



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 361 632**

51 Int. Cl.:

C07K 5/06 (2006.01)

C07K 5/08 (2006.01)

A61K 38/05 (2006.01)

A61K 38/06 (2006.01)

A61K 38/55 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01)

A61P 11/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07762204 .1**

96 Fecha de presentación : **15.05.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2019837**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.02.2009**

54 Título: **Compuestos y composiciones como inhibidores de proteasas activadoras de canal.**

30 Prioridad: **23.05.2006 US 808014 P**
22.11.2006 US 860622 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
20.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
20.06.2011

73 Titular/es: **IRM L.L.C.**
Hurst Holme 12 Trott Road
Hamilton HM 11, BM

72 Inventor/es: **Tully, David, C.;**
Chatterjee, Arnab, K.;
Petrassi, Hank, Michael, James;
Bursulaya, Badry y
Spraggon, Glen

74 Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

ES 2 361 632 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 y composiciones como inhibidores de proteasas activadoras de canal

5 Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

[0001] Esta solicitud reivindica el beneficio de las solicitudes provisionales de Estados Unidos con el número de serie 60/808,014, presentada el 23 de mayo de 2006, y el número de serie 60/860,622, presentada el 22 de noviembre de 2006.

10

Campo técnico

[0002] La invención se refiere de forma general a inhibidores de proteasas activadoras de canal (CAP).

15 Técnica anterior

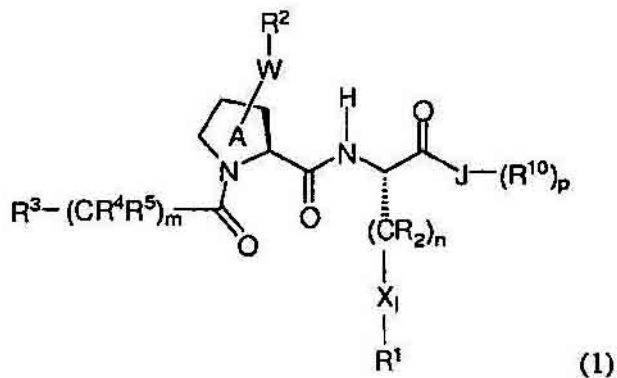
[0003] La prostasina es una serina proteasa similar a la tripsina que está presente en diversos tejidos de mamíferos. Es una proteasa anclada a la membrana que se expresa en la membrana extracelular de las células pero que también se puede secretar en líquidos corporales, tales como semen, orina y líquido de la superficie de las vías respiratorias. La prostasina (PRSS8), junto con proteasas tales como matriptasa, CAP2, CAP3, tripsina, PRSS22, TMPRSS11, catepsina A y elastasa neutrófila, puede estimular la actividad del canal de sodio epitelial sensible a amilorida (ENaC). La inhibición de estas enzimas puede inducir cambios en el transporte iónico epitelial y, por lo tanto, en la homeostasis de líquidos a través de las membranas epiteliales. Por ejemplo, se piensa que la inhibición de las CAP en el riñón promueve la diuresis, mientras que la inhibición de las CAP en las vías respiratorias promueve el aclaramiento del moco y del esputo en el pulmón. Por lo tanto, la inhibición de las CAP en el riñón se puede usar terapéuticamente para tratar la hipertensión. La inhibición de las CAP en las vías respiratorias previene la estasis de secreciones respiratorias, la cual, de otro modo, vuelve a los pacientes que la sufren vulnerables a infecciones bacterianas secundarias.

30 Descripción de la invención

[0004] La invención proporciona compuestos y composiciones farmacéuticas, y en la presente memoria se describen procedimientos para el uso de tales compuestos para la modulación de las proteasas activadoras de canal (CAP). Por ejemplo, los compuestos y las composiciones de la invención se pueden usar para la modulación de prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (por ejemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A y elastasa neutrófila.

35

[0005] En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (1):



40

y sales, hidratos, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que J es un anillo monocíclico o carbocíclico condensado de 5 a 12 miembros, un anillo arilo, heteroarilo o heterocíclico que contiene N, O y/o S;

45 R¹ es -(CR₂)_l-NR₂, -(CR₂)_l-NRC(=NR)-NR₂, -(CR₂)_l-C(=NR)-NR₂ o un anillo heterocíclico no aromático de 5 a 7

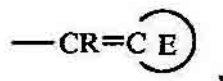
miembros que contiene nitrógeno;

W-R² es un sustituyente en cualquier posición del anillo A;

W es -O(CR₂)_k-, -S(CR₂)_k-, -S(O)(CR₂)_k-, -SO₂(CR₂)_k- o -OC(O)(CR₂)_k-;

R² es alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆, R⁶, -CR⁹=CR⁹-R⁶ o

5



en el que el anillo E es un anillo monocíclico o carbocíclico o heterocíclico condensado de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido; o W-R² forman juntos alquilo C₁₋₆, arilo de 5 a 7 miembros o -OC(O)NR⁷R⁸-;

10 R³ es R⁶;

R⁴ y R⁵ son independientemente H, alquilo C₁₋₆, OH o alcoxi C₁₋₆;

R⁷ y R⁸ son independientemente H, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o -(CR₂)-R⁶; o R⁷ y R⁸ pueden formar junto con N un anillo monocíclico o heterocíclico condensado de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido;

R⁹ es H o alquilo C₁₋₆;

15 R¹⁰ es halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, OR¹¹ o -(CR₂)-R¹¹;

R⁶, R¹¹ y X son independientemente un anillo carbocíclico, un anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido; o R¹¹ es H o alquilo C₁₋₆;

cada R es H o alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆, en el que un carbono puede estar sustituido o reemplazado opcionalmente por NR, O o S;

20 i es 0 a 1;

k y l son independientemente 0 a 6;

m y n son independientemente 1 a 6; y

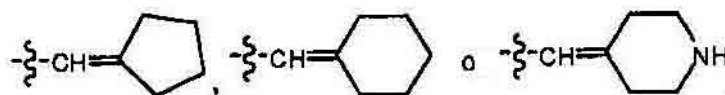
p es 0 a 3.

