrofurano y éter dietílico. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a -10 hasta 20 °C, preferiblemente a -5 hasta 5 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,08 a 0,5 horas, preferiblemente de 0,15 a 0,3 horas.

Etapas 2-10

Los compuestos representados por la fórmula (A9) pueden prepararse, por ejemplo, realizando solvólisis de un compuesto representado por la fórmula (A10) en un alcohol en presencia de un ácido. En cuanto al ácido, puede usarse ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, cloruro de hidrógeno y similares, y se prefiere ácido sulfúrico. La cantidad de ácido sulfúrico a usar es, por ejemplo, de 0,0001 a 0,005 equivalentes molares, preferiblemente de 0,0002 a 0,001 equivalentes molares, con respecto al compuesto representado por la fórmula (A10), que sirve como material de partida. En cuanto al alcohol usado como disolvente, por ejemplo, puede usarse etanol, metanol, n-propanol, alcohol n-butilico, alcohol isobutilico y similares. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 6 a 48 horas, preferiblemente de 16 a 24 horas.

Etapas 2-11

Los compuestos representados por la fórmula (A10) pueden prepararse permitiendo que un cianuro actúe sobre un compuesto representado por la fórmula (A11). En cuanto al cianuro, por ejemplo, puede usarse cianuro de sodio, cianuro de potasio y similares. La cantidad del cianuro a usar es, por ejemplo, de 1 a 5 equivalentes, preferiblemente de 1 a 2 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (A10), que es el material de partida. En cuanto al disolvente usado para la reacción, puede usarse tetrahidrofurano, acetonitrilo, dimetilsulfóxido, N,N-dimetilacetamida, N,N-dimetilformamida y similares, y ejemplos preferidos incluyen un disolvente mixto de acetonitrilo y dimetilsulfóxido. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a 0 hasta 60 °C, preferiblemente a 10 hasta 40 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 20 horas, preferiblemente de 2 a 6 horas.

Etapa 2-12

Los compuestos representados por la fórmula (A11) pueden prepararse convirtiendo el grupo hidroxilo de un compuesto representado por la fórmula (A12) en átomo de bromo. La conversión en átomo de bromo puede realizarse de la misma manera que la de la etapa 2-5.

Etapa 2-13

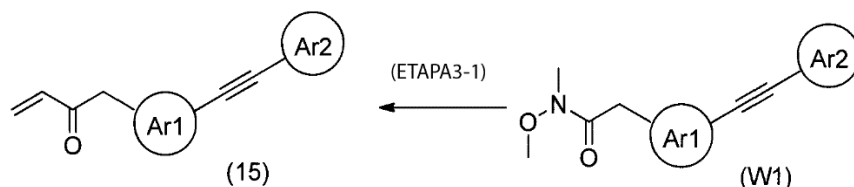
Los compuestos representados por la fórmula (A12) pueden prepararse reduciendo el grupo carboxilo de un compuesto comercializado representado por la fórmula (A13) en grupo hidroxilo. En cuanto al agente reductor, por ejemplo, puede usarse borano-sulfuro de dimetilo, borano-tetrahidrofurano y similares, y se prefiere borano-tetrahidrofurano. La cantidad del agente reductor a usar es, por ejemplo, de 1 a 5 equivalentes molares, preferiblemente de 1 a 2 equivalentes molares, con respecto al compuesto representado por la fórmula (A13), que sirve como material de partida.

En cuanto al disolvente usado para la reacción, puede usarse tetrahidrofurano, éter dietílico y similares, y ejemplos preferidos incluyen tetrahidrofurano. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a 0 hasta 60 °C, preferiblemente a 10 hasta 40 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 4 a 24 horas, preferiblemente de 10 a 18 horas.

Ejemplos del compuesto comercializado representado por la fórmula (A13) incluyen, por ejemplo, ácido 3-clorotieno-2-carboxílico, ácido 3-bromotieno-2-carboxílico y similares, y pueden adquirirse de, por ejemplo, Sigma-Aldrich.

Etapa 3-1

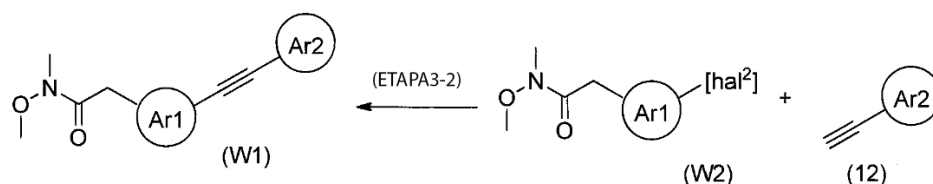
[Fórmula 70]



Los compuestos representados por la fórmula (15) pueden prepararse permitiendo que un agente de vinilación actúe sobre un compuesto representado por la fórmula (W1) en un disolvente orgánico. En cuanto al agente de vinilación, por ejemplo, puede usarse bromuro de vinilmagnesio, cloruro de vinilmagnesio, vinil-litio y similares, y se prefieren bromuro de vinilmagnesio y cloruro de vinilmagnesio. Puede usarse bromuro de vinilmagnesio y cloruro de vinilmagnesio como solución en tetrahidrofurano, éter dietílico o tolueno, y se prefiere una solución en tetrahidrofurano. En cuanto a la cantidad del reactivo de vinilación a usar, el reactivo puede usarse en una cantidad de cantidad equivalente a una cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (W1), que sirve como material de partida. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen tolueno, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, éter dietílico, 1,2-dimetoxietano y disolventes mixtos de estos, y ejemplos preferidos incluyen tetrahidrofurano y 1,2-dimetoxietano. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a -78 hasta 0 °C, preferiblemente a -50 hasta 0 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 24 horas, preferiblemente de 1 a 12 horas.

Etapa 3-2

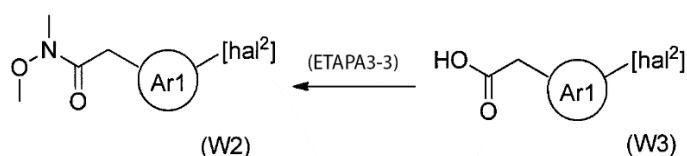
[Fórmula 71]



Los compuestos representados por la fórmula (W1) pueden prepararse a partir de un compuesto representado por la fórmula (W2) [en la fórmula (W2), "hal²" tiene el mismo significado que el definido anteriormente] y un compuesto representado por la fórmula (12) de la misma manera que la de la etapa 1-3. En esta reacción, el compuesto representado por la fórmula (12) puede usarse en una cantidad de 1/5 a 20 equivalentes, preferiblemente de 1/2 a 10 equivalentes, más preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (W2).

Etapas 3-3

[Fórmula 72]



Los compuestos representados por la fórmula (W2) pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto representado por la fórmula (W3) [en la fórmula (W3), "hal²" tiene el mismo significado que el definido anteriormente] con clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina en un disolvente orgánico en presencia de una base y un agente de condensación de deshidratación. La cantidad de clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina usada en la reacción del compuesto representado por la fórmula (W3) y clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina puede ser de cantidad equivalente a cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (W3), pero la cantidad puede determinarse apropiadamente teniendo en consideración la pureza, rendimiento, eficacia de purificación y similares del compuesto representado por la fórmula (W3).

En cuanto a la base, por ejemplo, puede usarse trietilamina, diisopropiletilamina, 1,4-diazabicyclo[2,2,2]octano, N,N-dimetil-4-aminopiridina y similares, y se prefiere diisopropiletilamina. La cantidad de la base a usar puede ser de cantidad equivalente a cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto a la suma del equivalente del compuesto representado por la fórmula (W3), que sirve como material de partida, y el equivalente de clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina.

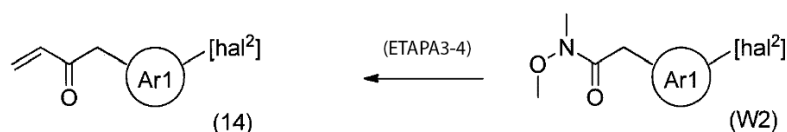
En cuanto al agente de condensación de deshidratación, puede usarse N,N'-d ciclohexilcarbodiimida, 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida, N,N'-diisopropilcarbodiimida, p-toluenosulfonato de N-ciclohexil-N'-(2-morfolinoetil)carbodiimida, N,N'-carbonildiimidazol, cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio, hexafluorofosfato de 1H-benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetilfosfonio), hexafluorofosfato de 1H-benzotriazol-1-iloxi-tripirrolidinofosfonio, hexafluorofosfato de O-(benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio, hexafluorofosfato de O-(7-aza-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio y similares, y se prefiere 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida. La cantidad del agente de condensación de deshidratación a usar puede ser de cantidad equivalente a cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al equivalente del compuesto representado por la fórmula (W3), que sirve como material de partida.

En cuanto al activador, puede añadirse N,N-dimetil-4-aminopiridina o similares. La cantidad del activador a usar puede ser una cantidad catalítica a cantidad en exceso, por ejemplo, de 0,01 a 5 equivalentes, preferiblemente de 0,1 a 1 equivalente, con respecto al equivalente del compuesto representado por la fórmula (W3), que sirve como material de partida.

Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen, por ejemplo, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, acetonitrilo, xileno, tolueno, 1,4-dioxano, diclorometano, cloroformo, 1,2-dicloroetano, tetrahydrofurano y similares, y ejemplos preferidos incluyen diclorometano. También pueden usarse dos o más tipos de estos disolventes como mezcla. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a 0 hasta 100 °C, preferiblemente a 20 hasta 60 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 48 horas, preferiblemente de 1 a 24 horas.

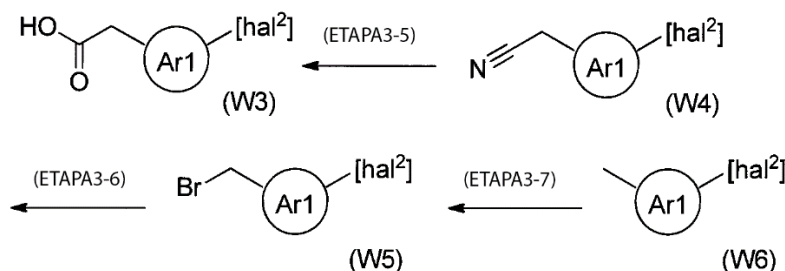
Etapas 3-4

[Fórmula 73]



Los compuestos representados por la fórmula (14) pueden prepararse a partir de un compuesto representado por la fórmula (W2) [en la fórmula (W2), "hal²" tiene el mismo significado que el definido anteriormente] de la misma manera que la del método de la etapa 3-1.

[Fórmula 74]



Etapa 3-5

Los compuestos representados por la fórmula (W3) pueden prepararse calentando un compuesto representado por la fórmula (W4) [en la fórmula (W4), "hal²" tiene el mismo significado que el definido anteriormente] en ácido sulfúrico diluido. En cuanto al ácido sulfúrico diluido usado para la reacción, puede usarse ácido sulfúrico concentrado diluido apropiadamente o ácido sulfúrico diluido, y la concentración del mismo es, por ejemplo, de 0,1 a 15 mol/l, preferiblemente de 1 a 10 mol/l. La cantidad del ácido sulfúrico diluido a usar puede ser una cantidad en exceso para el compuesto representado por la fórmula (W4), y puede determinarse teniendo en consideración el rendimiento, eficacia de purificación y similares. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a 20 hasta 100 °C, preferiblemente a 60 hasta 100 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 48 horas, preferiblemente de 1 a 24 horas.

Entre los compuestos representados por la fórmula (W3), el ácido 3-bromofenilacético, el ácido 3-yodofenilacético y el ácido 3-bromo-4-fluorofenilacético son compuestos comercializados, y pueden obtenerse de Tokyo Chemical Industry. El ácido 2-(4-bromotiofen-2-il)acético es un compuesto comercializador, y puede obtenerse de APOLLO.

Etapa 3-6

Los compuestos representados por la fórmula (W4) pueden prepararse permitiendo que un cianuro actúe sobre un compuesto representado por la fórmula (W5) [en la fórmula (W5), "hal²" tiene el mismo significado que el definido anteriormente]. En cuanto al cianuro, puede usarse cianuro de sodio, cianuro de potasio, cianuro de cobre y similares, y se prefiere cianuro de sodio y cianuro de potasio. La cantidad del cianuro a usar puede ser de cantidad equivalente a cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (W5), que sirve como material de partida. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen, por ejemplo, metanol, etanol, isopropanol, agua, disolventes mixtos de estos y similares, y ejemplos preferidos incluyen un disolvente mixto de etanol y agua a una relación de 2:1. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a 0 hasta 100 °C, preferiblemente a 20 hasta 100 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 24 horas, preferiblemente de 1 a 12 horas.

Etapa 3-7

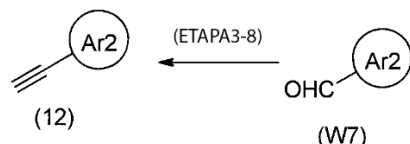
Los compuestos representados por la fórmula (W5) pueden prepararse bromando un compuesto representado por la fórmula (W6) [en la fórmula (W6), "hal²" tiene el mismo significado que el definido anteriormente]. Ejemplos del agente de bromación incluyen N-bromosuccinimida y 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoína, y se prefiere N-bromosuccinimida. La cantidad del agente de bromación a usar puede ser de cantidad equivalente a cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (W6), que sirve como material de partida. Ejemplos de un activador a añadir junto con el agente de bromación incluyen peróxido de benzoilo, hidroperóxido de *tert*-butilo, y azobisisobutironitrilo, y se prefiere peróxido de benzoilo. La cantidad del activador a usar puede ser una cantidad catalítica a cantidad en exceso, por ejemplo, de 0,01 a 2 equivalentes, preferiblemente de 0,05 a 1 equivalente, con respecto al compuesto representado por la fórmula (W3), que sirve como material de partida. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen, por ejemplo, tetracloruro

de carbono, cloroformo, 1,2-dicloroetano, disolventes mixtos de estos y similares, y ejemplos preferidos incluyen tetracloruro de carbono. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a 20 hasta 90 °C, preferiblemente a 60 hasta 90 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 24 horas, preferiblemente de 1 a 12 horas.

Ejemplos del compuesto representado por la fórmula (W6) incluyen 2-bromo-1,4-dimetilbenceno, 1-bromo-3,5-dimetilbenceno y similares, y estos pueden adquirirse como compuestos comercializados de, por ejemplo, Tokyo Chemical Industry.

Etapa 3-8

[Fórmula 75]



Los compuestos representados por la fórmula (12) pueden prepararse permitiendo que un compuesto de α -diazofosfonato actúe sobre un compuesto representado por la fórmula (W7) junto con una base inorgánica. Ejemplos de la combinación del compuesto de α -diazofosfonato y la base inorgánica incluyen, por ejemplo, combinaciones de dimetil(diazometil)fosfonato y *terc*-butóxido de potasio, dimetil(diazometil)fosfonato y *terc*-butóxido de sodio, dimetil(1-diazo-2-oxopropil)fosfonato y carbonato de potasio, y dimetil(1-diazo-2-oxopropil)fosfonato y carbonato de sodio, y se prefiere la combinación de dimetil(1-diazo-2-oxopropil)fosfonato y carbonato de potasio. La cantidad del α -diazofosfonato a usar puede ser de cantidad equivalente a cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 10 equivalentes, preferiblemente de 1 a 5 equivalentes, con respecto al compuesto representado por la fórmula (W7), que sirve como material de partida. La cantidad de la base inorgánica a usar puede ser de cantidad equivalente a cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 5 equivalentes, preferiblemente de 1 a 3 equivalentes, con respecto al α -diazofosfonato a usar. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen, por ejemplo, metanol, etanol, isopropanol, *terc*-butanol, disolventes mixtos de estos y similares, y ejemplos preferidos incluyen metanol. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a -20 hasta 80 °C, preferiblemente a 0 hasta 60 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 24 horas, preferiblemente de 1 a 12 horas.

Entre los compuestos representados por la fórmula (12), 3-etiniltiofeno y 2-etiniltiofeno son compuestos comercializados, y pueden obtenerse de Tokyo Chemical Industry.

Etapa 3-9

4-Feniltiofeno-3-carboaldehído como compuesto representado por la fórmula (W7) puede prepararse haciendo reaccionar ácido 4-formiltiofeno-3-borónico y bromobenceno en un disolvente en presencia de una base y un catalizador de paladio.

En cuanto al catalizador de paladio, por ejemplo, pueden añadirse catalizadores comercializados tales como tetraquis(trifenilfosfina)paladio, tetraquis(metildifenilfosfina)paladio, diclorobis(trifenilfosfina)paladio, diclorobis(tri-*o*-tolilfosfina)paladio, diclorobis(triciclohexilfosfina)paladio, diclorobis(trietilfosfina)-paladio, acetato de paladio, cloruro de paladio, cloruro de bis(acetonitrilo)paladio, bis(dibencilidenoacetona)paladio, tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloruro de bis(difenilfosfinoferroceno)paladio al sistema de reacción tal cual, o puede añadirse un catalizador preparado por separado de acetato de paladio, tris(dibencilidenoacetona)dipaladio o similares, y un ligando arbitrario y aislado. Puede prepararse un catalizador que se considere que realmente participa en el sistema de reacción mezclando acetato de paladio, tris(dibencilidenoacetona)dipaladio o similares, y un ligando arbitrario. La valencia del paladio puede ser 0 o +2. En particular, puede mencionarse tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0), acetato de paladio (II) y similares como ejemplos preferidos.

En cuanto al ligando usado para preparar un catalizador de paladio a partir de un ligando arbitrario, se ejemplifican ligandos de fosfina tales como trifenilfosfina, tri(*o*-tolil)fosfina, tri(ciclohexil)fosfina, tri(*t*-butil)fosfina, diciclohexilfenilfosfina, 1,1'-bis(di-*t*-butilfosfino)ferroceno, 2-diciclohexilfosfino-2'-dimetilamino-1,1'-bifenilo, 2-(di-*t*-butilfosfino)bifenilo, 2-(diciclohexilfosfino)bifenilo, 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo, xantphos, tri(*terc*-butil)fosfina, 2-diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenilo, 2-diciclohexil-2',4',6'-triisopropilbifenilo y 1,2,3,4,5-pentametil-1'-(di-*t*-butilfosfino)-ferroceno, y ejemplos preferidos incluyen 2-diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenilo y similares.

Aunque el número de equivalentes del catalizador de paladio a usar puede ser la cantidad equivalente o una cantidad catalítica, es preferiblemente un 0,01 % molar o más, de forma particularmente preferible de un 0,10 a un 50,0 % molar, basada en el compuesto de material de partida. Ejemplos de la base incluyen, por ejemplo, *terc*-butóxido de

sodio, carbonato de cesio, fosfato de potasio y similares, y se prefiere fosfato de potasio. El número de equivalentes de la base a usar puede ser la cantidad equivalente o una cantidad en exceso, por ejemplo, de 1 a 5 equivalentes, preferiblemente de 1 a 3 equivalentes. Ejemplos del disolvente usado para la reacción incluyen, por ejemplo, disolventes de tipo éter tales como tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, y 1,2-dimetoxietano, tolueno, N,N-dimetilformamida, N,N-dimetilacetamida, n-butanol, agua, disolventes mixtos de estos y similares, y puede mencionarse un disolvente mixto de n-butanol y agua a una relación de 5:1 como ejemplo preferido. En cuanto a la temperatura de reacción, la reacción puede realizarse habitualmente a -20 hasta 120 °C, preferiblemente a 0 hasta 100 °C. Aunque el tiempo de reacción no está particularmente limitado, es, por ejemplo, habitualmente de 0,5 a 48 horas, preferiblemente de 1 a 24 horas.

Los métodos de preparación de los compuestos de la presente invención no se limitan a los métodos descritos en este documento. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden prepararse modificando o convirtiendo sustituyentes de los compuestos como precursores de los compuestos de la presente invención usando una o una combinación de dos o más de las reacciones descritas en los artículos químicos normales y similares.

Ejemplos del método de preparación para los compuestos de la presente invención que contienen un carbono asimétrico incluyen un método de preparación basado en reducción asimétrica, un método de uso de un material de partida disponible en el mercado (o material de partida que puede prepararse mediante un método conocido o un método similar a un método conocido) cuyo resto correspondiente al carbono asimétrico originalmente es ópticamente activo y similares. También está disponible un método en que un compuesto de la presente invención o un precursor del mismo se separa como un isómero ópticamente activo mediante un método convencional. Ejemplos de dicho método incluyen, por ejemplo, un método que utiliza cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) usando una columna quiral, la cristalización fraccionada clásica para la separación de sustancias ópticamente activas, que comprende la formación de una sal con un reactivo ópticamente activo, la separación por cristalización fraccionada o similares, y la conversión de la sal en un compuesto de forma libre, un método que comprende la condensación con un reactivo ópticamente activo para formar un diastereoisómero, seguida de separación, purificación y descomposición del diastereoisómero producido y similares. Cuando un precursor se separa para obtener una sustancia ópticamente activa, entonces puede prepararse un compuesto ópticamente activo de la presente invención realizando los métodos de preparación mencionados anteriormente.

Cuando un compuesto de la presente invención contiene un grupo funcional ácido tal como grupo carboxilo, grupos hidroxilo fenólico o grupos tetrazol, el compuesto puede convertirse en una sal farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sales inorgánicas con sodio y similares, o sales orgánicas con trietilamina y similares) mediante un medio conocido. Por ejemplo, cuando tiene que obtenerse una sal inorgánica, es preferible disolver el compuesto de la presente invención en agua que contiene al menos 1 equivalente de hidróxido, carbonato, bicarbonato o similares correspondiente a la sal inorgánica deseada. Para la reacción, puede mezclarse un disolvente orgánico inactivo miscible en agua tal como metanol, etanol, acetona y dioxano. Por ejemplo, usando hidróxido de sodio, carbonato de sodio o hidrogenocarbonato de sodio, puede obtenerse una solución de sal de sodio.

Cuando un compuesto de la presente invención contiene grupo amino, otro grupo funcional básico o un anillo aromático que por sí mismo tiene una propiedad básica (por ejemplo, anillo de piridina y similares), el compuesto también puede convertirse en una sal farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, sal con un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico, o sal con un ácido orgánico tal como ácido acético) mediante un medio conocido. Por ejemplo, cuando tiene que obtenerse una sal con un ácido inorgánico, es preferible disolver el compuesto de la presente invención en agua que contiene al menos 1 equivalente de un ácido inorgánico deseado. Para la reacción, puede mezclarse un disolvente orgánico inactivo miscible en agua tal como metanol, etanol, acetona y dioxano. Por ejemplo, usando ácido clorhídrico, puede obtenerse una solución de clorhidrato.

Si se desea una sal sólida, la solución puede evaporarse, o puede añadirse un disolvente orgánico miscible en agua que tiene polaridad en algún grado, tal como n-butanol o etil metil cetona, a la solución para obtener una sal sólida.

Los diversos compuestos divulgados por la presente invención pueden purificarse por métodos conocidos tales como una diversidad de técnicas de cromatografía (cromatografía en columna, cromatografía en columna ultrarrápida, cromatografía de capa fina, cromatografía de líquidos de alto rendimiento).

Los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización tienen una actividad agonista de EP₄, y pueden usarse como agonista de EP₄. Es decir, los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización pueden usarse como medicamento para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de una enfermedad, que se refiere al agonista del receptor EP₄. La enfermedad que se refiere al agonista del receptor EP₄ es, más precisamente, una enfermedad para la que es eficaz el agonismo del receptor EP₄, y más específicamente, no está limitada particularmente siempre que sea una enfermedad que pueda prevenirse y/o tratarse elevando la cantidad de producción de AMPc en osteoblastos.

La actividad agonista de EP₄ puede medirse mediante, por ejemplo, los métodos descritos a continuación. Es decir, puede mencionarse un método de confirmación de la promoción de la producción de AMPc en una célula que expresa el receptor EP₄ humano. Como otra realización, puede mencionarse un método de confirmación de la acción promotora

de la osteogénesis basado en la promoción de la producción de AMPc en presencia de inhibidor de ciclooxigenasa 2 (COX-2) en células de médula de rata. Como otra realización más, puede mencionarse un método de confirmación de la actividad de unión al receptor EP₄ humano. Como método para confirmar la acción promotora de la osteogénesis basado en la producción de AMPc, específicamente, puede ejemplificarse el método descrito en el ejemplo de ensayo 1 mencionado posteriormente.

La actividad agonista de EP₄ que puede confirmarse mediante el método descrito en el ejemplo de ensayo 1 es, por ejemplo, 10 nM o menor, preferiblemente 1 nM o menor, más preferiblemente 0,6 nM o menos, aún más preferiblemente 0,3 nM o menor, de forma particularmente preferible 0,1 nM o menor, mucho más preferiblemente 0,05 nM o menor.

Los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización, muestran alta especificidad (selectividad) por EP₄. La selectividad por EP₄ puede evaluarse, por ejemplo, realizando medición de la actividad agonista y ensayo de unión a receptor usando células que expresan cada uno de los receptores EP₁, EP₂, y EP₃ humanos para calcular la relación de los valores de Cl₅₀ (concentración del compuesto de la presente invención a la que la unión de [³H]PGE₂ y el receptor se suprime en un 50 %), o los valores de Ki. Específicamente, puede ejemplificarse el método descrito en el ejemplo de ensayo 2.

Relación de valor de Cl₅₀ (tiempo) = Cl₅₀ para cada receptor/Cl₅₀ para EP₄

Relación de valor de Ki (tiempo) = Constante de disociación Ki para cada receptor/constante de disociación Ki para EP₄

Para evitar reacciones secundarias, se prefiere que los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización muestren alta especificidad por EP₄. Por ejemplo, la relación del valor de Cl₅₀ o valor de Ki debe ser 10 veces o mayor, preferiblemente 100 veces o mayor, más preferiblemente 1000 veces o mayor, más preferiblemente 3000 veces o mayor, de forma particularmente preferible 10.000 veces o mayor.

También se prefiere que los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización actúen selectivamente sobre o se unan al receptor EP₄, pero no actúen sobre o se unan al receptor EP₁, receptor EP₂ y receptor EP₃, así como el receptor DP, receptor FP, receptor IP, receptor TP, receptor PPAR α , receptor PPAR δ , receptor PPAR γ , receptor S1P (por ejemplo, receptor S1P1, receptor S1P2, receptor S1P3 y similares), receptor LTB₄ (por ejemplo, BLT1, BLT2 y similares), receptor LPA (por ejemplo, receptor LPA1, receptor LPA2, receptor LPA3 y similares), y receptores cannabinoides (por ejemplo, receptor CB1, receptor CB2 y similares), o actúen sobre o se unan a estos más débilmente en comparación con la acción sobre o la unión al receptor EP₄.

La enfermedad que se refiere al agonismo del receptor EP₄ no está particularmente limitada siempre que sea una enfermedad para la que sea eficaz el agonismo del receptor EP₄, y ejemplos específicos incluyen, por ejemplo, fracturas óseas y lesiones óseas.

Los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización tienen una acción promotora de la osteogénesis como se muestra en los ejemplos de ensayo mencionados posteriormente, y son útiles como ingrediente activo de un medicamento. Los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización se usan para, en particular, tratamiento terapéutico y/o promoción de la curación de fracturas o lesiones óseas, y preferiblemente se usan para tratamiento terapéutico y/o promoción de la curación de fracturas. Como otra realización, también pueden usarse preferiblemente para tratamiento terapéutico y/o promoción de la curación de lesiones óseas.

La utilidad del medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización para tratamiento terapéutico y/o promoción de la curación de fracturas o lesiones óseas puede confirmarse usando un modelo de fractura cerrada o un modelo de lesión ósea parcial o de hueso muy largo. Específicamente, se ejemplifica el método descrito en el ejemplo de ensayo 5.

Puede esperarse que el medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización presente una acción sistémica que aumenta la densidad ósea y acción que aumenta de resistencia ósea, o acción local de promoción de la regeneración ósea/osteogénesis. La acción promotora de la osteogénesis de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización puede evaluarse, por ejemplo, usando células de médula ósea aisladas de animales experimentales tales como ratas, o humanas, y cultivadas, y usando varios nódulos similares de hueso calcificado formados, actividad fosfatasa alcalina, que es un marcador de diferenciación de osteoblastos o similares como marcador. También puede evaluarse usando animales de modelo patológico tales como ratas de modelo de masa ósea reducida sometidas a neurectomía ciática y ovariectomía o similares, y la densidad ósea o resistencia ósea de los huesos de las extremidades o similares como marcador. También puede evaluarse usando un modelo de fractura cerrada de hueso largo o modelo de corte de hueso preparado por operación invasiva, un modelo en que se crea una lesión ósea en una región arbitraria o similares, y osteogénesis, tasa de consolidación ósea, resistencia ósea del hueso restablecido o similares como marcador.

Fractura significa una alteración en que un hueso se interrumpe o deforma parcial o completamente provocado por una fuerza externa. El hueso que puede sufrir una fractura no está particularmente limitado, siempre que sea de un paciente cuyo tejido óseo está dañado, y ejemplos incluyen, por ejemplo, huesos faciales (hueso de la órbita, hueso malar, mandíbula), huesos del tronco (costilla, pelvis, vértebras cervicales, vértebras torácicas, vértebras lumbares, sacro, cóccix), huesos de las extremidades superiores (escápula, clavícula, húmero, codo, radio, cúbito, escafoides, hamato, metacarpo, falanges), huesos de las extremidades inferiores (articulación coxofemoral, fémur, tibia, peroné, articulación tibiotarsiana, calcáneo, escafoides, metatarso) y similares, y el hueso objetivo puede ser de cualquier parte. El tipo del daño de tejido óseo no está particularmente limitado, y la promoción de la consolidación de los huesos en fracturas (fractura completa, fractura incompleta, fractura simple, fractura conminuta y similares), o hueso cortado intencionadamente en osteotomía o cirugía de extensión ósea adaptada como uno de los medios de tratamiento quirúrgico también se incluye. También se incluye fractura del cuello femoral, fractura por compresión vertebral, fractura del radio distal, fractura del extremo proximal del húmero y similares, cuya enfermedad causante es osteoporosis, en el alcance de las fracturas mencionadas anteriormente.

