



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 276 134**

51 Int. Cl.:
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/4164 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **03779257 .9**
86 Fecha de presentación : **27.10.2003**
87 Número de publicación de la solicitud: **1560830**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **10.08.2005**

54 Título: **Derivados de [6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2,-a]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida y su uso como inhibidores de la interacción de moléculas de adhesión celular y leucointegrinas.**

30 Prioridad: **30.10.2002 US 422446 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.06.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.06.2007

73 Titular/es:
Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals Inc.
900 Ridgebury Road, P.O. Box 368
Ridgefield, Connecticut 06877-0368, US

72 Inventor/es: **Kelly, T. A.;**
Kim, Jin Mi y
Lemieux, R. M.

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 276 134 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de [6,7-dihidro-5*H*-imidazo[1,2-*a*]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida y su uso como inhibidores de la interacción de moléculas de adhesión celular y leucointegrinas.

Fundamento de la invención

1. Campo técnico

La presente invención se refiere, en general, a una clase de derivados de [6,7-dihidro-5*H*-imidazo[1,2-*a*]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida, a la síntesis de estos compuestos, a su uso en el tratamiento de enfermedades inflamatorias y a composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos.

2. Información fundamental

La investigación de la última década ha ayudado a aclarar los acontecimientos moleculares que se producen en las interacciones célula-célula en el cuerpo, especialmente aquellos acontecimientos implicados en el movimiento y en la actuación de las células en el sistema inmune. Véase generalmente, Springer, T. *Nature*, 1990, 346, 425-434. Las proteínas de la superficie de la célula y, especialmente, las Moléculas de Adhesión Celular ("CAMs") y "Leucointegrinas", incluyendo LFA-1, MAC-1 y gp150,95 (aludidas en la nomenclatura WHO como CD18/CD11a, CD18/CD11b y CD18/CD11c, respectivamente) han sido correspondientemente el sujeto de la investigación y desarrollo farmacéutico, teniendo como objetivo la intervención en los procesos de extravasación de leucocitos a los lugares dañados y el movimiento de leucocitos a los distintos objetivos. Por ejemplo, actualmente se cree que antes de la extravasación de los leucocitos, que es un componente prioritario de la respuesta inflamatoria, ocurre la activación de las integrinas constitutivamente expresada sobre los leucocitos y seguida por una interacción ligando/receptor fuerte entre las integrinas (por ejemplo, LFA-1) y una o varias moléculas de adhesión intercelular distintas (ICAMs) llamadas ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3 o ICAM-4 que están expresadas sobre superficies celulares endoteliales de los vasos sanguíneos y sobre otros leucocitos. La interacción de las CAMs con las Leucointegrinas es una etapa vital en el funcionamiento normal del sistema inmune. Los procesos inmunes como la presentación de antígenos, la citotoxicidad mediada por células-T y la extravasación de leucocitos requieren la adhesión celular medida por ICAMs que interactúa con las Leucointegrinas. Véase generalmente, Kishimoto, T. K.; Rothlein; R. R. *Adv. Pharmacol.* 1994, 25, 117-138 y Diamond, M.; Springer, T. *Current Biology*, 1994, 4, 506-532.

Se ha identificado un grupo de individuos carentes de la expresión apropiada de Leucointegrinas, una condición llamada "Deficiencia de la Adhesión de Leucocitos" (Anderson, D. C.; *et al.*, *Fed. Proc.* 1985, 44, 2671-2677 y Anderson, D. C.; *et al.*, *J. Infect. Dis.* 1985, 152, 668-689). Estos individuos son incapaces de dar una respuesta(s) inmune y/o inflamatoria normal debido a una incapacidad de sus células de adherirse a los sustratos celulares. Estos datos muestran que las reacciones inmunes se mitigan cuando los linfocitos son incapaces de adherirse de forma normal debido a la pérdida de moléculas de adhesión funcional de la familia CD18. En virtud del hecho de que los pacientes LAD que pierden CD18 no pueden dar una respuesta inflamatoria, se cree que el antagonismo de las interacciones CD18, CD11/ICAM también inhibirá una respuesta inflamatoria.

Se ha demostrado que el antagonismo de la interacción entre los CAMs y las Leucointegrinas pueden realizarla agentes dirigidos contra cada componente. Específicamente, el bloqueo de las CAMs, como se muestra en el ejemplo ICAM-1, o de las Leucointegrinas, como en por ejemplo LFA-1, por anticuerpos dirigidos contra cada una o ambas de estas moléculas inhibe efectivamente repuestas inflamatorias. Los modelos *in vitro* de respuesta inmune e inflamatoria inhibida por anticuerpos a las CAMs o a Leucointegrinas incluye proliferación de linfocitos de mitógenos inducidos o antígenos, agregación homotípica de linfocitos, citólisis mediada con células-T y tolerancia inducida de antígenos específicos. La relevancia de los estudios *in vitro* se ha sostenido por los estudios *in vivo* con anticuerpos dirigidos contra ICAM-1 o LFA-1. Por ejemplo, los anticuerpos dirigidos contra LFA-1, pueden prevenir el rechazo del injerto de tiroides y prolongar la supervivencia del trasplante de corazón en ratones. (Gorski, A.; *Immunology Today*, 1994, 15, 251-255). Es muy significativo, que los anticuerpos dirigidos contra ICAM-1 se han mostrado eficaces *in vivo* como agentes antiinflamatorios en enfermedades humanas como rechazo al trasplante renal y artritis reumatoide (Rothlein, R. R.; Scharschmidt, L., en: *Adhesion Molecules*; Wegner, C. D., Ed.; 1994, 1-38, Cosimi, C. B.; *et al.*, *J. Immunol.* 1990, 144, 4604-4612 y Kavanaugh, A.; *et al.*, *Arthritis Rheum.* 1994, 37, 992-1004) y los anticuerpos dirigidos contra LFA-1 han demostrado efectos inmunosupresores en trasplantes de médula espinal y en la prevención del rechazo temprano de trasplantes renales (Fischer, A.; *et al.*, *Lancet*, 1989, 2, 1058-1060 y Le Mauff, B.; *et al.*, *Transplantation*, 1991, 52, 291-295).

También se ha demostrado que una forma soluble recombinante de ICAM-1 puede actuar como inhibidor de la interacción de ICAM-1 con LFA-1. ICAM-1 soluble actúa como un antagonista directo de interacciones CD18, CD11/ICAM-1 sobre las células y muestra actividad inhibidora en modelos *in vitro* de respuesta inmune como la respuesta de linfocitos mezclados humanos, las respuestas de la célula T citotóxica y la proliferación de células T en los pacientes diabéticos en respuesta a las células isleta (Becker, J. C.; *et al.*, *J. Immunol.* 1993, 151, 7224 y Roep, B. O.; *et al.*, *Lancet*, 1994, 343, 1590).

Así, la técnica anterior ha demostrado que las moléculas de proteína grandes que antagonizan la unión de los CAMs a las Leucointegrinas tienen potencial terapéutico para mitigar las respuestas inflamatoria e inmunológica asociadas

generalmente con la patogénesis de muchas enfermedades autoinmunes o inflamatorias. Sin embargo, las proteínas tienen deficiencias significativas como agentes terapéuticos, incluida la capacidad de administrarse oralmente y la inmunorreactividad potencial que limita la utilidad de estas moléculas para la administración crónica. Además, las terapias basadas en proteínas son generalmente caras de realizar.

Por consiguiente, las moléculas pequeñas que tienen la misma capacidad que las moléculas de proteína grandes para antagonizar selectiva y directamente la unión de los CAMs a las Leucointegrinas serán agentes terapéuticos preferibles.

Se han descrito varias moléculas pequeñas en la bibliografía que afectan a la interacción de las CAMs y las Leucointegrinas. Por ejemplo, la Patente de EE.UU. 6.355.664 y el WO 98/39.303 correspondiente muestran un tipo de pequeña molécula, con un núcleo de hidantoina, que son inhibidores de la interacción de LFA-1 e ICAM-1. De mayor relevancia para esta invención es WO 01/07.440 A1, que muestra compuestos que en lugar de ello tienen un núcleo de 6,7-dihidro-5*H*-imidazo[1,2-*a*]imidazol. Aunque los compuestos que están descritos específicamente en WO 01/07.440 A1 tienen un efecto inhibidor más potente sobre la interacción de CAMs y Leucointegrinas que la de las hidantoinas de la Patente de EE.UU. 6.355.664 y el WO 98.39.303 correspondiente, sin embargo no son agente terapéuticos ideales porque la velocidad a la que se metabolizan es demasiado alta.

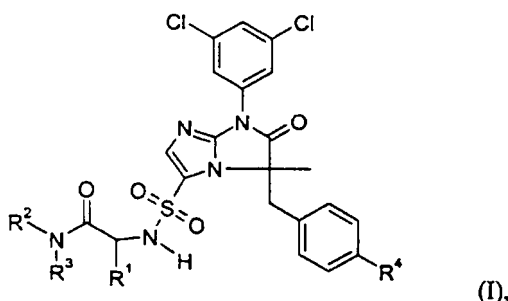
Por consiguiente, el problema que resolver con esta invención es encontrar moléculas pequeñas que tengan no sólo un buen efecto inhibidor sobre la interacción de CAMs y Leucointegrinas, sino que también se metabolicen a una velocidad que no sea excesivamente rápida.

Breve resumen de la invención

La invención es un subconjunto o una selección de 6,7-dihidro-5*H*-imidazo[1,2-*a*]imidazoles que se describen genérica, pero no específicamente en WO 01/07.440 A1. Sorprendentemente, los compuestos incluidos dentro de la invención muestran no sólo un buen efecto inhibidor sobre la interacción de CAMs y Leucointegrinas sino que se metabolizan mucho más lentamente que los compuestos descritos específicamente en WO 01/07.440 A1. Los compuestos de la invención resuelven el problema del metabolismo excesivamente rápido.

Descripción detallada de la invención

La invención comprende compuestos de fórmula I



en que:

R^1 es alquilo lineal o ramificado de 1 a 3 átomos de carbono que está mono o disustituído con restos independientemente seleccionados del grupo que consiste en:

- (i) oxo y
- (ii) morfolino;

R^2 y R^3 se seleccionan cada uno, independientemente del grupo que comprende:

- (A) hidrógeno, y
- (B) alquilo lineal o ramificado de 1 a 4 átomos de carbono cuyo grupo alquilo está mono o disustituído con restos independientemente seleccionados del grupo que comprende:
 - (i) CONH_2 y
 - (ii) OH ,

ES 2 276 134 T3

o R^2 y R^3 junto con el átomo de nitrógeno entre ellos forman un anillo de piperazina; y R^4 es:

- (A) ciano,
- (B) pirimidina que está mono o disustituída con NH_2 o
- (C) trifluorometoxi.

Los compuestos preferidos de la invención son los de la fórmula I, en la que

R^1 es un grupo metilo;

R^2 y R^3 se seleccionan cada uno, independientemente del grupo que comprende:

- (A) hidrógeno y
- (B) alquilo lineal o ramificado de 1 a 4 átomos de carbono que está mono o disustituído con restos independientemente seleccionados del grupo que comprende:
 - (i) $CONH_2$ y
 - (ii) OH ; y

R^4 es:

- (A) ciano o
- (B) trifluorometoxi.