25 **[0006]** En la fórmula (1) anterior, R¹ es -(CH₂)_l-NH₂, -(CH₂)_l-NHC(=NH)-NH₂ o -(CH₂)_l-C(=NH)-NH₂NH₂, en los que cada l es 0 a 1; o R¹ es piperidinilo. En ejemplos concretos, R¹ es -(CH₂)_l-NH₂, -(CH₂)_l-NHC(=NH)-NH₂ o -(CH₂)_l-C(=NH)-NH₂NH₂.

[0007] En la fórmula (1) anterior, W es -O(CR₂)_k-, -S(CR₂)_k-, -S(O)(CR₂)_k-, -SO₂(CR₂)_k- o -OC(O)(CR₂)_k-; y k es

30 1. En ejemplos concretos, W es -O(CR₂)_k-.

[0008] En algunas realizaciones, R² es fenilo, cicloalquilo C₅₋₇, tienilo, furanilo, piperidinilo, metilenciclohexilo opcionalmente sustituido,



35

En ejemplos concretos, R² es fenilo o cicloalquilo C₅₋₇.

[0009] En otras realizaciones, R³ es fenilo, piridilo, tiazolilo o piperidinilo opcionalmente sustituido. En algunos

40 ejemplos, R, R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son cada uno H.

[0010] En aún otras realizaciones, R⁶ es fenilo, cicloalquilo C₃₋₇, piridilo, tiazolilo, piperidinilo, ciclohexanol, imidazolilo, tienilo, furanilo opcionalmente sustituido,

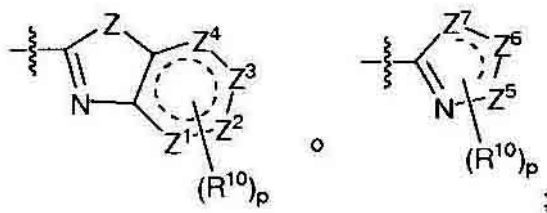


45

En ejemplos concretos, R⁶ es fenilo, cicloalquilo C₃₋₇, piridilo, tiazolilo o piperidinilo opcionalmente sustituido.

[0011] En aún otras realizaciones, X es ciclohexilo, fenilo o piperidinilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido opcionalmente con alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , halógeno o una combinación de los mismos. En algunos ejemplos, X es ciclohexilo o fenilo.

5 **[0012]** En la fórmula (1) anterior, $-J-(R^{10})_p$ en conjunto puede ser



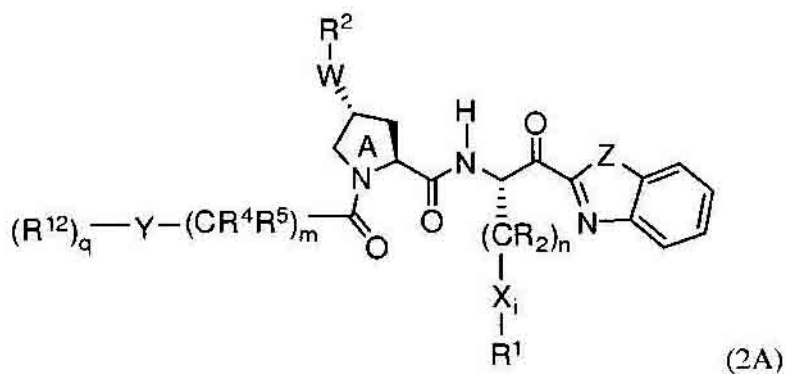
Z es O o S;

- 10 Z^1, Z^2, Z^3 o Z^4 son independientemente N, CH o C cuando están unidos a R^{10} ;
 Z^5, Z^6 o Z^7 son independientemente N, O, S, CH o C cuando están unidos a R^{10} ;
 R^{10} es alquilo C_{1-6} o $-(CR_2)-R^{11}$;
 R^{11} es fenilo o cicloalquilo C_{5-7} ; y
 p es 0 a 1.

15

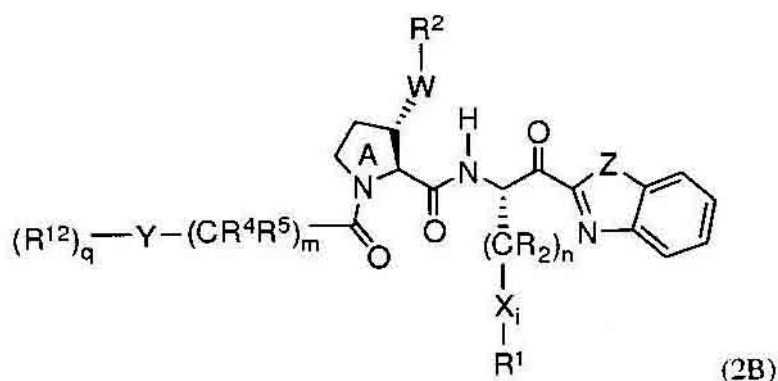
[0013] En algunos ejemplos, J es benzotiazolilo, benzoxazolilo, tiazolilo u oxadiazolilo.

[0014] En una realización, la invención proporciona compuestos de fórmula (2A) o (2B):



20

o



en las que Z es O o S;

R¹ es NH₂, -NHC(=NH)-NH₂ o -C(=NH)-NH₂;

5 W es -O(CH₂)_k- o -S(O)(CH₂)_k-;

R² es fenilo opcionalmente sustituido, o W-R² forman juntos alquilo C₁₋₆ o fenilo opcionalmente sustituido;

R, R⁴ y R⁵ son independientemente H;

Y es un anillo arilo, heteroarilo o heterocíclico de 5 a 7 miembros que contiene N, O o S;

R¹² es halógeno, alquilo C₁₋₆ o -L-(CH₂)_l-R¹³;

10 L es un enlace, O, SO₂, NHCO, NHSO₂ o SO₂NH;

R¹³ es alquilo C₁₋₆ opcionalmente halogenado o cicloalquilo C₃₋₇ opcionalmente sustituido o un anillo arilo, heteroarilo o heterocíclico de 5 a 7 miembros;

i es 0;

k es 1;

15 l es 0 a 1;

m y n son independientemente 1 a 4; y

q es 0 a 3.

[0015] En la fórmula (2A) o (2B) anterior, Y puede ser fenilo, piridilo, tiazolilo o piperidinilo. En algunos ejemplos, 20 R¹² es -L-(CH₂)_l-R¹³; y R¹³ es alquilo C₁₋₆ opcionalmente halogenado, cicloalquilo C₃₋₇, morfolinilo, fenilo o piperidinilo.