Lesión ósea significa diversas enfermedades óseas por sí mismas, tales como osteoma, osteomielitis, lesión traumática, enfermedad articular crónica, curación prolongada después de fractura y articulación artificial floja, o una alteración en que se forma una lesión de un hueso escindiendo quirúrgicamente una lesión en un tratamiento de dichas enfermedades. La parte de la misma no está particularmente limitada, siempre que sea de un paciente se ha visto forzado a tener una lesión ósea. Ejemplos incluyen huesos faciales (hueso de la órbita, hueso malar, mandíbula), huesos del tronco (costilla, pelvis, vértebras cervicales, vértebras torácicas, vértebras lumbares, sacro, cóccix), huesos de las extremidades superiores (escápula, clavícula, húmero, codo, radio, cúbito, escafoides, hamato, metacarpo, falanges), huesos de las extremidades inferiores (articulación coxofemoral, fémur, tibia, peroné, articulación tibiotarsiana, calcáneo, escafoides, metatarso) y similares, y el hueso objetivo puede ser de cualquier parte. El tipo de lesión ósea no está particularmente limitado, y se incluyen lesiones óseas de cualquier tipo tal como una afección en que la parte intermedia de un hueso es ampliamente defectuoso, y una afección en que un hueso queda parcialmente defectuoso a causa de fractura conminuta.

El medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización puede usarse como agente promotor de la consolidación ósea en el momento de intervenciones terapéuticas quirúrgicas. Por ejemplo, puede usarse en fijación de la columna vertebral (vértebras cervicales, vértebras torácicas y vértebras lumbares), cirugía por escoliosis desnaturalizada, sustitución de articulación, expansión del canal vertebral, osteotomía, cirugía de extensión ósea, compensación de lesión ósea craneal, craneoplastia, fijación de espaciador de ilion con soporte óseo, injerto de hueso heterólogo, injerto de hueso homólogo, injerto de hueso autólogo y tratamiento sustitutivo de injerto óseo, así como restauración ósea y/o reconstrucción ósea después de extracción quirúrgica de un tumor maligno primario o lesión por metástasis ósea, que se ejemplifican como intervenciones médicas.

El medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización se usa preferiblemente como un agente promotor de la osteogénesis. El medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización se usa más preferiblemente para tratamiento terapéutico y/o promoción de la curación de fracturas o lesiones óseas. Además, el medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización realmente se usa preferiblemente para tratamiento profiláctico y/o terapéutico de fracturas. Además, los expertos en la materia pueden entender fácilmente que un medicamento para prevenir o suprimir el progreso de una afección patológica está dentro del alcance del medicamento para tratamiento profiláctico y/o terapéutico mencionado en la presente invención, según pueda ser el caso.

El medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización puede prepararse como un medicamento que contiene un compuesto representado por la fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo y, por ejemplo, un medicamento que contiene un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que se metaboliza en un organismo vivo para producir el compuesto representado por la fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo cuando se administra como profármaco también está dentro del alcance del medicamento de la presente invención.

Aunque la vía de administración del medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización no está particularmente limitada, el esquema de reacción puede seleccionarse apropiadamente de, por ejemplo, administración oral, administración subcutánea, administración intracutánea, inyección intramuscular, administración intravenosa, administración pernasal, administración intravaginal, administración intrarrectal, administración local a una parte afectada y similares. La administración local a una parte afectada es uno de los esquemas de administración preferidos.

Como medicamento de la presente invención, puede usarse un compuesto representado por la fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, *per se*. Sin embargo, es preferible añadir uno o más tipos de vehículos farmacéuticamente aceptables al compuesto representado por la fórmula (1) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para preparar una composición farmacéutica y administrar la composición. Además, como ingrediente activo del medicamento de la presente invención, puede usarse un hidrato o solvato de un compuesto representado por la fórmula general (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Ejemplos de forma farmacéutica usada para preparar la composición farmacéutica mencionada anteriormente incluyen comprimido, polvo, gránulo, jarabe, suspensión, cápsula, inhalante, inyección y similares. Para la fabricación de ellos, se usan diversos vehículos adecuados para estas preparaciones. Por ejemplo, ejemplos del vehículo para preparaciones orales incluyen excipientes, aglutinantes, lubricantes, aceleradores fluidos y colorantes. Ejemplos del método para usar la composición como inhalantes incluyen un método de inhalación de polvo de la composición farmacéutica o una forma farmacéutica líquida preparada disolviendo o suspendiendo la composición farmacéutica en un disolvente tal cual está, un método de inhalación de una bruma de la misma usando un pulverizador denominado atomizador o nebulizador y similares. Cuando la composición se formula como una inyección, en general puede usarse agua destilada para inyección, solución salina fisiológica, solución acuosa de glucosa, aceite vegetal para inyección, propilenglicol, polietilenglicol y similares como diluyente. Pueden añadirse además desinfectantes, antisépticos, estabilizantes, agentes isotónicos, agentes calmantes y similares, según se requiera. Puede prepararse un compuesto de clatrato en que el compuesto de la presente invención se organiza en clatrato en ciclodextrina, y se usa como medicamento de la presente invención.

Cuando se administra el medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización, puede elegirse adecuadamente una forma farmacéutica apropiada y administrarse mediante una vía apropiada. Por ejemplo, puede administrarse por vía oral en forma de comprimido, polvo, gránulo, jarabe, suspensión, cápsula o similares. El medicamento también puede administrarse mediante las vías respiratorias en forma de un inhalante. Además, el medicamento puede administrarse por vía subcutánea, intracutánea, intravascular, intramuscular o intraperitoneal en forma de una inyección que incluye infusión por goteo. Además, el medicamento puede administrarse a través de la mucosa en forma de comprimido sublingual, supositorio o similares, y puede administrarse por vía percutánea en forma de gel, loción, pomada, crema, pulverización o similar. Además, el medicamento también puede administrarse como fármaco de acción prolongada, por ejemplo, una inyección de liberación mantenida, o una formulación de inclusión (por ejemplo, formulación de película y similares).

Cuando el medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización se administra de forma local, el medicamento puede administrarse directamente a un sitio local tal como una parte fracturada. En dicho caso, el compuesto puede inyectarse directamente en el sitio local junto con un disolvente no hidrófilo apropiado, o el compuesto también puede formularse en un vehículo apropiado tal como polímeros biodegradables, y usarse como medicamento moldeado en forma de varilla, forma de aguja, forma esférica, forma de película o similares, o en forma de pomada, crema o gel, o preparación de liberación mantenida mediante inclusión o inyección del medicamento en un sitio local tal como una parte fracturada. Ejemplos del polímero de alto peso molecular biodegradable incluyen, por ejemplo, poliésteres de ácido alifático (polímeros y copolímeros de uno o más tipos de ácidos α -hidroxycarboxílicos, ácidos hidroxycarboxílicos, ácido láctico/caprolactona, valerolactona y similares, y mezclas de los mismos), derivados de los mismos (poli(ácidos lácticos), poli(ácidos glicólicos), polímeros de bloque de polietilenglicol y similares), ésteres de poli-ácido α -cianoacrilico, poli-ácidos β -hidroxibutíricos, oxalatos de polialquileño, poliortoésteres, poliortocarbonatos, poliocarbonatos, poliaminoácidos, ésteres de ácido hialurónico, grupos poliestireno, poli(ácidos metacrílicos), copolímeros de ácido acrílico y ácido metacrílico, poliaminoácidos, estearato de decino, etilcelulosa, acetilcelulosa, nitrocelulosa, copolímeros de anhídrido maleico, copolímeros de acetato de etilvinilo, poli(acetatos de vinilo), poli(acrilamidas, colágeno, gelatina, fibrina, harina de hueso, cemento de hueso y similares.

El polímero de alto peso molecular biodegradable puede consistir en un tipo de sustancial, o un copolímero, un complejo o una mezcla simple de dos o más tipos de sustancias, y el esquema de polimerización de las mismas puede ser cualquiera de polimerizaciones aleatorias, de bloque y de injerto.

El medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización también puede aplicarse o adsorberse sobre un hueso artificial (implante) que consiste en un material altamente biocompatible (metal, calcio, cerámica, materiales poliméricos y similares), prótesis óseas (hidroxiapatita, fosfato de β -tricalcio y similares) o similares junto con un disolvente o vehículo apropiado, o incluirse en el mismo, y administrarse a un sitio local.

El periodo de administración del medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización no está particularmente limitado. En principio, el medicamento se administra durante un periodo donde se considera que se expresan los síntomas clínicos de una enfermedad, y es normal que continúe la administración durante varias semanas a un año. Sin embargo, también es posible ampliar el periodo de administración dependiendo de las afecciones patológicas, o seguir la administración incluso después de recuperarse de los síntomas clínicos. El medicamento también puede administrarse de forma profiláctica según la decisión de un médico incluso si no se expresa ningún síntoma clínico. La dosis del medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización no está particularmente limitada. Cuando el medicamento de la presente invención se administra directamente a un sitio local tal como una parte fracturada, puede administrarse de 0,01 a 1000 μ g del ingrediente activo a un adulto por cada administración. En cuanto a la frecuencia de administración en el caso anterior, el medicamento puede administrarse a una frecuencia de cada 6 meses a cada día, y el medicamento puede administrarse preferiblemente una vez cada 3 meses o una vez al mes, o una vez a la semana.

La dosis diaria y/o la dosis por un periodo, el periodo de administración y la frecuencia de administración pueden aumentarse o disminuirse adecuadamente dependiendo de diversas condiciones tales como la edad, el peso, el grado de salud física de un paciente, el tipo y gravedad de una enfermedad a tratar, la vía de administración y la forma

farmacéutica (propiedad de liberación mantenida del vehículo para el ingrediente activo y similares).

Cuando el medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización se usa para tratamiento terapéutico y/o promoción de la curación de fracturas o lesiones óseas, o tratamiento profiláctico y/o terapéutico de fracturas, el medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización puede usarse junto con uno o más tipos de medicamentos seleccionados del grupo que consiste en agentes activadores óseos, agentes promotores de osteogénesis, agentes supresores de la reabsorción ósea, agentes que mejora el metabolismo óseo, preparaciones de hormonas sexuales y preparaciones de calcio, simultáneamente o en diferentes momentos. Además, el medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización también puede prepararse como un denominado fármaco combinado junto con los medicamentos ejemplificados anteriormente, y después administrarse. El fármaco combinado mencionado anteriormente puede estar en una forma farmacéutica como una mezcla completa de los ingredientes activos similar a las composiciones típicas de este tipo, así como una forma farmacéutica, kit o envase que incluye una combinación no mezclada de ingredientes administrados por separado desde dos o más recipientes, que contienen cada uno cada ingrediente activo.

Ejemplos de los agentes activadores óseos útiles en combinación con el medicamento de la presente invención de acuerdo con una determinada realización incluyen, por ejemplo, vitamina D o derivados de vitamina D tales como calcitriol, alfacalcidol, OCT, 2MD y ED-71, ejemplos de los agentes promotores de la osteogénesis incluyen, por ejemplo, menatetrenona, teriparatida, somatropina, factor de crecimiento insulínico-I (IGF-I), proteínas morfogenéticas óseas (BMP), factor de crecimiento de fibroblastos básicos (bFGF), factor de crecimiento transformante-B (TGF- β), agonista de EP₂, agonista de LRP5, anticuerpo anti-SOST, inhibidor de GSK-3, inhibidor de Dkk1, calcilíticos, secretagogos de la hormona del crecimiento y similares, ejemplos de los agentes supresores de la reabsorción ósea incluyen, por ejemplo, elcatonina, calcitonina de salmón, etidronato, pamidronato, clodronato, alendronato, incadronato, risedronato, minodronato, ibandronato, inhibidores de catepsina K, osteoprotegerina, anticuerpos anti-RANKL y similares, ejemplos de los agentes que mejoran el metabolismo óseo incluyen, por ejemplo, fluoruro, ranelato de estroncio, ipriflavona y similares, ejemplos de las preparaciones de hormonas sexuales incluyen, por ejemplo, estriol, estradiol, estrógeno conjugado, progesterona, medroxiprogesterona, testosterona, metiltestosterona, mestanolona, estanozolol, metenolona, nandrolona, moduladores selectivos del receptor de estrógenos (SERM: raloxifeno, lasofoxifeno, bazedoxifeno, ospemifeno, arzoxifeno, CHF4227, PSK-3471 y similares), moduladores selectivos del receptor de andrógenos (SARM) y similares, y ejemplos de las preparaciones de calcio incluyen, por ejemplo, carbonato de calcio, lactato de calcio, gluconato de calcio, acetato de calcio, cloruro de calcio, citrato de calcio, hidrogenofosfato de calcio, L-aspartato de calcio y similares. También puede usarse junto con diversos tipos de fármacos para enfermedades óseas a crear en el futuro. Estos fármacos combinados no están limitados siempre que las combinaciones sean clínicamente coherentes.

Los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización incluyen compuestos que muestran seguridad superior (con respecto a diversas toxicidades y seguridad farmacológica), rendimiento farmacocinético y similares, y la utilidad de los mismos como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse por, por ejemplo, los métodos mostrados a continuación.

Ejemplos de ensayos con respecto a la seguridad incluyen, por ejemplo, los enumerados a continuación. Sin embargo, no se limitan a estos ejemplos. Ejemplos incluyen ensayos citotóxicos (ensayos usando células HL60, hepatocitos y similares), ensayos de genotoxicidad (ensayo Ames, ensayo de TK de linfoma de ratón, ensayos de aberraciones cromosómicas, ensayo de micronúcleo y similares), ensayos de sensibilización cutánea (método de Buehler, método de GPMT, método de APT, ensayo de LLNA y similares), ensayos de fotosensibilización cutánea (método de adyuvante y tira y similares), ensayos de irritación ocular (instilación simple, instilación continuada a largo plazo, instilación repetitiva y similares), ensayos de seguridad farmacológica para el sistema cardiovascular (método de telemetría, método de APD, ensayo de inhibición de hERG y similares), ensayos de seguridad farmacológica para el sistema nervioso central (método de FOB, versión modificada del método de Irwin y similares), ensayos de seguridad farmacológica para el sistema respiratorio (método de medición utilizando un aparato que mide la función respiratoria, método de medición utilizando un analizador de gases en sangre y similares), ensayos de toxicidad general, ensayos de toxicidad en la reproducción y el desarrollo y similares.

Ejemplos de ensayo con respecto al funcionamiento farmacocinético incluyen, por ejemplo, los enumerados a continuación. Sin embargo, no se limitan a estos ejemplos. Ejemplos incluyen ensayos de inhibición o inducción enzimática de citocromo P450, ensayos de permeabilidad celular (ensayos usando células CaCO-2, células MDCK y similares), ensayo de ATPasa transportadora de fármacos, ensayos de absorción oral, ensayos de medición de transición de la concentración sanguínea, ensayos de metabolismo (ensayo de estabilidad, ensayos de especies moleculares de metabolitos, ensayo de reactividad y similares), ensayos de solubilidad (ensayo de solubilidad basado en el método de turbidez y similares) y similares.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo citotóxico. Ejemplos del ensayo citotóxico incluyen métodos que utilizan diversas células cultivadas, por ejemplo, células HL-60, que son células de preleucemia humana, células cultivadas aisladas primarias de hepatocitos, una fracción de neutrófilos preparada a partir de sangre periférica humana y similares. Aunque el ensayo puede realizarse por el método descrito a

continuación, el método no se limita únicamente a la siguiente descripción. Se preparan células como una suspensión de 10^5 a 10^7 células/ml, y la suspensión se añade a microtubos o microplacas en un volumen de 0,01 a 1 ml. A la suspensión, se le añade una solución que disuelve un compuesto en un volumen de 1/100 a 1 vez el volumen de la suspensión celular, y las células se cultivaron en un medio de cultivo celular que tiene una concentración final del compuesto de 0,001 a 1000 μ M durante 30 minutos a varios días a 37 °C en CO₂ al 5 %. Después de terminar el cultivo, se evalúa la tasa de supervivencia de las células usando el método de MTT, el método de WST-1 (Ishiyama, M., *et al.*, In Vitro Toxicology, 8, pág. 187, 1995) o similares. Midiendo la citotoxicidad de un compuesto en las células, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de genotoxicidad. Ejemplos del ensayo de genotoxicidad incluyen, el ensayo Ames, ensayo de TK de linfoma de ratón, ensayo de aberraciones cromosómicas, ensayos de micronúcleo y similares. El ensayo Ames es un método de determinación de mutación inversa cultivando bacterias *Salmonella* o *Escherichia* de especies indicadas en una placa de cultivo o similares a las que se ha añadido un compuesto (remítase a IYAKUSHIN (Notificación del director de la División de Evaluación y Licencias, Oficina de Seguridad Farmacéutica y Médica, Ministerio de Salud, Trabajo y Bienestar, Japón), n.º 1604, 1999, "Guideline for Genotoxicity Test", II-1. Ensayo de genotoxicidad y similares). El ensayo de TK de linfoma de ratón es un ensayo de detección de la capacidad de mutación genética dirigido al gen de la timidina cinasa de la célula L5178Y de linfoma de ratón (remítase a IYAKUSHIN n.º 1604, 1999, "Guideline for Genotoxicity Test", II-3. Ensayo de TK de linfoma de ratón; Clive, D. *et al.*, Mutat. Res., 31, pág. 17-29, 1975; Cole, J., *et al.*, Mutat. Res., 111, pág. 371-386, 1983 y similares). El ensayo de aberraciones cromosómicas es un método para determinar la actividad de provocar aberraciones cromosómicas cultivando células cultivadas de mamífero en presencia de un compuesto, después, tras la fijación de las células, tiñendo y observando los cromosomas de las células (remítase a IYAKUSHIN n.º 1604, 1999, "Guideline for Genotoxicity Test", II-2. Ensayo de aberraciones cromosómicas utilizando células cultivadas de mamífero y similares). El ensayo de micronúcleo es un método de evaluación de la capacidad de formar micronúcleos provocada por aberraciones cromosómicas, y un método de uso de un roedor (ensayo *in vivo*) (IYAKUSHIN n.º 1604, 1999, "Guideline for Genotoxicity Test", II-4. Ensayo de micronúcleo usando roedor; Hayashi M. *et al.*, Mutat. Res., 312, pág. 293-304, 1994; Hayashi, M. *et al.*, Environ. Mol. Mutagen., 35, pág. 234-252, 2000), un método de uso de células cultivadas (ensayo *in vitro*) (Fenech M., *et al.*, Mutat. Res., 147, pág. 29-36, 1985; Miller, B., *et al.*, Mutat. Res., 392, pág. 45-59, 1997) y similares están disponibles. Dilucidando la genotoxicidad de un compuesto usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de sensibilización cutánea. Los ensayos de sensibilización cutánea incluyen, como los ensayos de sensibilización cutánea usando cobaya, el método de Buehler (Buehler, E.V., Arch. Dermatol., 91, pág. 171-177, 1965), método de GPMT (método de maximización, Magnusson B., *et al.*, J. Invest. Dermatol., 52, pág. 268-276, 1969), método de APT (método de adyuvante y parche (Sato, Y. *et al.*, Contact Dermatitis, 7, pág. 225-237, 1981)) y similares. Además, como ensayo de sensibilización cutánea usando ratón, el método de LLNA (ensayo de ganglio linfático local) (OECD Guideline for the testing of chemicals 429, Skin sensitization 2002; Takeyoshi, M. *et al.*, Toxicol. Lett., 119 (3), pág. 203-8, 2001; Takeyoshi, M. *et al.*, J. Appl. Toxicol., 25 (2), pág. 129-34, 2005) y similares están disponibles. Dilucidando la propiedad de sensibilización cutánea de un compuesto usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de fotosensibilización cutánea. Ejemplos del ensayo de fotosensibilización cutánea incluyen un ensayo de fotosensibilización cutánea usando cobaya (remítase a "Drug Nonclinical Test Guideline Commentary 2002", Yakuji Nippo, publicado en 2002, 1-9: Skin Photosensitization Test y similares) y similares, y ejemplos del método incluyen el método de adyuvante y tira (Ichikawa, H. *et al.*, J. Invest. Dermatol., 76, pág. 498-501, 1981), método de Harber (Harber, L.C., Arch. Dermatol., 96, pág. 646-653, 1967), método de Horio (Horio, T., J. Invest. Dermatol., 67, pág. 591-593, 1976), método de Jordan (Jordan, W.P., Contact Dermatitis, 8, pág. 109-116, 1982), método de Kochever (Kochever, I.E. *et al.*, J. Invest. Dermatol., 73, pág. 144-146, 1979), método de Maurer (Maurer, T. *et al.*, Br. J. Dermatol., 63, pág. 593-605, 1980), método de Morikawa (Morikawa, F. *et al.*, "Sunlight and Man", Tokyo Univ. Press, Tokio, pág. 529-557, 1974), método de Vinson (Vinson, L.J., J. Soc. Cosm. Chem., 17, pág. 123-130, 1966) y similares. Dilucidando la propiedad de fotosensibilización cutánea de un compuesto usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de irritación ocular. Ejemplos del ensayo de irritación ocular incluyen el método de ensayo de instilación simple usando ojos de conejo, ojos de mono y similares (instilación una vez), método de ensayo de instilación continua a corto plazo (instilación múltiples veces en un corto periodo de tiempo con intervalos iguales), método de ensayo de instilación repetitiva (instilación intermitente repetitiva durante varios días a 10 días) y similares, y un método de evaluación de síntomas de irritación ocular durante un determinado periodo de tiempo después de instilación de acuerdo con las puntuaciones de Draize mejoradas

(Fukui, N. *et al.*, Gendai no Rinsho, 4 (7), pág. 277-289, 1970) y similares están disponibles. Dilucidando la irritación ocular de un compuesto usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de seguridad farmacológica para el sistema cardiovascular. Ejemplos del ensayo de seguridad farmacológica para el sistema cardiovascular incluyen el método de telemetría (método para medir la influencia de la administración de un compuesto sin anestesia sobre el electrocardiograma, ritmo cardíaco, presión arterial, torrente sanguíneo y similares (Electrocardiogram, Echocardiography, Blood Pressure and Pathological Tests of Animals for Fundamental and Clinical Medicine, editado por Sugano S., Tsubone H., Nakada Y., publicado en 2003, Maruzen), método de APD (método para medir el tempo de retención del potencial de acción de células del músculo cardíaco (Muraki, K. *et al.*, AM. J. Physiol., 269, H524-532, 1995; Ducic, I. *et al.*, J. Cardiovasc. Pharmacol., 30 (1), pág. 42-54, 1997)), método de evaluación de inhibición de hERG (método de pinzamiento zonal (Chachin, M. *et al.*, Nippon Yakurigaku Zasshi, 119, pág. 345-351, 2002), método de ensayo de unión (Gilbert, J.D. *et al.*, J. Pharm. Tox. Methods, 50, pág. 187-199, 2004), método de ensayo de reflejo Rb⁺ (Cheng, C.S. *et al.*, Drug Develop. Indust. Pharm., 28, pág. 177-191, 2002), método de ensayo de potencial de membrana (Dorn, A. *et al.*, J. Biomol. Screen., 10, pág. 339-347, 2005) y similares. Dilucidando la influencia sobre el sistema cardiovascular de un compuesto usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de seguridad farmacológica para el sistema nervioso central. Ejemplos del ensayo de seguridad farmacológica para el sistema nervioso central incluyen el método de FOB (Functional Observational Battery, Mattson, J.L. *et al.*, J. American College of Technology, 15 (3), pág. 239-254, 1996)), versión modificada del método de Irwin (método para evaluar la observación de síntomas generales y el comportamiento (Irwin, S., Comprehensive Observational Assessment (Berl.) 13, pág. 222-257, 1968)) y similares. Dilucidando la acción sobre el sistema nervioso central de un compuesto usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de seguridad farmacológica para el sistema respiratorio. Ejemplos del ensayo de seguridad farmacológica para el sistema respiratorio incluyen el método de medición usando un aparato que mide la función respiratoria (método de medición del ritmo respiratorio, volumen de ventilación simple, ventilación mínima y similares, Drorbaugh, J.E. *et al.*, Pediatrics, 16, pág. 81-87, 1955; Epstein, M.A. *et al.*, Respir. Physiol., 32, pág. 105-120, 1978), método de medición usando un analizador de gases en sangre (método de medición de gases en sangre, saturación de oxígeno en hemoglobina y similares, Matsuo, S., Medicina, 40, pág. 188-, 2003) y similares. Dilucidando la acción sobre el sistema respiratorio de un compuesto usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de toxicidad general. El ensayo de toxicidad general es un método de administración oral o intravenosa de un compuesto disuelto o suspendido en un disolvente apropiado una vez o repetitivamente (durante varios días) a un roedor tal como una rata y un ratón o no roedor tal como un mono y un perro, y evaluación de la observación de las condiciones generales, cambios clínicoquímicos, cambios histopatológicos y similares del animal al que se le ha administrado. Dilucidando la toxicidad general de un compuesto usando estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de toxicidad en la reproducción y el desarrollo. El ensayo de toxicidad en la reproducción y el desarrollo es un ensayo para examinar la inducción del efecto dañino provocado por un compuesto sobre los procesos reproductores y del desarrollo usando un roedor tal como una rata y un ratón, o no roedor tal como un mono y un perro (remítase a "Drug Nonclinical Test Guideline Commentary 2002", Yakuji Nippo, publicado en 2002, 1-6: Ensayo de toxicidad en la reproducción y el desarrollo y similares). Ejemplos del ensayo de toxicidad en la reproducción y el desarrollo incluyen ensayos que se refieren a la fertilidad y la embriogénesis inicial hasta la nidación, ensayos que se refieren al desarrollo y las funciones maternas antes y después del nacimiento, ensayos que se refieren a la embriogénesis y el desarrollo fetal (remítase a IYAKUSHIN n.º 1834, 2000, apéndice, "Guideline for Drug Toxicity Test", [3] Ensayo de toxicidad en la reproducción y el desarrollo y similares) y similares. Dilucidando la toxicidad en la reproducción y el desarrollo de un compuesto usando estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo del medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de inhibición o inducción enzimática de citocromo P450 (Gomez-Lechon, M.J. *et al.*, Curr. Drug Metab., 5 (5), pág. 443-462, 2004). Ejemplos del ensayo de inhibición o inducción enzimática de citocromo P450 incluyen, por ejemplo, el método de determinación *in vitro* de si un compuesto inhibe la actividad de una enzima de citocromo P450 usando una enzima de citocromo P450 de cada

especie molecular purificada de células o preparada usando un microsoma de sistema de expresión genérica de P450 recombinante o humano (Miller, V.P. *et al.*, Ann. N.Y. Acad. Sci., 919, pág. 26-32, 2000), método de medición de cambios de la expresión de la enzima de citocromo P450 de cada especie molecular o actividad enzimática usando microsomas hepáticos humanos o suspensión de células alteradas (Hengstler, J.G. *et al.*, Drug Metab. Rev., 32, pág. 81-118, 2000), método de extracción de ARN de hepatocitos humanos expuestos a un compuesto, y comparación de la cantidad de expresión de ARNm con la de un control para investigar la capacidad de inducción enzimática del compuesto (Kato, M. *et al.*, Drug Metab. Pharmacokinet., 20 (4), pág. 236-243, 2005) y similares. Dilucidando la acción de un compuesto sobre la inhibición o inducción de la enzima de citocromo P450 usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de permeabilidad celular. Ejemplos del ensayo de permeabilidad celular incluyen, por ejemplo, el método de medición de la permeabilidad de la membrana celular de un compuesto en un sistema de cultivo celular *in vitro* usando células CaCO-2 (Delie, F. *et al.*, Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst., 14, pág. 221-286, 1997; Yamashita, S. *et al.*, Eur. J. Pharm. Sci., 10, pág. 195-204, 2000; Ingels, F.M. *et al.*, J. Pharm. Sci., 92, pág. 1545-1558, 2003), método de medición de la permeabilidad de la membrana celular de un compuesto en un sistema de cultivo celular *in vitro* usando células MDCK (Irvine, J.D. *et al.*, J. Pharm. Sci., 88, pág. 28-33, 1999) y similares. Dilucidando la permeabilidad celular de un compuesto usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de ATPasa transportadora de fármaco para el transportador del casete de unión a ATP (ABC). Ejemplos del ensayo de ATPasa transportadora de fármaco incluyen el método de examinar si un compuesto es una sustancia de P-glucoproteína (P-gp) usando un sistema de expresión de baculovirus de P-gp (Germann, U.A., Methods Enzymol., 292, pág. 427-41, 1998) y similares. Además, la utilidad también puede verificarse realizando, por ejemplo, un ensayo de transporte usando ovocitos recogidos de rana de uñas africana (*Xenopus laevis*) como transportador portador de solutos (SLC). Los ensayos de transporte incluyen un método de examinar si un compuesto de ensayo es un sustrato de OATP2 usando ovocitos que expresan OATP2 (Tamai I. *et al.*, Pharm. Res., septiembre de 2001; 18 (9), 1262-1269) y similares. Dilucidando la acción de un compuesto sobre el transportador ABC o el transportador SLC usando estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de absorción oral. Ejemplos del ensayo de absorción oral incluyen un método de administración oral de un compuesto de una determinada cantidad disuelta o suspendida en un disolvente apropiado a un roedor, mono, perro o similares, y medición del nivel en sangre del compuesto después de la administración oral a lo largo del tiempo para evaluar la transición sanguínea del compuesto mediante administración oral usando el método de LC-MS/MS ("Newest Mass Spectrometry for Life Science", Kodansha Scientific, 2002, editado por Harada K. *et al.* y similares) y similares. Dilucidando la absorción oral de un compuesto usando estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de medición de la transición de la concentración sanguínea. Ejemplos del ensayo de medición de la transición de la concentración sanguínea incluyen un método de administración por vía oral o parenteral (por ejemplo, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, transdérmica, por instilación, transnasal y similares) de un compuesto a un roedor, mono, perro o similares, y medición del cambio del nivel sanguíneo del compuesto a lo largo del tiempo después de la administración usando el método de LC-MS/MS ("Newest Mass Spectrometry for Life Science", Kodansha Scientific, 2002, editado por Harada K. *et al.* y similares) y similares. Dilucidando la transición de la concentración sanguínea de un compuesto usando estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento. En el caso de, en particular, administración local entre las administraciones parenterales, para evitar las reacciones secundarias, pueden preferirse los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización que muestran baja concentración sanguínea después de la administración de los mismos.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo metabólico. Ejemplos del ensayo metabólico incluyen el método de ensayo de estabilidad en la sangre (método de predicción de la eliminación metabólica *in vivo* basándose en la tasa metabólica de un compuesto en microsomas hepáticos de seres humanos u otras especies animales (remítase a Shou, W.Z. *et al.*, J. Mass Spectrom., 40 (10) pág. 1347-1356, 2005; Li, C. *et al.*, Drug Metab. Dispos., 34 (6), 901-905, 2006 y similares), método de ensayo de especies moleculares de los metabolitos, método de ensayo de metabolitos reactivos y similares. Dilucidando el perfil metabólico de un compuesto usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente

activo de un medicamento puede confirmarse realizando, por ejemplo, un ensayo de solubilidad. En cuanto al método para evaluar la solubilidad en agua, se ejemplifican los métodos de confirmación de la solubilidad en condiciones ácidas, condiciones neutras o condiciones básicas, y también se incluye la confirmación del cambio de la solubilidad dependiendo de la presencia o ausencia de ácidos biliares. Ejemplos del ensayo de solubilidad incluyen el ensayo de solubilidad basado en el método de turbidez (Lipinski, C.A. *et al.*, Adv. Drug Deliv. Rev., 23, pág. 3-26, 1997; Bevan, C.D. *et al.*, Anal. Chem., 72, pág. 1781-1787, 2000) y similares. Dilucidando la solubilidad de un compuesto usando estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

La utilidad de los compuestos de la presente invención de acuerdo con una determinada realización como ingrediente activo de un medicamento puede confirmarse examinando, por ejemplo, lesiones gastrointestinales superiores, disfunción renal y similares. Como ensayo farmacológico para la parte superior del tubo gastrointestinal, pueden investigarse acciones sobre la mucosa gástrica usando un modelo de lesión en la mucosa gástrica de rata sometida a ayunas. Ejemplos del ensayo farmacológico para las funciones renales incluyen el método de medición del flujo sanguíneo renal y la tasa de filtración glomerular [Physiology, 18.^a edición, Bunkodo, 1986, capítulo 17] y similares. Dilucidando las acciones de un compuesto sobre la parte superior del tubo gastrointestinal usando uno o más de estos métodos, puede confirmarse la utilidad del compuesto como ingrediente activo de un medicamento.