Más preferidos son los compuestos de fórmula I en la que:

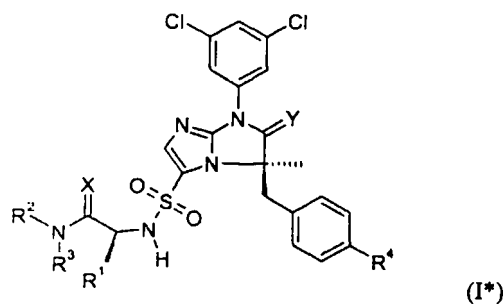
R^1 es un grupo metilo;

R^2 y R^3 se seleccionan cada uno, independientemente del grupo que consiste en:

- (A) hidrógeno y
- (B) alquilo lineal o ramificado de 1 a 4 átomos de carbono que está mono o disustituído con restos independientemente seleccionados del grupo que comprende:
 - (i) $CONH_2$; y
 - (ii) OH ; y

R^4 es trifluorometoxi.

Se apreciará que los compuestos de la fórmula I tienen al menos dos centros quirales. En un aspecto genérico preferido finalmente, la invención incluye compuestos de fórmula I con la estereoquímica absoluta expresada a continuación por la fórmula I*.



Específicamente preferidos son los compuestos de fórmula I seleccionados del grupo que comprende:

(S)-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida; (BIRT2176XX)

(S)-2-[(R)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-5-(4-trifluorometoxi-benzil)-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-N-(2-hidroxi-2-metil-propil)-propionamida; (BIRT2630XX)

(S)-2-[(R)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-5-(4-trifluorometoxi-benzil)-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida; y (BIRT2584XX)

(S)-N-carbamoilmetilo-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida.

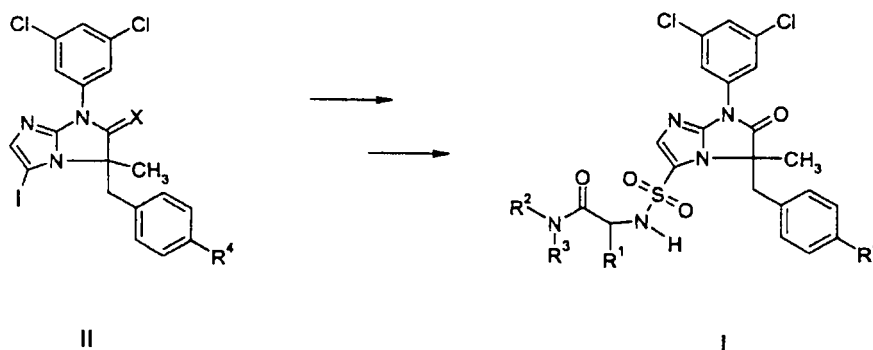
La invención también incluye composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la fórmula I y al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

La invención también incluye los compuestos de fórmula I para uso como medicamentos, y el uso de los compuestos de fórmula I para la preparación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la inflamación o un estado inflamatorio en un paciente. Ejemplos específicos de estados inflamatorios que se pueden tratar son como se describe en esta memoria.

Métodos de síntesis generales

Los compuestos de la invención pueden prepararse por los métodos generales descritos a continuación. Típicamente el proceso de la reacción puede monitorizarse por cromatografía de capa fina (TLC) si se desea. Si se desea, los productos e intermediarios pueden purificarse por cromatografía sobre gel de sílice y/o recristalización y caracterizarse por una o más de las siguientes técnicas: NMR, espectroscopía de masa y punto de fusión. Los materiales de partida y los reactivos están disponibles comercialmente o pueden prepararlos los expertos en la técnica utilizando los métodos descritos en la bibliografía química.

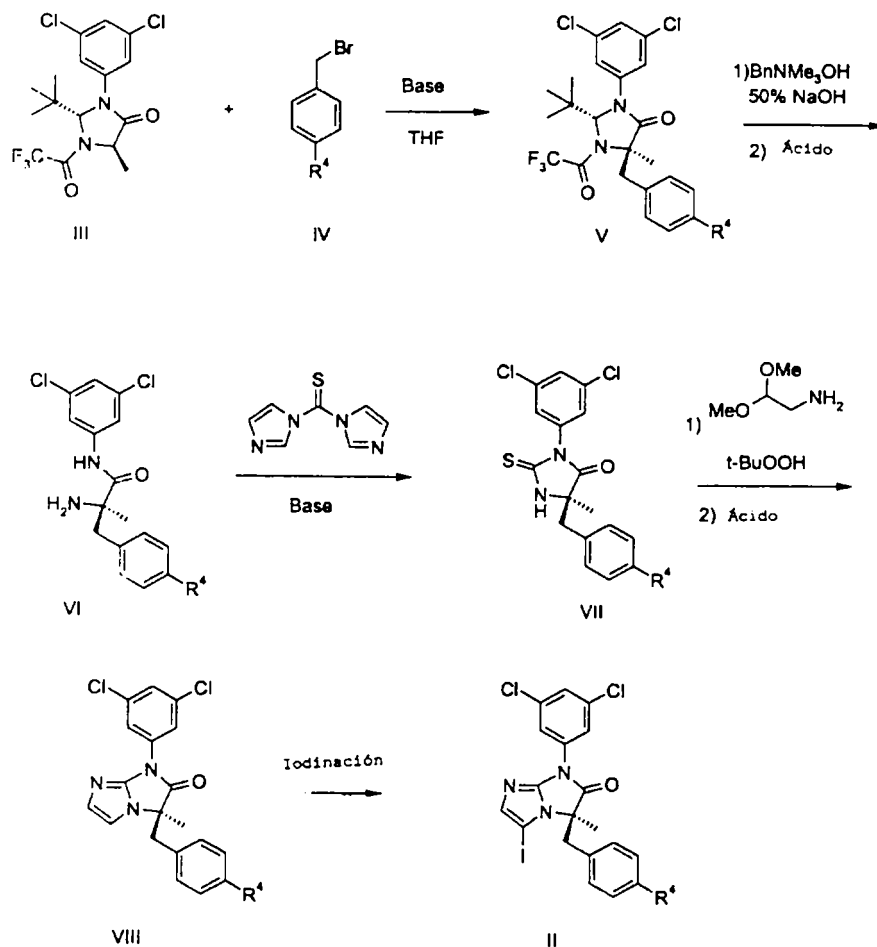
Los compuestos de fórmula I pueden prepararse a partir del intermediario II. La síntesis del intermediario II la explican Wu *et al.*; solicitud no provisional de EE.UU. Ser. No. 09/604.312 y Frutos *et al.* EE.UU. 6.441.183, ambas incorporadas aquí por referencia.



El intermediario II puede prepararse por el procedimiento ilustrado en el Esquema I.

ES 2 276 134 T3

Esquema I

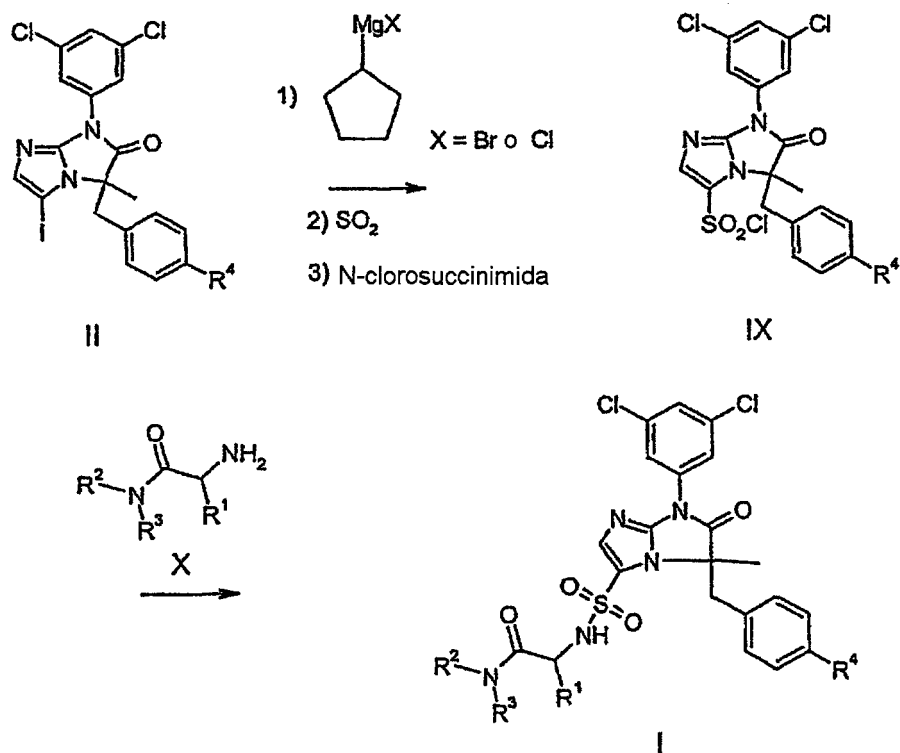


Como se ilustra arriba, el intermediario III se desprotona con una base apropiada como una bis(trimetilsilil)amida de litio a aproximadamente -20°C a -30°C y se alquila después con un haluro de bencilo preferiblemente un bromuro de bencilo (IV) para producir V. La hidrólisis del grupo de trifluoroacetamida de V, por ejemplo, por tratamiento con hidróxido de benciltrimetilamonio acuoso al 40% en dioxano/NaOH al 50%, seguido por el tratamiento con ácido, como HCl, proporciona VI. El tratamiento de VI con tiocarbonildiimidazol en presencia de una base como 4-(*N,N*-dimetilamino)piridina proporciona VII. El tratamiento de VII con una solución de aminoacetaldehido dimetilacetal y *t*-butilhidroperóxido, seguido por el tratamiento del acetal intermediario con un ácido como ácido *p*-toluensulfónico proporciona VIII. La yodación de VIII por tratamiento con un agente yodador como *N*-yodosuccinamida proporciona II.

El método utilizado para la preparación del intermediario III, el tratamiento de la amida formada a partir de *N*-Boc-D-alanina y 3,5-dicloroanilina con ácido trifluoroacético para extraer el grupo-Boc, seguido por el tratamiento con pivalaldehído y la acilación de la imidazolodona resultante con anhídrido trifluoroacético se describe en EE.UU. 6.414.161, citado antes, y la bibliografía química (N. Yee, Org Lett., **2000**, 2, 2781).

La síntesis de los compuestos de fórmula I a partir del intermediario II se ilustra en el Esquema II.