[0016] En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B) y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

25 [0017] En la presente memoria se describen igualmente procedimientos para modular una proteasa activadora de canal, que comprenden administrar a un sistema o sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B), o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo, modulando de este modo dicha proteasa activadora de canal.

30 [0018] En la presente memoria se describen igualmente procedimientos para mejorar un estado mediado por una proteasa activadora de canal, que comprenden administrar a un sistema o sujeto que necesite tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B), o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo, opcionalmente en combinación con un segundo agente terapéutico, tratando de este modo dicho estado. Ejemplos de un segundo agente terapéutico que se puede usar con los compuestos de la invención 35 incluyen, pero no se limitan a, un antiinflamatorio, broncodilatador, antihistamínico, antitusivo, antibiótico o DNasa.

[0019] Ejemplos de proteasas activadoras de canal que se pueden modular usando los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, prostasina, PRSS2, TMPRSS11 (por ejemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A o elastasa 40 neutrófila. En la presente memoria se describen procedimientos para la modulación de prostasina y procedimientos para el tratamiento de un estado mediado por prostasina.

[0020] En los procedimientos anteriores para el uso de los compuestos de la invención se puede administrar un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B) a un sistema que comprende células o tejidos. Por ejemplo, se puede poner 45 un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B) en contacto con células epiteliales bronquiales, que pueden ser células

humanas. En otros aspectos, se puede administrar un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B) a un sujeto humano o animal.

- [0021]** En la presente memoria se describen igualmente procedimientos para mejorar un estado asociado al movimiento de líquido a través de los epitelios transportadores de iones o a la acumulación de moco y esputo en tejidos respiratorios, o a una combinación de ellos. El estado puede ser, por ejemplo, fibrosis quística, discinesia ciliar primaria, carcinoma pulmonar, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma o una infección del tracto respiratorio.
- [0022]** Además, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B), o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo, opcionalmente en combinación con un segundo agente terapéutico, para el uso en la modulación de una proteasa activadora de canal (por ejemplo, para la inhibición de prostasina). La presente invención proporciona asimismo el uso de un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B), o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo, opcionalmente en combinación con un segundo agente terapéutico, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un estado mediado por una proteasa activadora de canal (por ejemplo, un estado mediado por prostasina).

Definiciones

- [0023]** "Alquilo" se refiere a un resto y a un elemento estructural de otros grupos, por ejemplo alquilo sustituido con halógeno y alcoxi, y puede ser de cadena lineal o ramificado. Como se usa en la presente memoria, alquilo, alquenilo o alquinilo opcionalmente sustituido puede estar opcionalmente halogenado (por ejemplo CF₃) o puede presentar uno o más carbonos sustituidos o reemplazados por un heteroátomo, tal como NR, O o S (por ejemplo, -OCH₂CH₂O-, alquiltioles, tioalcoxi, alquilaminas, etc.).
- [0024]** "Ariilo" se refiere a un anillo aromático monocíclico o bicíclico condensado que contiene átomos de carbono. Por ejemplo, ariilo puede ser fenilo o naftilo. "Ariileno" significa un radical divalente derivado de un grupo ariilo.
- [0025]** "Heteroarilo" como se usa en la presente memoria es como se ha definido anteriormente para ariilo, en el que uno o más miembros del anillo son un heteroátomo. Ejemplos de heteroarilos incluyen piridilo, indolilo, indazolilo, quinoxalinilo, quinolinilo, benzofuranilo, benzopirranilo, benzotipirranilo, benzo[1,3]dioxol, imidazolilo, benzo-imidazolilo, pirimidinilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo y tienilo.
- [0026]** Un "anillo carbocíclico" como se usa en la presente memoria se refiere a un anillo monocíclico, bicíclico condensado o policíclico con puente saturado o parcialmente insaturado que contiene átomos de carbono y que opcionalmente puede estar sustituido, por ejemplo, con =O. Ejemplos de anillos carbocíclicos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclopropileno y ciclohexanona.
- [0027]** Un "anillo heterocíclico" como se usa en la presente memoria es como se ha definido anteriormente para un anillo carbocíclico, en el que uno o más carbonos del anillo son un heteroátomo. Por ejemplo, un anillo heterocíclico puede contener N, O, S, -N=, -S-, -S(O), -S(O)₂- o -NR-, en el que R puede ser hidrógeno, alquilo C₁₋₄ o un grupo protector. Ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen morfolino, pirrolidinilo, pirrolidinil-2-ona, piperazinilo, piperidinilo, piperidinilona y 1,4-dioxa-8-azaspiro[4.5]dec-8-ilo.
- [0028]** Los términos "coadministración" o "administración combinada" o similares como se usan en la presente memoria abarcan la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un único paciente y pretenden incluir regímenes terapéuticos en los que los agentes no se administran necesariamente por la misma vía de administración o al mismo tiempo.
- [0029]** La expresión "combinación farmacéutica" como se usa en la presente invención se refiere a un producto obtenido por mezclado o combinación de ingredientes activos e incluye combinaciones tanto fijas como no fijas de los ingredientes activos. La expresión "combinación fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B) y un co-agente, se administran a un paciente simultáneamente en forma de una unidad o dosis única. La expresión "combinación no fija" significa que los ingredientes activos, por ejemplo un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B) y un co-agente, se administran a un paciente en forma de unidades separadas simultánea, conjunta o sucesivamente sin límites temporales específicos, proporcionando tal administración niveles terapéuticamente eficaces de los ingredientes activos en el cuerpo del paciente. Esto último también es válido para los cócteles terapéuticos, por ejemplo para la administración de tres o más ingredientes activos.

[0030] La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad del presente compuesto que provoca una respuesta biológica o médica en una célula, tejido, órgano, sistema, animal o ser humano analizado por el investigador, veterinario, médico u otro clínico.

5

[0031] Por el término "administración" y/o "administrar" el presente compuesto se entiende que se suministra un compuesto de la invención al individuo que necesite el tratamiento.

[0032] Como se usa en la presente memoria, los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a un procedimiento para aliviar o mitigar una enfermedad y/o sus síntomas concomitantes.