Ejemplos

En lo sucesivo, la presente invención se explicará específicamente más con referencia a los ejemplos, ejemplos de referencia, ejemplos de preparación y ejemplos de ensayo (estos pueden denominarse colectivamente en adelante "ejemplos y similares").

En los ejemplos y similares, para cromatografía de capa fina (TLC), se usó gel de sílice prerrecubierto 60 F254 (producido por Merck, número de producto 5715-1M)). Después de desarrollo con cloroformo:metanol (1:0 a 1:1), acetonitrilo:ácido acético:agua (200:1:1 a 100:4:4) o acetato de etilo:hexano (1:0 a 0:1), se realizó confirmación por irradiación con UV (254 nm o 365 nm), o coloración con solución de yodo, permanganato de potasio acuoso, ácido fosfomolibdico (solución en etanol) o similares.

Para secar el disolvente orgánico, se usó sulfato de magnesio anhidro o sulfato de sodio anhidro.

Para cromatografía en columna, se usó Multi Prep YFLC producida por Yamazen Corporation, o aparato de purificación en paralelo de 2 canales "Purif- α 2(50F)" producido por MORITEX Corporation. En el caso de Multi Prep YFLC, se usó cualquiera de Ultra Pack Si-40A, 40B y 40D producidas por Yamazen Corporation como columna, y en el caso de Purif- α 2(50F), se usó la serie PurifPack-Si producida por MORITEX Corporation como columna.

Para cromatografía en columna ultrarrápida, se usó gel de sílice 60N (forma esférica, neutro, de 40 a 100 μ m, producido por Kanto Chemicals).

Se realizó cromatografía de capa fina preparativa (en adelante también denominada "PTLC") usando una o varias placas de gel de sílice 60 F254 de placa PLC (20 $\times$ 20 cm, grosor de capa de 2 mm, que incluyen zona de concentración (4 cm), producidas por Merck, número de producto 13793-1M) que se usaron dependiendo de la cantidad de muestra.

Para la purificación por HPLC, se usó un aparato de preparación y purificación por cromatografía de líquidos producido por Waters Japan, se usó Develosil C30-UG-5 (producido por Nomura Kagaku) o similares como columna, y se usó disolvente de agua-acetonitrilo que contenía un 0,1 % de ácido acético como eluyente.

Cuando se realizó purificación por HPLC, el compuesto objetivo se obtuvo eliminando el disolvente por liofilización, salvo que se indique particularmente. Para la medición de los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN), se usó Gemini-300 (FT-RMN, Varian Co., Ltd.) o AL-300 (FT-RMN, producido por JEOL Co., Ltd.). Como disolvente, se usó cloroformo deuterado salvo que se indique específicamente, se midieron los desplazamientos químicos usando tetrametilsilano (TMS) como patrón interno, y se indicaron con δ (ppm), y la constante de unión se indicó con J (Hz).

Para LCMS, se midió el espectro de masas por cromatografía de líquidos-espectrometría de masas (LC-MS). Salvo que se indique especialmente, se usó un espectrómetro de masas de cuadrupolo simple, sistema UPLC/SQD (producido por Waters) como espectrómetro de masas, y la medición se realizó mediante el método de ionización por electronebulización (ESI). Como aparato de cromatografía de líquidos, se usó sistema de LC Acquity Ultra Performance producido por Waters. Como columna de separación, se usó ACQUITY UPLC BEH C18 (1 $\times$ 50 mm, 1,7 μ m, producida por Waters).

Sin embargo, para las condiciones de LC de FLC-1 mencionadas a continuación, se usó un espectrómetro de cuadrupolo simple, Platform-LC (producido por Waters) como espectrómetro de masas, y la medición se realizó mediante el método de ionización por electronebulización (ESI). Como aparato de cromatografía de líquidos, se usó el sistema 306 PUMP producido por GILSON. Como columna de separación, se usó Develosil C30-UG-5 (50 $\times$ 4,6 mm, producido por Nomura Kagaku).

Cuando las condiciones de LC se mencionan especialmente en los ejemplos y ejemplos de referencia, significa que la medición se realizó con las siguientes condiciones de disolvente. El símbolo m/z significa datos de espectro de masas (MH^+ , $M^+NH_4^+$ o MH^- también se indica).

- 5 (LC-1) La medición se realizó en condiciones en que la elución se realizó a un caudal de 0,6 ml/minuto usando un gradiente lineal de un 5 a un 90 % (v/v) de solución B [acetonitrilo que contiene un 0,1 % (v/v) de ácido acético] en solución A [agua que contiene un 0,1 % (v/v) de ácido acético] de 0 minutos a 2,0 minutos, y después un gradiente lineal de un 90 a un 98 % de solución B en solución A de 2,0 a 2,5 minutos.
- 10 (LC-6) La medición se realizó en condiciones en que la elución se realizó a un caudal de 0,6 ml/minuto usando un gradiente lineal de un 70 a un 90 % (v/v) de solución B [acetonitrilo que contiene un 0,1 % (v/v) de ácido acético] en solución A [agua que contiene un 0,1 % (v/v) de ácido acético] de 0 a 2,0 minutos, y después un gradiente lineal de un 90 a un 98 % de solución B en solución A de 2,0 a 2,5 minutos.
- 15 (NLC-1) La medición se realizó en condiciones en que la elución se realizó a un caudal de 0,6 ml/minuto usando un gradiente lineal de un 5 a un 90 % (v/v) de solución B [acetonitrilo] en solución A [acetato amónico acuoso 10 mM] de 0 minutos a 2,0 minutos, y después un gradiente lineal de un 90 a un 98 % de solución B en solución A de 2,0 a 2,5 minutos.
- 20 (NLC-6) La medición se realizó en condiciones en que la elución se realizó a un caudal de 0,6 ml/minuto usando un gradiente lineal de un 70 a un 90 % (v/v) de solución B [acetonitrilo] en solución A [acetato amónico acuoso 10 mM] de 0 minutos a 2,0 minutos, y después un gradiente lineal de un 90 a un 98 % de solución B en solución A de 2,0 a 2,5 minutos.
- 25 (FLC-1) La medición se realizó en condiciones en que la elución se realizó a un caudal de 2 ml/minuto usando un gradiente lineal de un 5 a un 98 % (v/v) de solución B [acetonitrilo que contiene un 0,1 % (v/v) de ácido acético] en solución A [agua que contiene un 0,1 % (v/v) de ácido acético] de 0 a 5 minutos, un 98 % (v/v) de solución B en solución A de 5 a 6 minutos, un gradiente lineal de un 98 a un 5 % (v/v) de solución B en solución A de 6 a 6,01 minutos, y un 5 % (v/v) de solución B en solución A de 6,01 a 7,5 minutos.
- 30 Para LC quiral, el tiempo de retención se midió por cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC). Cuando las condiciones de LC quiral se mencionan especialmente en los ejemplos y ejemplos de referencia, significa que la medición se realizó con las siguientes condiciones de medición.
- 35 (LC-1 quiral) La medición se realizó usando CHIRALCEL OD-H (4,6 × 250 mm, 5 μ m, producida por Daicel Corporation) como columna de separación en condiciones en que la elución se realizó a un caudal de 0,6 ml/minuto como elución isocrática usando un 5 % (v/v) de solución B (etanol) en solución A (n-hexano).
- 40 (LC-2 quiral) La medición se realizó usando CHIRALCEL OJ-H (4,6 × 250 mm, 5 μ m, producida por Daicel Corporation) como columna de separación en condiciones en que la elución se realizó a un caudal de 1,0 ml/minuto usando etanol que contiene un 0,1 % (v/v) de ácido trifluoroacético.

45 Los fabricantes de los reactivos usados a veces pueden indicarse con las siguientes abreviaturas: Tokyo Chemical Industry Co., Ltd., TCI; Sigma-Aldrich Co. LLC., ALDRICH; Kanto Kagaku Co., Inc., KANTO; Wako Pure Chemical Industries Ltd., WAKO; Maybridge Co., Ltd., MAYBRIDGE; APOLLO Co., Ltd., APOLLO; Combi-Blocks Inc., COMBI-BLOCKS; Takasago International Corporation, TAKASAGO; Johnson Matthey Co., Ltd., JOHNSON; Nippon Chemical Industrial Co., Ltd., Nippon Chemical; y Japan EnviroChemicals, Limited, Japan EnviroChemicals.

50 Las abreviaturas o símbolos usados en las descripciones tienen los siguientes significados: n, normal; i, iso; s, secundario; t, terciario; c, ciclo; Me, metilo; Et, etilo; Pr, propilo; Bu, butilo; Pen, pentilo; Hex, hexilo; Hep, heptilo; Ph, fenilo; Bn, bencilo; Py, piridilo; Ac, acetilo; CHO, formilo; COOH, carboxilo; NO₂, nitro; DMA, dimetilamino; NH₂, amino; CF₃, trifluorometilo; F, fluoro; Cl, cloro; Br, bromo; OMe, metoxi; OH, hidroxilo; TFA, trifluoroacetilo; SO₂, sulfonilo; CO, carbonilo; THF, tetrahidrofurano; DMF, N,N-dimetilformamida; DMSO, dimetilsulfóxido; y DME, dimetoxietano.

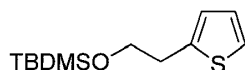
55 Los números indicados antes de los sustituyentes representan las posiciones de sustitución. Los números indicados después de las abreviaturas de anillos aromáticos con guiones indican las posiciones de sustitución en los anillos aromáticos. El símbolo (S) mencionado en los nombres de compuestos y fórmulas estructurales significa que el carbono asimétrico correspondiente está en la configuración S, y (R) significa que el carbono asimétrico correspondiente está en la configuración R. Además, cuando no se indica (R) o (S) para un compuesto que tiene un carbono asimétrico, significa que el compuesto consistía en una mezcla de isómero (R) e isómero (S) a una relación arbitraria. Dicho compuesto puede ser una mezcla racémica de isómero (R) e isómero (S).

60

65 Cuando se requiere desprotección en el proceso de síntesis de los compuestos de ejemplo, se realizó de acuerdo con métodos conocidos tales como los métodos descritos en Protective Groups in Organic Synthesis, publicado por John Wiley and Sons (2007).

Ejemplo de referencia A-2: *tert*-Butildimetil(2-(tiofen-2-il)etoxi)silano (intermedio A-2)

[Fórmula 76]

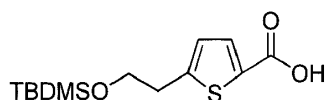


A una solución de 2-(tiofen-2-il)etanol (4 g, TCI) en N,N-dimetilformamida (312 ml), se le añadió sucesivamente imidazol (4,3 g), *tert*-butildimetilclorosilano (7,05 g) y N,N-dimetil-4-aminopiridina (763 mg) en refrigeración por hielo, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,75 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió acetato de etilo, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con 1 mol/l de ácido clorhídrico, salmuera saturada, hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y después se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (7,32 g).

(Intermedio A-2: Rf (TLC) = 0,70 (hexano:acetato de etilo = 4:1))

Ejemplo de referencia A-3: Ácido 5-(2-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)etil)tiofeno-2-carboxílico (intermedio A-3)

[Fórmula 77]

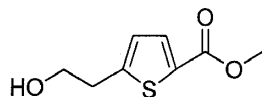


Una solución del intermedio A-2 (7,15 g) en tetrahidrofurano (111 ml) se enfrió hasta -78 °C en una atmósfera de nitrógeno. A la mezcla de reacción, se le añadió gota a gota n-butil-litio (solución de 2,6 mol/l en hexano, 14,3 ml, KANTO), y la mezcla se agitó durante 0,75 horas tal cual estaba. La mezcla de reacción se calentó hasta -5 °C, después se añadió hielo seco (125 g) en porciones, y después de completarse la adición, la mezcla de reacción se agitó más durante 0,75 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió cloruro de amonio acuoso saturado, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. Se añadió acetato de etilo a la mezcla de reacción para extracción, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con cloruro de amonio acuoso saturado y salmuera saturada, y después se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (9,03 g).

(Intermedio A-3: LCMS m/z 287,0 (MH⁺), tiempo de retención 1,35 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo de referencia A-4: 5-(2-Hidroxietil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio A-4)

[Fórmula 78]

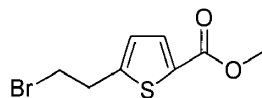


Una solución del intermedio A-3 (9,03 g) en metanol (64 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió ácido sulfúrico concentrado (3,2 ml) en porciones a la solución, y la mezcla se agitó tal cual estaba durante 5 minutos. La mezcla de reacción se calentó hasta 70 °C, se agitó durante 24 horas, y después se enfrió hasta 0 °C, y se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado en porciones hasta que la mezcla de reacción se volvió neutra. Se añadió acetato de etilo a la mezcla de reacción para extracción, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y después se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (4,61 g).

(Intermedio A-4: Rf (TLC) = 0,33 (hexano:acetato de etilo = 1:1))

Ejemplo de referencia A-5: 5-(2-Bromoetil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio A-5)

[Fórmula 79]

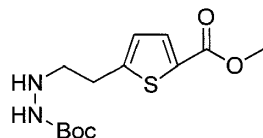


A una solución del intermedio A-4 (4,61 g) en diclorometano (200 ml), se le añadió trifenilfosfina (9,8 g), y después la mezcla se enfrió hasta 0 °C. A la mezcla de reacción, se le añadió tetrabromuro de carbono (12,3 g) en porciones, y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente, y después se agitó durante 13,5 horas. La mezcla de reacción se descomprimió para evaporar el disolvente, y después el residuo se purificó por cromatografía en columna

(hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (5,4 g). (Intermedio A-5: Rf (TLC) = 0,70 (hexano:acetato de etilo = 1:1))

Ejemplo de referencia A-6: 2-(2-(5-(Metoxycarbonil)tiofen-2-il)etil)hidrazinacarboxilato de *tert*-butilo (intermedio A-6)

[Fórmula 80]



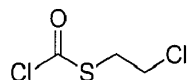
A una solución del intermedio A-5 (6,2 g) en acetonitrilo (125 ml), se le añadió sucesivamente carbazato de *tert*-butilo (16,5 g, TCI), hidrogenocarbonato de sodio (10,5 g) y yoduro de sodio (700 mg), y la mezcla se agitó a 90 °C durante 13 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, se añadió acetato de etilo (155 ml) a la mezcla de reacción, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con 1 mol/l de ácido clorhídrico, hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y después se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (5,1 g).

(Intermedio A-6: LCMS m/z 301,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,42 minutos, condiciones de LC NLC-1)

¹H-RMN (CDCl₃): δ (ppm) 7,64 (1H, d, J = 4,0 Hz), 6,87 (1H, d, J = 4,0 Hz), 3,86 (3H, s), 3,18 (2H, t, J = 7,2 Hz), 3,02 (2H, t, J = 7,2 Hz), 2,60-1,90 (2H, a), 1,64 (9H, s)

Ejemplo de referencia B-3: Tioato de S-(2-cloroetil)carbocloruro (intermedio B-3)

[Fórmula 81]

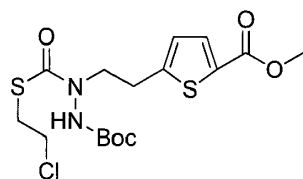


Una solución mixta de sulfuro de etileno (320 g, TCI) y piridina (4,3 ml) se enfrió en un baño de hielo en una atmósfera de argón, se añadió trifosgeno (474 g, TCI) en porciones a la mezcla de reacción, y la mezcla se agitó tal cual estaba durante 4 horas. La mezcla de reacción se destiló a presión reducida (de 0,7 a 0,8 kPa, de 50 a 52 °C) para purificación para obtener el compuesto del título (281 g).

¹H-RMN (CDCl₃): δ (ppm) 3,72 (2H, t, J = 7,0 Hz), 3,30 (2H, t, J = 7,0 Hz)

Ejemplo de referencia Z-1: 2-(((2-Cloroetil)tio)carbonil)-2-(2-(5-(metoxycarbonil)tiofen-2-il)etil)hidrazinacarboxilato de *tert*-butilo (intermedio Z-1)

[Fórmula 82]

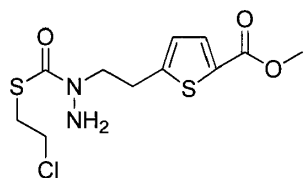


A una solución del intermedio A-6 (140,3 g) en diclorometano (660 ml), se le añadió agua (330 ml) e hidrogenocarbonato de sodio (78,09 g), la mezcla se agitó durante 10 minutos, y después el intermedio B-3 (81,71 g) se añadió en porciones a la mezcla de reacción, mientras la temperatura interna de la mezcla de reacción se mantenía para estuviera a 20 hasta 25 °C. La mezcla se agitó tal cual estaba durante 1 hora, y después la capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (199,5 g).

(Intermedio Z-1: Rf (TLC) = 0,43 (hexano:acetato de etilo = 2:1))

Ejemplo de referencia Z-2: 5-(2-(1-(((2-Cloroetil)tio)carbonil)hidrazinil)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-2)

[Fórmula 83]

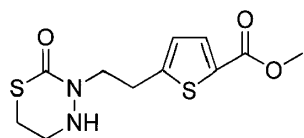


Al intermedio Z-1 (199 g), se le añadió una solución de 4 mol/l de cloruro de hidrógeno en dioxano (800 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida, y después se añadió diclorometano (6 l) e hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado (2 l) al residuo para extracción. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada (2 l), y se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (172 g).

(Intermedio A-4: Rf (TLC) = 0,49 (heptano:acetato de etilo = 1:1))

Ejemplo de referencia Z-3: 5-(2-(2-Oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-3)

[Fórmula 84]

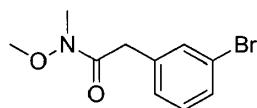


A una solución del intermedio Z-2 (172 g) en acetonitrilo (3,4 l), se le añadió sucesivamente hidrogenocarbonato de sodio (223 g) y yoduro de sodio (397 g), y la mezcla se agitó a 75 °C durante 15 horas. La mezcla se agitó más a 83 °C durante 15 horas, y después se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró usando papel de filtro, y el residuo que permaneció sobre el papel de filtro se lavó con acetonitrilo (1 l), se combinó con el filtrado, y se concentró a presión reducida. Al residuo obtenido después de la concentración, se le añadió diclorometano (3 l), y después la mezcla se filtró usando papel de filtro, el residuo que permaneció en el papel de filtro se lavó con diclorometano (1 l), se combinó con el filtrado y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo), y después se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo (1 l) calentando, después se añadió heptano a la solución, y la mezcla se enfrió en hielo. El sólido depositado se recogió por filtración para obtener el compuesto del título (97 g).

¹H-RMN (CDCl₃): δ (ppm) 7,64 (1H, d, J = 3,8 Hz), 6,88 (1H, d, J = 3,8 Hz), 3,86 (3H, s), 3,85 (2H, t, 7,0 Hz), 3,30 (2H, t, J = 7,0 Hz), 3,25-3,17 (4H, m), 3,16 (2H, t, J = 7,0 Hz)

Ejemplo de referencia C-2: 2-(3-Bromofenil)-N-metoxi-N-metilacetamida (intermedio C-2)

[Fórmula 85]



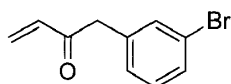
Una solución de diisopropiletilamina (800 ml) en diclorometano (1,8 l) se enfrió en hielo, se añadió sucesivamente ácido 3-bromofenilacético (313 g, TCl), clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (284 g), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (334 g) y N,N-dimetil-4-aminopiridina (18 g), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12,5 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió agua (630 ml) y diclorometano (630 ml), y después la capa orgánica se lavó sucesivamente dos veces con 2 mol/l de ácido clorhídrico (630 ml), y una vez con cada uno de hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado (630 ml) y salmuera saturada (630 ml). La capa orgánica se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (372 g).

(Intermedio C-2: LCMS m/z 257,9 (MH⁺), tiempo de retención 1,37 minutos, condiciones de LC NLC-1)

¹H-RMN (CDCl₃): δ (ppm) 7,46-7,44 (1H, m), 7,39-7,36 (1H, m), 7,25-7,15 (2H, m), 3,74 (2H, s), 3,64 (3H, s), 3,20 (3H, s)

Ejemplo de referencia C-3: 1-(3-Bromofenil)but-3-en-2-ona (intermedio C-3)

[Fórmula 86]

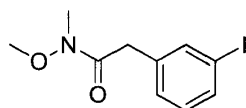


Una solución del intermedio C-2 (104,2 g) en tetrahidrofurano (2,1 l) se enfrió hasta -45 °C en una atmósfera de nitrógeno. A la mezcla de reacción,

se le añadió bromuro de vinilmagnesio (solución a 1 mol/l en tetrahidrofurano, 605 ml, Aldrich) durante 30 minutos, y la mezcla se calentó hasta 0 °C, y después se agitó durante 1,5 horas. La mezcla de reacción se añadió a una mezcla de agua helada (1 l) y 2 mol/l de ácido clorhídrico (1 l), y la mezcla se agitó durante 1 minuto. Se añadió éter isopropílico (2 l) para extracción, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con 1 mol/l de ácido clorhídrico (1 l), agua (1 l) y salmuera saturada (1 l), y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (92,1 g). (Intermedio C-3: Rf (TLC) = 0,74 (heptano:acetato de etilo = 2:1))

Ejemplo de referencia C-2-2: 2-(3-Yodofenil)-N-metoxi-N-metilacetamida (intermedio C-2-2)

[Fórmula 87]



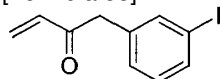
El intermedio C-2-2 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en ejemplo de referencia C-2 usando ácido 3-yodofenilacético (2,85 g) en lugar de ácido 3-bromofenilacético y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (3,07 g).

(Intermedio C-2-2: Rf (TLC) = 0,42 (hexano:acetato de etilo = 1:2))

Cuando el compuesto se sintetiza de acuerdo con el método descrito anteriormente, la cantidad de los reactivos, la cantidad del disolvente, el tiempo de reacción y similares pueden cambiarse apropiadamente de acuerdo con la cantidad equivalente del material de partida a usar en vista del conocimiento común de los expertos en la materia. Lo mismo se aplicará a los siguientes ejemplos.

Ejemplo de referencia C-3-2: 1-(3-Yodofenil)but-3-en-2-ona (intermedio C-3-2)

[Fórmula 88]

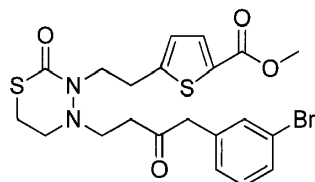


El intermedio C-3-2 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia C-3 usando el intermedio C-2-2 (100 mg) en lugar del intermedio C-2 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (58,7 mg).

(Intermedio C-3-2: Rf (TLC) = 0,60 (hexano:acetato de etilo = 1:2))

Ejemplo de referencia Z-4: 5-(2-(4-(4-(3-Bromofenil)-3-oxobutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-4)

[Fórmula 89]

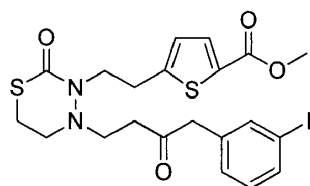


A una solución del intermedio Z-3 (44,4 g) en etanol (444 ml), se le añadió el intermedio C-3 (92,1 g), y la mezcla se agitó a 110 °C durante 40 horas. La mezcla de reacción se descomprimió para evaporar el disolvente. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (tolueno/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (75,9 g).

(Intermedio Z-4: LCMS m/z 511,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,75 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo de referencia Z-4-2: 5-(2-(4-(4-(3-Yodofenil)-3-oxobutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-4-2)

[Fórmula 90]

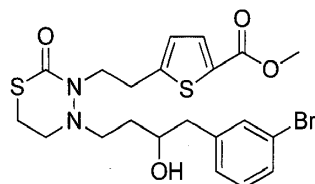


- 5 El intermedio Z-4-2 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-4 usando el intermedio C-3-2 (680,2 mg) en lugar del intermedio C-3 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (120,1 mg).

(Intermedio Z-4-2: Rf (TLC) = 0,50 (hexano:acetato de etilo = 1:2), LCMS m/z 559,0 (MH⁺), tiempo de retención 1,84 minutos, condiciones de LC LC-1)

- 10 **Ejemplo de referencia Z-5: 5-(2-(4-(4-(3-Bromofenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-5)**

[Fórmula 91]

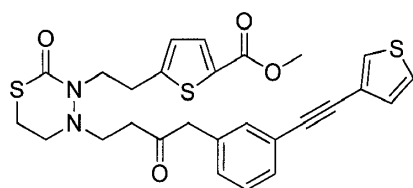


- 15 Una solución del intermedio Z-4 (75,7 g) en metanol (1,14 l) se enfrió hasta 0 °C, y se añadió borohidruro de sodio (7,47 g) en porciones a la solución. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 hora, y después se añadió ácido clorhídrico diluido en porciones a la mezcla de reacción hasta que la mezcla de reacción se volvió neutra. El disolvente orgánico se evaporó a presión reducida, después se añadió acetato de etilo (2 l) al residuo, la mezcla se enfrió hasta 0 °C, se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado (1 l) a la mezcla en porciones, y la mezcla resultante se agitó durante 5 minutos. La capa orgánica se extrajo, y se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (71,0 g).

- 25 (Intermedio Z-5: LCMS m/z 513,15 (MH⁺), tiempo de retención 1,70 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-14: 5-(2-(2-Oxo-4-(3-oxo-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-14)

- 30 [Fórmula 92]

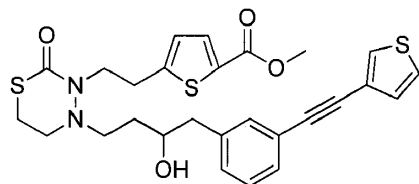


- 35 Al intermedio Z-4-2 (86,6 mg), se le añadió sucesivamente dietilamina (78 µl), 3-etiniltiofeno (21 µl), yoduro de cobre (I) (0,8 mg), y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (1,1 mg), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Además, se añadió sucesivamente dietilamina (600 µl), yoduro de cobre (I) (1,5 mg) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (2,0 mg), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió éter dietílico y 1 mol/l de ácido clorhídrico (0,5 ml), y la capa orgánica se lavó sucesivamente 5 veces con 1 mol/l de ácido clorhídrico (1 ml), y una vez con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado (0,5 ml), y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (31,7 mg).

(Intermedio Z-14: Rf (TLC) = 0,12 (hexano:acetato de etilo = 1:2), LCMS m/z 539,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,95 minutos, condiciones de LC LC-1)

- 45 **Ejemplo de referencia Z-17: 5-(2-(4-(3-Hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-17)**

[Fórmula 93]

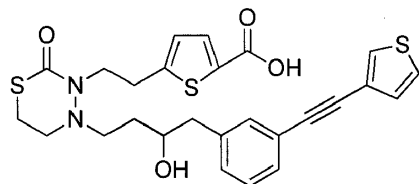


El intermedio Z-17 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-5 usando el intermedio Z-14 (31,7 mg) en lugar del intermedio Z-4 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (31,8 mg).