Esquema II

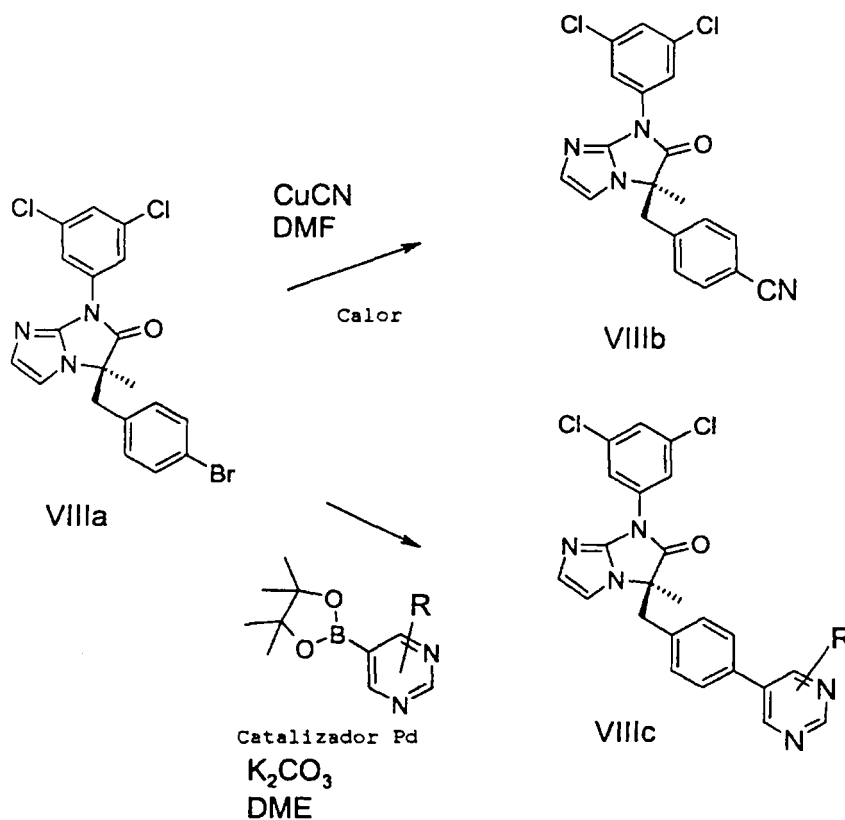


Como se ilustra arriba, el tratamiento de II con un reactivo Grignard, como bromuro o cloruro de ciclopentilmagnesio, seguido de un tratamiento de la sal de magnesio resultante con SO_2 y después *N*-clorosuccinimida proporciona el cloruro de sulfonilo IX. El tratamiento de IX con la amina deseada (X) en presencia de una base conveniente como trietilamina, proporciona el producto deseado de fórmula (I). Los productos intermedios X están disponibles comercialmente o bien se preparan fácilmente a partir de materiales de partida disponibles comercialmente por métodos conocidos en la técnica. El producto inicial de fórmula I puede además modificarse por métodos conocidos en la técnica para proporcionar compuestos adicionales de la invención. Se proporcionan varios ejemplos en la sección de Ejemplos de síntesis.

Los R^4 deseados sobre compuestos de fórmula I pueden obtenerse por selección del producto intermedio adecuadamente sustituido IV en el Esquema I. Alternativamente, el compuesto intermedio VIII que tiene R^4 que es Br (VIIIa) puede convertirse en compuestos intermedios que tienen R^4 que es CN o un grupo 5-pirimidilo sustituido como se ilustra en el Esquema III

(Esquema pasa a página siguiente)

Esquema III



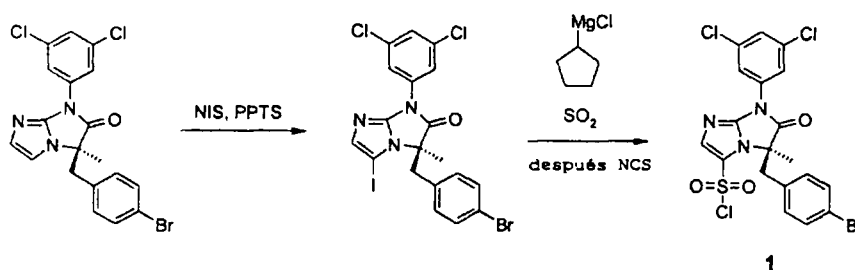
Como se ilustra más arriba, el bromuro de arilo VIIIa se trata con una sal de cianuro, preferiblemente CuCN y se calienta en un disolvente conveniente como DMF para proporcionar el producto ciano intermedio VIIIb. El tratamiento de VIIIa con un éster de boronato de pirimidina como 5-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-pirimidina en la presencia de un catalizador de paladio como [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio(II)- C_2Cl_2 ($\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{C}_2\text{Cl}_2$) y una base como carbonato de potasio en un disolvente apropiado (reacción de Suzuki), por ejemplo dimetoxietano, proporciona el producto intermedio de pirimidina (VIIIc). Los productos intermedios VIIIb y VIIIc pueden convertirse en los productos deseados de la fórmula I por los procedimientos descritos en los Esquemas I y II. La reacción de Suzuki para convertir $\text{R}^4 = \text{Br}$ en $\text{R}^4 = \text{a}$ una pirimidina opcionalmente sustituida puede también llevarse a cabo sobre un compuesto de fórmula I. La reacción de Suzuki puede también realizarse de manera inversa. El bromuro VIIIa (o un compuesto de fórmula I con $\text{R}^4 = \text{Br}$) puede convertirse en un éster de boronato por ejemplo por tratamiento con bis(pinacolato)diboro en la presencia de un catalizador de paladio como $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$ y después hacerle reaccionar con el deseado bromuro de pirimidilo.

La invención se describe además por los siguientes ejemplos de síntesis.

Ejemplos de síntesis

Ejemplo I

Síntesis de cloruro de (R)-5-(4-bromo-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo-[1,2-a]imidazol-3-sulfonilo

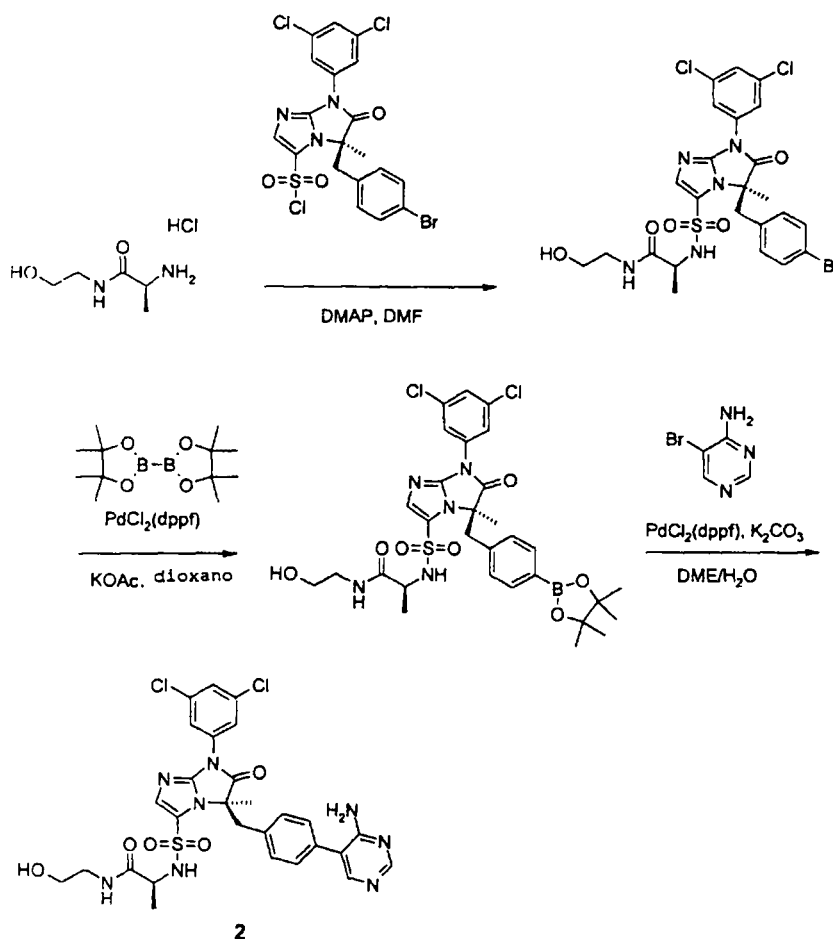


Una solución de (R)-3-(4-bromo-bencil)-1-(3,5-dicloro-fenil)-3-metil-1H-imidazo[1,2- α]imidazol-2-ona en THF (0,12 M) se trató con N-iodosuccinimida (1,05 equiv) y p-toluensulfonato de piridinio (0,1 equiv). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas, se diluyó después con EtOAc y se lavó con solución de Na₂S₂O₃ al 10% y agua. Las capas acuosas combinadas se extrajeron con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El aceite crudo se purificó por cromatografía de gel de sílice para proporcionar el yoduro deseado.

Una solución del yoduro anterior en THF (0,12 M) se enfrió a -40°C y se añadió c-pentilcloruro de magnesio (1,05 equiv) gota a gota durante 10 minutos. Después de agitar a -40°C durante 1 hora, se añadió SO₂ (g) colocando una aguja de admisión justo encima de la superficie de la mezcla de reacción durante 1,5 minuto. La mezcla amarilla brillante se calentó a -20°C durante 1 hora y después se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se burbujeó N₂ (g) a través de la mezcla durante 20 minutos seguido de concentración y bombeo bajo alto vacío durante 12 horas. La espuma amarilla resultante se disolvió en THF (0,1M) y se enfrió a -20°C y una solución de N-clorosuccinimida (1,2 equiv) en THF se añadió gota a gota durante 5 minutos. Después de agitar a -20°C durante 1 hora la mezcla se vertió sobre hielo y se extrajo con dos porciones de EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera enfriada en hielo, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía de gel de sílice proporcionó cloruro de (R)-5-(4-bromo-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2- α]imidazol-3-sulfonilo como un sólido.

Ejemplo 2

(S)-2-[(R)-5-[4-(4-amino-pirimidin-5-il)-bencil]-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo-[1,2- α]imidazol-3-sulfonilamino]-N-(2-hidroxi-etil)-propionamida (660.4, M+1)



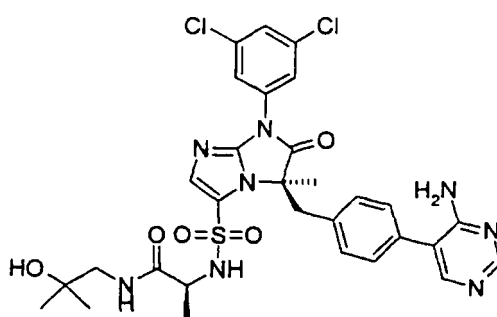
A una suspensión de la sal hidrocloreto de (S)-2-amino-N-(2-hidroxi-etil)-propionamida (0,53 g, 3,2 mmol, 3 equiv) en 10 ml de DMF se añadió DMAP (4 equiv), y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A esta solución se añadió cloruro de (R)-5-(4-bromo-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2- α]imidazol-3-sulfonilo (0,580 mg, 1,06 mmol) en 2 ml de DMF a temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, la mezcla se disolvió en EtOAc y se lavó con agua diluida, HCl, NaHCO₃, y salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. La purificación del producto crudo por cromatografía de gel de sílice dio 0,305 ml del producto deseado.

ES 2 276 134 T3

Una mezcla de (S)-2-[(R)-5-(4bromo-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2- α]imidazol-3-sulfonilamino]-N-(2-hidroxi-etil)-propionamida (0,310 g, 0,473 mmol), bispinacolato)diboro (0,240 g, 0,946 mmol) y KOAc (0,140 g, 1,419 mmol) en 29 ml de dioxano se sometieron a reflujo con N₂ durante 15 minutos. Se añadió PdCl₂ (dppf) (0,039 g, 0,047 mmol), y la mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 36 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se concentró, y el residuo se diluyó con 150 ml de EtOAc, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄, y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía de gel de sílice para dar 0,204 g (62%) del boronato.