10

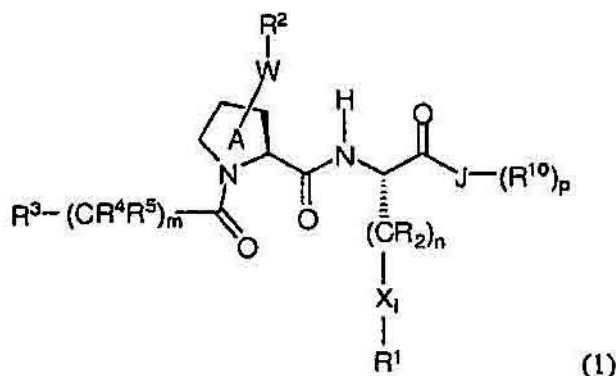
[0033] El término "prostasina" también puede denominarse: proteasa activadora de canal humana (hCAP); proteasa activadora de canal 1; y PRSS8, MERPOPS ID S01.159.

15 Formas de realización de la invención

[0034] La invención proporciona compuestos y composiciones farmacéuticas, y en la presente memoria se describen procedimientos para el uso de tales compuestos para la modulación de proteasas activadoras de canal (CAP).

20

[0035] En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (1):



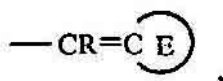
25 y sales, hidratos, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que J es un anillo monocíclico o carbocíclico condensado de 5 a 12 miembros, un anillo arilo, heteroarilo o heterocíclico que contiene N, O y/o S;

R^1 es $-(CR_2)_l-NR_2$, $-(CR_2)_l-NRC(=NR)-NR_2$, $-(CR_2)_l-C(=NR)-NR_2$ o un anillo heterocíclico no aromático de 5 a 7 miembros que contiene nitrógeno;

30 $W-R^2$ es un sustituyente en cualquier posición del anillo A;

W es $-O(CR_2)_k$, $-S(CR_2)_k$, $-S(O)(CR_2)_k$, $-SO_2(CR_2)_k$ o $-OC(O)(CR_2)_k$;

R^2 es alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} , R^6 , $-CR^9=CR^9-R^6$ o



35

en el que el anillo E es un anillo monocíclico o carbocíclico o heterocíclico condensado de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido; o $W-R^2$ forman juntos alquilo C_{1-6} , arilo de 5 a 7 miembros o $-OC(O)NR^7R^8$;

R^3 es R^6 ;

R^4 y R^5 son independientemente H, alquilo C_{1-6} , OH o alcoxi C_{1-6} ;

40 R^7 y R^8 son independientemente H, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o $-(OR_2)-R^6$; o R^7 y R^8 pueden formar junto con N un anillo monocíclico o heterocíclico condensado de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido;

R^9 es H o alquilo C_{1-6} ;

R^{10} es halógeno, alquilo C_{1-6} , alcoxi C_{1-6} , OR^{11} o $-(CR_2)_l-R^{11}$;

R^6 , R^{11} y X son independientemente un anillo carbocíclico, un anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido; o R^{11} es H o alquilo C_{1-6} ;

cada R es H o alquilo C_{1-6} , alqueno C_{2-6} o alquino C_{2-6} , en el que un carbono puede estar sustituido o reemplazado opcionalmente por NR, O o S;

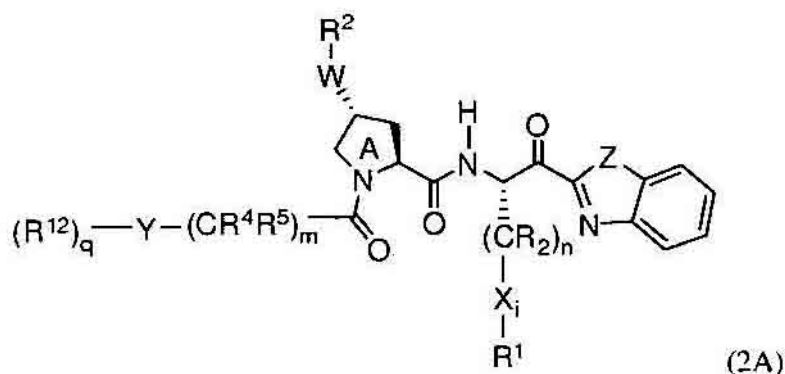
5 i es 0 a 1;

k y l son independientemente 0 a 6;

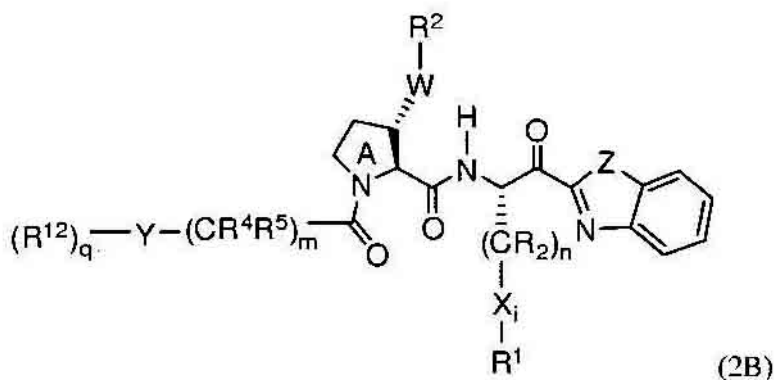
m y n son independientemente 1 a 6; y

p es 0 a 3.

10 **[0036]** En una realización, la invención proporciona compuestos de fórmula (2A) o (2B):



15 o



en las que Z es O o S;

R^1 es NH_2 , $-NHC(=NH)-NH_2$ o $-C(=NH)-NH_2$;

20 W es $-O(CH_2)_k-$ o $-S(O)(CH_2)_k-$;

R^2 es fenilo opcionalmente sustituido, o W- R^2 forman juntos alquilo C_{1-6} o fenilo opcionalmente sustituido;

R, R^4 y R^5 son independientemente H;

Y es un anillo arilo, heteroarilo o heterocíclico de 5 a 7 miembros que contiene N, O o S;

R^{12} es halógeno, alquilo C_{1-6} o $-L-(CH_2)_l-R^{13}$;

25 L es un enlace, O, SO_2 , $NHCO$, $NHSO_2$ o SO_2NH ;

R^{13} es alquilo C_{1-6} opcionalmente halogenado o cicloalquilo C_{3-7} opcionalmente sustituido o un anillo arilo, heteroarilo o heterocíclico de 5 a 7 miembros;

i es 0;

k es 1;

30 l es 0 a 1;

m y n son independientemente 1 a 4; y
q es 0 a 3.