(Intermedio Z-17: LCMS m/z 541,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,90 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 1: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 94]

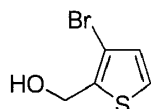


A una solución del intermedio Z-17 (31,8 mg) en tetrahidrofurano (884 µl), se le añadió agua (221 µl) y 2 mol/l de hidróxido de litio acuoso (442 µl), y la mezcla se agitó a 50 °C durante 17,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, se añadió 2 mol/l de ácido clorhídrico (660 µl) a la mezcla, y después la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía de capa fina (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (22,7 mg).

(LCMS m/z 527,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,68 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia A-10: (3-Bromotiofeno-2-il)metanol (intermedio A-10)

[Fórmula 95]

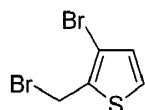


Una solución de ácido 3-bromotiofeno-2-carboxílico (3,0 g, Aldrich) en tetrahidrofurano (46 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de gas nitrógeno, se añadió gota a gota una solución a 1 mol/l de complejo de borano-tetrahidrofurano en tetrahidrofurano (26,1 ml) a la solución durante 15 minutos, y después la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 21,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, se añadió agua helada, 1 mol/l de ácido clorhídrico y acetato de etilo a la mezcla, y la mezcla resultante se agitó. El disolvente orgánico se evaporó a presión reducida, después se añadió acetato de etilo al residuo, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con 1 mol/l de ácido clorhídrico, hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (2,87 g).

(Intermedio A-10: R_f (TLC) = 0,42 (hexano:acetato de etilo = 2:1))

Ejemplo de referencia A-11: 3-Bromo-2-(bromometil)tiofeno (intermedio A-11)

[Fórmula 96]



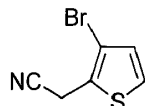
Una solución del intermedio A-10 (7,14 g) en diclorometano (169 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió trifenilfosfina (13,3 g) y tetrabromuro de carbono (13,45 g) a la solución, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,75 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado, y después el disolvente orgánico

se evaporó a presión reducida. Se añadió acetato de etilo al residuo, y después la capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente orgánico se evaporó a presión reducida, después se añadió un disolvente mixto de hexano y acetato de etilo (8:1) al residuo resultante para preparar una suspensión, y la suspensión se filtró con papel de filtro recubierto con gel de sílice. El disolvente del filtrado se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (9,70 g).

(Intermedio A-11: Rf (TLC) = 0,64 (hexano:acetato de etilo = 8:1))

Ejemplo de referencia A-12: 2-(3-Bromotiofen-2-il)acetonitrilo (intermedio A-12)

[Fórmula 97]

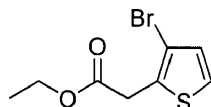


Al intermedio A-11 (9,70 g), se le añadió dimetilsulfóxido (28 ml) y acetonitrilo (140 ml), la mezcla se enfrió hasta 0 °C, después se añadió cianuro de sodio (2,15 g) a la mezcla, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado, y la mezcla se agitó, y después se concentró a presión reducida. La mezcla de reacción se filtró a través de papel de filtro cubierto con Celite, y el residuo que permaneció sobre el Celite se lavó con acetato de etilo. El filtrado y el líquido de lavado se mezclaron, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente orgánico se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante entonces se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (3,89 g).

(Intermedio A-12: Rf (TLC) = 0,18 (hexano:acetato de etilo = 8:1))

Ejemplo de referencia A-13: 2-(3-Bromotiofen-2-il)acetato de etilo (intermedio A-13)

[Fórmula 98]

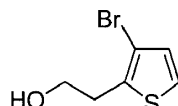


A una solución del intermedio A-12 (3,89 g) en etanol (32,3 ml), se le añadió agua (0,4 ml), la mezcla se enfrió hasta 0 °C, y después se añadió ácido sulfúrico concentrado (5,63 ml) a la mezcla en porciones. La mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 115 horas, y después se enfrió hasta 0 °C, y se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado hasta que la mezcla de reacción se volvió neutra. Se añadió acetato de etilo a la mezcla de reacción, y la mezcla resultante se agitó, y después se concentró a presión reducida. Se añadió acetato de etilo a la mezcla de reacción, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (4,40 g).

(Intermedio A-13: Rf (TLC) = 0,33 (hexano:acetato de etilo = 8:1))

Ejemplo de referencia A-14: 2-(3-Bromotiofen-2-il)etanol (intermedio A-14)

[Fórmula 99]

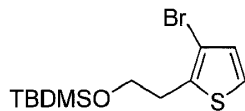


Una solución del intermedio A-13 (4,40 g) en tetrahidrofurano (88,5 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de gas nitrógeno, se añadió hidruro de litio y aluminio (672 mg) a la solución, y la mezcla se agitó durante 0,6 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió agua helada, 1 mol/l de ácido clorhídrico y acetato de etilo, y la mezcla resultante se agitó, y después la capa orgánica se lavó sucesivamente con 1 mol/l de ácido clorhídrico, hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (2,69 g).

(Intermedio A-14: Rf (TLC) = 0,23 (hexano:acetato de etilo = 4:1))

Ejemplo de referencia A-2-2: (2-(3-Bromotiofen-2-il)etoxi)(*tert*-butil)dimetilsilano (intermedio A-2-2)

[Fórmula 100]

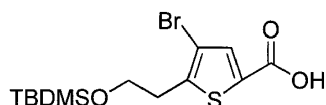


El intermedio A-2-2 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia A-2 usando el intermedio A-14 (2,69 g) en lugar de 2-(tiofen-2-il)etanol y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (3,93 g).

(Intermedio A-2-2: Rf (TLC) = 0,76 (hexano:acetato de etilo = 4:1))

Ejemplo de referencia A-3-2: Ácido 4-bromo-5-(2-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)etil)tiofeno-2-carboxílico (intermedio A-3-2)

[Fórmula 101]

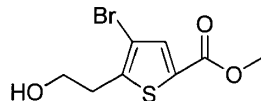


El intermedio A-3-2 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia A-3 usando el intermedio A-2-2 (293 mg) en lugar del intermedio A-2, y diisopropilamida de litio (solución de 1,09 mol/l en hexano/tetrahidrofurano, 928 µl, KANTO) en lugar de *n*-butil-litio (solución de 2,6 mol/l en hexano, KANTO) y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (339 mg).

(Intermedio A-3-2: Rf (TLC) = 0,12 (hexano:acetato de etilo = 1:1))

Ejemplo de referencia A-4-2: 4-Bromo-5-(2-hidroxi)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio A-4-2)

[Fórmula 102]

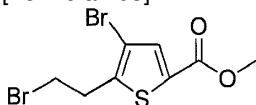


El intermedio A-4-2 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia A-4 usando el intermedio A-3-2 (377 mg) en lugar del intermedio A-3 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (217 mg).

(Intermedio A-4-2: Rf (TLC) = 0,53 (hexano:acetato de etilo = 1:1))

Ejemplo de referencia A-5-2: 4-Bromo-5-(2-bromo)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio A-5-2)

[Fórmula 103]

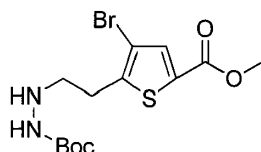


El intermedio A-5-2 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia A-5 usando el intermedio A-4-2 (217 mg) en lugar del intermedio A-4 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (315 mg).

(Intermedio A-5-2: Rf (TLC) = 0,44 (hexano:acetato de etilo = 8:1))

Ejemplo de referencia A-6-2: 2-(2-(3-Bromo-5-(metoxicarbonil)tiofen-2-il)etil)hidrazinacarboxilato de *tert*-butilo (intermedio A-6-2)

[Fórmula 104]



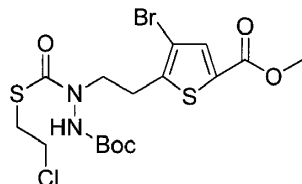
El intermedio A-6-2 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia A-6 usando el intermedio

A-5-2 (315 mg) en lugar del intermedio A-5 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (168 mg).

(Intermedio A-5-2: Rf (TLC) = 0,48 (hexano:acetato de etilo = 1:1))

5 **Ejemplo de referencia Z-1-2: 2-(2-(3-Bromo-5-(metoxicarbonil)tiofen-2-il)etil)-2-(((2-cloroetil)tio)carbonil)hidrazinacarboxilato de *terc*-butilo (intermedio Z-1-2)**

[Fórmula 105]

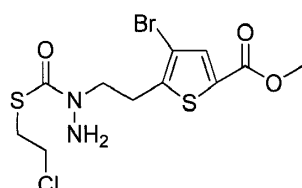


10 A una solución del intermedio A-6-2 (1,98 g) en diclorometano (13,1 ml), se le añadió hidrogenocarbonato de sodio (880 mg), la mezcla se enfrió hasta 0 °C, y después se añadió el intermedio B-3 (993 mg) en porciones a la mezcla. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas, después se añadió agua y acetato de etilo a la mezcla de reacción, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (796 mg).

(Intermedio Z-1-2: Rf (TLC) = 0,53 (tolueno:acetato de etilo = 8:1))

20 **Ejemplo de referencia Z-2-2: 4-Bromo-5-(2-(1-(((2-cloroetil)tio)carbonil)hidrazinil)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-2-2)**

[Fórmula 106]

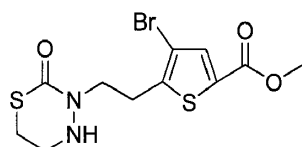


25 Al intermedio Z-1-2 (796 mg), se le añadió una solución de 4 mol/l de cloruro de hidrógeno en dioxano (7,5 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17,6 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió acetato de etilo y 5 mol/l de hidróxido de sodio acuoso, y después se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado a la mezcla hasta que la mezcla se volvió básica. La capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (594 mg).

(Intermedio Z-2-2: Rf (TLC) = 0,42 (tolueno:acetato de etilo = 8:1))

35 **Ejemplo de referencia Z-3-2: 4-Bromo-5-(2-(2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-3-2)**

[Fórmula 107]

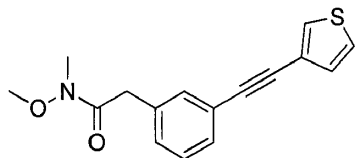


40 A una solución del intermedio Z-2-2 (594 mg) en acetonitrilo (14,9 ml), se le añadió sucesivamente hidrogenocarbonato de sodio (626 mg) y yoduro de sodio (1,12 g), y la mezcla se agitó a 85 °C durante 120 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, y después se añadió acetato de etilo y agua a la mezcla para extracción. La capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó, después el disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (374 mg).

(Intermedio Z-3-2: Rf (TLC) = 0,13 (hexano:acetato de etilo = 2:1))

Ejemplo de referencia C-4: N-Metoxi-N-metil-2-(3-(tiofen-3-iletinil)-fenil)acetamida (intermedio C-4)

[Fórmula 108]

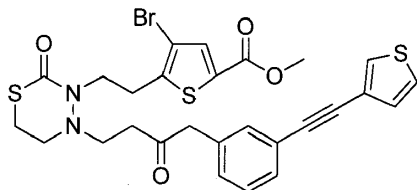


A una solución del intermedio C-2-2 (1,0 g) en acetonitrilo (26 ml), se le añadió sucesivamente cloruro de bis(acetonitrilo)paladio (43 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (243 mg), carbonato de cesio (2,1 g) y 3-etiniltiofeno (650 μ l), y la mezcla se agitó a 60 °C durante 14 horas en una atmósfera de gas nitrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de papel de filtro cubierto con Celite, y el residuo que permaneció sobre el Celite se lavó con acetato de etilo. El filtrado y el líquido de lavado se mezclaron, el disolvente orgánico se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante entonces se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (850 mg).

(Intermedio C-4: Rf (TLC) = 0,40 (hexano:acetato de etilo = 1:1), LCMS m/z 286,13 (MH⁺), tiempo de retención 1,70 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-14-2: 4-Bromo-5-(2-(2-oxo-4-(3-oxo-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-14-2)

[Fórmula 109]

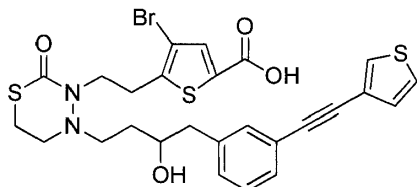


Una solución del intermedio C-4 (117 mg) en 1,2-dimetoxietano (2,3 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. A la mezcla de reacción, se le añadió bromuro de vinilmagnesio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 620 μ l, Aldrich), y la mezcla resultante se agitó durante 3 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió 2 mol/l de ácido clorhídrico, y la mezcla resultante se agitó durante 1 minuto. Se añadió acetato de etilo a la mezcla de reacción para extracción, la capa orgánica se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida. Al residuo resultante, se le añadió etanol (3 ml), agua (3 ml) y el intermedio Z-3-2 (100 mg), y la mezcla se agitó a 110 °C durante 18 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió salmuera saturada y cloroformo para extracción, la capa orgánica se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (156,1 mg).

(Intermedio Z-14-2: LCMS m/z 617,2 (MH⁺), tiempo de retención 2,08 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 2: Ácido 4-bromo-5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 110]



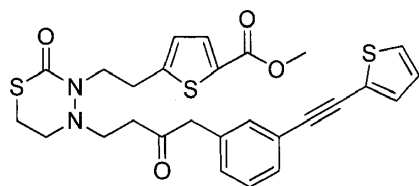
Una solución del intermedio Z-14 -2 (156,1 mg) en metanol (3 ml) se enfrió hasta 0 °C, y se añadió borohidruro de sodio (17,3 mg) en porciones a la solución. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 1 hora, y después se añadió ácido clorhídrico diluido en porciones a la mezcla de reacción hasta que la mezcla se volvió neutra. El disolvente orgánico se evaporó a presión reducida, después se añadió acetato de etilo (2 l) al residuo, la mezcla se enfrió hasta 0 °C, se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado (1 l) en porciones a la mezcla, y la mezcla resultante se agitó durante 5 minutos. La capa orgánica se extrajo, y se secó, y después el disolvente se evaporó a presión

reducida. Al residuo resultante, se le añadió tetrahidrofurano (4,6 ml), metanol (4,6 ml) y 1 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (4,6 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, se añadió 2 mol/l de ácido clorhídrico a la mezcla de reacción, después la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, y la capa orgánica se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (cloroformo/metanol) para obtener el compuesto del título (140 mg).

(LCMS m/z 605,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,78 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-14-3: 5-(2-(2-Oxo-4-(3-oxo-4-(3-(tiofen-2-iletinil)fenil)butil)-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-14-3)

[Fórmula 111]

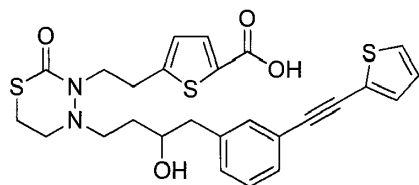


El intermedio Z-14-3 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-14 usando 2-etiniltiofeno (33,6 mg, MAYBRIDGE) en lugar de 3-etiniltiofeno y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (32,9 mg).

(Intermedio Z-14-3: LCMS m/z 539,0 (MH⁺), tiempo de retención 2,00 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 3: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiofen-2-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 112]

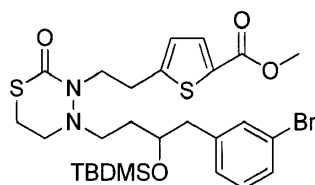


Una solución del intermedio Z-14-3 (32,9 mg) en metanol (0,6 ml) se enfrió hasta 0 °C, y se añadió borohidruro de sodio (3,6 mg) en porciones a la solución. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1,5 horas, y después se diluyó con acetato de etilo, y se añadió ácido clorhídrico diluido (1,5 ml) a la mezcla. Se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado a la mezcla hasta que la mezcla se volvió neutra. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, la capa orgánica se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida. Al residuo resultante, se le añadió tetrahidrofurano (920 µl), agua (230 µl) y 2 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (460 µl), y la mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 14 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, y se dejó reposar durante 5,5 horas, después se añadió 2 mol/l de ácido clorhídrico a la mezcla, la mezcla se extrajo con acetato de etilo, y la capa orgánica se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía de líquidos (acetonitrilo/agua) para obtener el compuesto del título (3,6 mg).

(LCMS m/z 527,0 (MH⁺), tiempo de retención 1,79 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-6: 5-(2-(4-(4-(3-Bromofenil)-3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-6)

[Fórmula 113]



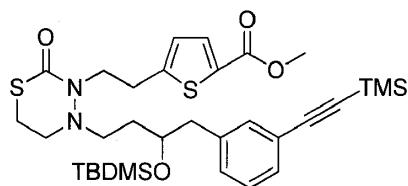
A una solución del intermedio Z-5 (1,0 g) en N,N-dimetilformamida (19,5 ml), se le añadió imidazol (265 mg) y *tert*-butildimetilclorosilano (596 mg), y la mezcla resultante se agitó a 30 °C durante 15 horas. A la mezcla de reacción, se

le añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado, y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y después se secó, el disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (1,16 g).

(Intermedio Z-6: LCMS m/z 627,0 (MH⁺), tiempo de retención 2,53 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-21: 5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-((trimetilsilil)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-21)

[Fórmula 114]

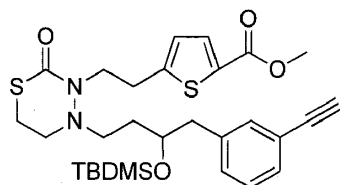


A una solución del intermedio Z-6 (300 mg) en acetonitrilo (15,3 ml), se le añadió sucesivamente cloruro de bis(acetonitrilo)paladio (12,4 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (68,3 mg), carbonato de cesio (311 mg) y etiniltrimetilsilano (331 μ l), y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 19 horas en una atmósfera de gas nitrógeno. A la mezcla de reacción, se le añadió etiniltrimetilsilano (199 μ l), cloruro de bis(acetonitrilo)paladio (6,2 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (34,1 mg) y carbonato de cesio (187 mg), y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 3,75 horas. El disolvente de la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida, y después el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (245 mg).

(Intermedio Z-21: LCMS m/z 645,4 (MH⁺), tiempo de retención 2,35 minutos, condiciones de LC LC-6)

Ejemplo de referencia Z-22: 5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-etnilfenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-22)

[Fórmula 115]

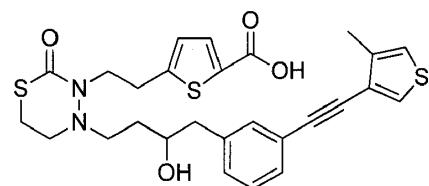


A una solución del intermedio Z-21 (225 mg) en metanol (3,6 ml), se le añadió carbonato de potasio (50 mg), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtró, y el filtrado se combinó con el líquido de lavado con metanol usado para lavar el residuo que permaneció sobre el papel de filtro, y se concentró. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (198 mg).

(Intermedio Z-22: LCMS m/z 573,3 (MH⁺), tiempo de retención 1,37 minutos, condiciones de LC LC-6)

Ejemplo 4: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-((4-metiltiofen-3-il)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 116]

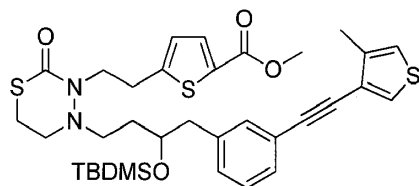


[Etapa a]

5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-((4-metiltiofen-3-il)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-

carboxilato de metilo (intermedio Z-7-4)

[Fórmula 117]



A una solución del intermedio Z-22 (10 mg) en acetonitrilo (280 μ l), se le añadió sucesivamente cloruro de bis(acetonitrilo)paladio (0,5 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (2,5 mg), carbonato de cesio (6,8 mg) y 3-bromo-4-metiltiofeno (9,3 mg, TCI), y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 4 horas en una atmósfera de gas nitrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de papel de filtro cubierto con Celite, y el residuo que permaneció sobre el Celite se lavó con acetato de etilo. El filtrado y el líquido de lavado se mezclaron, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con agua y salmuera saturada, y después se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante entonces se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (7,4 mg).

(Intermedio Z-7-4: LCMS m/z 699,4 (MH^+), tiempo de retención 2,18 minutos, condiciones de LC LC-6)

[Etapa b]

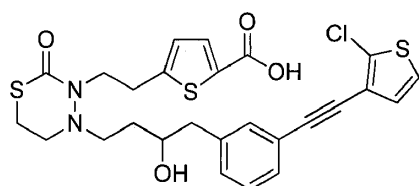
Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-((4-metiltiofen-3-il)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

Una solución del intermedio Z-7-4 (7,4 mg) en tetrahidrofurano (390 μ l) se enfrió hasta 0 °C, se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 33 μ l) a la solución, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió metanol (390 μ l) y 1 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (390 μ l), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió 2 mol/l de ácido clorhídrico (100 μ l) y agua (400 μ l), la mezcla se extrajo 5 veces con acetato de etilo (1 ml), y después la capa orgánica se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (cloroformo/metanol) para obtener el compuesto del título (4,9 mg).

(LCMS m/z 541,2 (MH^+), tiempo de retención 1,74 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 5: Ácido 5-(2-(4-(3-((2-clorotiofen-3-il)etnil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 118]

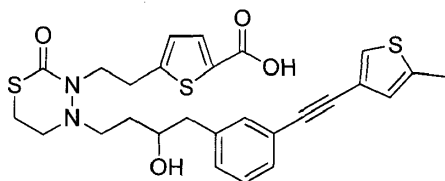


De acuerdo con el método descrito en el ejemplo 4, la síntesis se realizó usando 3-bromo-2-clorotiofeno (20,7 mg, TCI) en lugar de 3-bromo-4-metiltiofeno para obtener el compuesto del título (12,9 mg).

(LCMS m/z 561,1 (MH^+), tiempo de retención 1,77 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 6: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-((5-metiltiofen-3-il)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

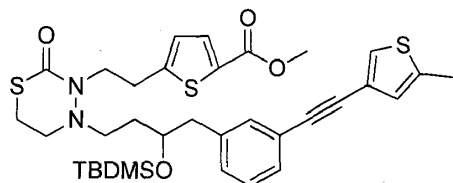
[Fórmula 119]



[Etapa a]

5- $\{2-[4-(3-((\textit{terc}$ -Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-((5-metiltiofen-3-il)etinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il]etiltiófen-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-7-6)

[Fórmula 120]



A una solución del intermedio Z-22 (20 mg) en acetonitrilo (1120 μ l), se le añadió sucesivamente cloruro de bis(acetonitrilo)paladio (0,9 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (5,0 mg), carbonato de cesio (13,7 mg) y 3-bromo-5-metiltiofeno (18,5 mg, TCI), y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 4 horas en una atmósfera de gas nitrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de papel de filtro cubierto con Celite, y el residuo que permaneció sobre el Celite se lavó con un disolvente mixto de cloroformo y metanol (9:1). El filtrado y el líquido de lavado se mezclaron, el disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante entonces se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (16,2 mg).

(Intermedio Z-7-6: LCMS m/z 699,4 (MH^+), tiempo de retención 2,20 minutos, condiciones de LC LC-6)

[Etapa b]

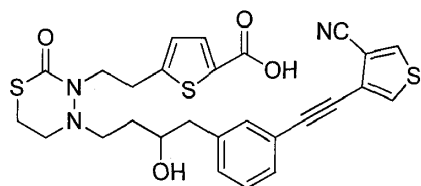
Ácido 5- $\{2-[4-(3-hidroxi-4-(3-((5-metiltiofen-3-il)etinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il]etil$ tiófen-2-carboxílico

Una solución del intermedio Z-7-6 (16,2 mg) en tetrahidrofurano (850 μ l) se enfrió hasta 0 °C, se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 73 μ l), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (66 μ l), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico (500 μ l), la mezcla resultante se extrajo 5 veces con acetato de etilo (1 ml), y después la capa orgánica se lavó con salmuera saturada (500 μ l), y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (22,1 mg).

(LCMS m/z 541,2 (MH^+), tiempo de retención 1,76 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 7: Ácido 5- $\{2-[4-(3-((4-cianotiofen-3-il)etinil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il]etil$ tiófen-2-carboxílico

[Fórmula 121]

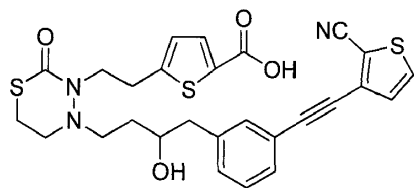


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 6 usando 4-bromotiofeno-3-carbonitrilo (18,9 mg, COMBI-BLOCKS) en lugar de 3-bromo-5-metiltiofeno para obtener el compuesto del título (3,8 mg).

(LCMS m/z 552,1 (MH^+), tiempo de retención 1,52 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 8: Ácido 5- $\{2-[4-(3-((2-cianotiofen-3-il)etinil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il]etil$ tiófen-2-carboxílico

[Fórmula 122]

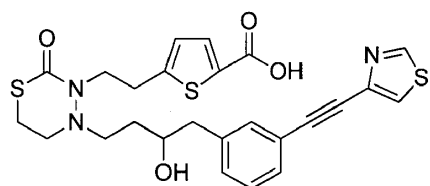


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en ejemplo 6 usando 3-bromotiofeno-2-carbonitrilo (18,9 mg, APOLLO) en lugar de 3-bromo-5-metiltiofeno para obtener el compuesto del título (5,5 mg).

(LCMS m/z 552,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,56 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 9: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiazol-4-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 123]

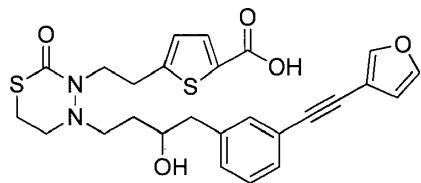


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 6 usando 4-bromotiazol (17,2 mg, ALDRICH) en lugar de 3-bromo-5-metiltiofeno para obtener el compuesto del título (14,3 mg).

(LCMS m/z 528,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,38 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 10: Ácido 5-(2-(4-(4-(3-(furan-3-iletinil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 124]

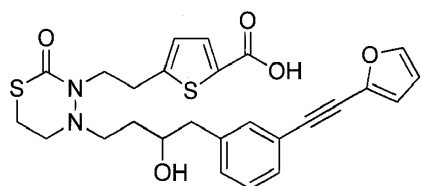


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 6 usando 3-bromofurano (15,4 mg, TCI) en lugar de 3-bromo-5-metiltiofeno para obtener el compuesto del título (13,2 mg).

(LCMS m/z 511,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,57 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 11: Ácido 5-(2-(4-(4-(3-(furan-2-iletinil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 125]



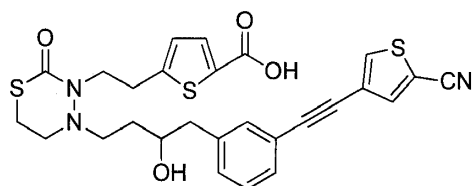
La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 6 usando 2-bromofurano (14,8 mg, ALDRICH) en lugar de 3-bromo-5-metiltiofeno para obtener el compuesto del título (4,5 mg).

(LCMS m/z 511,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,58 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 12: Ácido 5-(2-(4-(4-(3-((5-cianotiofen-3-il)etinil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-

il)etil)tiofeno-2-carboxílico

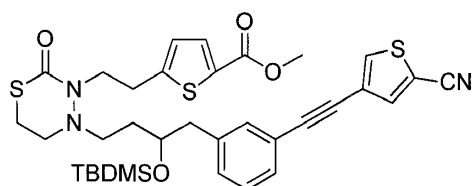
[Fórmula 126]



[Etapa a]

5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-((5-cianotiofen-3-il)etinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-7-12)

[Fórmula 127]



A una solución del intermedio Z-22 (14 mg) en acetonitrilo (400 μ l), se le añadió sucesivamente cloruro de bis(acetonitrilo)paladio (0,7 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (3,6 mg), carbonato de cesio (12,3 mg) y 4-bromotiofeno-2-carbonitrilo (18,9 mg, COMBI-BLOCKS), y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 6 horas en una atmósfera de gas nitrógeno. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante entonces se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (6,4 mg).

(Intermedio Z-7-12: LCMS m/z 680,4 (MH⁺), tiempo de retención 1,71 minutos, condiciones de LC LC-6)

[Etapa b]

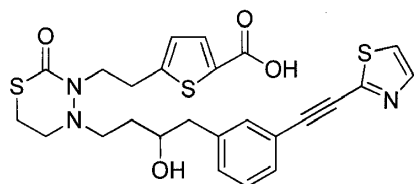
Ácido 5-(2-(4-(4-(3-((5-cianotiofen-3-il)etinil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

Una solución del intermedio Z-7-12 (6,4 mg) en tetrahidrofurano (330 μ l) se enfrió hasta 0 °C, se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 28 μ l) a la solución, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (30 μ l), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico, la mezcla se extrajo con acetato de etilo, y después la capa orgánica se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (cloroformo/metanol) para obtener el compuesto del título (0,7 mg).

(LCMS m/z 552,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,60 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 13: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiazol-2-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 128]

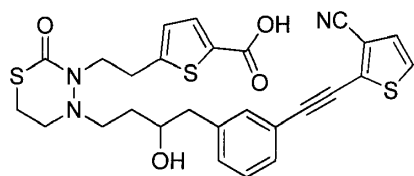


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 6 usando 2-bromotiazol (16,5 mg, TCI) en lugar de 4-bromotiofeno-2-carbonitrilo para obtener el compuesto del título (0,4 mg).