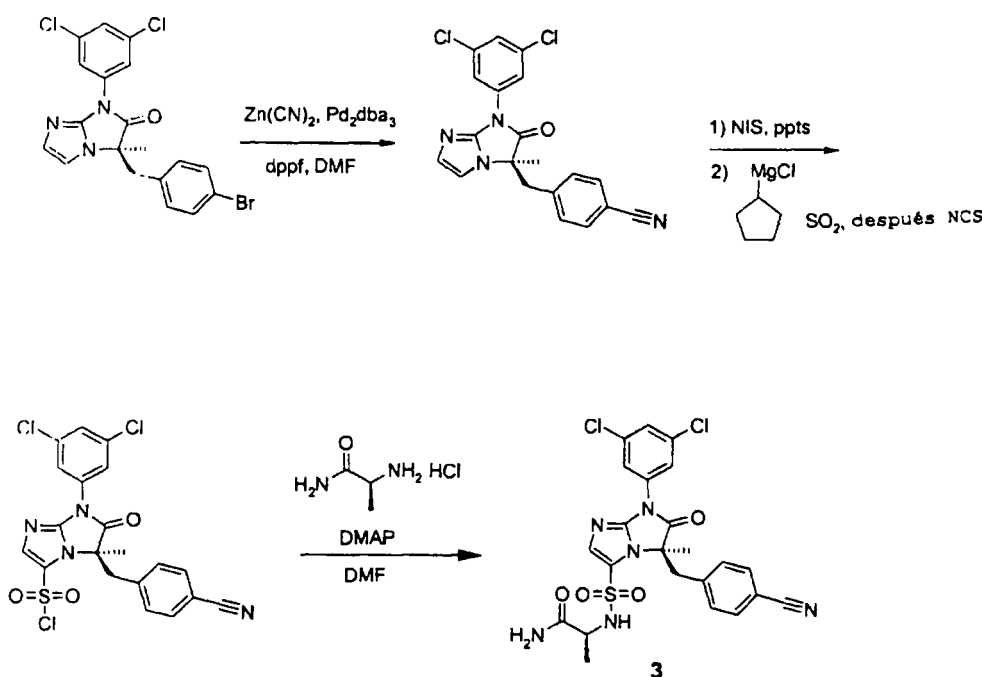
Una mezcla del boronato anterior (0,204 g, 0,295 mmol), 5-bromo-2-amino-pirimidina (0,078 g, 0,0443 mmol), y K₂CO₃ (0,122 g, 0,885 mmol) en 8 ml de dimetoxietano y 1,2 ml de agua se sometió a reflujo con N₂ durante 20 minutos. PdCl₂ (dppf) (0,025 g, 0,0030 mmol) se añadió, y la mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 2 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con EtOAc, se lavó con agua y salmuera, y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía de gel de sílice y TLC preparativa para conseguir 0,062 (32%) del compuesto del título (660,4, M+1): El compuesto siguiente se preparó por procedimientos análogos a los descritos en el Ejemplo 2:

(S)-2-[(R)-5-[4-(4-amino-pirimidin-5-il)-bencil]-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2- α]imidazol-3-sulfonilamino]-N-(2-hidroxi-etil)-propionamida (687,1, M+1)



Ejemplo 3

Síntesis de (S)-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo-[1,2- α]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida



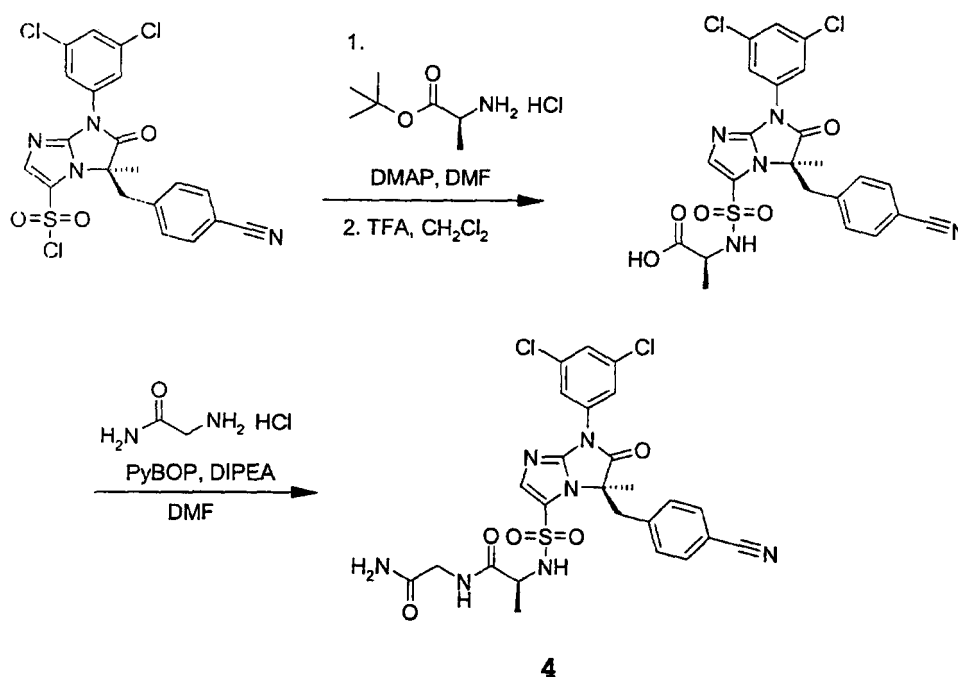
A una solución de (R)-3-(4-bromo-bencil)-1-(3,5-dicloro-fenil)-3-metil-1H-imidazo[1,2- α]imidazol-2-ona (3,0 g, 6,6 mmol) en DMF (60 ml) se añadió Zn(CN₂) (0,47 g 4,0 mmol). La solución resultante se desgasificó con una corriente fuerte de N₂ durante 2 horas. Se añadieron Pd₂dba₃ y dppf y la mezcla de reacción se calentó a 120°C durante

2 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se disolvió en EtOAc, se lavó después con agua y salmuera, después se secó y se filtró y el residuo se purificó sobre Florisil para conseguir 2,42 g del producto deseado. Este producto se trató después de manera similar a la descrita en el Ejemplo 1 para producir cloruro de (R)-5-(4-ciano-bencil-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2- α]-imidazol-3-sulfonilo.

Hidrocloruro de L-alaninamida (0,151 g, 1,209 mmol) se disolvió en DMF anhidra y se añadió DMAP (0,197 g, 1,612a la solución. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después se añadió cloruro de (R)-5-(4-ciano-bencil-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2- α]-imidazol-3-sulfonilo (0,24 g, 0,484 mmol) en DMF anhidro a la mezcla de reacción y se agitó durante 10 minutos adicionales. La solución de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con agua, HCl 1N y después agua. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El producto crudo se purificó por cromatografía de columna de gel de sílice para conseguir 0,211 g del compuesto del título como un sólido escamoso blanco (M+1, 547,2).

Ejemplo 4

Síntesis de (S)-N-carbamoilmetil-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2- α]-imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida

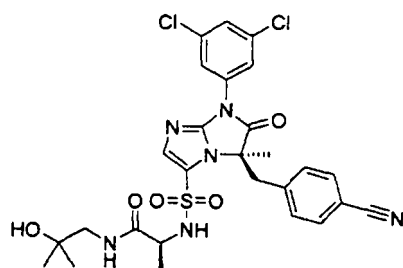


Hidrocloruro de L-alanina t-butil éster (0,88 g, 4,84 mmol) se disolvió en DMF anhidra (10 ml) y se añadió DMAP (0,79 g, 6,46 mmol) a la solución. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y cloruro de (R)-5-(4-ciano-bencil-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2- α]-imidazol-3-sulfonilo (0,80 g, 1,61 mmol) se añadió a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante otros 10 minutos. La mezcla de reacción se lavó con agua (x3), HCl 1N en NaHCO₃ saturado. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El producto crudo se purificó por columna de cromatografía de columna de gel de sílice utilizando C₂Cl₂-MeOH (98:2) como eluyente para conseguir 0,94 g de la sulfonamida t-butil éster. El producto resultante se trató con ácido trifluoroacético (5 ml) en C₂Cl₂ (10 ml) a temperatura ambiente durante 3 horas. La solución de reacción se diluyó con C₂Cl₂ y se lavó con agua. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y después se concentró para conseguir 0,67 g de ácido (S)-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2- α]-imidazol-3-sulfonilamino]-propiónico como una espuma blanca.

El ácido carboxílico anterior (0,05 g, 0,091 mmol) se disolvió en DMF anhidro (2ml) y se añadió hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(pirrolidino)fosfonio (PyBOP) (0,071 g, 0,137 mmol) a la solución de reacción. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y se añadió hidrocloruro de glicinamida (0,015 g, 0,137 mmol) a la mezcla seguido de N,N-diisopropiletilamina (0,039 ml, 0,027 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante otros 15 minutos. La mezcla se diluyó entonces con EtOAc (10 ml) y se lavó con agua (x2), HCl 1N, NaHCO₃ saturado y después agua (x1). La fase orgánica se secó después sobre Na₂SO₄ y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía en capa fina preparativa en gel de sílice utilizando C₂Cl₂-MeOH (95:5) como eluyente para conseguir 0,043 del compuesto del título como una espuma blanca (M+1, 604,2).

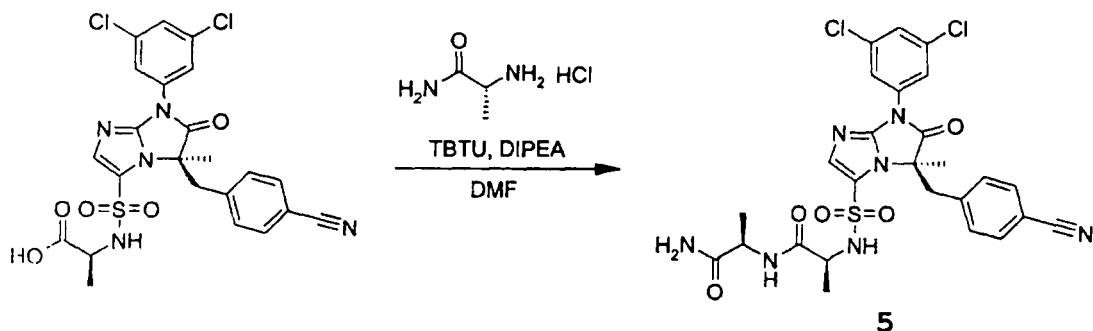
ES 2 276 134 T3

El compuesto siguiente se hizo por procedimientos análogos a los descritos en el ejemplo anterior: (S)-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-*a*]imidazol-3-sulfonilamino]-N-(2-hidroxi-2-metil-propil)-propionamida: (M+1, 619)propionamida



Ejemplo 5

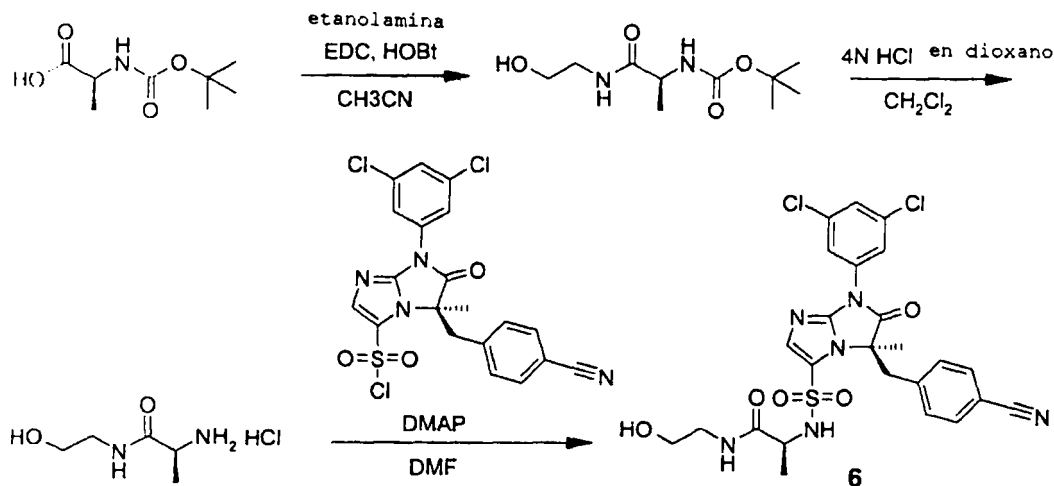
*Síntesis de (S)-N-((R)-1-carbamoilmetil-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-*a*]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida*



El ácido (S)-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-*a*]imidazol-3-sulfonilamino]-propiónico (véase ejemplo 14) (0,05 g, 0,091 mmol) se disolvió en DMF anhidra (2 ml) y se añadió TBTU (0,044 g, 0,137 mmol) a la solución de reacción. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y se añadió hidrocloreuro de D-alaninamida (0,017 g, 0,137 mmol) a la mezcla seguido de N,N-diisopropiletilamina (0,039 ml, 0,227 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante otros 15 minutos. La mezcla se diluyó entonces con EtOAc (10 ml) y se lavó con agua, HCL 1 N, NaHCO₃ y después agua. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía en capa fina preparativa de gel de sílice para conseguir 0,035 g del compuesto del título como una espuma blanca (M+1,618.2).