[0037] En cada una de las fórmulas anteriores, X, R⁶ y R¹¹ pueden ser alternativamente cicloalquilo C₃₋₇ opcionalmente sustituido.

[0038] En cada una de las fórmulas anteriores, R¹ puede ser NR'R", NH-C(NR'R")=NH, NH-C(NHR')=NR", NH-C(R')=NR", S-C(NR'R")-NH, S-C(NHR')-NR", C(NR'R")=NH, C(NHR')=NR" o CR=NR"; en los que R'R" son iguales o diferentes y son H, alquilo C₁₋₆, arilaquilo C₁₋₃, arilo o en los que R'R" forman un anillo cíclico que contiene (CH₂)_p, en el que p es un número entero de 2 a 5.

[0039] En cada una de las fórmulas anteriores, cada resto opcionalmente sustituido puede estar sustituido con halógeno, =O, amino, guanidinilo, amidino, alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquínilo C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar halogenado opcionalmente o puede presentar opcionalmente un carbono que puede estar reemplazado o sustituido por N, O o S; CO₂R¹¹, O-(CR₂)_m-C(O)-R¹¹, -(CR₂)_m-R¹¹, -(CR₂)_m-C(O)-R¹¹ o -(CR₂)_m-SO₂-R¹¹ o una combinación de los mismos, en los que cada R¹¹ es H, alquilo C₁₋₆ o un anillo carbocíclico, anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido.

[0040] Los compuestos y las composiciones de la invención pueden ser útiles para modular una proteasa activadora de canal. Ejemplos de proteasas activadoras de canal que se pueden modular usando los compuestos y las composiciones de la invención incluyen, pero no se limitan a, prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (por ejemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A y elastasa neutrófila. Los nuevos compuestos de esta invención también pueden inhibir la actividad de las proteasas que estimulan la actividad de canales iónicos, tales como el canal de sodio epitelial, y pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades asociadas a CAP.

Farmacología y utilidad

[0041] Los compuestos de la invención modulan la actividad de las proteasas activadoras de canal, por ejemplo de las serina proteasas similares a la tripsina, tales como prostasina, y como tales son útiles para el tratamiento de enfermedades o trastornos en los que la prostasina contribuye a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

[0042] Las enfermedades mediadas por la inhibición de una proteasa activadora de canal, por ejemplo por una serina proteasa similar a tripsina tal como prostasina, incluyen enfermedades asociadas a la regulación de los volúmenes de líquido a través de las membranas epiteliales. Por ejemplo, el volumen del líquido de la superficie de las vías respiratorias es un regulador clave del aclaramiento mucociliar y para el mantenimiento de la salud pulmonar. La inhibición de una proteasa activadora de canal promueve la acumulación de líquido en el lado mucosal del epitelio de las vías respiratorias, promoviendo de este modo el aclaramiento del moco y evitando la acumulación de moco y esputo en los tejidos respiratorios (incluidas las vías respiratorias pulmonares). Tales enfermedades incluyen enfermedades respiratorias tales como fibrosis quística, discinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, infecciones del tracto respiratorio (agudas y crónicas; víricas y bacterianas) y carcinoma pulmonar. Las enfermedades mediadas por la inhibición de las proteasas activadoras de canal incluyen asimismo enfermedades distintas de las enfermedades respiratorias que están asociadas a una regulación anormal del líquido a través de un epitelio y que tal vez impliquen una fisiología anormal de los líquidos superficiales protectores en su superficie, por ejemplo xerostomía (sequedad de la boca) o queratoconjuntivitis seca (sequedad de los ojos). Además, la regulación de ENaC mediante las CAP en el riñón se podría usar para promover la diuresis e inducir así un efecto hipotensor.

[0043] La enfermedad pulmonar obstructiva crónica incluye bronquitis crónica o disnea asociada a ella, enfisema, así como exacerbación de la hiperreactividad de las vías respiratorias como consecuencia de otra terapia farmacológica, en particular otra terapia farmacológica inhalada. La invención también se puede aplicar al tratamiento de la bronquitis de cualquier tipo o génesis, que incluye, por ejemplo, bronquitis aguda, araquídica, catarral, crupal, crónica o ftnoide.

[0044] Los compuestos de la invención se pueden usar para el tratamiento del asma, que incluye, pero no se limita a, asma intrínseca (no alérgica) y extrínseca (alérgica), asma leve, asma moderada, asma grave, asma bronquítica, asma inducida por ejercicio, asma ocupacional y asma inducida por infección bacteriana. Se entiende que el tratamiento del asma también abarca el tratamiento de sujetos menores de, por ejemplo, 4 o 5 años de edad que muestren síntomas sibilantes y se diagnostiquen o se puedan diagnosticar como "niños sibilantes", una categoría de

pacientes de gran interés médico establecida e identificada ahora a menudo como asmáticos incipientes o en fase temprana, o como "síndrome sibilante de la infancia".

5 **[0045]** La adecuación de un inhibidor de proteasas activadoras de canal, tal como un inhibidor de la prostasina, para el tratamiento de una enfermedad mediada por la inhibición de una proteasa activadora de canal se puede ensayar determinando el efecto inhibidor del inhibidor de proteasas activadoras de canal de acuerdo con los ensayos descritos más adelante y siguiendo los procedimientos conocidos en la técnica.

10 **[0046]** De acuerdo con lo anterior, se describe en la presente memoria un procedimiento para prevenir o tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos anteriormente en un sujeto que necesite tal tratamiento, comprendiendo dicho procedimiento administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (1), (2A) o (2B) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Para cualquiera de los usos anteriores la dosis requerida variará en función del modo de administración, el estado concreto que se ha de tratar y el efecto deseado.

15 Administración y composiciones farmacéuticas

[0047] En general, los compuestos de la invención se administrarán en cantidades terapéuticamente eficaces mediante las vías de administración usuales y aceptables conocidas en la técnica, bien solos o bien en combinación con uno o más agentes terapéuticos.