(LCMS m/z 528,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,43 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 14: Ácido 5-(2-(4-(4-(3-((3-cianotiofen-2-il)etinil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

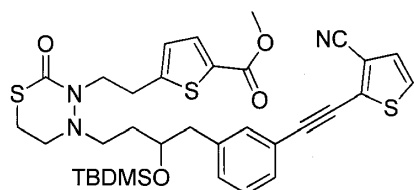
[Fórmula 129]



5 [Etapa a]

5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-((3-cianotiofen-2-il)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-7-14)

10 [Fórmula 130]



A una solución del intermedio Z-22 (16 mg) en acetonitrilo (1 ml), se le añadió sucesivamente cloruro de bis(acetonitrilo)paladio (0,7 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (4,0 mg), carbonato de cesio (10,9 mg) y 2-bromotiofeno-3-carbonitrilo (15,7 mg, MAYBRIDGE), y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 18 horas en una atmósfera de gas nitrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de papel de filtro cubierto con Celite, el residuo que permaneció sobre el Celite se lavó con un disolvente mixto de cloroformo y metanol (9:1). El filtrado y el líquido de lavado se mezclaron, el disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante entonces se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (7,9 mg).

(Intermedio Z-7-14: LCMS m/z 680,5 (MH⁺), tiempo de retención 2,52 minutos, condiciones de LC LC-1)

[Etapa b]

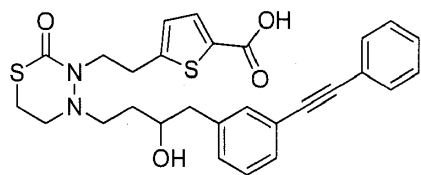
Ácido 5-(2-(4-(4-(3-((3-cianotiofen-2-il)etnil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

Una solución del intermedio Z-7-14 (7,9 mg) en tetrahidrofurano (1 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 0,5 ml) a la solución, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió metanol (0,5 ml) y 1 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (0,5 ml), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico, la mezcla se extrajo con acetato de etilo, y la capa orgánica se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (cloroformo/metanol) para obtener el compuesto del título (3,0 mg).

(LCMS m/z 552,0 (MH⁺), tiempo de retención 1,57 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 15: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(feniletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 131]

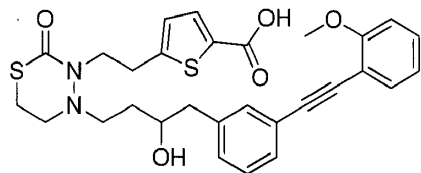


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 14 usando bromobenceno (12,3 mg, TCI) en lugar de 2-bromotiofeno-2-carbonitrilo para obtener el compuesto del título (2,4 mg).

(LCMS m/z 521,0 (MH⁺), tiempo de retención 1,71 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 16: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-((2-metoxifenil)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 132]

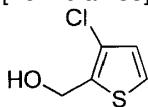


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 14 usando 1-bromo-2-metoxibenceno (14,7 mg, WAKO) en lugar de 2-bromotiofeno-2-carbonitrilo para obtener el compuesto del título (1,6 mg).

(LCMS m/z 551,3 (MH⁺), tiempo de retención 1,64 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia A-10-2: (3-Clorotiofeno-2-il)metanol (intermedio A-10-2)

[Fórmula 133]

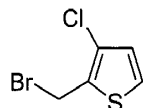


Una solución de ácido 3-clorotiofeno-2-carboxílico (4,47 g, ALDRICH) en tetrahidrofurano (88,1 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de gas nitrógeno, se añadió gota a gota una solución a 1 mol/l de complejo de borano-tetrahidrofurano en tetrahidrofurano (49,7 ml) a la solución, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 22 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, se añadió metanol, agua y acetato de etilo a la mezcla, y la mezcla resultante se agitó. El disolvente orgánico se evaporó a presión reducida, después se añadió acetato de etilo al residuo, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (4,62 g).

(Intermedio A-10-2: R_f (TLC) = 0,40 (hexano:acetato de etilo = 2:1))

Ejemplo de referencia A-11-2: 3-Cloro-2-(bromometil)tiofeno (intermedio A-11-2)

[Fórmula 134]

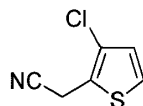


Una solución del intermedio A-10-2 (4,62 g) en diclorometano (110 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió trifenilfosfina (10,8 g) y tetrabromuro de carbono (10,9 g) a la solución, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A la mezcla de reacción, se le añadió agua, salmuera saturada y acetato de etilo, la mezcla se agitó, y después el disolvente orgánico se evaporó a presión reducida. Se añadió acetato de etilo al residuo, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con salmuera saturada, y se secó. El disolvente orgánico se evaporó a presión reducida, y después se añadió un disolvente mixto de hexano y acetato de etilo (9:1) al residuo resultante para preparar una suspensión, y la suspensión se filtró a través de papel de filtro recubierto con gel de sílice. El disolvente del filtrado se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (9,09 g).

(Intermedio A-11-2: R_f (TLC) = 0,56 (hexano:acetato de etilo = 8:1))

Ejemplo de referencia A-12-2: 2-(3-Clorotiofeno-2-il)acetonitrilo (intermedio A-12-2)

[Fórmula 135]



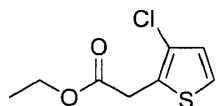
Al intermedio A-11-2 (9,09 g), se le añadió dimetilsulfóxido (42 ml) y acetonitrilo (126 ml), la mezcla se enfrió hasta 0 °C, después se añadió cianuro de sodio (2,46 g) a la mezcla, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente

durante 2 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió agua, salmuera saturada y acetato de etilo, la mezcla resultante se agitó, y después la capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante entonces se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (3,41 g).

(Intermedio A-12-2: Rf (TLC) = 0,20 (hexano:acetato de etilo = 8:1))

Ejemplo de referencia A-13-2: 2-(3-Clorotiofen-2-il)acetato de etilo (intermedio A-13-2)

[Fórmula 136]

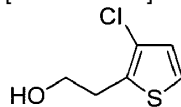


A una solución del intermedio A-12-2 (3,41 g) en etanol (36 ml), se le añadió agua (0,46 ml), la mezcla se enfrió hasta 0 °C, y después se añadió ácido sulfúrico concentrado (6,3 ml) en porciones a la mezcla. La mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 88 horas, y después se enfrió hasta 0 °C, y se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado a la mezcla hasta que la mezcla se volvió neutra. Se añadió acetato de etilo a la mezcla, y la mezcla resultante se agitó, y después se concentró a presión reducida. Se añadió acetato de etilo a la mezcla, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (4,56 g).

(Intermedio A-13-2: Rf (TLC) = 0,31 (hexano:acetato de etilo = 8:1))

Ejemplo de referencia A-14-2: 2-(3-Clorotiofen-2-il)etanol (intermedio A-14-2)

[Fórmula 137]

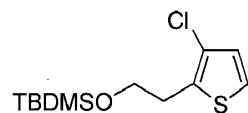


Una solución del intermedio A-13-2 (4,56 g) en tetrahidrofurano (108 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de gas nitrógeno, se añadió hidruro de litio y aluminio (1,48 g) a la solución, y la mezcla se agitó durante 0,7 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió agua, éter dietílico y 1 mol/l de ácido clorhídrico, la mezcla resultante se agitó, y después la capa orgánica se lavó sucesivamente con 1 mol/l de ácido clorhídrico, hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (3,67 g).

(Intermedio A-14-2: Rf (TLC) = 0,13 (hexano:acetato de etilo = 4:1))

Ejemplo de referencia A-2-3: (2-(3-Clorotiofen-2-il)etoxi)(*tert*-butil)dimetilsilano (intermedio A-2-3)

[Fórmula 138]

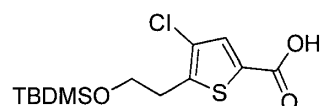


El intermedio A-2-3 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia A-2 usando el intermedio A-14-2 (3,67 g) en lugar de 2-(tiofen-2-il)etanol y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (4,29 g).

(Intermedio A-2-3: Rf (TLC) = 0,61 (hexano:acetato de etilo = 4:1))

Ejemplo de referencia A-3-3: Ácido 4-cloro-5-(2-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)etil)tiofeno-2-carboxílico (intermedio A-3-3)

[Fórmula 139]



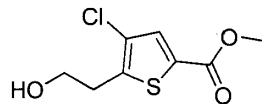
El intermedio A-3-3 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia A-3 usando el intermedio

A-2-3 (3,03 g) en lugar del intermedio A-2 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (3,41 g).

(Intermedio A-3-3: Rf (TLC) = 0,11 (hexano:acetato de etilo = 4:1))

5 **Ejemplo de referencia A-4-3: 4-Cloro-5-(2-hidroxietil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio A-4-3)**

[Fórmula 140]

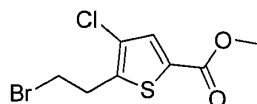


10 El intermedio A-4-3 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia A-4 usando el intermedio A-3-3 (4,35 g) en lugar del intermedio A-3 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (2,23 g).

(Intermedio A-4-3: Rf (TLC) = 0,38 (hexano:acetato de etilo = 1:1))

15 **Ejemplo de referencia A-5-3: 4-Cloro-5-(2-bromoetil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio A-5-3)**

[Fórmula 141]

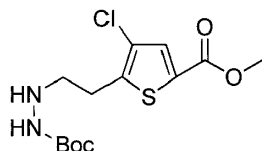


20 El intermedio A-5-3 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia A-5 usando el intermedio A-4-3 (2,23 g) en lugar del intermedio A-4 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (3,18 g).

(Intermedio A-5-3: Rf (TLC) = 0,52 (hexano:acetato de etilo = 2:1))

25 **Ejemplo de referencia A-6-3: 2-(2-(3-cloro-5-(metoxicarbonil)tiofen-2-il)etil)hidrazinacarboxilato de *tert*-butilo (intermedio A-6-3)**

[Fórmula 142]

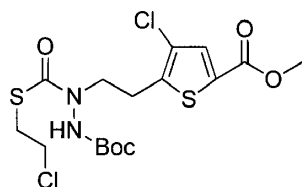


30 El intermedio A-6-3 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia A-6 usando el intermedio A-5-3 (3,18 g) en lugar del intermedio A-5 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (3,29 g).

(Intermedio A-5-3: Rf (TLC) = 0,24 (hexano:acetato de etilo = 2:1))

35 **Ejemplo de referencia Z-1-3: 2-(2-(3-cloro-5-(metoxicarbonil)tiofen-2-il)etil)-2-(((2-cloroetil)tio)carbonil)hidrazinacarboxilato de *tert*-butilo (intermedio Z-1-3)**

[Fórmula 143]

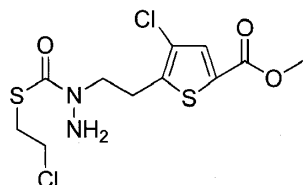


40 El intermedio Z-1-3 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-1-2 usando el intermedio A-6-3 (1,79 g) en lugar del intermedio A-6-2 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (2,36 g).

45 (Intermedio Z-1-3: Rf (TLC) = 0,24 (hexano:acetato de etilo = 4:1))

Ejemplo de referencia Z-2-3: 4-Cloro-5-(2-(1-(((2-cloroetil)tio)carbonil)hidrazinil)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-2-3)

[Fórmula 144]



- 5 El intermedio Z-2-3 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-2-2 usando el intermedio Z-1-3 (2,36 g) en lugar del intermedio Z-1-2 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (1,73 g).

(Intermedio Z-2-3: Rf (TLC) = 0,69 (hexano:acetato de etilo = 1:1))

- 10 **Ejemplo de referencia Z-3-3: 4-Cloro-5-(2-(2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-3-3)**

[Fórmula 145]

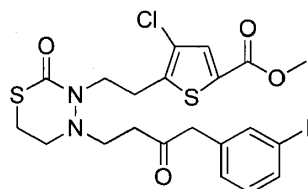


- 15 El intermedio Z-3-3 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-3-2 usando el intermedio Z-2-3 (1,73 g) en lugar del intermedio Z-2-2 y, por tanto, el compuesto del título (1,04 g).

(Intermedio Z-3-3: Rf (TLC) = 0,23 (hexano:acetato de etilo = 1:1))

- 20 **Ejemplo de referencia Z-4-3: 4-Cloro-5-(2-(4-(4-(3-yodofenil)-3-oxobutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-4-3)**

[Fórmula 146]

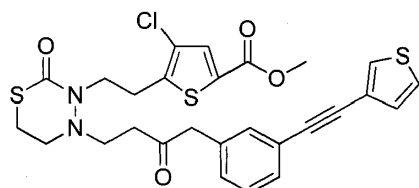


- 25 El intermedio Z-4-3 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-4 usando el intermedio Z-3-3 (0,30 g) en lugar del intermedio Z-3, y el intermedio C-3-2 (la cantidad completa del intermedio C-3-2 producido y obtenido de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia C-3-2 usando 2,56 g del material de partida, intermedio C-2-2) en lugar del intermedio C-3 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (0,64 g).

(Intermedio Z-4-3: Rf (TLC) = 0,31 (hexano:acetato de etilo = 1:1))

- 35 **Ejemplo de referencia Z-14-4: 4-Cloro-5-(2-(2-oxo-4-(3-oxo-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-14-4)**

[Fórmula 147]



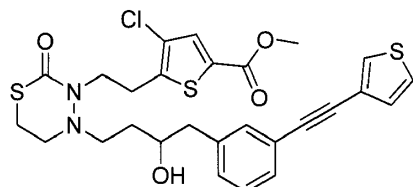
- 40 Al intermedio Z-4-3 (429 mg), se le añadió sucesivamente dietilamina (3,62 ml), 3-etinitiofeno (93 µl), yoduro de cobre (I) (13,8 mg), y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (41,8 mg), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3,5 horas en una atmósfera de gas nitrógeno. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico, y la mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó sucesivamente con salmuera saturada,

hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (cloroformo/metanol) para obtener el compuesto del título (290,4 mg).

5 (Intermedio Z-14-4: LCMS m/z 573,2 (MH⁺), tiempo de retención 2,03 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-17-17: 4-Cloro-5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-17-17)

10 [Fórmula 148]

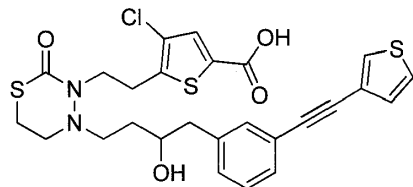


15 A una solución del intermedio Z-14-4 (290 mg) en metanol (5 ml), se le añadió tetrahidrofurano (1 ml), la mezcla se enfrió hasta 0 °C, y se añadió borohidruro de sodio (28,8 mg) en porciones a la mezcla. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,6 horas, después se añadió agua a la mezcla, y se añadió además ácido clorhídrico 1 N en porciones a la mezcla de reacción hasta que la mezcla se volvió débilmente ácida. La mezcla se extrajo dos veces con acetato de etilo, y después la capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (cloroformo/metanol) para obtener el compuesto del título (183 mg).

20 (Intermedio Z-17-17: LCMS m/z 575,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,98 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 17: Ácido 4-cloro-5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

25 [Fórmula 149]

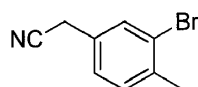


30 A una solución del intermedio Z-17-17 (183 mg) en tetrahidrofurano (2 ml), se le añadió metanol (2 ml) a la solución, la mezcla se enfrió hasta 0 °C, y se añadió agua (2,38 ml) y 4 mol/l de hidróxido de litio acuoso (2,38 ml) a la mezcla. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, después se añadió agua a la mezcla de reacción, y se añadió además ácido clorhídrico 2 N en porciones a la mezcla de reacción hasta que la mezcla se volvió débilmente ácida. La mezcla de reacción se extrajo dos veces con acetato de etilo, y después la capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (cloroformo/metanol) para obtener el compuesto del título (129 mg).

(LCMS m/z 561,25 (MH⁺), tiempo de retención 1,72 minutos, condiciones de LC LC-1)

40 **Ejemplo de referencia C-1: 2-(3-Bromo-4-metilfenil)acetonitrilo (intermedio C-1)**

[Fórmula 150]



45 A una solución de 2-bromo-1,4-dimetilbenceno (2 g, TCI) en tetracloruro de carbono (21,6 ml), se le añadió N-bromosuccinimida (1,06 g) y peróxido de benzoilo (56,7 mg), y la mezcla se agitó a 85 °C durante 1,5 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió N-bromosuccinimida (1,06 g) y peróxido de benzoilo (56,7 mg), y la mezcla resultante se agitó más a 85 °C durante 4,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, y después se filtró a través de papel de filtro, y el residuo que permaneció sobre el papel de filtro se lavó con diclorometano. El filtrado y el líquido de lavado se mezclaron, y el disolvente se evaporó a presión reducida. Al residuo resultante, se le

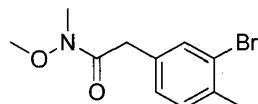
añadió etanol (10,8 ml), agua (5,4 ml) y cianuro de potasio (2,1 g), y la mezcla se agitó a 100 °C durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, y se extrajo con acetato de etilo, y después la capa orgánica se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (576 mg).

(Intermedio C-1: Rf (TLC) = 0,58 (hexano:acetato de etilo = 2:1))

¹H-RMN (CDCl₃): δ (ppm) 7,51 (1H, s), 7,24 (1H, d, J = 7,5 Hz), 7,18 (1H, d, J = 7,5 Hz), 3,70 (2H, s), 2,40 (3H, s)

Ejemplo de referencia C-2-4: 2-(3-Bromo-4-metilfenil)-N-metoxi-N-metilacetamida (intermedio C-2-4)

[Fórmula 151]

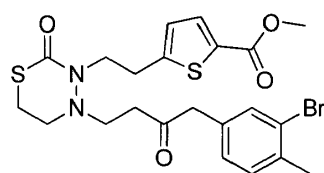


Al intermedio C-1 (300 mg), se le añadió agua (7,1 ml), la mezcla se enfrió hasta 0 °C, se añadió ácido sulfúrico concentrado (5,7 ml) en porciones a la mezcla, y después la mezcla resultante se agitó a 105 °C durante 15 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, y después se añadió acetato de etilo para extracción. Se añadió hexano a la capa acuosa para extracción, y después la capa acuosa se extrajo más con éter dietílico. Las capas orgánicas resultantes se mezclaron, y se lavaron con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado, y se secaron. El disolvente se evaporó a presión reducida, y hasta el residuo resultante. Se añadió sucesivamente N,N-dimetilformamida (14,3 ml), clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (557 mg), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (821 mg), N,N-dimetil-4-aminopiridina (17 mg) y diisopropiletilamina (1,2 ml), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas. A la mezcla de reacción, se añadió éter dietílico, y después la capa orgánica se lavó 3 veces con 1 mol/l de ácido clorhídrico, y una vez con salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (221 mg).

(Intermedio C-2-4: LCMS m/z 272,3 (MH⁺), tiempo de retención 1,57 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-4-4: 5-(2-(4-(4-(3-Bromo-4-metilfenil)-3-oxobutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-4-4)

[Fórmula 152]

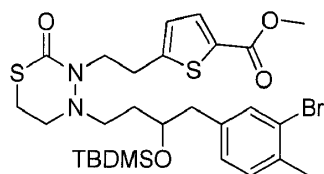


Una solución del intermedio C-2-4 (142,6 mg) en dimetoxietano (2,85 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. A la mezcla de reacción, se le añadió bromuro de vinilmagnesio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 790 µl, ALDRICH), y la mezcla se agitó durante 4 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió 2 mol/l de ácido clorhídrico, y la mezcla se agitó durante 1 minuto. Se añadió acetato de etilo a la mezcla para extracción, y la capa orgánica se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, se añadió etanol (3 ml), agua (3 ml) y el intermedio Z-3 (100 mg) al residuo resultante, y la mezcla se agitó durante una noche a 110 °C. A la mezcla de reacción, se le añadió salmuera saturada, y la mezcla se extrajo con cloroformo. La capa orgánica se secó, y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (151,9 mg).

(Intermedio Z-4-4: LCMS m/z 525,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,87 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-6-4: 5-(2-(4-(4-(3-Bromo-4-metilfenil)-3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-6-4)

[Fórmula 153]

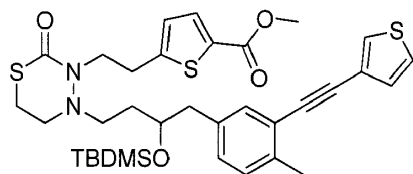


A una solución del intermedio Z-4-4 (152 mg) en metanol (2,9 ml), se le añadió tetrahidrofurano (5 ml), la mezcla se enfrió hasta 0 °C, y se añadió borohidruro de sodio (16,4 mg) a la mezcla. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 hora, y después se añadió ácido clorhídrico diluido en porciones a la mezcla de reacción hasta que la mezcla se volvió débilmente ácida. El disolvente orgánico se evaporó a presión reducida, después se añadió acetato de etilo al residuo para extracción, la capa orgánica se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida. Al residuo resultante, se le añadió sucesivamente N,N-dimetilformamida (1,4 ml), imidazol (98 mg) y *tert*-butildimetilclorosilano (131 mg), y la mezcla resultante se agitó durante una noche a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción, se le añadió 2 mol/l de ácido clorhídrico, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó sucesivamente con agua y salmuera saturada, y después se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (165,7 mg).

(Intermedio Z-6-4: LCMS m/z 641,2 (MH⁺), tiempo de retención 2,02 minutos, condiciones de LC LC-6)

Ejemplo de referencia Z-7-18: 5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(4-metil-3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-7-18)

[Fórmula 154]

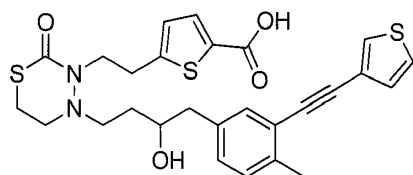


El intermedio Z-7-18 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia C-4 usando el intermedio Z-6-4 (20,0 mg) en lugar del intermedio C-2-2 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (23,4 mg).

(Intermedio Z-7-18: LCMS m/z 669,3 (MH⁺), tiempo de retención 2,25 minutos, condiciones de LC LC-6)

Ejemplo 18: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(4-metil-3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 155]

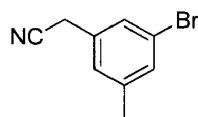


Una solución del intermedio Z-7-18 (23,4 mg) en tetrahidrofurano (0,93 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 93 µl) a la solución, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 93 µl), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas más. A la mezcla de reacción, se le añadió metanol (0,93 ml) y 1 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (0,93 ml), y la mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico, la mezcla se extrajo con acetato de etilo, y la capa orgánica se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (cloroformo/metanol) para obtener el compuesto del título (17,3 mg).

(LCMS m/z 541,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,74 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia C-1-2: 2-(3-Bromo-5-metilfenil)acetonitrilo (intermedio C-1-2)

[Fórmula 156]



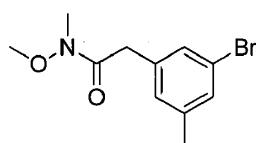
El intermedio C-1-2 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia C-1 usando 1-bromo-3,5-dimetilbenceno (4,00 g, TCl) en lugar de 2-bromo-1,4-dimetilbenceno y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (2,34 g).

(Intermedio C-1-2: Rf (TLC) = 0,64 (hexano:acetato de etilo = 2:1))

^1H -RMN (CDCl_3): δ (ppm) 7,31 (1H, m), 7,28 (1H, m), 7,09 (1H, m), 3,69 (2H, s), 2,35 (3H, s)

Ejemplo de referencia C-2-5: 2-(3-Bromo-5-metilfenil)-N-metoxi-N-metilacetamida (intermedio C-2-5)

[Fórmula 157]

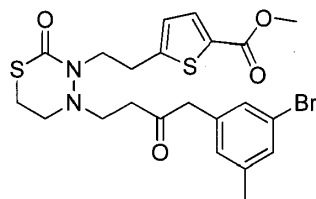


El intermedio C-2-5 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia C-2-4 usando el intermedio C-1-2 (500 mg) en lugar del intermedio C-1 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (553 mg).

(Intermedio C-2-5: LCMS m/z 272,3 (MH^+), tiempo de retención 1,57 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-4-5: 5-(2-(4-(4-(3-Bromo-5-metilfenil)-3-oxobutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-4-5)

[Fórmula 158]

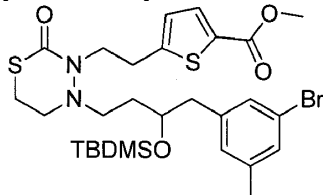


El intermedio Z-4-5 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-4-4 usando el intermedio C-2-5 (142,6 mg) en lugar del intermedio C-2-4 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (149,9 mg).

(Intermedio Z-4-5: LCMS m/z 525,1 (MH^+), tiempo de retención 1,88 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-6-5: 5-(2-(4-(4-(3-Bromo-5-metilfenil)-3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-6-5)

[Fórmula 159]

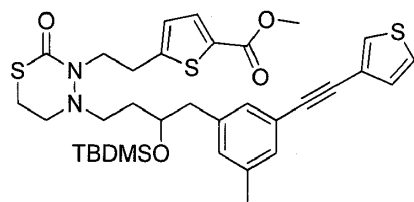


El intermedio Z-6-5 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-6-4 usando el intermedio Z-1-5 (149,9 mg) en lugar del intermedio Z-4-4 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (163,0 mg).

(Intermedio Z-6-5: LCMS m/z 641,3 (MH^+), tiempo de retención 2,00 minutos, condiciones de LC LC-6)

Ejemplo de referencia Z-7-19: 5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-metil-5-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-7-19)

[Fórmula 160]

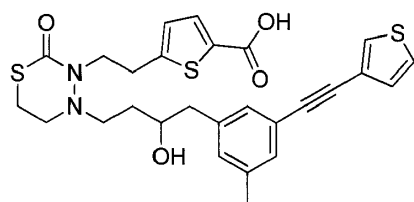


El intermedio Z-7-19 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia C-4 usando el intermedio Z-6-5 (20 mg) en lugar del intermedio C-2-2 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (19,2 mg).

(Intermedio Z-7-19: LCMS m/z 669,3 (MH⁺), tiempo de retención 2,25 minutos, condiciones de LC LC-6)

Ejemplo 19: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-metil-5-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 161]

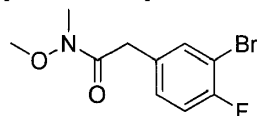


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 18 usando el intermedio Z-7-19 (19,2 mg) en lugar del intermedio Z-7-18 para obtener el compuesto del título (13,5 mg).

(LCMS m/z 541,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,74 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia C-2-6: 2-(3-Bromo-4-fluorofenil)-N-metoxi-N-metilacetamida (intermedio C-2-6)

[Fórmula 162]

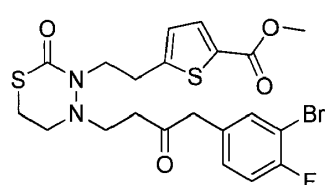


A una solución de ácido 2-(3-bromo-4-fluorofenil)acético (500 mg) en diclorometano (43 ml), se le añadió sucesivamente clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (419 mg), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (494 mg), N,N-dimetil-4-aminopiridina (26 mg) y diisopropiletilamina (1,2 ml), y la mezcla resultante se agitó durante una noche a temperatura ambiente. El disolvente de la mezcla de reacción se evaporó a presión reducida, se añadió acetato de etilo al residuo, y después la capa orgánica se lavó sucesivamente con 1 mol/l de ácido clorhídrico y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (449 mg).

(Intermedio C-2-6: LCMS m/z 276,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,37 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-4-6: 5-(2-(4-(4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-oxobutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-4-6)

[Fórmula 163]

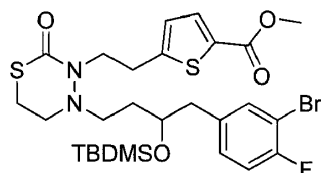


El intermedio Z-4-6 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-4-4 usando el intermedio C-2-6 (450,5 mg) en lugar del intermedio C-2-4 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (562,8 mg).

(Intermedio Z-4-6: LCMS m/z 529,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,78 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-6-6: 5-(2-(4-(4-(3-Bromo-4-fluorofenil)-3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-6-6)

[Fórmula 164]

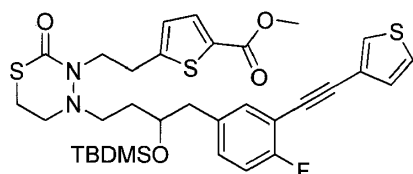


El intermedio Z-6-6 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-6-4 usando el intermedio Z-4-6 (562,8 mg) en lugar del intermedio Z-4-4 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (719,7 mg).

(Intermedio Z-6-6: LCMS m/z 645,3 (MH⁺), tiempo de retención 1,64 minutos, condiciones de LC LC-6)

Ejemplo de referencia Z-7-20: 5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(4-fluoro-3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-7-20)

[Fórmula 165]

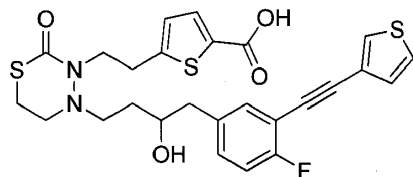


El intermedio Z-7-20 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia C-4 usando el intermedio Z-6-6 (15,0 mg) en lugar del intermedio C-2-2 y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (15,3 mg).

(Intermedio Z-7-20: LCMS m/z 673,4 (MH⁺), tiempo de retención 1,87 minutos, condiciones de LC LC-6)

Ejemplo 20: Ácido 5-(2-(4-(4-(4-fluoro-3-(tiofen-3-iletinil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 166]

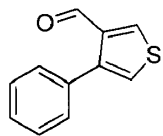


Una solución del intermedio Z-7-20 (15,3 mg) en tetrahidrofurano (345 µl) se enfrió hasta 0 °C, se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 69 µl) a la solución, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 70 µl) y tetrahidrofurano (350 µl), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas más. A la mezcla de reacción, se le añadió metanol (345 µl) y 1 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (345 µl), y la mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico y acetato de etilo para extracción, y después la capa orgánica se lavó con 1 mol/l de ácido clorhídrico, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó con una resina de intercambio aniónico para obtener el compuesto del título (15,3 mg).