Ejemplo 6

*Síntesis de (S)-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo-[1,2-*a*]imidazol-3-sulfonilamino]-N-(2-hidroxi-etil)-propionamida*



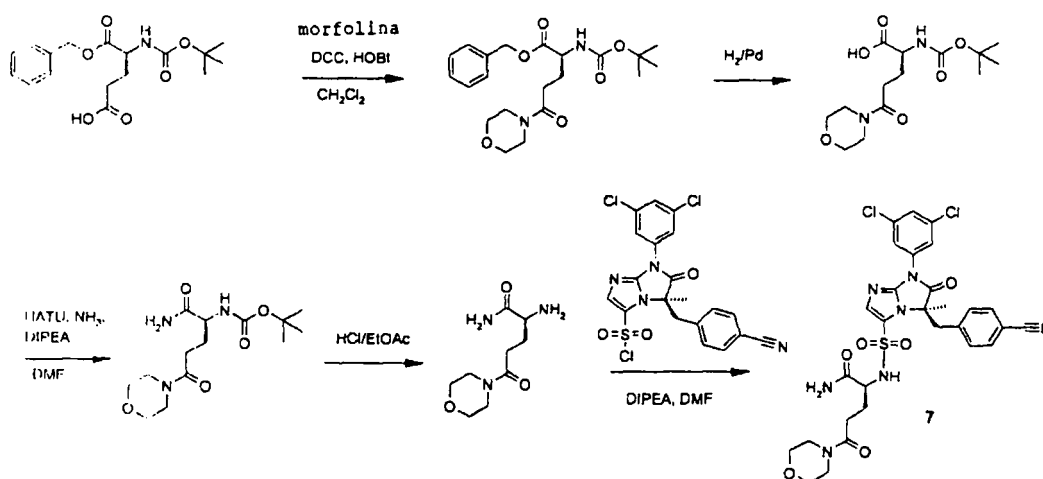
Una mezcla de L-Boc-alanina (0,40 g, 2,11 mmol), etanolamina (0,15 ml, 2,54 mmol) y HOBt (0,29 g, 2,11 mmol) en C₃CN anhidro (9 ml) se enfrió a 0°C y se añadió hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC) (0,49 g, 2,54 mmol) a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 19 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con ácido cítrico al 5%. La capa acuosa se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con NaHCO₃ y salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para conseguir 0,38 g del producto acoplado como un aceite incoloro.

El alcohol anterior (0,34 g, 1,45 mmol) se disolvió en CH₂Cl₂ (3 ml) y se añadió HCl 4N en dioxano (3 ml) a la solución. La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas y se concentró para conseguir hidrocloreto de (S)-2-amino-N-(2-hidroxi-etil)-propionamida.

A una solución de la sal de amina anterior (0,043 g, 0,254 mmol) en DMF anhidra, se añadió DMAP (0,037 g, 0,303 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, se añadió entonces cloruro de (R)-5-(4-ciano-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilo (0,036 g, 0,073 mmol) a la mezcla de reacción y se agitó durante otras 2 horas. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc y se lavó con HCl 1N y NaHCO₃ saturado. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en capa fina preparativa de gel de sílice para conseguir 0,035 g del compuesto del título como una espuma blanca (M+1,591,1).

Ejemplo 7

Amida del ácido (S)-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-5-morfolin-4-yl-5-oxo-pentanoico



A una mezcla del 1-bencil éster del ácido (S)-2-terc-butoxicarbonilamino-pentanodioico (4,5 g, 13,4 mmol), morfina (1,29 mL, 14,8 mmol), HOBt (1,89 g, 14,0 mmol) en C₂Cl₂ (18 ml) a 0°C, se añadió lentamente una solución de DCC (2,89 g, 14,0 mmol) en CH₂Cl₂ (18 ml). La solución se lavó con NaHCO₃, 1 N HCl, y finalmente salmuera. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ y después se filtró. La evaporación del disolvente proporcionó la amida deseada (5,42 g) como un sólido blanco.

Una mezcla de la amida anterior (6,17 g, 1,52 mmol) y Pd/C al 10% (0,52 g) en EtOAc (50 ml) se hidrógeno bajo presión atmosférica durante 24 horas. La mezcla se filtró y se concentró para proporcionar ácido (S)-2-terc-butoxicarbonilamino-5-morfolin-4-il-5-oxo-pentanoico (3,12 g) como una espuma que se usa sin purificación posterior.

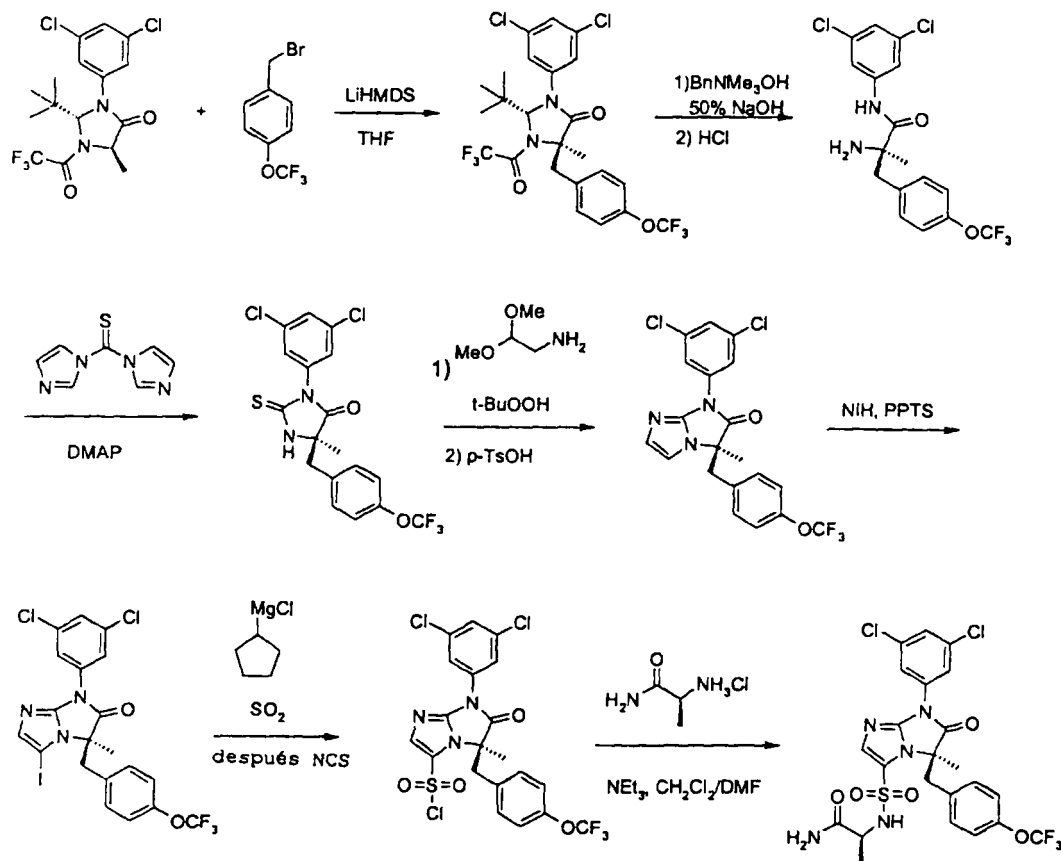
Se burbujeó gas amoníaco dentro de una solución del ácido carboxílico obtenido antes (3,12 g, 9,86 mmol) y hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU) (5,25 g, 13,8 mmol) en DMF (30 ml) con agitación durante 20 minutos. A la suspensión amarilla resultante se añadió N,N-diisopropiletalmina (5,15 ml, 29,5 mmol) mediante jeringa. La mezcla se agitó bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche. La reacción se filtró y se concentró bajo vacío. El residuo resultante se disolvió en CH₂Cl₂, se lavó con NaHCO₃ saturado, 1 N HCl y finalmente salmuera. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El residuo resultante se recrystalizó en EtOAc para proporcionar la amida (1,16 g) como un sólido blanco.

El grupo Boc se separó con HCl en EtOAc y el resultante hidrocloreto de la amida del ácido (S)-2-amino-5-morfolin-4-il-5-oxo-pentanoico se recogió por filtración en vacío y se utilizó sin purificación posterior. A una solución agitada de cloruro de (R)-5-(4-ciano-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilo (76 mg, 0,13 mmol) en DMF (4 mL) se añadió N,N-diisopropiletalmina (60 µL, 0,39 mmol) y el hidrocloreto de la amina (100 mg, 0,4 mmol). Después de agitar durante la noche la DMF se separó bajo vacío y el

residuo resultante se cromatógrafió bajo gel de sílice. El producto se purificó después por HPLC semipreparativa para proporcionar 32 mg del compuesto del título como un sólido blanco (M+1, 674,04).

Ejemplo 8

Síntesis de (S)-2-[(R)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-5-(4-trifluorometoxi-bencil)-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida



8

Bis(trimetilsilil)amida de litio (LiHMDS) (38,0 mL, 1 M en THF) se añadió lentamente gota a gota durante 25 minutos a una solución de (2S,5R)-2-*tert*-butil-3-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-1-(2,2,2-trifluoroacetil)-imidazolidin-4-ona (10,0 g, 25,17 mmol) en 60 ml de THF a -20°C . Después de agitación a -20°C durante 20 min, se añadió gota a gota una solución de bromuro de 4-trifluorometoxibencilo (6,04 ml, 37,76 mmol) en 30 mL de THF durante 20 minutos. La mezcla se agitó a -20°C durante 45 minutos, se calentó a -5°C durante 1 hora y después se vertió sobre 50 ml de solución saturada de NH_4Cl solución enfriada en hielo. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron. El producto crudo se trituró con hexanos para proporcionar 12,5 g (87%) de (2R,5R)-2-*tert*-butil-3-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-1-(2,2,2-trifluoro-acetil)-5-(4-trifluorometoxi-bencil)-imidazolidin-4-ona como un sólido blancuzco.