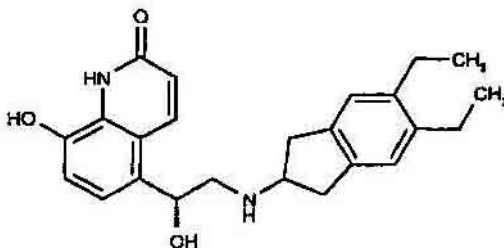
25 **[0048]** Los inhibidores de proteasas activadoras de canal de la invención también son útiles como agentes coterapéuticos para el uso en combinación con otros fármacos, tales como fármacos antiinflamatorios, broncodilatadores, antihistamínicos o antitusivos, especialmente en el tratamiento de la fibrosis quística o las enfermedades obstructivas o inflamatorias de las vías respiratorias, como las que se han mencionado anteriormente, por ejemplo como potenciadores de la actividad terapéutica de tales fármacos o como medio para reducir la dosis requerida o los posibles efectos adversos de tales fármacos.

30 **[0049]** Los inhibidores de proteasas activadoras de canal se pueden mezclar con el otro fármaco en una composición farmacéutica fija o se pueden administrar por separado antes, simultáneamente con o después del otro fármaco.

35 **[0050]** Por consiguiente, la invención puede incluir una combinación de un inhibidor de proteasas activadoras de canal con un fármaco antiinflamatorio, broncodilatador, antihistamínico, antitusivo, antibiótico o DNasa, estando dicho inhibidor de proteasas activadoras de canal y dicho fármaco en la misma composición farmacéutica o en diferentes.

[0051] Los fármacos antiinflamatorios adecuados incluyen esteroides, en particular glucocorticoides tales como budesonida, dipropionato de beclometasona, propionato de fluticasona, ciclesonida o furoato de mometasona, o los esteroides descritos en las solicitudes de patente internacional WO 02/88167, WO 02/12266, WO 02/100879, WO 02/00679 (por ejemplo, ejemplos 3, 11, 14, 17, 19, 26, 34, 37, 39, 51, 60, 67, 72, 73, 90, 99 y 101), WO 03/35668, WO 03/48181, WO 03/62259, WO 03/64445, WO 03/72592, WO 04/39827 y WO 04/66920; agonistas no esteroideos del receptor de glucocorticoides, como los que se describen en los documentos DE 10261874, WO 00/00531, WO 02/10143, WO 03/82280, WO 03/82787, WO 03/86294, WO 03/104195, WO 03/101932, WO 45 04/05229, WO 04/18429, WO 04/19935 y WO 04/26248; antagonistas de LTD₄, tales como montelukast y zafirlukast; inhibidores de PDE4, tales como cilomilast (ARIFLO® GlaxoSmithKline), ROFLUMILAST® (Byk Gulden), V-11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), AROFYLLINE® (Almirall Prodesfarma), PD189659 / PD168787 (Parke-Davis), AWD-12-281 (Asta Medica), CDC-801 (Celgene), SelCID(TM) CC-10004 (Celgene), VM554/UM565 (Vernalis), T-440 (Tanabe), KW-4490 (Kyowa Hakko Kogyo) y los que se describen en los documentos WO 92/19594, WO 93/19749, WO 93/19750, WO 93/19751, WO 98/18796, WO 99/16766, WO 50 01/13953, WO 03/104204, WO 03/104205, WO 03/39544, WO 04/000814, WO 04/000839, WO 04/005258, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/018431, WO 04/018449, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/019944, WO 04/019945, WO 04/045607 y WO 04/037805; y antagonistas del receptor de adenosina A_{2B}, como los que se describen en el documento WO 02/42298.

55 **[0052]** Los fármacos broncodilatadores adecuados incluyen agonistas del adrenoceptor beta-2, tales como albuterol (salbutamol), metaproterenol, terbutalina, salmeterol, fenoterol, procaterol, formoterol o carmoterol y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y los compuestos de fórmula (1) descritos en el documento WO 00/75114 (en forma libre o de sal o solvato), tales como un compuesto de fórmula:



y sales farmacéuticamente aceptables del mismo; los compuestos de fórmula (1) del documento WO 04/16601; así como los compuestos de los documentos EP 1440966, JP 05025045, WO 93/18007, WO 99/64035, US 2002/0055651, WO 01/42193, WO 01/83462, WO 02/66422, WO 02/70490, WO 02/76933, WO 03/24439, WO 03/42160, WO 03/42164, WO 03/72539, WO 03/91204, WO 03/99764, WO 04/16578, WO 04/22547, WO 04/32921, WO 04/33412, WO 04/37768, WO 04/37773, WO 04/37807, WO 04/39762, WO 04/39766, WO 04/45618, WO 04/46083 y WO 04/80964, cada uno en forma libre o de sal o solvato.

[0053] Los fármacos broncodilatadores adecuados también incluyen agentes anticolinérgicos o antimuscarínicos, en particular bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, sales de tiotropio y CHF 4226 (Chiesi), glicopirrolato, así como los descritos en los documentos EP 424021, US 3714357, US 5171744, WO 01/04118, WO 02/00652, WO 02/51841, WO 02/53564, WO 03/00840, WO 03/33495, WO 03/53966, WO 03/87094, WO 04/018422 y WO 04/05285.

[0054] Los fármacos antiinflamatorios y broncodilatadores duales adecuados incluyen agonistas del adrenoceptor beta-2/ antagonistas muscarínicos duales, como los que se describen en los documentos US 2004/0167167, WO 04/74246 y WO 04/74812.

[0055] Los fármacos antihistamínicos adecuados incluyen hidrocloreto de cetirizina, acetaminofén, fumarato de clemastina, prometazina, loratidina, desloratidina, hidrocloreto de difenhidramina y de fexofenadina, activastina, astemizol, azelastina, ebastina, epinastina, mizolastina y tefenadina, así como los descritos en los documentos JP 2004107299, WO 03/099807 y WO 04/026841.

[0056] Los antibióticos adecuados incluyen antibióticos macrólidos, por ejemplo tobramicina (TOBITM).

[0057] Los fármacos de DNasa adecuados incluyen dornasa alfa (PULMOZYMETM), una solución altamente purificada de desoxirribonucleasa I humana recombinante (rhDNasa) que corta el ADN selectivamente. La dornasa alfa se usa para el tratamiento de la fibrosis quística.