(LCMS m/z 545,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,67 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia X-1: 4-Feniltiofeno-3-carboaldehído (intermedio X-1)

[Fórmula 167]

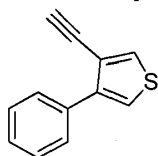


A una solución de ácido (4-formiltiofen-3-il)borónico (0,5 g, COMBI-BLOCKS) en n-butanol (32 ml), se le añadió sucesivamente bromotiofeno (1,0 ml, TCI), agua (6,4 ml), acetato de paladio (36 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenilo (132 mg) y fosfato de potasio (1,36 g), y la mezcla resultante se agitó durante una noche a 95 °C en una atmósfera de gas nitrógeno. A la mezcla de reacción, se le añadió éter dietílico, y después la capa orgánica se lavó con agua, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (445 mg) que se obtuvo.

(Intermedio X-1: LCMS m/z 189,0 (MH⁺), tiempo de retención 1,54 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia X-2: 3-Etinil-4-feniltiofeno (intermedio X-2)

[Fórmula 168]

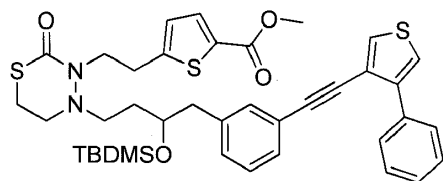


A una solución de (1-diazo-2-oxopropil)fosfonato de dimetilo (727 mg, TCI) en metanol (14,9 ml), se le añadió el intermedio X-1 (445 mg), y la mezcla se enfrió hasta 0 °C. A la mezcla de reacción, se le añadió carbonato de potasio (686 mg) en porciones, y la mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción, se le añadió cloruro de amonio acuoso saturado, y la mezcla se extrajo con éter dietílico. La capa orgánica se secó, después el disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (384 mg).

(Intermedio X-2: LCMS m/z 185,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,81 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-7-21: 5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-((4-feniltiofen-3-il)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-7-21)

[Fórmula 169]

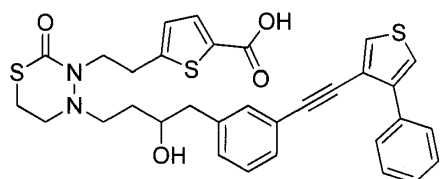


El intermedio Z-7-21 se sintetizó de acuerdo con el método descrito en ejemplo de referencia C-4 usando el intermedio Z-6 (15,0 mg) en lugar del intermedio C-2-2, y el intermedio X-2 (9,4 mg) en lugar de 3-etiniltiofeno y, por tanto, se obtuvo el compuesto del título (15,2 mg).

(Intermedio Z-7-21: LCMS m/z 731,21 (MH⁺), tiempo de retención 2,41 minutos, condiciones de LC LC-6)

Ejemplo 21: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-((4-feniltiofen-3-il)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 170]



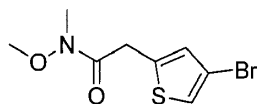
La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 18 usando el intermedio Z-7-21 (15,2 mg) en

lugar del intermedio Z-7-18 para obtener el compuesto del título (5,7 mg).

(LCMS m/z 603,0 (MH⁺), tiempo de retención 1,87 minutos, condiciones de LC LC-1)

5 Ejemplo de referencia T-2: 2-(4-Bromotiofen-2-il)-N-metoxi-N-metilacetamida (intermedio T-2)

[Fórmula 171]

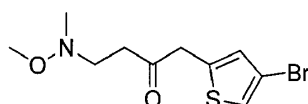


Una solución de ácido 2-(4-bromotiofen-2-il)acético (1,0 g) en diclorometano (9 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (882 mg), clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (1,04 g), N,N-dimetil-4-aminopiridina (55 mg) y diisopropiletilamina (3,38 ml) a la solución, después se añadió más diisopropiletilamina (0,35 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 41 horas. La mezcla de reacción se concentró, y después se añadió acetato de etilo y agua, se añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico para el reparto, y se realizó además extracción dos veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó sucesivamente con 1 mol/l de ácido clorhídrico, agua, hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado, agua y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio, y se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título (891 mg).

(Intermedio T-2: LCMS m/z 264,2, 266 (MH⁺), tiempo de retención 1,36 minutos, condiciones de LC LC-1)

20 Ejemplo de referencia T-3: 1-(4-Bromotiofen-2-il)-4-(metoxi(metil)amino)butan-2-ona (intermedio T-3)

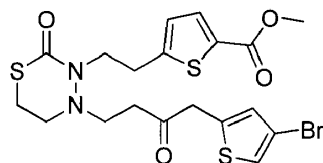
[Fórmula 172]



Una solución del intermedio T-2 (200 mg) en 1,2-dimetoxietano (7 ml) se enfrió hasta 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. A la mezcla de reacción, se le añadió bromuro de vinilmagnesio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 1,1 ml, ALDRICH), y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 2 horas y 50 minutos. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico para hacer la mezcla ácida amortiguada a 0 °C, y después la mezcla se extrajo 3 veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio, y después se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título (172,8 mg). (Intermedio T-3: LCMS m/z 292,1, 294 (MH⁺), tiempo de retención 1,55 minutos, condiciones de LC LC-1)

35 Ejemplo de referencia T-4: 5-(2-(4-(4-(4-Bromotiofen-2-il)-3-oxobutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio T-4)

[Fórmula 173]

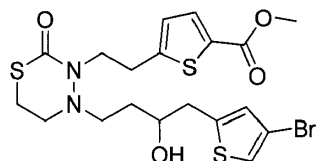


El intermedio T-3 (172,8 mg) y el intermedio Z-3 (181 mg) se disolvieron en etanol (5 ml), se añadió agua (5 ml) a la solución, y la mezcla se agitó a 105 °C durante 16,5 horas. La mezcla de reacción se vertió en salmuera saturada diluida con agua, y la mezcla se extrajo 3 veces con cloroformo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó sobre sulfato de magnesio, y después el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (n-hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (112,0 mg).

(Intermedio T-4: LCMS m/z 517,0, 519,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,76 minutos, condiciones de LC LC-1)

50 Ejemplo de referencia T-5: 5-(2-(4-(4-(4-Bromotiofen-2-il)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio T-5)

[Fórmula 174]

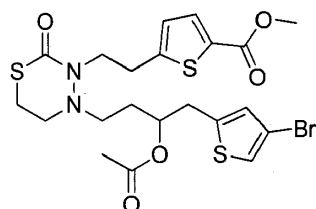


Una solución del intermedio T-4 (112 mg) en metanol (2 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió borohidruro de sodio (12,3 mg) en porciones a la solución. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, y después se vertió en agua, y la mezcla se extrajo 3 veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y después con salmuera saturada, y se secó sobre sulfato de magnesio, y después el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (99,6 mg).

(Intermedio T-5: LCMS m/z 519,08, 521,08 (MH⁺), tiempo de retención 1,70 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia T-6: 5-(2-(4-(3-Acetoxi-4-(4-bromotiufen-2-il)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio T-6)

[Fórmula 175]

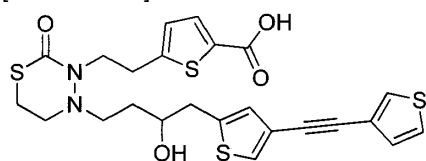


Una solución del intermedio T-5 (95,7 mg) en diclorometano (1,8 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió anhídrido acético (348 µl) y piridina (741 µL) a la solución, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas, después se añadió anhídrido acético (348 µl) a la mezcla, y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas más. Se añadió agua a la mezcla de reacción, y después la mezcla se extrajo 3 veces con cloroformo. La capa orgánica se lavó con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y después con salmuera saturada, y se secó sobre sulfato de magnesio, y después el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (n-hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título.

(Intermedio T-6: LCMS m/z 561,1, 563,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,89 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 22: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(4-(tiofen-3-iletinil)tiofen-2-il)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

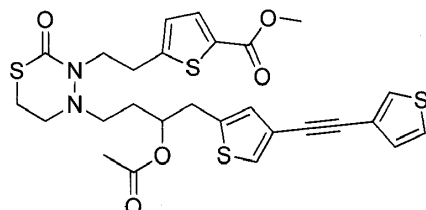
[Fórmula 176]



[Etapa a]

5-(2-(4-(3-Acetoxi-4-(4-(tiofen-3-iletinil)tiofen-2-il)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio T-7)

[Fórmula 177]



A una solución del intermedio T-6 (17,5 mg) en acetonitrilo (1 ml), se le añadió sucesivamente cloruro de

bis(acetonitrilo)paladio (1,2 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (6,7 mg), carbonato de cesio (13,2 mg) y 3-etiniltiofeno (5,6 µl), y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 17 horas en una atmósfera de gas argón. La mezcla de reacción se filtró a través de papel de filtro cubierto con Celite, y el residuo que permaneció sobre el Celite se lavó con acetato de etilo. El filtrado y el líquido de lavado se mezclaron, el disolvente se evaporó a presión reducida, y después el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (n-hexano/acetato de etilo) para obtener una mezcla (18,6 mg) del intermedio T-6 y el compuesto del título. A una solución de la mezcla resultante en acetonitrilo (2 ml), se le añadió sucesivamente cloruro de bis(acetonitrilo)paladio (1,2 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (6,7 mg), carbonato de cesio (13,2 mg) y 3-etiniltiofeno (6,14 µl), y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 19 horas en una atmósfera de gas argón. La mezcla de reacción se filtró a través de papel de filtro cubierto con Celite, y el residuo que permaneció sobre el Celite se lavó con acetato de etilo. El filtrado y el líquido de lavado se mezclaron, el disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante entonces se purificó por cromatografía en columna (n-hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (14,2 mg).

(Intermedio T-7: LCMS m/z 589,1 (MH⁺), tiempo de retención 2,03 minutos, condiciones de LC LC-1)

[Etapa b]

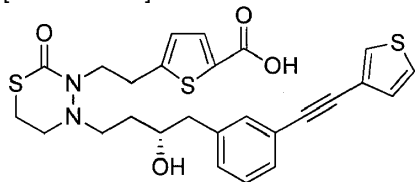
Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(4-(tiofen-3-iletinil)tiofen-2-il)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

A una solución del intermedio T-7 (14,2 mg) en tetrahidrofurano (0,36 ml), se le añadió 1 mol/l de hidróxido de litio acuoso (0,36 ml), y la mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, y se añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico (0,36 ml) a la mezcla. La mezcla se diluyó con agua, y se extrajo 3 veces con cloroformo, después la capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó sobre sulfato de magnesio, y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (cloroformo/metanol) para obtener el compuesto del título (3,5 mg).

(LCMS m/z 533,0 (MH⁺), tiempo de retención 1,64 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo 23: Ácido (S)-5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

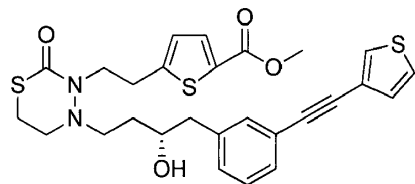
[Fórmula 178]



[Etapa a]

5-(2-(4-(3-Hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de (S)-metilo (intermedio Z-17-S)

[Fórmula 179]



El intermedio Z-17 (592 mg) se sometió a separación por HPLC usando una columna quiral (el aparato de HPLC fue el aparato de purificación preparativa producido por Japan Waters, columna quiral CHIRALCELAD-H (Daicel Corporation), eluyente etanol, caudal de 0,5 ml/minuto, tiempo de retención de 14,91 minutos) para obtener el compuesto del título (194,2 mg).

[Etapa b]

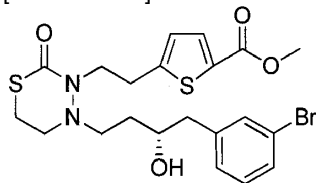
Ácido (S)-5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 1 usando el intermedio Z-17-S (41,4 mg) en lugar del intermedio Z-17 para obtener el compuesto del título (31,8 mg).

(LCMS m/z 527,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,68 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia U: 5-(2-(4-(4-(3-Bromofenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de (S)-metilo (intermedio U)

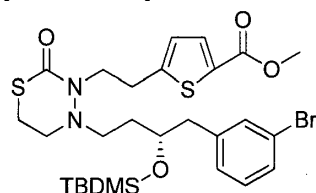
5 [Fórmula 180]



10 El intermedio Z-5 (1 g) se sometió a separación por HPLC usando una columna quiral (el aparato de HPLC fue el aparato de purificación preparativa producido por Japan Waters, columna quiral CHIRALCEL OJ-H (Daicel Corporation), eluyente metanol, caudal de 0,5 ml/minuto, tiempo de retención de 20,72 minutos) para obtener el compuesto del título (309 mg).

Ejemplo de referencia V-1: 5-(2-(4-(4-(3-Bromofenil)-3-((*tert*-butildimetilsilil)oxi)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de (S)-metilo (intermedio V-1)

15 [Fórmula 181]

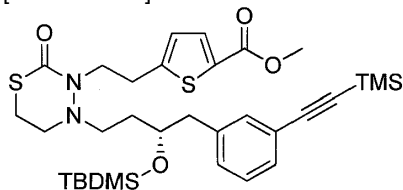


20 La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-6 usando el intermedio U (299,3 mg) en lugar del intermedio Z-5 para obtener el compuesto del título (333,9 mg).

(Intermedio V-1: LCMS m/z 627,35, 629,35 (MH⁺), tiempo de retención 1,79 minutos, condiciones de LC NLC-1)

25 **Ejemplo de referencia V-2: 5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-((trimetilsilil)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de (S)-metilo (intermedio V-2)**

[Fórmula 182]

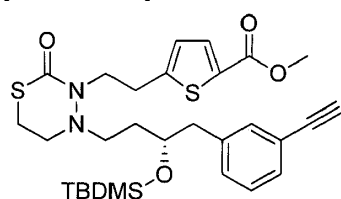


30 La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-21 usando el intermedio V-1 (333,9 mg) en lugar del intermedio Z-6 para obtener el compuesto del título (91,3 mg).

(Intermedio V-2: LCMS m/z 645,49 (MH⁺), tiempo de retención 2,38 minutos, condiciones de LC NLC-6)

35 **Ejemplo de referencia V-3: 5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-etinilfenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de (S)-metilo (intermedio V-3)**

[Fórmula 183]

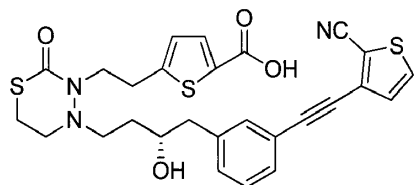


40 La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-22 usando el intermedio V-2 (91,3 mg) en lugar del intermedio Z-21 para obtener el compuesto del título (91,6 mg).

(Intermedio V-3: LCMS m/z 573,45 (MH⁺), tiempo de retención 1,41 minutos, condiciones de LC NLC-6)

Ejemplo 24: Ácido (S)-5-(2-(4-(4-(3-((2-cianotiofen-3-il)etnil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

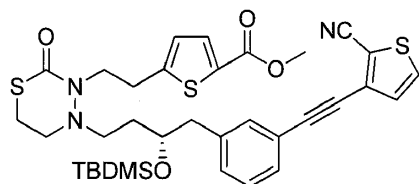
[Fórmula 184]



[Etapa a]

5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-((2-cianotiofen-3-il)etnil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de (S)-metilo (intermedio Z-24-1)

[Fórmula 185]



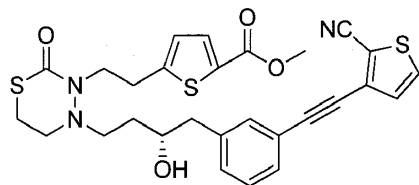
A una solución del intermedio V-3 (50,6 mg) en acetonitrilo (1 ml), se le añadió sucesivamente cloruro de bis(acetonitrilo)paladio (2,0 mg), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (11,2 mg), carbonato de cesio (51,1 mg) y 3-bromotiofeno-2-carbonitrilo (73,8 mg), y la mezcla resultante se agitó a 60 °C durante 0,75 horas en una atmósfera de gas nitrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de papel de filtro cubierto con Celite, y el residuo que permaneció sobre el Celite se lavó con un disolvente mixto de cloroformo y metanol (9:1). El filtrado y el líquido de lavado se mezclaron, el disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante entonces se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (10,1 mg).

(Intermedio Z-24-1: LCMS m/z 680,44 (MH⁺), tiempo de retención 1,73 minutos, condiciones de LC NLC-6)

[Etapa b]

5-(2-(4-(4-(3-((2-Cianotiofen-3-il)etnil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de (S)-metilo (intermedio Z-24-2)

[Fórmula 186]



A una solución del intermedio Z-24-1 (10,1 mg) en tetrahidrofurano (0,5 ml), se le añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 44,6 µl), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (9,3 mg).

(Intermedio Z-24-2: LCMS m/z 566,35 (MH⁺), tiempo de retención 1,77 minutos, condiciones de LC NLC-6)

[Etapa c]

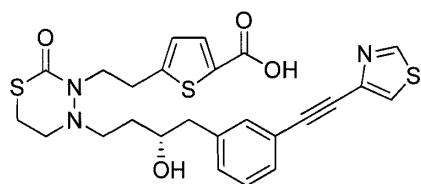
Ácido (S)-5-(2-(4-(4-(3-((2-cianotiofen-3-il)etnil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

A una solución del intermedio Z-24-2 (9,3 mg) en tetrahidrofurano (400 μ l), se le añadió 1 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (197 μ l), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 60 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico (400 μ l), la mezcla se extrajo 3 veces con cloroformo, y después la capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (metanol/cloroformo) para obtener el compuesto del título (7,5 mg).

(LCMS m/z 552,30,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,23 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo 25: Ácido (S)-5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiazol-4-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

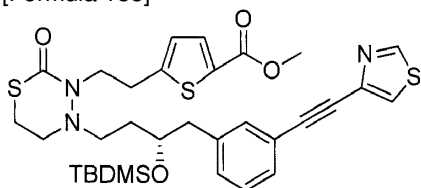
[Fórmula 187]



[Etapa a]

5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-(tiazol-4-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de (S)-metilo (intermedio Z-25-1)

[Fórmula 188]



La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en ejemplo 24, etapa a usando 4-bromotiazol (28,6 μ l) en lugar de 3-bromotiofeno-2-carbonitrilo para obtener el compuesto del título (21,0 mg).

(Intermedio Z-25-1: LCMS m/z 656,43 (MH⁺), tiempo de retención 1,37 minutos, condiciones de LC NLC-1)

[Etapa b]

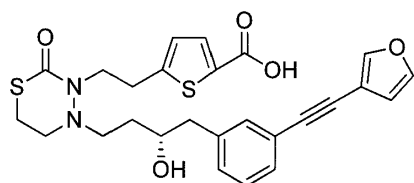
Ácido (S)-5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiazol-4-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

A una solución del intermedio Z-25-1 (21,0 mg) en tetrahidrofurano (1 ml), se le añadió fluoruro de tetrabutilamonio (solución de 1 mol/l en tetrahidrofurano, 92,6 μ l), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 hora. La mezcla de reacción se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo). A una solución del intermedio resultante (12,2 mg) en tetrahidrofurano (540 μ l) y metanol (270 μ L), se le añadió 1 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (270 μ l), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico, la mezcla se extrajo 5 veces con acetato de etilo, y después la capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (12,5 mg).

(LCMS m/z 528,29 (MH⁺), tiempo de retención 1,08 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo 26: Ácido (S)-5-(2-(4-(4-(3-(furan-3-iletinil)fenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 189]



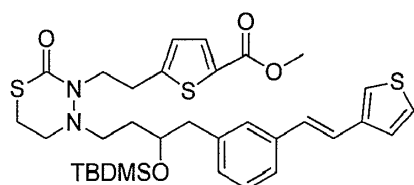
La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en ejemplo 25 usando 3-bromofurano (31,2 mg) en lugar de

4-bromotiazol, y después el resultante se purificó por cromatografía en columna (metanol/cloroformo) para obtener el compuesto del título (5,1 mg).

(LCMS m/z 511,35 (MH⁺), tiempo de retención 1,23 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo de referencia Z-27: 5-(2-(4-(3-((*tert*-Butildimetilsilil)oxi)-4-(3-(2-(tiofen-3-il)vinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de (E)-metilo (intermedio Z-27)

[Fórmula 190]

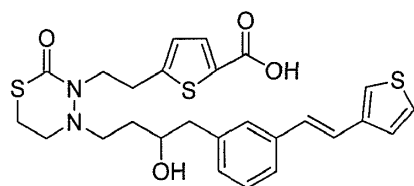


A una solución del intermedio Z-6 (50,0 mg) en 1,4-dioxano (637 µl), se le añadió sucesivamente (E)-4,4,5,5-tetrametil-2-(2-(tiofen-3-il)vinil)-1,3,2-dioxaborolano (22,6 mg, ALDRICH), cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (5,6 mg), carbonato de sodio (21,1 mg) y agua (199 µl), y la mezcla resultante se agitó a 85 °C durante 11 horas en una atmósfera de gas nitrógeno. A la mezcla de reacción, se le añadió agua, y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó, después el disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (44,5 mg).

(Intermedio Z-27: LCMS m/z 657,3 (MH⁺), tiempo de retención 1,93 minutos, condiciones de LC LC-6)

Ejemplo comparativo 27: Ácido (E)-5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(2-(tiofen-3-il)vinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 191]

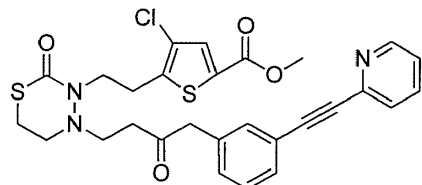


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 18 usando el intermedio Z-27 (24,8 mg) en lugar del intermedio Z-7-18 para obtener el compuesto del título (17,8 mg).

(LCMS m/z 529,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,63 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-14-5: 4-Cloro-5-(2-(2-oxo-4-(3-oxo-4-(3-(piridin-2-iletinil)fenil)butil)-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-14-5)

[Fórmula 192]

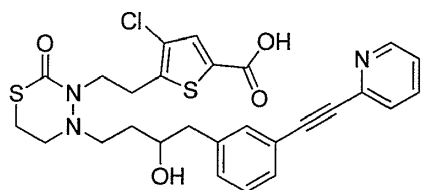


Al intermedio Z-4-3 (100 mg), se le añadió sucesivamente dietilamina (850 µl), 2-etilpiridina (22,8 µl), yoduro de cobre (I) (2,9 mg) y tetraquis(trifenilfosfina)paladio (3,9 mg), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15,5 horas en una atmósfera de gas nitrógeno. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, después el disolvente se evaporó, y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (tolueno/acetonitrilo) para obtener el compuesto del título (47,6 mg).

(Intermedio Z-14-5: LCMS m/z 570,425 (MH⁺), tiempo de retención 4,86 minutos, condiciones de LC FLC-1)

Ejemplo comparativo 28: Ácido 4-cloro-5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(piridin-2-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 193]

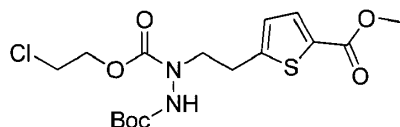


- 5 A una solución del intermedio Z-14-5 (47,6 mg) en metanol (840 μ l), se le añadió borohidruro de sodio (4,8 mg) en porciones. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 horas, y después se añadió agua y acetato de etilo a la mezcla, y la capa orgánica se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso saturado y salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y después se añadió tetrahidrofurano (640 μ l), metanol (640 μ l) y 2 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (640 μ l) al residuo. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,8 horas, y después se enfrió hasta 0 °C, y se añadió 2 mol/l de ácido clorhídrico (640 μ l) en porciones a la mezcla. A la mezcla de reacción, se le añadió acetato de etilo, y la capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó. El disolvente se evaporó a presión reducida, y el residuo resultante se purificó por cromatografía de capa fina (tolueno/etanol/ácido acético) para obtener el compuesto del título (15,0 mg).

15 (LCMS m/z 556,023 (MH⁺), tiempo de retención 4,49 minutos, condiciones de LC FLC-1)

Ejemplo de referencia Z-29-1: 1-(2-Cloroetil) 1-(2-(5-(metoxicarbonil)tiofen-2-il)etil)hidrazina-1,2-dicarboxilato de 2-terc-butilo (intermedio Z-29-1)

20 [Fórmula 194]

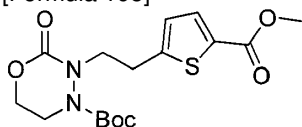


- 25 A una solución del intermedio A-6 (5,0 g) en acetonitrilo (165 ml), se le añadió carbonato de potasio (0,46 g), y la mezcla se enfrió hasta 0 °C. Se añadió lentamente cloroformiato de 2-cloroetilo (2,07 ml) a la mezcla, y la mezcla resultante se agitó a la misma temperatura durante 1 hora. A la mezcla de reacción, se le añadió agua, y la mezcla resultante se calentó hasta temperatura ambiente, y se extrajo 3 veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y después con salmuera saturada, y se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (8,34 g).

30 (Intermedio Z-29-1: LCMS m/z 307,14, 309,11 (MH⁺-Boc), tiempo de retención 1,64 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-29-2: 3-(2-(5-(Metoxicarbonil)tiofen-2-il)etil)-2-oxo-1,3,4-oxadiazinano-4-carboxilato de terc-butilo (intermedio Z-29-2)

35 [Fórmula 195]

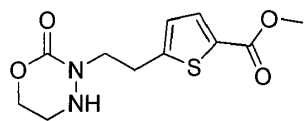


- 40 Una solución del intermedio Z-29-1 (8,34 g) en DMF (140 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió hidruro de sodio (55 %, 0,87 g) en porciones durante 30 minutos, y la mezcla se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se devolvió hasta temperatura ambiente, y se agitó durante 1 hora, después se añadió hidruro de sodio (55 %, 0,1 g) a la mezcla de nuevo a 0 °C, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, se añadió agua, y la mezcla resultante se extrajo 4 veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó dos veces con agua, y una vez con salmuera saturada, y se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo para obtener el compuesto del título (1,75 g).

(Intermedio Z-29-2: LCMS m/z 371,3 (MH⁺), tiempo de retención 1,51 minutos, condiciones de LC LC-1)

- 50 **Ejemplo de referencia Z-29-3: 5-(2-(2-Oxo-1,3,4-oxadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-29-3)**

[Fórmula 196]

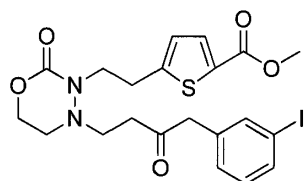


Una solución del intermedio Z-29-2 (1,75 g) en diclorometano (25 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió ácido trifluoroacético (12,5 ml) a la solución, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C, se neutralizó con hidróxido de sodio acuoso 5 M, y después se extrajo 3 veces con cloroformo. La capa orgánica se lavó con agua, y después se secó, y el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó con una columna corta de gel de sílice (cloroformo, después acetato de etilo), y después el sólido depositado se lavó con éter dietílico para obtener el compuesto del título (0,90 g).

(Intermedio Z-29-3: LCMS m/z 271,2 (MH⁺), tiempo de retención 0,94 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-29-4: 5-(2-(4-(4-(3-Yodofenil)-3-oxobutil)-2-oxo-1,3,4-oxadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-29-4)

[Fórmula 197]



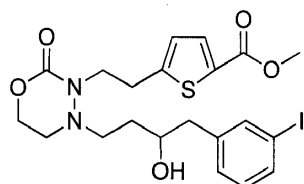
Una solución del intermedio C-2-2 (250 mg) en DME (5 ml) se enfrió hasta 0 °C en un flujo de nitrógeno, se añadió gota a gota bromuro de vinilmagnesio (solución 1 M, 1,2 ml) a la solución, y la mezcla se agitó a la misma temperatura durante 2 horas. La mezcla de reacción se hizo ácida mediante la adición de ácido clorhídrico 2 M, y después se añadió agua a la mezcla, y la mezcla resultante se extrajo 3 veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó dos veces con agua, y se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida.

A un matraz que contenía el intermedio Z-29-3 (110,7 mg) y agua (3,3 ml), se le añadió una solución del residuo obtenido anteriormente en etanol (3,3 ml), y la mezcla se agitó a una temperatura externa de 110 °C durante 15 horas. La mezcla de reacción se devolvió hasta temperatura ambiente, y después se vertió en agua, y la mezcla resultante se extrajo 3 veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (hexano/acetato de etilo para obtener el compuesto del título (126,2 mg).

(Intermedio Z-29-4: LCMS m/z 541,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,66 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-29-5: 5-(2-(4-(3-Hidroxi-4-(3-yodofenil)butil)-2-oxo-1,3,4-oxadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-29-5)

[Fórmula 198]

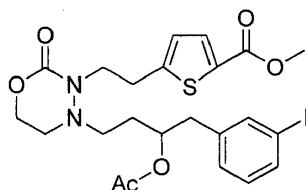


A una solución del intermedio Z-29-4 (58,1 mg) en metanol (1 ml), se le añadió borohidruro de sodio (6,1 mg), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió agua a la mezcla, y la mezcla resultante se extrajo 3 veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada, y se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (61,4 mg).

(Intermedio Z-29-5: LCMS m/z 545,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,60 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-29-6: 5-(2-(4-(3-Acetoxi-4-(3-yodofenil)butil)-2-oxo-1,3,4-oxadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-29-6)

[Fórmula 199]

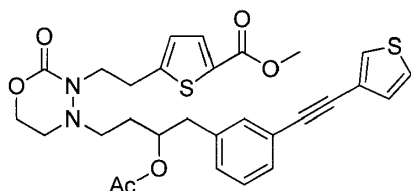


El intermedio Z-29-5 (61,4 mg) se disolvió en diclorometano (2 ml), se añadió anhídrido acético (0,27 ml) y piridina (0,23 ml) a la solución, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente 5,5 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió agua, y la mezcla resultante se extrajo 3 veces con cloroformo. La capa orgánica se lavó con agua, y se secó, y después el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna corta para obtener el compuesto del título (71,8 mg).