A una solución de la imidazolidinona anterior (6,0 g, 10,5 mmol) en 40 ml de dioxano se añadió hidróxido de benciltrimetilamonio acuoso al 40% (6,59 g, 15,75 mmol) a temperatura ambiente. Cuando se hubo calentado la mezcla a 40°C , se añadió hidróxido sódico acuoso al 50% (1,68 g, 21,0 mmol) gota a gota lentamente durante 5 min. La mezcla se agitó a 40°C durante 18 horas, después se añadió lentamente una solución de 6,4 g de HCl concentrado en 3,3 ml de agua gota a gota durante 10 minutos. La mezcla se calentó a 50°C y se agitó durante 5 horas adicionales, después se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. Se añadieron 50 ml de tolueno al residuo, y la mezcla bifásica se agitó fuertemente mientras se añadía lentamente gota a gota hidróxido sódico acuoso al 50% (3,0 g) (pH de la fase acuosa ≥ 10). La capa acuosa se extrajo con tolueno, y las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y concentraron para conseguir 4,24 g de (R)-2-amino-*N*-(3,5-dicloro-fenil)-2-metil-3-(4-trifluorometoxi-fenil)-propionamida como un aceite marrón claro.

ES 2 276 134 T3

A una solución de la propionamida anterior (4,24 g, 10,41 mmol) en 30 ml de THF se añadió tiocarbonildiimidazol (2,81 g, 15,77 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (DMAP) (0,127 g, 1,04 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 17 horas, se enfrió a temperatura ambiente, y se concentró. El residuo aceitoso de color naranja se disolvió en 50 ml de tolueno y se trató lentamente gota a gota con 20 ml de solución de HCl acuoso al 5%. Después de agitar la mezcla durante 10 minutos, la capa acuosa se separó y se extrajo con tolueno. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar 4,48 g de (R)-3-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-2-tioxo-5-(4-trifluorometoxi-bencil)-imida-zolidin-4-ona como una espuma naranja.

A una solución de la tiohidantoina anterior (4,47 g, 9,95 mmol) y aminoacetaldehído dimetilacetal (6,50 mL, 59,7 mmol) en 20 ml de MeOH se añadieron 7,69 ml (59,7 mmol, 70% en agua) de solución de *t*-butil hidroperóxido gota a gota durante 25 minutos. Durante la adición y durante aproximadamente 1 hora después, la temperatura interna de la mezcla se mantuvo por debajo de 20°C con un baño de agua helada. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 86 horas, y se añadieron lentamente gota a gota 25 ml de solución saturada de NaHSO₃ manteniendo la temperatura interna por debajo de 20°C con un baño de agua helada. La mezcla blanca turbia resultante se concentró. Al residuo se añadió EtOAc, y esta mezcla se concentró de nuevo. El residuo aceitoso se repartió entre EtOAc y agua y la fase acuosa se separó y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar 5,21 g de (R)-3-(3,5-dicloro-fenil)-2-[(E)-2,2-dimetoxi-etilimino]-5-metil-5-(4-trifluorometoxi-bencil)-imidazolidin-4-ona como un aceite espeso amarillo.

Una solución del acetal crudo anterior (5,20 g, 9,95 mmol) en 30 ml de acetona se trató con ácido *p*-toluensulfónico (1,89 g, 9,96 mmol). La mezcla se calentó a reflujo durante 2 h, después se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El aceite resultante naranja oscuro se disolvió en 40 ml de EtOAc y se trató cuidadosamente con una solución de 2,3 g de NaHCO₃ en 23 ml de agua. Después de que ha cesado la producción de gas, la fase acuosa se separó y se extrajo con dos porciones de EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución saturada de NaHCO₃, dos porciones de agua, y salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo aceitoso se purificó por cromatografía de gel de sílice para conseguir 1,58 g de (R)-1-(3,5-dicloro-fenil)-3-metil-3-(4-trifluorometoxi-bencil)-1*H*-imidazo[1,2-*a*]imidazol-2-ona (456,2, M+1).

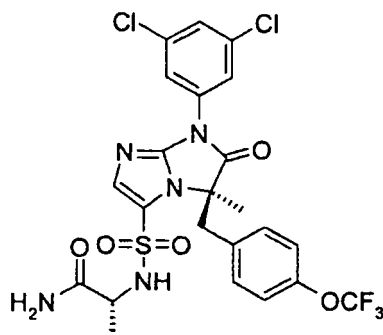
Una solución de (R)-1-(3,5-dicloro-fenil)-3-metil-3-(4-trifluorometoxi-bencil)-1*H*-imidazo[1,2-*a*]imidazol-2-ona (Ejemplo 1) (1,54 g, 3,38 mmol) en 30 ml de THF se trató con *N*-iodosuccinimida (0,846 g, 3,76 mmol) y *p*-toluensulfonato de piridinio (0,086 g, 3,76 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas, después se diluyó con EtOAc y se lavó con solución de Na₂S₂O₃ al 10% y agua. Las capas acuosas combinadas se extrajeron con 10 ml de EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con 25 ml de salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El aceite naranja crudo se purificó por cromatografía de gel de sílice para proporcionar 1,27 g (65%) de (R)-1-(3,5-dicloro-fenil)-5-iodo-3-metil-3-(4-trifluorometoxi-bencil)-1*H*-imidazo[1,2-*a*]imidazol-2-ona como un aceite blancuzco (582,0 M+1).

Una solución del yoduro anterior (1,24 g, 2,13 mmol) en 16 ml de THF se enfrió a -40°C mientras se añadía gota a gota cloruro de ciclopentilmagnesio (1,17 ml, 2 M en éter dietílico durante 10 min. Después de agitar a -40°C durante 1 h, se añadió SO₂ (g) colocando una aguja de admisión justo encima de la superficie de la mezcla de reacción durante 1,5 minutos. La mezcla amarillo brillante se calentó a -20°C durante 1 h y después se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. N₂ (g) se burbujeó a través de la mezcla durante 20 min. seguido de concentración y bombeo bajo alto vacío durante 12 h. La espuma resultante amarilla se disolvió en 16 ml de THF y se enfrió a -20°C mientras una solución de *N*-clorosuccinimida (0,341 g, 2,56 mmol) en 8 ml de THF se añadía gota a gota durante 5 minutos. Después de agitar a -20°C durante 1 hora, la mezcla se vertió sobre hielo y se extrajo con dos porciones de EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera helada, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía de gel de sílice proporcionó 0,975 g (83%) de aceite espeso de cloruro de (R)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-5-(4-trifluorometoxi-bencil)-6,7-dihidro-5*H*-imidazo[1,2-*a*]imidazol-3-sulfonilo (554,2, M+1).

Una solución de sal de L-alaninamida HCl (0,097 g, 0,782 mmol) en 6,5 ml de DMF se trató con trietilamina (0,163 ml, 1,17 mmol) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 10 minutos, se añadió rápidamente gota a gota una solución del cloruro de sulfonilo anterior (0,217 g, 0,391 mmol) en 1 ml de CH₂Cl₂, y la mezcla turbia se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Después de adición de EtOAc, la capa orgánica se lavó con agua, después salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía de gel de sílice para conseguir 0,193 g (81%) del compuesto del título como un sólido blanco (606,3, M+1).

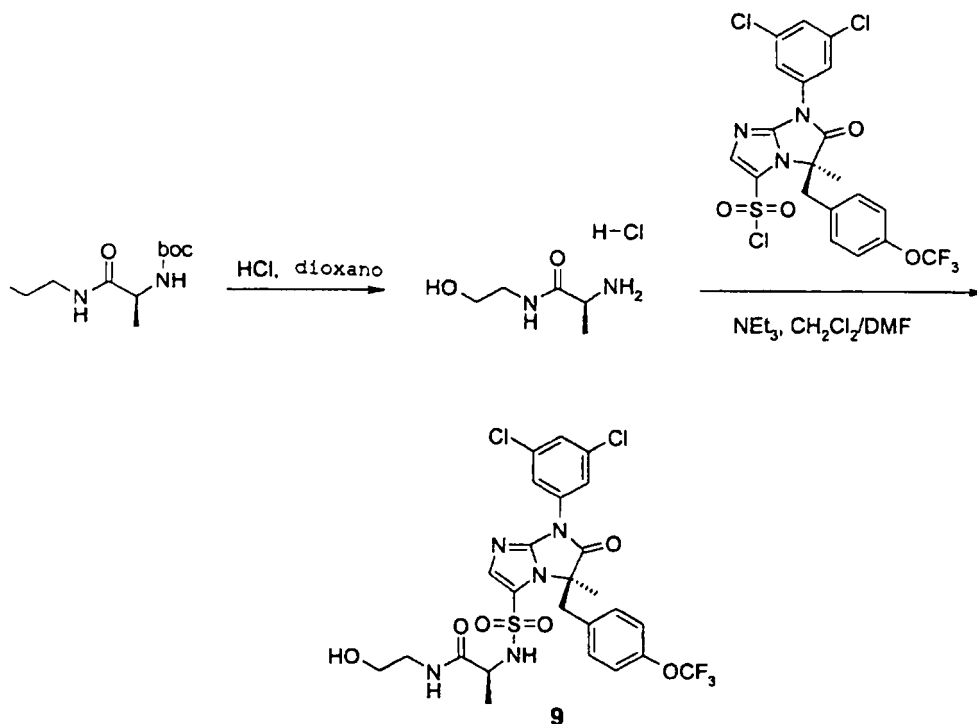
El compuesto siguiente se preparó por un procedimiento análogo al Ejemplo 8:

(R)-2-[(R)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-5-(4-trifluorometoxi-bencil)-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida (606,4, M+1)



Ejemplo 9

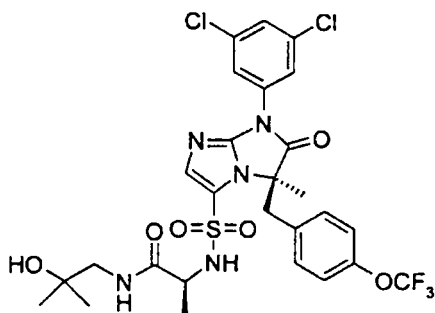
Síntesis de (S)-2-[(R)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-5-(4-trifluorometoxi-bencil)-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-N-(2-hidroxi-etil)-propionamida



A una suspensión de N-Boc-L-(N'-hidroxi-etil)ala-ninamida (0,188 g, 0,09 mmol) en 1 ml de dioxano se añadió HCl (2,0 ml, 4 M en dioxano), y la mezcla resultante turbia se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas. La concentración de la mezcla se realizó por adición de CH₂Cl₂, y este proceso se repitió dos veces. El bombeo final bajo alto vacío durante 12 horas proporcionó un aceite incoloro. La sal cruda de amina HCl se disolvió en 1,5 ml de DMF y se trató con trietilamina (0,157 ml, 1,13 mmol). Después de agitar a temperatura ambiente durante 10 minutos, una solución de cloruro de (R)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-5-(4-trifluorometoxi-bencil)-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilo (0,125 g, 0,225 mmol) en 3 ml de C₂Cl₂ se añadió rápidamente gota a gota a través de una cánula. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de adición de EtOAc, la capa orgánica se lavó con tres porciones de solución de NaCl al 5%, después con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto crudo se purificó por cromatografía preparativa TLC para conseguir 0,118 g (81%) del compuesto del título como una espuma blanca (649,9, M+1).

El compuesto siguiente se preparó por un procedimiento análogo al Ejemplo 9:

(S)-2-[(R)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-5-(4-tri-fluorometoxi-bencil)-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-N-(2-hidroxi-2-metil-propil)-propionamida (678,3, M+1)



Descripción de las propiedades biológicas

Las propiedades biológicas de los compuestos representativos de la fórmula I se investigaron por medio del protocolo experimental descrito a continuación.

Ensayo para determinar la inhibición de la unión de LFA-1 a ICAM-1

Propósito del ensayo

Este protocolo de ensayo está diseñado para estudiar el antagonismo directo, por un compuesto de prueba, de la interacción de CAM, ICAM-1 con la Leucointegrina CD18/CD11a (LFA-1).