[0058] Otras combinaciones útiles de inhibidores de proteasas activadoras de canal con fármacos antiinflamatorios son aquellas con antagonistas de los receptores de quimiocinas, por ejemplo CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 y CCR-10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, especialmente antagonistas de CCR-5 tales como los antagonistas de Schering-Plough SC-351125, SCH-55700 y SCH-D, antagonistas de Takeda tales como cloruro de N-[[4-[[[6,7-dihidro-2-(4-metil-fenil)-5H-benzo-ciclohepten-8-il]carbonil]amino]fenil]-metil]tetrahidro-N,N-dimetil-2H-piran-4-aminio (TAK-770) y los antagonistas de CCR-5 descritos en los documentos US 6166037, WO 00/66558, WO 00/66559, WO 04/018425 y WO 04/026873.

[0059] En el tratamiento de una enfermedad mediada por la inhibición de la prostasina como se describe en la presente memoria se puede administrar un inhibidor de proteasas activadoras de canal de la invención en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable por cualquier vía apropiada, por ejemplo oral, por ejemplo en forma de comprimido, cápsula o líquido; parenteral, por ejemplo en forma de una solución o suspensión inyectable; intranasal, por ejemplo en forma de aerosol u otra formulación atomizable usando un dispositivo de liberación intranasal apropiado, por ejemplo un aerosol nasal como los que se conocen en la técnica; o por inhalación, como el uso con un nebulizador.

[0060] El inhibidor de proteasas activadoras de canal se puede administrar en una composición farmacéutica junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Tales composiciones pueden ser, por ejemplo, polvo

seco, comprimidos, cápsulas y líquidos, pero también soluciones para inyección, soluciones para infusión o suspensiones para inhalación, que se pueden preparar usando otros ingredientes y técnicas de formulación conocidas en la técnica.

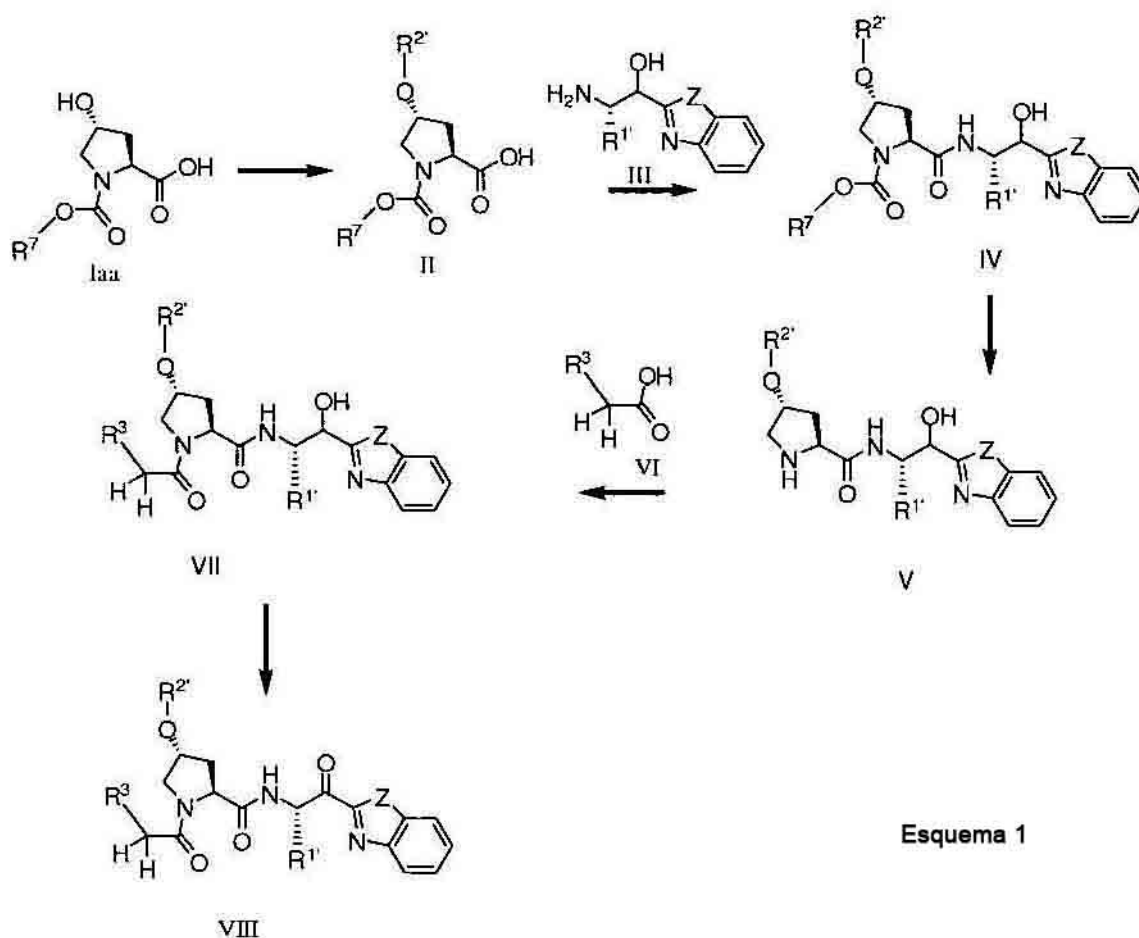
- 5 **[0061]** La dosificación del inhibidor de proteasas activadoras de canal en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable puede depender de diversos factores, tales como la actividad y la duración de la acción del ingrediente activo, la gravedad del estado que se ha de tratar, el modo de administración, la especie, el sexo, el origen étnico, la edad y el peso del sujeto y/o su estado individual. En un caso normal se estima que la dosis diaria para la administración, por ejemplo la administración oral a un animal de sangre caliente, en particular a un ser
- 10 humano que pesa aproximadamente 75 kg, es de aproximadamente 0,7 mg a aproximadamente 1.400 mg; o, en algunos ejemplos, de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 200 mg. Esa dosis se puede administrar en una dosis única o en varias dosis parciales, por ejemplo de 5 a 200 mg.