(Intermedio Z-29-6: LCMS m/z 587,26 (MH⁺), tiempo de retención 1,82 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia Z-29-7: 5-(2-(4-(3-Acetoxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-oxadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-29-7)

[Fórmula 200]

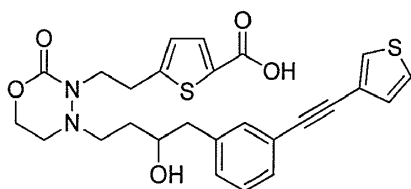


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo de referencia Z-14 usando el intermedio Z-29-6 (71,8 mg) en lugar del intermedio Z-4-2 para obtener el compuesto del título (66,4 mg).

(Intermedio Z-29-7: LCMS m/z 567,36 (MH⁺), tiempo de retención 1,94 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo comparativo 29: Ácido 5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-oxadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

[Fórmula 201]

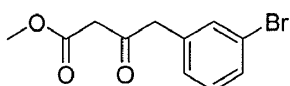


La síntesis se realizó de acuerdo con el método descrito en el ejemplo 22, etapa b usando el intermedio Z-29-7 (66,4 mg) en lugar del intermedio T-7 para obtener el compuesto del título (45,6 mg).

(LCMS m/z 509,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,53 minutos, condiciones de LC LC-1)

Ejemplo de referencia D-2: 4-(3-Bromofenil)-3-oxobutanoato de metilo (intermedio D-2)

[Fórmula 202]



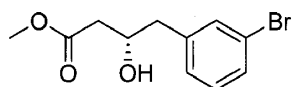
A una solución de malonato de monometil potasio (0,885 kg), se le añadió THF (4,077 kg) y cloruro de magnesio (0,47 kg), y la mezcla se agitó a 50 °C durante 10 minutos. A esta mezcla, se le añadió una mezcla de reacción obtenida añadiendo una solución de carbonildiimidazol (0,801 kg) en DMF (4,025 kg) a una solución de ácido 3-bromofenilacético (1,005 kg) en THF (2,023 kg), y agitando la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió más THF (0,508 kg) a la mezcla de reacción, y la mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se añadió acetato de etilo (8,071 kg) a la mezcla, la capa orgánica se lavó dos veces con ácido cítrico acuoso al 20 % (6,032 kg), y después el disolvente se evaporó a presión

reducida para obtener un concentrado (2,358 kg). A este concentrado, se le añadió acetato de etilo (1,011 kg) para obtener una solución que contenía el intermedio D-2 (3,369 kg). La solución que contenía el intermedio D-2 se mezcló con una solución obtenida mediante una operación similar. A esta mezcla (6,770 kg), se le añadió acetato de etilo (6,063 kg), y se le añadió más hidrogenocarbonato de sodio acuoso al 5 % (10,055 kg) y cloruro de sodio (0,506 kg) para lavar la capa orgánica. Se añadió hidrogenocarbonato de sodio acuoso al 5 % (10,054 kg) y cloruro de sodio (0,503 kg) para lavar más la capa orgánica. La capa orgánica se lavó más con cloruro de sodio acuoso al 20 % (10,064 kg), se añadió acetato de etilo (1,01 kg), y después el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (2,52 kg).

(LCMS m/z 268,9, 270,9 (MH⁺), tiempo de retención 1,44 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo de referencia D-3: (S)-4-(3-Bromofenil)-3-hidroxi-2-metoxibutanoato de metilo (intermedio D-3)

[Fórmula 203]

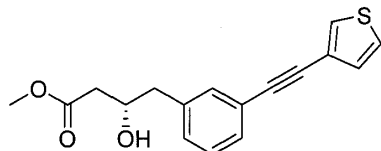


Al intermedio D-2 (2,52 kg), se le añadió metanol (14,325 kg), agua (0,237 kg) y [NH₂Me₂][(RuCl((S)-dm-segphos))₂(u-Cl)₃] (82,46 g, TAKASAGO), la mezcla se agitó a 60 °C durante 6 horas en una atmósfera de hidrógeno, y después el disolvente se evaporó a presión reducida. Se añadió tolueno (20,70 kg) y QuadraSil AP (0,60 kg, JOHNSON) al residuo, la mezcla se agitó a 60 °C durante 1 hora, después la mezcla de reacción se filtró, y el residuo de filtración se lavó con tolueno (2,066 kg). El disolvente del filtrado se evaporó a presión reducida para obtener un concentrado (5,68 kg), y después, al concentrado, se le añadió gota a gota n-heptano (1,22 kg) a 10 °C durante 15 minutos, y se añadió gota a gota más n-heptano (1,22 kg) a 5 °C durante 50 minutos. La mezcla de reacción se agitó tal cual estaba a 5 °C durante 45 minutos, y después se filtró. El residuo de filtración se lavó con una mezcla de n-heptano (0,48 kg) y tolueno (0,24 kg), y se secó para obtener el compuesto del título (1,923 kg).

(LCMS m/z 273,0, 275,1 (MH⁺), tiempo de retención 1,36 minutos, condiciones de LC NLC-1) (LC quiral: tiempo de retención 21,1 minutos, condiciones de LC LC-1 quiral)

Ejemplo de referencia D-35: (S)-3-Hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butanoato de metilo (intermedio D-35)

[Fórmula 204]

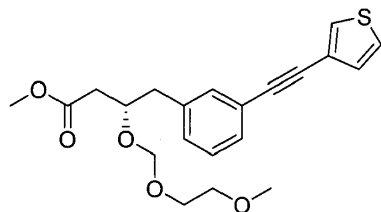


Al intermedio D-3 (558 g), se le añadió acetonitrilo (1386 g), carbonato de cesio (665,7 g), X-Phos (48,7 g, Nippon Kagaku) y dicloruro de bis(acetonitrilo)paladio (II) (13,28 g, TCI), y se añadió gota a gota una solución de 3-etiniltiofeno (287,3 g) en acetonitrilo (277,2 g) durante 30 minutos en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 30 minutos, y después a 60 °C durante 90 minutos. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente, se añadió tolueno (1208,3 g) y agua (3488,2 g) a la mezcla, y la mezcla resultante se agitó durante 20 minutos, y después se filtró a través de Celite. El residuo de filtración se lavó con tolueno (2416,3 g), el filtrado se agitó durante 10 minutos, y después se dejó reposar hasta que se separó en una capa orgánica y una capa acuosa, y la capa acuosa se retiró. La capa orgánica se lavó con agua (2232,3 g), y después el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (753,9 g).

(LCMS m/z 301,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,65 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo de referencia D-50: (S)-3-((2-Metoxietoxi)metoxi)-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butanoato de metilo (intermedio D-50)

[Fórmula 205]

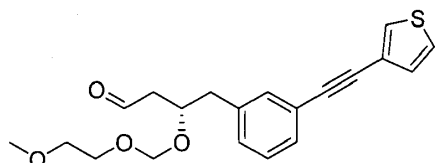


Al intermedio D-35 (753,5 g), se le añadió tolueno (2588,1 g), diisopropiletilamina (334,3 g) y cloruro de 2-metoxietoximetilo (322,2 g) en una atmósfera de nitrógeno, y la mezcla se agitó a 80 °C durante 150 minutos. La mezcla de reacción se enfrió, se añadió agua (3107,7 g) a la mezcla, y la mezcla resultante se agitó durante 10 minutos, y después se filtró. El residuo de filtración se lavó con tolueno (1031,6 g), el filtrado se dejó reposar hasta que se separó en una capa orgánica y una capa acuosa, y la capa acuosa se retiró. La capa orgánica se lavó con agua (2071,9 g), y después el disolvente se evaporó a presión reducida para obtener una sustancia oleosa que contenía el intermedio D-50 (915,8 g). A esta sustancia oleosa que contenía el intermedio D-50 (915,4 g), se le añadió metanol (2310,7 g) y carbono activado Shirasagi A (292,3 g, Japan EnviroChemicals), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se filtró con papel de filtro. El residuo de filtración se lavó con metanol (928,8 g), después el filtrado se filtró a través de un filtro de membrana que tenía un diámetro de poro de 0,5 µm, y el residuo de filtración se lavó con metanol (464,2 g). El filtrado se concentró, se añadió tolueno (2479,1 g) y QuadraSil MTU (349,6 g, JOHNSON) al concentrado, y la mezcla se agitó a 40 °C durante 1 hora, y después se filtró con papel de filtro. El residuo de filtración se lavó con tolueno (1008,0 g), después el filtrado se filtró a través de un filtro de membrana que tenía un diámetro de poro de 0,5 µm, y el residuo de filtración se lavó con tolueno (503,8 g). El filtrado se concentró a presión reducida para obtener el compuesto del título (710,9 g).

(LCMS m/z 406,2 (M⁺NH₄⁺), tiempo de retención 1,88 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo de referencia D-60: (S)-3-((2-Metoxietoxi)metoxi)-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butanal (intermedio D-60)

[Fórmula 206]

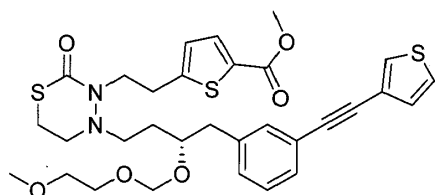


Al intermedio D-50 (355,3 g), se le añadió tolueno (2740,1 g) en una atmósfera de nitrógeno, y la mezcla se enfrió hasta -83 °C. A esta mezcla, se le añadió gota a gota una solución a 1 mol/l de hidruro de diisobutilaluminio en tolueno (571,6 g) durante 90 minutos. A la mezcla de reacción, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico (1884,1 g), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, se añadió tolueno (64,3 g) a la mezcla, la mezcla resultante se agitó durante 10 minutos, y después se dejó reposar hasta que se separó en una capa orgánica y una capa acuosa, y la capa acuosa se retiró. La capa orgánica se lavó sucesivamente con 1 mol/l de ácido clorhídrico (1004,9 g), hidrogenocarbonato de sodio acuoso al 1 % (1997,8 g) y agua (1978,1 g), y después se filtró a través de un filtro de membrana que tenía un diámetro de poro de 0,5 µm. El residuo de filtración se lavó con tolueno (214,3 g) para obtener una solución de tolueno (4061,0 g) que contenía el compuesto del título (248,5 g).

(LCMS m/z 376,2 (M⁺NH₄⁺), tiempo de retención 1,80 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo de referencia Z-70: (S)-5-(2-(4-(3-((2-Metoxietoxi)metoxi)-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-70)

[Fórmula 207]



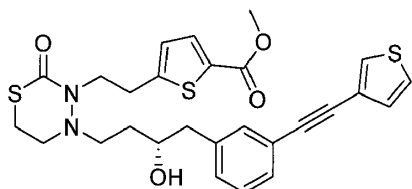
Al intermedio Z-3 (286,3 g), se le añadió tolueno (1959,6 g), ácido acético (474,5 g) y triacetoxiborohidruro de sodio (498,5 g) en una atmósfera de nitrógeno. El disolvente de la solución en tolueno (7927,0 g) que contenía el intermedio D-60 (460,28 g) se evaporó a presión reducida para obtener una solución concentrada del intermedio D-60 (1503,9 g), y esta solución se añadió a la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 50 minutos. Se añadió tolueno

(245 g) a la mezcla de reacción, y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas, y después se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso al 5 % (7326,6 g), hidrogenocarbonato de sodio acuoso al 5 % (7327,2 g) y agua (7071,4 g). El disolvente se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (903,8 g).

5 (LCMS m/z 629,29 (MH⁺), tiempo de retención 2,05 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo de referencia Z-17-S: (S)-5-(2-(4-(3-Hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxilato de metilo (intermedio Z-17-S)

10 [Fórmula 208]



15 Al intermedio Z-70 (903,5 g), se le añadió metanol (4293,5 g) y carbono activado Shirasagi A (90,35 g, Japan EnviroChemicals), la mezcla de reacción se agitó a 40 °C durante 1 hora, y después se filtró, y el residuo de filtración se lavó con metanol (715,1 g). Al filtrado, se le añadió ácido clorhídrico al 36 % (588,6 g), la mezcla se agitó a 40 °C durante 6 horas, después se añadió tolueno (2406,8 g) a la mezcla, y la mezcla resultante se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se lavó sucesivamente con hidrogenocarbonato de sodio acuoso al 5 % (9765,4 g) y agua (1685,1 g), y después el disolvente se evaporó a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía en columna (n-heptano/acetato de etilo) para obtener el compuesto del título (471,6 g).

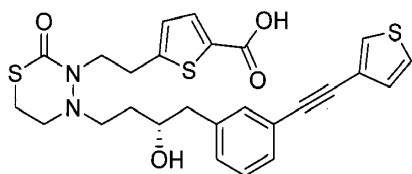
20

(LCMS m/z 541,19 (MH⁺), tiempo de retención 1,87 minutos, condiciones de LC NLC-1)

Ejemplo 30: Ácido (S)-5-(2-(4-(3-hidroxi-4-(3-(tiofen-3-iletinil)fenil)butil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)tiofeno-2-carboxílico

25

[Fórmula 209]



30 Al intermedio Z-17-S (469,5 g), se le añadió THF (2393,3 g) y carbono activado Shirasagi A (94,0 g, Japan EnviroChemicals), la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se filtró, y el residuo de filtración se lavó con THF (1597,1 g). Al filtrado, se le añadió THF (378,9 g), metanol (1421,8 g) y 1 mol/l de hidróxido de sodio acuoso (1728,2 g), y la mezcla se agitó durante 17 horas. A la mezcla de reacción, se le añadió tolueno (2331,5 g) y agua (1346,5 g), la mezcla se agitó, y se dejó reposar hasta que se separó en una capa orgánica y una capa acuosa, y la capa orgánica se retiró. A la capa acuosa, se le añadió una mezcla de tolueno (2332 g), THF (1596 g) y metanol (710 g), la mezcla resultante se agitó, y se dejó reposar hasta que se separó en una capa orgánica y una capa acuosa, y la capa orgánica se retiró. Después, se realizó lavado con una mezcla de tolueno, THF y metanol 3 veces de una manera similar. A la capa acuosa, se le añadió tolueno (4663,3 g), la mezcla se agitó, y se dejó reposar hasta que se separó en una capa orgánica y una capa acuosa, y la capa orgánica se retiró. A la capa acuosa, se le añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico hasta que el pH de la mezcla llegó a ser 7,0, después se añadió acetato de etilo (2425,9 g), se añadió 1 mol/l de ácido clorhídrico más hasta que el pH de la mezcla llegó a ser 2,2, la mezcla se agitó durante 10 minutos, y después se dejó reposar hasta que se separó en una capa orgánica y una capa acuosa, y la capa acuosa se retiró. A la capa orgánica, se le añadió acetato de etilo (1347,1 g) y agua (897,5 g), la mezcla se agitó durante 10 minutos, y después se dejó reposar hasta que se separó en una capa orgánica y una capa acuosa, y la capa acuosa se retiró. El disolvente de la capa orgánica se evaporó a presión reducida para obtener un residuo que contenía el compuesto del título (358,6 g). A este residuo que contenía el compuesto del título (358,3 g), se le añadió metanol (1860,0 g) y carbono activado Shirasagi A (47,6 g, Japan EnviroChemicals), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se filtró a través de un filtro de membrana que tenía un diámetro de poro de 0,5 μm, y el residuo de filtración se lavó con metanol (2231,2 g). Al filtrado, se le añadió carbono activado Shirasagi A (188,6 g, Japan EnviroChemicals), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se filtró a través de papel de filtro, y el residuo de filtración se lavó con metanol (1490,5 g). El filtrado se filtró a través de un filtro de membrana que tenía un diámetro de poro de 0,2 μm, y el residuo de filtración se lavó con metanol (743,7 g). Al filtrado, se le añadió carbono activado Shirasagi A (94,0 g, Japan EnviroChemicals), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se filtró a través de un filtro de membrana que tenía un diámetro de poro de 0,2

50

µm, y el residuo de filtración se lavó con metanol (2231,2 g). Al filtrado, se le añadió carbono activado Shirasagi A (94,1 g, Japan EnviroChemicals), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se filtró a través de un filtro de membrana que tenía un diámetro de poro de 0,2 µm, y el residuo de filtración se lavó con metanol (742,9 g). El disolvente del filtrado se evaporó a presión reducida para obtener el compuesto del título (160,1 g).

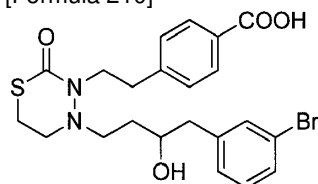
(LCMS m/z 527,2 (MH⁺), tiempo de retención 1,26 minutos, condiciones de LC NLC-1)

(LC quiral: tiempo de retención: 21,3 minutos, condiciones de LC LC-2 quiral)

El compuesto del ejemplo 30 es el mismo que el compuesto del ejemplo 23.

Ejemplo comparativo 1: Ácido 4-(2-(4-(4-(3-bromofenil)-3-hidroxibutil)-2-oxo-1,3,4-tiadiazinan-3-il)etil)benzoico

[Fórmula 210]



El compuesto del título puede obtenerse mediante el método de preparación descrito en la publicación de patente internacional WO2006/080323 (documento que es patente 8), ejemplo IAH-H072.

Ejemplo de preparación 1

Se añadió diclorometano (20 ml) a poli(ácido láctico-co-glicólico) (RESOMER RG504, producido por Evonik Industries, 2,0 g), que se disolvió usando una máquina de lavado ultrasónico, y el compuesto del ejemplo 23 (1,6 mg) se añadió adicionalmente a la solución, y se disolvió. Esta solución se añadió en porciones a una solución acuosa al 0,1 % de poli(alcohol vinílico) (300 ml) agitado a 3000 rpm usando una homomezcladora (MARK II producida por PRIMIX Corporation), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos para obtener una emulsión de aceite en agua. Esta emulsión de aceite en agua se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, se volatilizó el diclorometano para que solidificara la fase oleosa, y el resultante se centrifugó (3000 rpm, 20 °C, 15 minutos) usando una máquina de centrifugación. Después de retirar el sobrenadante, los precipitados se dispersaron en una solución al 0,1 % (p/v) de Tween 80, la dispersión se pasó a través de tamices de 53 µm y 20 µm, y la muestra que permaneció en el tamiz de 20 µm se centrifugó (3000 rpm, 20 °C, 15 minutos). El sobrenadante se retiró, se añadió agua purificada a los precipitados, la mezcla se centrifugó de nuevo (3000 rpm, 20 °C, 15 minutos), y el sobrenadante se retiró. Los precipitados se congelaron a -80 °C, y se secaron a presión reducida (48 horas) para obtener microesferas que contenían fármaco (1,2 g) que tenían una relación de fármaco encapsulado de un 0,06 %.

Ejemplo de preparación 2

Se añadió diclorometano (20 ml) a poli(ácido láctico-co-glicólico) (RESOMER RG504, producido por Evonik Industries, 2,0 g), que se disolvió usando una máquina de lavado ultrasónico, y el compuesto del ejemplo 23 (20 mg) se añadió adicionalmente a la solución, y se disolvió. Esta solución se añadió en porciones a una solución acuosa al 0,1 % de poli(alcohol vinílico) (300 ml) agitado a 3.000 rpm usando una homomezcladora (MARK II producida por PRIMIX Corporation), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos para obtener una emulsión de aceite en agua. Esta emulsión de aceite en agua se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, se volatilizó el diclorometano para que solidificara la fase oleosa, y el resultante se centrifugó (3000 rpm, 20 °C, 15 minutos) usando una máquina de centrifugación. Después de retirar el sobrenadante, los precipitados se dispersaron en una solución al 0,1 % (p/v) de Tween 80, la dispersión se pasó a través de tamices de 53 µm y 20 µm, y la muestra que permaneció en el tamiz de 20 µm se centrifugó (3000 rpm, 20 °C, 15 minutos). El sobrenadante se retiró, después se añadió agua purificada a los precipitados, la mezcla se centrifugó de nuevo (3000 rpm, 20 °C, 15 minutos), y el sobrenadante se retiró. Los precipitados se congelaron a -80 °C, y se secaron a presión reducida (48 horas) para obtener microesferas que contenían fármaco (1,3 g) que tenían una relación de fármaco encapsulado de un 0,8%.

Ejemplo de preparación 3

Se añadió diclorometano (20 ml) a poli(ácido láctico-co-glicólico) (RESOMER RG504, producido por Evonik Industries, 2,0 g), que se disolvió usando una máquina de lavado ultrasónico, y el compuesto del ejemplo 23 (124 mg) se añadió adicionalmente a la solución, y se disolvió. Esta solución se añadió en porciones a una solución acuosa al 0,1 % de poli(alcohol vinílico) (300 ml) agitado a 3000 rpm usando una homomezcladora (MARK II producida por PRIMIX Corporation), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos para obtener una emulsión de aceite en agua. Esta emulsión de aceite en agua se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, se volatilizó el diclorometano para que solidificara la fase oleosa, y el resultante se centrifugó (3000 rpm, 20 °C, 15 minutos) usando

una máquina de centrifugación. Después de retirar el sobrenadante, los precipitados se dispersaron en una solución al 0,1 % (p/v) de Tween 80, la dispersión se pasó a través de tamices de 53 μm y 20 μm , y la muestra que permaneció en el tamiz de 20 μm se centrifugó (3000 rpm, 20 °C, 15 minutos). El sobrenadante se retiró, después se añadió agua purificada a los precipitados, la mezcla se centrifugó de nuevo (3000 rpm, 20 °C, 15 minutos), y el sobrenadante se retiró. Los precipitados se congelaron a -80 °C, y se secaron a presión reducida (48 horas) para obtener microesferas que contenían fármaco (1,1 g) que tenían una relación de fármaco encapsulado de un 3,7%.

<Ejemplo de ensayo 1: Medición de la actividad agonista de EP₄>

Para investigar la actividad agonista del receptor EP₄ de los compuestos de la presente invención, se midió la producción de AMPc en células HEK293 que se prepararon para que expresaran de forma estable el receptor EP₄ humano.

(1) Método de medición

Usando la base de datos Refseq, se buscó el receptor de prostaglandina E. Como resultado, se obtuvo la información génica del receptor EP₄ humano (NM_000958). Basándose en esta información de secuencia, se clonó el gen del receptor EP₄ humano por PCR de una manera convencional usando ADNc humano como molde, y se establecieron células HEK293 que se prepararon para que expresaran de forma estable el receptor EP₄ humano. Cuando se descongelaron células criopreservadas de esta cepa y se usaron, las células se subcultivaron tres veces o más dentro de un determinado periodo de tiempo (aproximadamente 1 a 2 semanas) usando medio Eagle modificado de Dulbecco (el medio Eagle modificado de Dulbecco puede abreviarse en adelante como DMEM) que contenía FBS al 10 %, se usaron 50 unidades de cada uno de penicilina y estreptomina. Las células subcultivadas se inocularon en pocillos de una placa de 96 pocillos recubierta de poli-D-lisina a una densidad de 2×10^4 a $2,5 \times 10^4$ células/pocillo, y se cultivó durante un día. El medio de los pocillos se retiró por succión, después se añadió DMEM (80 μl) a cada pocillo, y se realizó incubación a 37 °C durante 15 minutos. Después, se añadieron 20 μl de un medio de ensayo (DMEM que contenía HEPES 100 mM e IBMX 1 mM) que contenía PGE₂ o un compuesto de ensayo (a una concentración 5 veces mayor que la concentración final) a cada pocillo para iniciar la reacción. Se permitió la reacción a 37 °C durante 30 minutos, después se retiró el medio por succión, se añadió tampón de ensayo/lisis (100 μl) contenido en el kit de cribado de AMPc (producido por Applied Biosystems) para terminar la reacción. Después, la mezcla de reacción se incubó a 37 °C durante 30 minutos para preparar una muestra para la cuantificación de AMPc, y se cuantificó la cantidad de AMPc en la muestra de acuerdo con el método indicado en el kit de cribado de AMPc. Mediante regresión no lineal de la concentración del compuesto y la cantidad de AMPc, se calculó la concentración del compuesto requerida para aumentar el AMPc hasta un 50 % del aumento máximo (valor de CE₅₀) usando Kaleida Graph.

(2) Resultados de medición

Como se muestra en la tabla 1, los compuestos de la presente invención mostraron actividad agonista de EP₄ superior. En particular, mostraron actividad agonista de EP₄ superior incluso en comparación con la del compuesto del ejemplo comparativo 1, que es un compuesto conocido similar a los compuestos de la presente invención.

Para los compuestos para los que se midió la actividad agonista de EP₄ dos o más veces, se indica el promedio de los valores, si es necesario. El n.º de ej. mencionado en la tabla significa número de ejemplo.

[Tabla 1]

N.º ej.	CE ₅₀ (nM)
1	0,045
2	0,035
3	0,13
4	0,34
5	0,3
6	0,56
7	0,09
8	0,08
9	0,09
10	0,065
11	0,09
12	0,6
13	0,34
14	0,3
15	0,63
16	0,4
17	0,026
18	0,1
19	0,1

20	0,07
21	0,5
22	0,055
23	0,033
24	0,3
25	0,095
26	0,17
27	0,09
28	0,087
29	0,16
Ejemplo comparativo 1	2,5

<Ejemplo de ensayo 2: Ensayo de unión a receptor usando células que expresan el receptor EP humano>

Para evaluar la selectividad por cada subtipo de receptor EP, se midieron las actividades de inhibición de unión a [³H]PGE₂ de los compuestos de ensayo para membranas celulares sobre las que se expresaban de forma estable los receptores EP₂ humano, EP₃ humano y EP₄ humano.

(1) Método de medición

En cuanto a las fracciones de membrana de los receptores de prostaglandina E EP₂, EP₃ y EP₄, se usaron 10,0 µg proteína/tubo cada uno de HTS185M, HTS092M y HTS142M de Merck Millipore, respectivamente. Cada fracción de membrana se incubó con una mezcla de reacción (250 µl/tubo) que contenía un compuesto de ensayo y [³H]PGE₂ a 25 °C durante 60 minutos. Las concentraciones finales de [³H]PGE₂ fueron 2,56 nmol/l en el sistema de medición de EP₂, 1,54 nmol/l en el sistema de medición de EP₃, y 1,24 nmol/l en el sistema de medición de EP₄. Después de la reacción, la fracción de membrana se recogió sobre papel de filtro usando un recolector celular, el papel de filtro se transfirió a un vial de medición, y la medición se realizó en un contador de centelleo líquido.

La unión no específica se determinó como unión observada en presencia de cantidad en exceso (10 µM) de PGE₂ sin marcar. La medición de la actividad de inhibición de unión a [³H]PGE₂ de un compuesto de ensayo se realizó añadiendo el compuesto de ensayo a diversas concentraciones. Se usaron los siguientes tampones para la reacción.

Tampón para EP₂: 50 mmol/l de HEPES-NaOH (pH 7,4) que contenía 5 mmol/l de MgCl₂, 1 mmol/l de CaCl₂ y un 0,2 % de BSA

Tampón para EP₃: 50 mmol/l de tampón Tris-HCl que contenía 10 mmol/l de MgCl₂ y 1 mmol/l de EDTA

Tampón para EP₄: 50 mmol/l de HEPES-NaOH (pH 7,4) que contenía 5 mmol/l de MgCl₂, 1 mmol/l de CaCl₂ y un 0,2 % de BSA

Se creó una curva de respuesta a la dosis para la actividad de inhibición de la unión a [³H]PGE₂ para cada compuesto de ensayo, y se calculó la concentración del compuesto de ensayo que inhibe un 50 % de la unión de PGE₂ y el receptor (valor de CI₅₀).

(2) Resultados de medición

Como se muestra en la tabla 2, los compuestos de la presente invención mostraron selectividad por EP₄ superior. El n.º de ej. mencionado en la tabla significa número de ejemplo.

[Tabla 2]

N.º ej.	CI ₅₀ (nM)		
	EP ₂	EP ₃	EP ₄
23	> 1000	> 1000	4,35
24	> 1000	> 1000	43,0
25	> 1000	> 1000	10,9
26	> 1000	> 1000	16,2

<Ejemplo de ensayo 3: Acción de neoosteogénesis en fémur de rata>

Para investigar la acción promotora de la osteogénesis de los compuestos de la presente invención, se permitió que los compuestos actuaran sobre fémures de rata, y se evaluó el nuevo hueso formado.

(1) Método de medición

Se fijaron ratas SD hembra (Charles River Japan) de ocho semanas de edad en posición acostada de lado bajo anestesia triple (clorhidrato de medetomidina, midazolam y tartrato de butorfanol). Después de afeitar el pelo de la región femoral izquierda con una maquinilla de cortar pelo, y de que se realizara tratamiento de desinfección con etanol

al 70 %, se llenó una solución de gel solidificada *in situ* de un compuesto de ensayo, específicamente, un compuesto de ensayo disuelto en poli(ácido láctico-co-glicólico) (RESOMER RG502H, producido por Evonik Industries)/copolímero de bloque de poli(ácido láctico-co-glicólico)-polietilenglicol (5050 DLG mPEG 5000, producido por Lakeshore Biomaterials)/N-metil-2-pirrolidona (producido por Wako) (relación ponderal de un 47 %/3 %/50 %), en una jeringa de 1 ml, se fijó una aguja de inyección 21G a la jeringa, y la aguja se introdujo de forma transdérmica desde el cuádriceps hasta el periostio cerca del centro de la diáfisis femoral. Después, se inyectaron 100 µg como cantidad de compuesto de ensayo, o 50 µl como volumen de administración de la solución entre el cuádriceps y el periostio, y se extrajo la aguja de inyección. A las ratas del grupo de control, se les administró solamente la solución de gel solidificada *in situ*. Una semana después de la administración de la solución de fármaco, se les administró anestesia triple a los animales, y se fijaron en decúbito supino, y se sacrificaron por exanguinación. Se extrajo el fémur izquierdo, se retiraron los tejidos periféricos tales como los músculos, se midió el contenido de mineral óseo del fémur completo usando un analizador de mineral óseo DCS-600EX (producido por ALOKA), después se dividió en tres posiciones a lo largo del eje largo, y se evaluó el contenido de mineral óseo de la parte central (diáfisis). El ensayo se realizó con los grupos que consistían cada uno en 6 animales.