Descripción del protocolo de ensayo

LFA-1 se inmunopurifica utilizando el anticuerpo TS2/4 de un sedimento de 20 g de células JY o SKW3 humanas, utilizando un protocolo previamente descrito (Dustin, M. J.; *et al.*, *J. Immunol.* **1992**, 148, 2654-2660). El LFA-1 se purifica a partir de lisados SKW3 por cromatografía de inmunoafinidad sobre Sefarosa mAb TS2/4 LFA-1 y se eluye a pH 11,5 en la presencia de $MgCl_2$ 2 mM y octilglucósido al 1%. Después de recoger y neutralizar las fracciones de la columna TS2/4, las muestras se reúnen y se preaclaran con agarosa proteína G.

Se construye, se expresa, se purifica y se caracteriza una forma soluble de ICAM-1 como se ha descrito previamente (Marlin, S.; *et al.*, *Nature*, **1990**, 344, 70-72 y véase Arruda, A.; *et al.*, *Antimicrob. Agents Chemohter.* **1992**, 36, 1186-1192). Brevemente, la isoleucina 454 que se localiza en el límite putativo entre el dominio 5 del ectodominio y el dominio de la transmembrana se cambia a un codón de terminación utilizando mutagénesis dirigida por oligonucleótidos estándar. Esta construcción produce una molécula idéntica a los primeros 453 aminoácidos de ICAM-1 unido a la membrana. Se crea un vector de expresión con un gen de hidrofolato reductasa de hámster, un marcador de resistencia a neomicina, y la región codificante de la construcción sICAM-1 descrita antes, junto con el promotor, las señales de empalme, y la señal de poliadenilación de la región próxima SV40. El plásmido recombinante se transfecta a células CO DUX utilizando métodos de fosfato cálcico estándar. Las células se pasan a un medio selectivo (G418) y las colonias que secretan sICAM-1 se amplifican utilizando metotrexato. sICAM-1 se purifica desde medios libres de suero utilizando técnicas cromatográficas no de afinidad, incluyendo cromatografía de intercambio iónico y cromatografía de exclusión por tamaño.

La unión de LFA-1 a ICAM-1 se controla incubando primeramente sICAM-1 a 40 $\mu g/ml$ en solución salina tamponada de fosfato Dulbecco con calcio y magnesio, $MgCl_2$ 2 mM adicional y PMSF 0,1 mM (tampón de dilución) en una placa de 96 pocillos durante 30 minutos a temperatura ambiente. Las placas se bloquean después por adición de albúmina de suero bovino al 2%(p/v) en tampón de dilución a 37°C durante 1 h. La solución de bloqueo se separa de los pocillos y los compuestos de prueba se diluyen y después se añaden, seguidos de la adición de aproximadamente 25 ng de LFA-1 purificada por inmunoafinidad. La LFA-1 se incuba en presencia del compuesto de prueba e ICAM-1 a 37°C durante hora. Los pocillos se lavan tres veces con tampón de dilución. El LFA-1 unido se detecta por adición de un anticuerpo monoclonal dirigido contra un péptido que corresponde a la cola citoplásmica en una dilución 1:100 con tampón de dilución y BSA al 1% y se deja incubarlo durante 45 minutos a 37°C. Los pocillos se lavan 3 veces con tampón de dilución y el anticuerpo monoclonal unido se detecta por adición de una dilución 1:4000 de peroxidasa de rábano picante conjugada a inmunoglobulina de cabra dirigida contra inmunoglobulina de conejo. Este reactivo se deja incubarlo durante 20 minutos a 37°C, los pocillos se lavaron como anteriormente y se añade el sustrato para la peroxidasa de rábano picante a cada pocillo para desarrollar una señal colorimétrica cuantitativa proporcional a la cantidad de LFA-1 unido a sICAM-1. ICAM-1 soluble (60 $\mu g/ml$) se usa como un control positivo para la inhibición de la interacción LFA-1/ICAM-1. La ausencia de la adición de LFA-1 al ensayo de unión se usa

como un control de fondo para todas las muestras. Se obtiene una curva dosis-respuesta para todos los compuestos de prueba.

5 Todos los compuestos hechos en los ejemplos anteriores se probaron en este ensayo y se encontró que cada uno tenía un $K_d < 10 \mu\text{M}$.

Ensayo para determinar el metabolismo por enzimas microsómicas de hígado humano

Propósito del ensayo

10 Este protocolo de ensayo está diseñado para medir el metabolismo *in vitro* de los compuestos de prueba por enzimas microsómicas de hígado humano. Los datos recogidos se analizan para calcular la semivida ($t_{1/2}$, min) para los compuestos de prueba.

Descripción del protocolo de ensayo

15 El ensayo se realiza en tampón de fosfato potásico 50 mM, pH 7,4 y NADF 2,5 mM. Las muestras de prueba se disolvieron en acetonitrilo para una concentración de ensayo final de 1 - 10 μM . Los microsomas de hígado humano se diluyeron en tampón de ensayo hasta una concentración de ensayo final de 1 mg proteína/ml. Un volumen de 25 μL de solución de compuesto y 50 μL de suspensión de microsomas se añadieron a 825 μL de tampón de ensayo. La preparación se incubó durante 5 minutos en un baño de agua a 37°C. La reacción se comenzó por la adición de 100 μL de NADF. Se separan volúmenes de 80 μL de la mezcla de incubación a 0, 3, 6, 10, 15, 20, 40, y 60 minutos desde el comienzo de la reacción y se añadieron a 160 μL de acetonitrilo. Las muestras se agitaron durante 20 segundos y después se centrifugaron durante 3 minutos a 3.000 rpm. Un volumen de 200 μL del sobrenadante se transfiere a platos de filtro de fibra de vidrio de 0,25 mm y se centrifuga durante 5 minutos a 3.000 rpm. Volúmenes de inyección de 10 μL se añaden típicamente a columnas de HPLC de Zorbax SB C8 con ácido fórmico en agua o acetonitrilo a una velocidad de flujo de 1,5 ml/min. El porcentaje de pérdida del compuesto se calcula a partir del área bajo cada punto de tiempo para determinar la semivida.

30 Los compuestos hechos en los ejemplos anteriores se comprobaron en este ensayo y se encontró generalmente que tenían $t_{1/2} \geq 50$ minutos.

Descripción del uso terapéutico

35 Las nuevas moléculas pequeñas proporcionadas por la invención inhiben la agregación homotípica dependiente de ICAM-1/LFA-1 de linfocitos humanos y la adherencia de linfocitos humanos a ICAM-1. Estos compuestos tienen utilidad terapéutica en la modulación de activación/proliferación de células inmunes, por ejemplo, como inhibidores competitivos de reacciones de unión ligando/receptor intercelular que implican CAMs y Leuointegrinas. Más específicamente, los compuestos de la invención pueden utilizarse para tratar ciertos estados inflamatorios, incluyendo estados que resultan de una respuesta del sistema inmune no específico en un mamífero (por ejemplo, síndrome de distrés respiratorio, shock, toxicidad por oxígeno, síndrome de daños orgánicos múltiples secundarios a septicemia, síndrome de daños orgánicos múltiples secundarios a trauma, daños por reperfusión de tejidos debido a bypass cardiopulmonar, infarto de miocardio o uso con agentes de trombolisis, glomerulonefritis aguda, vasculitis, artritis reactiva, dermatosis con componentes inflamatorios agudos, ictus, daño térmico, hemodiálisis, leucaferesis, colitis ulcerante, enterocolitis necrotizante o síndrome asociado con transfusión granulocítica) y estados que resultan de una respuesta del sistema inmune específico en un mamífero (por ejemplo, psoriasis, rechazo de trasplante de órgano/tejido, injerto frente a reacciones del huésped y enfermedades autoinmunes incluyendo el síndrome de Raynaud, tiroiditis autoinmune, dermatitis, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, diabetes mellitus dependiente de insulina, uveitis, enfermedad inflamatoria del intestino incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerante, y lupus eritematosus sistémico). Los compuestos de la invención también pueden usarse para tratar el asma o como un auxiliar para minimizar la toxicidad de la terapia con citoquina en el tratamiento de cánceres. En general estos compuestos pueden emplearse en el tratamiento de las enfermedades actualmente tratables mediante terapia con esteroides.

55 Así, otro aspecto de la invención es la provisión de un método para el tratamiento o profilaxis de las condiciones descritas anteriormente mediante la administración de cantidades terapéuticas o profilácticas de uno o más compuestos de la fórmula I.

De acuerdo con el método proporcionado por la invención, los nuevos compuestos de la fórmula I pueden administrarse con fines terapéuticos o profilácticos, solos o con otros agentes inmunosupresores o antiinflamatorios. Cuando se suministran profilácticamente, los compuestos inmunosupresores se proporcionan antes de cualquier respuesta o síntoma inflamatorio (por ejemplo, antes de, en el momento o justo después de un trasplante de tejido o de órgano pero antes de cualquier síntoma de rechazo del órgano). La administración profiláctica de un compuesto de la fórmula I sirve para prevenir o atenuar cualquier respuesta inflamatoria subsiguiente (como por ejemplo, rechazo de un órgano o tejido trasplantado, etc.). La administración terapéutica de un compuesto de la fórmula I sirve para atenuar cualquier inflamación real (como por ejemplo, el rechazo de un órgano o tejido trasplantado). Así, de acuerdo con la invención, un compuesto de la fórmula I puede administrarse bien antes de la aparición de la inflamación (así como suprimir una inflamación anticipada) o bien después de la iniciación de la inflamación.

El nuevo compuesto de la fórmula I puede, de acuerdo con la invención, administrarse en dosis única o dosis divididas por vía oral, parenteral o tópica. Una dosis oral conveniente para un compuesto de fórmula I estará en el intervalo de aproximadamente 0,1 mg a 10 g por día. En las formulaciones parenterales, una unidad de dosificación conveniente puede contener desde 0,1 a 250 mg de esos compuestos, mientras que para administración tópica, se prefieren las formulaciones que contienen 0,01 a 1% de ingrediente activo. Debe comprenderse, sin embargo, que la administración de dosis variará de paciente a paciente y la dosificación para cualquier paciente particular dependerá del dictamen del médico, que usará como criterio para fijar una dosis adecuada el tamaño y el estado del paciente, así como la respuesta del paciente al fármaco.

Cuando los compuestos de esta invención se administran por vía oral, pueden administrarse como medicamentos en forma de preparaciones farmacéuticas que los contienen en asociación con un material soporte farmacéutico compatible. Ese soporte puede ser un material inerte orgánico o inorgánico conveniente para administración oral. Ejemplos de esos materiales soporte son agua, gelatina, talco, almidón, estearato de magnesio, goma arábiga, aceites vegetales, polialquilenglicoles, jalea de petróleo y similares.

Las preparaciones farmacéuticas pueden prepararse de manera convencional y las formas de dosificación finales pueden ser formas sólidas, por ejemplo, comprimidos, grageas, cápsulas y similares o formas líquidas, por ejemplo, soluciones, suspensiones, emulsiones y similares. Las preparaciones farmacéuticas pueden someterse a operaciones farmacéuticas convencionales como la esterilización. Además, las preparaciones farmacéuticas pueden contener auxiliares convencionales, como conservantes, estabilizadores, emulsificadores, mejoradores del sabor, agentes humectantes, tampones, sales para variar la presión osmótica y similares. El material soporte sólido que puede usarse, incluye, por ejemplo, almidón, lactosa, manitol, metilcelulosa, celulosa microcristalina, talco, sílice, fosfato de calcio dibásico y polímeros de alto peso molecular (como polietilenglicol).