(2) Resultados de medición

En los grupos a los que se les administró los compuestos típicos de la presente invención, el contenido de mineral óseo de la diáfisis del fémur izquierdo aumentó en comparación con el grupo de control (tablas 3 a 5). Por otro lado, el contenido de mineral óseo de la diáfisis del fémur derecho, al que no se administró la solución de fármaco, no se vio afectado. Basándose en estos resultados, se confirmó que los compuestos de la presente invención son útiles como agente promotor de la formación de hueso usado por administración local. Para todos los grupos de administración de compuesto, no se observó muerte de los animales, no se observaron las reacciones secundarias observadas para la administración de PGE₂, tampoco y, por tanto, se demostró que los compuestos de la presente invención pueden administrarse de forma segura.

Los resultados de ensayo se mencionan para cada ensayo.

[Tabla 3]

N.º ej.	Contenido de mineral óseo de la región del tercio central del fémur (mg)	
	Fémur izquierdo (al que se ha administrado compuesto)	Fémur derecho (sin administración de compuesto)
Grupo de control	69,4 ± 3,3	62,9 ± 2,2
3	80,2 ± 2,6	66,7 ± 2,7
6	81,3 ± 3,6	64,7 ± 2,4
8	98,7 ± 4,1	68,0 ± 1,2
13	82,0 ± 3,4	65,5 ± 2,7

[Tabla 4]

N.º ej.	Contenido de mineral óseo de la región del tercio central del fémur (mg)	
	Fémur izquierdo (al que se ha administrado compuesto)	Fémur derecho (sin administración de compuesto)
Grupo de control	65,4 ± 1,9	61,6 ± 1,5
10	78,0 ± 1,5	61,1 ± 0,5
19	85,8 ± 2,3	59,6 ± 1,4
20	79,4 ± 5,2	58,7 ± 3,6
22	79,5 ± 1,9	60,3 ± 2,7

[Tabla 5]

N.º ej.	Contenido de mineral óseo de la región del tercio central del fémur (mg)	
	Fémur izquierdo (al que se ha administrado compuesto)	Fémur derecho (sin administración de compuesto)
Grupo de control	68,0 ± 2,4	63,4 ± 2,1
23	82,7 ± 6,7	58,9 ± 2,9
24	80,7 ± 4,0	61,5 ± 2,3
25	79,1 ± 4,0	61,0 ± 2,1
26	87,0 ± 1,6	65,9 ± 1,2

<Ejemplo de ensayo 4: Acción de neoosteogénesis en fémur de perro>

Para investigar una acción promotora de la osteogénesis de los compuestos de la presente invención, para la influencia de la administración de microesferas que contienen un compuesto de ensayo en las cercanías del fémur de perro, se

evaluó la acción promotora de la osteogénesis midiendo el nuevo hueso formado después de la administración.

(1) Método de medición

- 5 Se anestesiaron perros beagle hembra (KITAYAMA LABES) de nueve a once meses de edad mediante administración de una mezcla 1:1 de clorhidrato de ketamina (Ketalar 500 mg, Daiichi Sankyo Propharma Co., Ltd.) y xilazina (Selactar 2 % Injection, Bayer Yakuhin, Ltd.) a una dosis de aproximadamente 0,5 ml/kg, y se usó isoflurano enumerado en la farmacopea japonesa (Elucaine, Mylan Pharmaceutical) para la anestesia de mantenimiento, que se administró con un inhalador IMPAC6 (VetEquip Inc.). Después de afeitar el pelo de la región femoral de la pata trasera derecha, y de
- 10 realizar tratamiento de desinfección, se administraron por vía transdérmica 350 µl de una suspensión de microesferas obtenida suspendiendo microesferas (preparadas de acuerdo con el método del ejemplo de preparación 1 o 2) que contenían un compuesto de ensayo (compuesto del ejemplo 23) en una solución de CMC alrededor del periostio de la diáfisis femoral usando una jeringa de inyección de 1 ml y una aguja de inyección 21G. Las dosis del compuesto de ensayo fueron 0,01, 0,1, 1,0, 10 y 100 µg/sitio, y las microesferas mencionadas anteriormente se usaron en una
- 15 cantidad correspondiente a cada dosis. Como grupo de control, se administró solamente un líquido farmacológico obtenido suspendiendo las microesferas que no contenían el compuesto de ensayo en 350 µl de la solución de CMC. Cuatro semanas después de la administración del líquido farmacológico, los animales se sacrificaron por exanguinación con anestesia con pentobarbital sódico (Somnopentyl). Se extrajeron los fémures de ambos lados, se sumergieron en una solución de formol tamponada neutral al 10 %, y se almacenaron. El contenido de mineral óseo del fémur se midió usando el analizador de densidad ósea por rayos X Discovery (producido por Toyo Medic). El ensayo se realizó con los grupos que consistían cada uno en 4 perros.

(2) Resultados de medición

- 25 Cuatro semanas después de la administración de la suspensión de microesferas mencionada anteriormente a las diáfisis femorales de los perros, el contenido de mineral óseo de los fémures aumentó con las dosis de 1,0, 10 y 100 µg como cantidad de administración del compuesto de ensayo de una manera dependiente de la dosis en comparación con el grupo de control (tabla 6). Basándose en estos resultados, se confirmó que los compuestos de la presente invención son útiles como agente promotor de la osteogénesis usado por administración local. Para todos los grupos
- 30 de administración de compuesto, no se observó muerte de los animales, no se observaron las reacciones secundarias habitualmente observadas para la administración de PGE₂, tampoco y, por tanto, se demostró que la preparación de microesferas mencionada anteriormente que contenía los compuestos de la presente invención puede administrarse de forma segura.

35 [Tabla 6]

	Contenido de mineral óseo de la región del tercio central del fémur (g)	
	Fémur izquierdo (sin administración de compuesto)	Fémur derecho (al que se ha administrado compuesto)
Grupo de control	2,6 ± 0,2	2,9 ± 0,3
0,01 µg	2,9 ± 0,4	2,9 ± 0,4
0,1 µg	2,6 ± 0,1	2,7 ± 0,2
1,0 µg	3,0 ± 0,1	4,1 ± 0,4
10 µg	2,8 ± 0,3	6,4 ± 0,7
100 µg	2,7 ± 0,4	8,2 ± 1,1

<Ejemplo de ensayo 5: Acción promotora de la curación de fracturas en modelo de fractura cerrada de fémur de rata>

- 40 Para investigar la acción promotora de la curación de fracturas de los compuestos de la presente invención, se confirmó la influencia de la inyección de microesferas que contenían un compuesto de ensayo en un sitio de fractura de un modelo de fractura cerrada de fémur de rata.

(1) Método de medición

- 45 Se fijaron ratas SD hembra (Japan SLC) de trece semanas de edad en posición acostada de lado bajo anestesia triple (clorhidrato de medetomidina, midazolam y tartrato de butorfanol). Después de afeitar el pelo de una región desde la rodilla izquierda hasta la región femoral con una maquinilla de afeitar pelo, y de realizar tratamiento de desinfección con povidona-yodo enumerado en la farmacopea japonesa (solución de Isodine para animales, 20 mg de povidona-yodo enumerado en la farmacopea japonesa en 1 ml, Meiji Seika Pharma), se escindió la piel de la parte de la rodilla y el músculo mayor interno de la parte lateral de la rótula, y se desplazó la rótula de la cabeza del fémur. Una pieza de taladro fijada a un trépano se puso en la fosa intercondílea de la cabeza del fémur expuesta, y se rotó manualmente para generar un orificio. Se insertó un alambre Kirschner (Mizuho Co., Ltd.) que tenía un diámetro de 1,2 mm cortado de forma preliminar a una longitud de 31 mm en la cavidad medular del fémur a través del orificio. Después, se fijó la
- 50 región femoral izquierda sobre un portapiezas de ensayo de flexión de tres puntos de una pequeña máquina de ensayo
- 55

universal de sobremesa (EZ Test, Shimadzu Corp.), y se provocó fractura cerrada de la diáfisis femoral aplicando una carga dinámica. Que se introdujera con éxito una fractura o no se confirmó confirmando la generación de una fractura transversal completa en la diáfisis femoral en una imagen de rayos X obtenida con un generador de rayos X suaves (M-100W, Softex) y un sensor de rayos X digital (NX-04, RF Co., Ltd.). Se inyectó una suspensión de microesferas obtenida suspendiendo microesferas (preparadas de acuerdo con el método del ejemplo de preparación 3) que contenían un compuesto de ensayo (compuestos del ejemplo 23) en una solución de CMC en la parte fracturada en un volumen de 100 µl como volumen de administración (que contenía 100 o 300 µg del compuesto de ensayo). Como grupo de control, se administró solamente un líquido farmacológico obtenido suspendiendo las microesferas que no contenían el compuesto de ensayo mencionado anteriormente en la solución de CMC (100 µl). Una, dos y tres semanas después de la generación de la fractura, se tomaron imágenes de rayos X suaves en anestesia con isoflurano, y se cuantificaron las áreas de la parte de callo en las imágenes de rayos X usando Image J. Cuatro semanas después de la generación de la fractura, se tomaron imágenes de rayos X suaves en anestesia triple, los animales se fijaron en decúbito supino, y se sacrificaron por exanguinación, y se extrajeron los fémures izquierdos. Al confirmar la presencia o ausencia de continuidad del callo de forma enmascarada en las imágenes de rayos X suaves obtenidas 4 semanas después de la generación de la fractura, se determinó la consolidación del hueso. Las muestras de fémur se crioconservaron hasta la implementación de un ensayo de resistencia ósea, y se midió la resistencia de torsión en el día del ensayo usando un aparato de medición de la resistencia ósea (MZ-500S, Maruto Instrument Co., Ltd.).

Este ensayo también puede realizarse usando perros en lugar de ratas.

(2) Resultados de medición

En el grupo de administración de compuesto de ensayo, dos semanas después de la generación de la fractura y después de ello, se observó aumento del área del callo de la fractura (tabla 7), y se mejoró claramente la tasa de consolidación ósea determinada basándose en las imágenes de rayos X obtenidas 25 días después de la generación de la fractura (tabla 8), en comparación con el grupo de control. En los fémures extraídos de los animales del grupo de administración de compuesto de ensayo cuatro semanas después de la generación de la fractura, se observó aumento de la resistencia ósea determinada por el ensayo de torsión (par de torsión máximo) en comparación con el grupo de control (tabla 8). Basándose en estos resultados, se confirmó que los compuestos de la presente invención son útiles como agente promotor de la consolidación ósea en un proceso de curación de fracturas. Para todos los grupos de administración de compuesto, no se observó muerte de los animales, no se observaron las reacciones secundarias habitualmente observadas para la administración de PGE₂, tampoco y, por tanto, se demostró que la preparación de microesferas mencionada anteriormente que contenía el compuesto de la presente invención puede administrarse de forma segura.

[Tabla 7]

	Área de callo (mm ²)		
	Una semana después de la fractura	Dos semanas después de la fractura	Tres semanas después de la fractura
Grupo de control	1,98 ± 1,52	22,3 ± 4,1	27,4 ± 4,4
100 µg	5,24 ± 2,87	28,6 ± 4,7	35,9 ± 6,3
300 µg	6,01 ± 2,75	28,9 ± 3,8	33,8 ± 6,8

[Tabla 8]

	Tasa de consolidación ósea después de 25 días (%)	Par de torsión máximo (N·cm)
Grupo de control	61,1	18,8 ± 6,1
100 µg	90,0	20,4 ± 7,1
300 µg	85,7	26,3 ± 11,7

<Ejemplo de ensayo 6: Acción promotora de la consolidación ósea en modelo de fijación posterolateral de vértebras lumbares de perro>

Para investigar una acción promotora de la consolidación ósea de los compuestos de la presente invención, se confirmó la influencia de mezclar microesferas que contienen un compuesto de ensayo en el momento de injerto de hueso autólogo usando un modelo de fijación posterolateral de vértebras lumbares.

(1) Método de medición

Se anestesiaron perros beagle hembra (KITAYAMA LABES) de doce a trece meses de edad mediante administración de una mezcla 1:1 de clorhidrato de ketamina (Ketalar 500 mg, Daiichi Sankyo Propharma Co., Ltd.) y xilazina (Selactar 2 % Injection, Bayer Yakuhin, Ltd.) a una dosis de aproximadamente 0,5 ml/kg, y se inhaló isoflurano enumerado en

la farmacopea japonesa (Elucaine, producido por Mylan Pharmaceutical) con un inhalador IMPAC6 (VetEquip Inc.) para mantener la anestesia. El animal se fijó en decúbito prono, se afeitó el pelo de una amplia área sobre las tuberosidades ilíacas derecha e izquierda posteriores superiores, la parte alrededor de la cresta ilíaca y la parte inferior del lomo, y se realizó tratamiento de desinfección con povidona-yodo enumerado en la farmacopea japonesa (solución de Isodine para animales, 20 mg de povidona-yodo enumerado en la farmacopea japonesa en 1 ml, Meiji Seika Pharma) y etanol para desinfección (Wako Pure Chemical Industries). Se cortó la piel y el tejido blando y se abrió desde la tuberosidad ilíaca posterior superior a lo largo de la cresta ilíaca usando un bisturí, y después se separaron los músculos que cubren la cresta ilíaca bajo el periostio para exponer la cresta ilíaca. Se extrajeron aproximadamente 2 g de cada uno del ilion derecho e izquierdo usando unas pinzas gubias y tijeras para huesos, y se realizó constricción. El ilion recogido, del que se retiraron los tejidos blandos, se descompuso finamente con tijeras para huesos, y de ese modo se preparó en virutas de 1 mm de tamaño para obtener 2 g de cada uno de los injertos óseos para derecha e izquierda. Después, se disecó la piel a lo largo de las apófisis espinosas de la parte inferior del lomo con un bisturí, se disecaron las fascias lumbodorsales izquierda y derecha, y después se expusieron las apófisis transversas de las vértebras lumbares cuarta y quinta mientras se separaba el músculo transversoespinoso y el músculo dorsal largo y se disecaban entre las fascias de los mismos. Se retiraron los tejidos blandos que se adhieren a las apófisis transversas, y después se realizó la decorticación del hueso cortical sobre la superficie de las apófisis transversas con un taladro eléctrico (OS-40MV2, Osada Electric Co., Ltd.) para preparar un lecho de injerto de hueso. El injerto de hueso (2 g) preparado anteriormente se mezcló suficientemente con una suspensión de microesferas obtenida suspendiendo microesferas que contenían un compuesto de ensayo (compuesto del ejemplo 23) en una cantidad correspondiente a 10, 30 o 100 µg del compuesto de ensayo (preparado de acuerdo con el método del ejemplo de preparación 1) en 800 µl de una solución de CMC, se incrustó y se injertó en las apófisis transversas de las vértebras lumbares cuarta y quinta, y el lecho de injerto de hueso entre las apófisis transversas. Después del injerto de hueso autólogo, se suturó la fascia lumbodorsal, los tejidos subcutáneos y la piel, y se desinfectó el sitio quirúrgico. Doce semanas después de la operación, los animales se sacrificaron con sobredosis (30 mg/kg) de pentobarbiturato de sodio (Somnopentyl, Kyoritsuseiyaku Corporation), y después se extrajeron las vértebras lumbares. La consolidación ósea se evaluó confirmando manualmente la movilidad de las vértebras lumbares cuarta y quinta (palpación manual) de forma enmascarada, y se obtuvieron imágenes de rayos X suaves desde una dirección usando Softex M-60 (Softex). Cada imagen de rayos X suaves se evaluó por una persona de forma enmascarada de acuerdo con los criterios de evaluación mostrados en la tabla 9. El ensayo se realizó con los grupos que consistían cada uno en 5 animales.

[Tabla 9]

Grado	Criterios de evaluación
3	Osteogénesis avanzada en el sitio de injerto, y la masa de injerto reticulaba las apófisis transversas, y se fusionaba a las apófisis transversas, arco vertebral o centro con continuidad uniforme.
2	Osteogénesis avanzada en el sitio de injerto, y la masa de injerto reticulaba las apófisis transversas, y se fusionaba a las apófisis transversas, arco vertebral o centro, pero no constituían una masa, y la continuidad entre las apófisis transversas era solamente parcial, o se observaban huecos o líneas radiotransparentes en una parte de la masa de injerto.
1	Se observaba avanza de la osteogénesis principalmente alrededor de las apófisis transversas, pero la masa de injerto entre las apófisis transversas no tenía continuidad, y se observaban huecos o líneas radiotransparentes definidas que interrumpen la masa de injerto.
0	No se observaba osteogénesis, y el material de injerto no cambiaba, o se absorbía y desaparecía.

(2) Resultados de medición

Cuando se extrajeron muestras de vértebras lumbares, y se evaluó la osteogénesis basándose en el grado de calcificación usando imágenes de rayos X suaves, en el grupo de control donde se mezclaron microesferas que no contenían el compuesto de ensayo en el ilion de injerto autólogo, se observaba movilidad entre las vértebras lumbares cuarta y quinta, pero no se observaba calcificación entre las apófisis transversas en las imágenes de rayos X suaves en los cinco ejemplos. Por otro lado, en el grupo donde se administraron las microesferas que contenían el compuesto de ensayo, a cada una de las dosis de 10, 30 o 100 µg, se evaluó que se observaba movilidad entre las vértebras lumbares cuarta y quinta en un ejemplo de los cinco ejemplos, pero no se observaba movilidad en los otros cuatro ejemplos. En las imágenes de rayos X suaves, se observó promoción de osteogénesis y continuidad ósea entre las apófisis transversas de las vértebras lumbares cuarta y quinta, concretamente, la puntuación de continuidad fue de 2 o mayor, a todas las dosis. Además, la puntuación aumentó de una manera dependiente de la dosis (tabla 10, $2,4 \pm 0,5$, $2,6 \pm 0,5$ y $2,8 \pm 0,4$, respectivamente).

Basándose en estos resultados, se confirmó que los compuestos de la presente invención son útiles como agente para promover la consolidación ósea en la fijación de columna vertebral basada en injerto óseo autólogo. Para todos los grupos de administración de compuesto, no se observó muerte de los animales, no se observaron las reacciones

secundarias habitualmente observadas para la administración de PGE₂, tampoco y, por tanto, se demostró que las microesferas mencionadas anteriormente que contenían el compuesto de la presente invención pueden administrarse de forma segura en la fijación de columna vertebral.

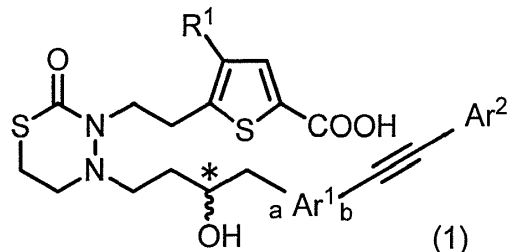
5 [Tabla 10]

	Grupo de control	10 µg/sitio	30 µg/sitio	100 µg/sitio
Evaluación manual de la consolidación ósea	0/5	4/5	4/5	4/5
Puntuación de continuidad basada en imágenes de rayos X suaves (media ± DT)	0 ± 0	2,4 ± 0,5	2,6 ± 0,5	2,8 ± 0,4

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por la siguiente fórmula general (1):

[Fórmula 1]

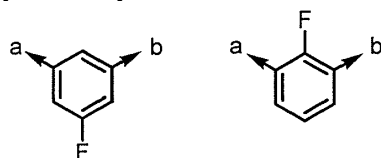


[en la que, en la fórmula (1),

R¹ representa -H o halógeno;

Ar¹ representa cualquier sustituyente seleccionado del grupo G¹, que puede estar sustituido con 1 a 3 de los mismos sustituyentes o diferentes seleccionados del grupo que consiste en -F y metilo (con la condición de que

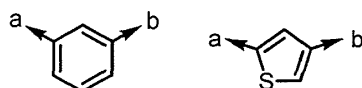
[Fórmula 2]



se excluyan),

en la que el grupo G¹ es un grupo que consiste en

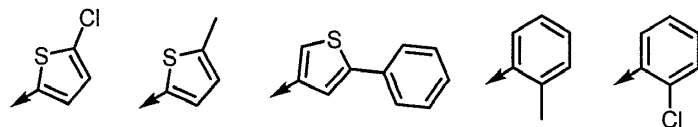
[Fórmula 3]



(a y b representan la dirección de unión);

Ar² representa cualquier sustituyente seleccionado del grupo G², que puede estar sustituido con 1 a 3 de los mismos sustituyentes o diferentes seleccionados del grupo que consiste en ciano, -Cl, metilo, metoxi y fenilo (con la condición de que

[Fórmula 4]



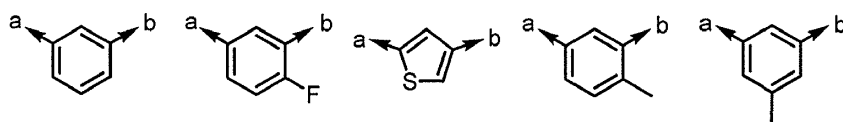
se excluyan),

en la que el grupo G² es un grupo que consiste en fenilo, tienilo, furilo, y tiazolilo; y * representa un carbono asimétrico], o una sal del mismo.

2. El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es -H, -Cl o - Br.

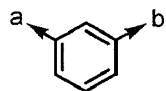
3. El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 2, en el que Ar¹ es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 5]



4. El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 2, en el que Ar¹ es

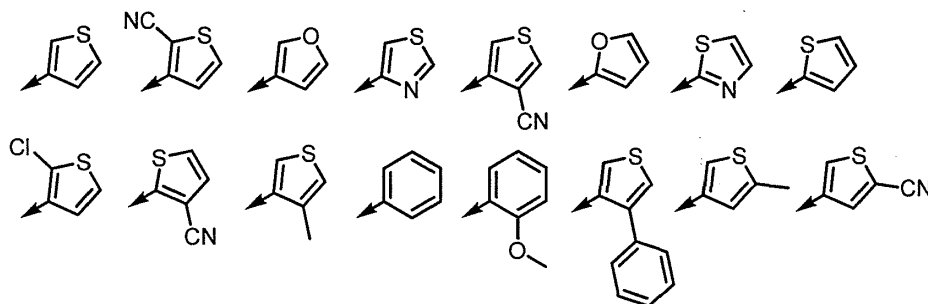
[Fórmula 6]



5

5. El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en el que Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

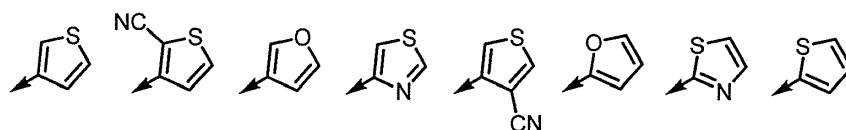
[Fórmula 7]



10

6. El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en el que Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

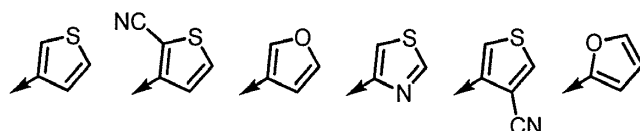
15 [Fórmula 8]



20

7. El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en el que Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 9]



25

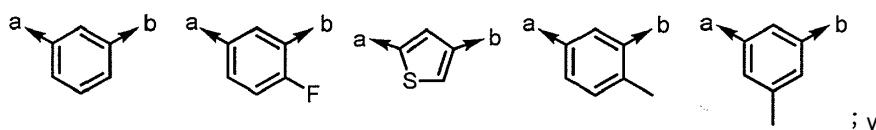
8. El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 7, en el que R¹ es -H.

9. El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 7, en el que R¹ es -Cl.

10. El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 7, en el que R¹ es -Br.

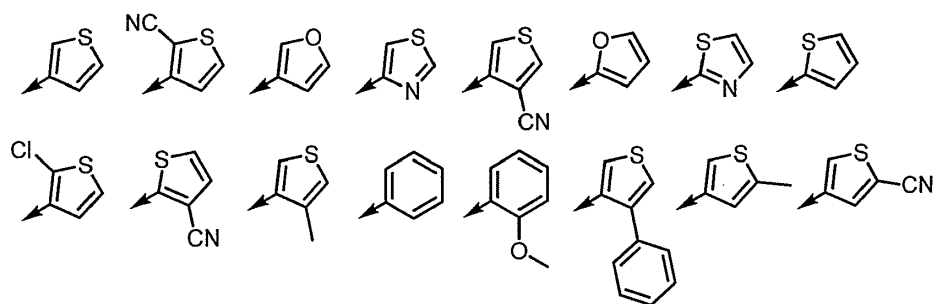
30 11. El compuesto o una sal del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R¹ es -H, -Cl o -Br; Ar¹ es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 10]



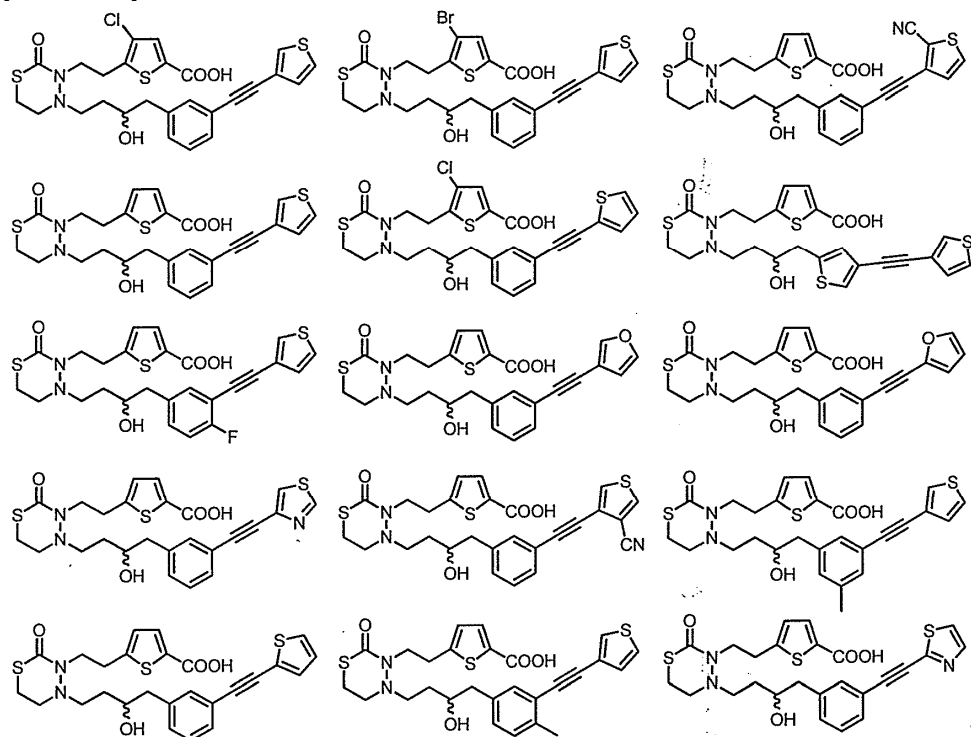
35 Ar² es cualquier sustituyente seleccionado del grupo que consiste en

[Fórmula 11]



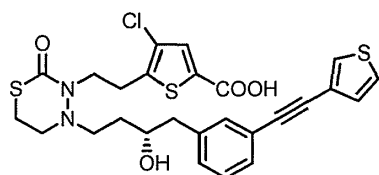
12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 seleccionado del siguiente grupo, o una sal del mismo;

5 [Fórmula 12]



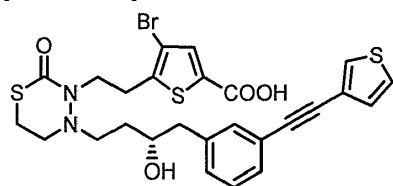
13. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 mencionado a continuación, o una sal del mismo;

10 [Fórmula 13]



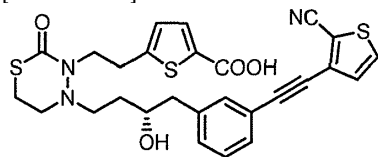
14. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 mencionado a continuación, o una sal del mismo;

15 [Fórmula 14]



15. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 mencionado a continuación, o una sal del mismo;

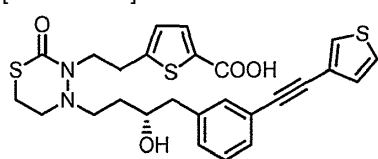
[Fórmula 15]



5

16. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 mencionado a continuación, o una sal del mismo;

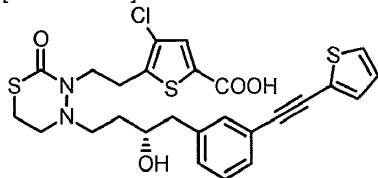
[Fórmula 16]



10

17. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 mencionado a continuación, o una sal del mismo;

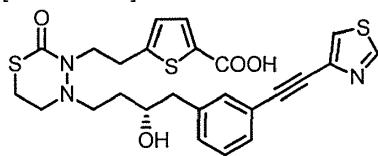
[Fórmula 17]



15

18. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 mencionado a continuación, o una sal del mismo;

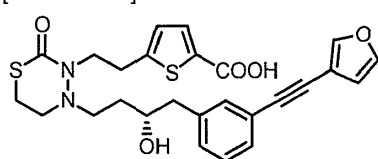
[Fórmula 18]



20

19. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 mencionado a continuación, o una sal del mismo;

[Fórmula 19]



25

20. Un medicamento que contiene un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 19 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo.

21. El medicamento de acuerdo con la reivindicación 20, para su uso en tratamiento terapéutico y/o promoción de la curación de lesiones óseas.

30

22. El medicamento de acuerdo con la reivindicación 20, para su uso en la promoción de la consolidación ósea en fijación de columna vertebral.