Para uso parenteral, puede administrarse un compuesto de fórmula I en una solución acuosa o no acuosa, suspensión o emulsión en un aceite farmacéuticamente aceptable o una mezcla de líquidos, que pueden contener agentes bacteriostáticos, antioxidantes, conservantes, tampones u otros solutos para preparar la solución isotónica con la sangre, agentes espesantes, agentes de suspensión u otros aditivos farmacéuticamente aceptables. Los aditivos de este tipo incluyen, por ejemplo, tampones de tartrato, citrato y acetato, etanol propilenglicol, polietilenglicol, formadores de complejos (como EDTA), antioxidantes (como bisulfito sódico, metabisulfito sódico y ácido ascórbico), polímeros de alto peso molecular (como óxidos de polietileno líquidos) para regulación de la viscosidad y derivados de polietileno de anhídridos de sorbitol. Pueden también añadirse conservantes si es necesario, como ácido benzoico, metil o propilparabeno, cloruro de benzalconio y otros compuestos de amonio cuaternario.

Los compuestos de esta invención pueden también administrarse como soluciones para aplicación nasal y pueden contener además de los compuestos de esta invención tampones convenientes, ajustadores de la tonicidad, conservantes microbianos, antioxidantes y agentes que aumentan la viscosidad en un vehículo acuoso. Ejemplos de agentes que aumentan la viscosidad son alcohol polivinílico, derivados de celulosa, polivinilpirrolidona, polisorbato o glicerina. Los conservantes microbianos pueden incluir cloruro de benzalconio, timerosal, clorobutanol o alcohol feniletílico.

Adicionalmente, los compuestos proporcionados por la invención pueden administrarse tópicamente o por supositorios.

Formulaciones

Los compuestos de la fórmula I pueden formularse para administración terapéutica de varias maneras. A continuación se dan ejemplos de varias formulaciones.

(Tabla pasa a página siguiente)

Ejemplo A

Cápsulas o comprimidos			
Ejemplo A-1		Ejemplo A-2	
Ingredientes	Cantidad	Ingredientes	Cantidad
Compuesto de fórmula I	250 mg	Compuesto de fórmula I	50 mg
Almidón	160 mg	Fosfato dicálcico	160 mg
Celulosa micro- cristalina	90 mg	Celulosa micro- cristalina	90 mg
Glicolato de almidón sódico	10 mg	Ácido esteárico	5 mg
Estearato mag- nésico	2 mg	Glicolato de al- midón sódico	10 mg
Sílice coloidal ahumada	1 mg	Sílice coloidal ahumada	1 mg

El compuesto de la fórmula I se mezcla para formar un polvo con los materiales excipientes mezclados previamente identificados con excepción del lubricante. El lubricante se mezcla después y la mezcla resultante se comprime en forma de comprimidos o se rellena en cápsulas de gelatina dura.

Ejemplo B

Soluciones parenterales	
Ingredientes	Cantidad
Compuesto de fórmula I	500 mg
PEG 400	40% en volumen
Alcohol etílico	5% en volumen
Solución salina	55% en volumen

Los materiales excipientes se mezclan y se añaden después a uno de los compuestos de la fórmula I en tanto volumen como sea necesario para la disolución. Se continúa la mezcla hasta que esta solución esté clara. La solución se filtra después en los viales o ampollas apropiados y se esteriliza en autoclave.

Ejemplo C

5	Suspensión	
	Ingredientes	Cantidad
	Compuesto de fórmula	100 mg
10	I	
	Ácido cítrico	1,92g
	Cloruro de benzalco-	
15	nio	0,025% en peso
	EDTA	0,1 % en peso
	Alcohol polivinílico	10% en peso
20	Agua	c.s. hasta 100
		mL

25 Los materiales excipientes se mezclan con agua y después se añade uno de los compuestos de fórmula I y se continúa la mezcla hasta que la suspensión es homogénea. La suspensión se transfiere después a los viales o ampollas apropiados.

Ejemplo D

30	Formulación tópica	
	Ingredientes	cantidad
	Compuesto de fórmula	5% en peso
35	I	
	Tefose 63	13% en peso
	Labrafil M 1944 CS	3% en peso
40	Aceite de parafina	8% en peso
	Metilparabeno (MP)	0,15% en peso
	Propilparabeno (PP)	0,05% en peso
45	Agua desionizada	c.s. hasta 100
		ml

50 Las cantidades apropiadas de Tefose 63, Labrafil M 1944 CS, aceite de parafina y agua se mezclaron y calentaron a 75°C hasta que todos los componentes se han fundido. La mezcla se enfría después a 50°C con agitación continua. El metilparabeno y el propilparabeno se añadieron y la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. El compuesto de fórmula I se añadió a la mezcla y se mezcló muy bien.

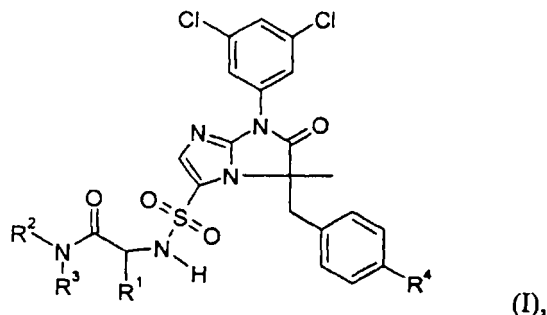
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula I



en que:

R^1 es alquilo lineal o ramificado de 1 a 3 átomos de carbono que está opcionalmente mono- o di-sustituído con restos independientemente seleccionados del grupo que consiste en:

- (i) oxo y
- (ii) morfolino;

R^2 y R^3 se seleccionan, cada uno independientemente, del grupo que consiste en:

- (A) hidrógeno, y
- (B) alquilo lineal o ramificado de 1 a 4 átomos de carbono, cuyo grupo alquilo está mono- o di-sustituído con restos independientemente seleccionados del grupo que consiste en:
 - (i) CONH_2 y
 - (ii) OH ,

o R^2 y R^3 , junto con el átomo de nitrógeno entre ellos, forman un anillo de piperazina; y

R^4 es:

- (A) ciano,
- (B) pirimidina que está mono- o di-sustituída con NH_2 o
- (C) trifluorometoxi;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto de la fórmula I, de acuerdo con la reivindicación 1, en que:

R^1 es un grupo metilo;

R^2 y R^3 se seleccionan, cada uno independientemente, del grupo que consiste en:

- (A) hidrógeno y
- (B) alquilo lineal o ramificado de 1 a 4 átomos de carbono que está mono- o di-sustituído con restos independientemente seleccionados del grupo que consiste en:
 - (i) CONH_2 y
 - (ii) OH ;

y R⁴ es:

(A) ciano o

(B) trifluorometoxi;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

3. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en que:

R¹ es un grupo metilo;

R² y R³ se seleccionan, cada uno independientemente, del grupo que consiste en:

(A) hidrógeno y

(B) alquilo lineal o ramificado de 1 a 4 átomos de carbono que está mono- o di-sustituído con restos independientemente seleccionados del grupo que consiste en:

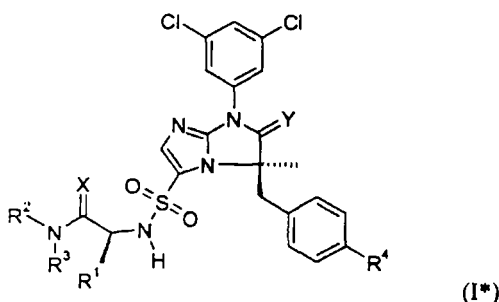
(i) CONH₂; y

(ii) OH; y

R⁴ es trifluorometoxi;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

4. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, 2 ó 3, que tiene la estereoquímica absoluta expresada a continuación por la fórmula I*:



5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3 ó 4, seleccionado del grupo que consiste en:

(a) (S)-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazo-3-sulfonilamino]-propionamida;

(b) (S)-2-[(R)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-5-(4-trifluorometoxi-bencil)-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-N-(2-hidroxi-2-metil-propil)-pro-pionamida;

(c) (S)-2-[(R)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-5-(4-trifluorometoxi-bencil)-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida; y

(d) (S)-N-carbamoilmetil-2-[(R)-5-(4-ciano-bencil)-7-(3,5-dicloro-fenil)-5-metil-6-oxo-6,7-dihidro-5H-imidazo[1,2-a]imidazol-3-sulfonilamino]-propionamida; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3, 4 ó 5 y al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3, 4 ó 5 para uso como un medicamento.

8. Uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, 2, 3, 4 ó 5 para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de inflamación o un estado inflamatorio en un paciente.

9. Uso de acuerdo con la reivindicación 8, en que el estado que se ha de tratar es el síndrome de distrés respiratorio, shock, toxicidad por oxígeno, síndrome de daños orgánicos múltiples secundarios a septicemia, síndrome de

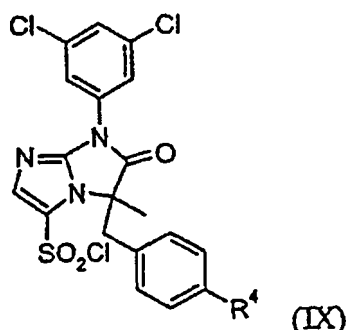
daños orgánicos múltiples secundarios a trauma, daños por reperfusión de tejidos debido a *bypass* cardiopulmonar, infarto de miocardio o uso con agentes de trombolisis, glomerulonefritis aguda, vasculitis, artritis reactiva, dermatosis con componentes inflamatorios agudos, ictus, daño térmico, hemodiálisis, leucaferesis, colitis ulcerante, enterocolitis necrotizante o síndrome asociado con transfusión granulocítica.

10. Uso de acuerdo con la reivindicación 8, en que el estado que se ha de tratar es psoriasis, rechazo de trasplante de órgano/tejido, injerto frente a reacciones del huésped o enfermedades autoinmunes, incluyendo el síndrome de Raynaud, tiroiditis autoinmune, dermatitis, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, diabetes mellitus dependiente de insulina, uveitis, enfermedad inflamatoria del intestino, incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerante o lupus eritematosos sistémico.

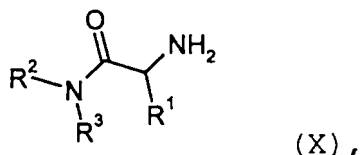
11. Uso de acuerdo con la reivindicación 8, en que el estado que se ha de tratar es asma.

12. Uso de acuerdo con la reivindicación 8, en que el estado que se ha de tratar son los efectos tóxicos de la terapia con citoquina.

13. Un método para preparar un compuesto de la fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, método que comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula IX

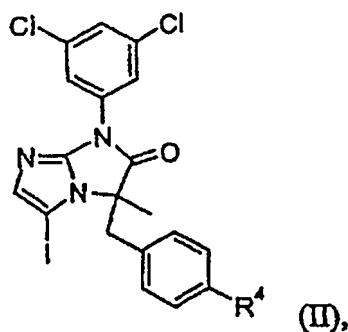


en que R^4 es como se ha definido en la reivindicación 1, con un compuesto de la fórmula X



en que R^1 , R^2 y R^3 son como se ha definido en la reivindicación 1, para obtener un compuesto de la fórmula I.

14. Un método de acuerdo con la reivindicación 13, en el que el compuesto de la fórmula IX se obtiene por un método que comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II



en que R^4 es como se ha definido en la reivindicación 13, con un reactivo de Grignard, seguido de tratamiento con SO_2 y N-clorosuccinimida, para obtener un compuesto de la fórmula IX.