- [0062]** Cuando la composición comprende una formulación de aerosol, esta puede contener un propelente de
- 15 hidrofluoroalcano (HFA), tal como HFA134a o HFA227 o mezclas de ellos; uno o más codisolventes conocidos en la técnica, tales como etanol (hasta 20% en peso); uno o más agentes tensioactivos, tales como ácido oleico o trioleato de sorbitán; y/o uno o más agentes de carga, tales como lactosa. Cuando la composición comprende una formulación de polvo seco, esta puede contener, por ejemplo, el inhibidor de proteasas activadoras de canal con un
- 20 diámetro de partícula de hasta 10 micrómetros, opcionalmente junto con un diluyente o vehículo, tal como lactosa, con la distribución deseada del tamaño de partícula y un compuesto que ayude a proteger contra la pérdida de rendimiento del producto debido a la humedad (por ejemplo, estearato de magnesio). Cuando la composición comprende una formulación nebulizada, esta puede contener, por ejemplo, el inhibidor de proteasas activadoras de canal disuelto o suspendido en un vehículo que contiene agua, un codisolvente, tal como etanol o propilenglicol, y un estabilizador, que puede ser un agente tensioactivo.

25 Procedimientos para la preparación de los compuestos de la invención

- [0063]** Asimismo se describen procedimientos para la preparación de los compuestos de la invención. En las reacciones descritas los grupos funcionales reactivos, si se desean en el producto final (por ejemplo, grupos hidroxilo,
- 30 amino, imino, tio o carboxi), se pueden proteger usando grupos protectores conocidos en la técnica para impedir su participación no deseada en las reacciones. Se pueden usar grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica normal; véase, por ejemplo, T.W. Greene y P.G.M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

- 35 **[0064]** Los compuestos de la invención se pueden preparar según el esquema de reacción I siguiente:



Esquema 1

en el que R^{1'} es (CR₂)_n-X_i-R¹;

R^{2'} es (CR₂)_kR²;

5 R¹, R², R³, X, Z, i, k y n son como se han definido en la fórmula (1);

R⁷ es un grupo protector carbamato de alquilo (por ejemplo, metilo, etilo, t-butilo o bencilo y similares).

[0065] El compuesto intermedio II se puede sintetizar haciendo reaccionar el compuesto intermedio Ia con un reactivo alquilo del tipo R²-Y, en el que Y es un grupo saliente, en presencia de una base adecuada y un disolvente orgánico adecuado. Ejemplos de grupos salientes en los reactivos alquilo R²-Y incluyen, pero no se limitan a, haluros, tales como cloruros y bromuros, o un grupo saliente tosilato, mesilato o besilato y similares. Estas reacciones pueden transcurrir en un intervalo de temperaturas de aproximadamente 0°C a aproximadamente 60°C y pueden tardar hasta aproximadamente 24 horas en completarse.

15 [0066] El compuesto intermedio IV se puede sintetizar haciendo reaccionar el compuesto intermedio II con el reactivo III con un reactivo de acoplamiento peptídico adecuado y una base adecuada en presencia de un disolvente adecuado. Las bases adecuadas para esta reacción incluyen, pero no se limitan a, trietilamina, DIEA, piridina, 2,4,6-colidina y otras bases adecuadas conocidas para los expertos en la técnica. La reacción puede transcurrir en un intervalo de temperaturas de aproximadamente 0°C a aproximadamente 40°C y puede tardar hasta 20 aproximadamente 24 horas en completarse.

[0067] En el esquema de reacción I anterior, el compuesto intermedio V se puede sintetizar eliminando el grupo protector carbamato (por ejemplo, cuando R⁷ es t-butilo) del compuesto intermedio IV con un ácido adecuado y, opcionalmente, en presencia de un disolvente orgánico adecuado. Los ácidos adecuados incluyen, pero no se limitan a, TFA, p-TsOH, TFOH, HCl, HBr, HF, HBF₄ y otros ácidos adecuados conocidos para los expertos en la técnica. La 25

reacción puede transcurrir en un intervalo de temperaturas de aproximadamente -20°C a aproximadamente 40°C y puede tardar hasta 24 horas en completarse.

[0068] De forma alternativa, el compuesto intermedio V se puede sintetizar eliminando el grupo protector carbamato del compuesto intermedio IV (por ejemplo, cuando R⁷ es bencilo o cualquier derivado bencílico) con gas hidrógeno en presencia de un catalizador adecuado y un disolvente adecuado o agua. Ejemplos de catalizadores adecuados incluyen, pero no se limitan a, Pd/C, Pt, PtO₂, Pt/C, Rh/C y otros catalizadores adecuados conocidos para los expertos en la técnica. La reacción puede transcurrir en un intervalo de temperaturas de aproximadamente 0°C a aproximadamente 80°C, con presiones de hidrógeno de aproximadamente 103,43 kPa a aproximadamente 551,6 kPa, y puede tardar hasta aproximadamente 48 horas en completarse.

[0069] De forma alternativa, el compuesto de fórmula V se puede sintetizar eliminando el grupo protector carbamato de un compuesto de fórmula IV (por ejemplo, cuando R⁷ es alilo o cualquier derivado alílico) haciendo reaccionar un compuesto de fórmula IV con un barredor alquílico adecuado (por ejemplo, Et₂NH, morfina, piperidina, pirrolidina, NaBH₄ y similares) en presencia de un catalizador adecuado (por ejemplo, Pd₂(dba)₃, PdCl₂, Pd(PPh₃)₄ y similares) y en presencia de un disolvente adecuado (por ejemplo agua, metanol, etanol, isopropanol, t-butanol, n-propanol, n-butanol, ciclohexanol y mezclas de los mismos).

[0070] El compuesto intermedio VII se puede sintetizar haciendo reaccionar el compuesto intermedio V con el reactivo VI en presencia de un reactivo de acoplamiento peptídico adecuado y una base adecuada (Et₃N, DIEA, piridina, 2,4,6-colidina) en presencia de un disolvente adecuado. La reacción puede transcurrir en un intervalo de temperaturas de aproximadamente 0°C a aproximadamente 40°C y puede tardar hasta aproximadamente 24 horas en completarse.

[0071] El último compuesto VIII se puede sintetizar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula VII con un oxidante adecuado en presencia de un disolvente orgánico adecuado o agua. Los oxidantes adecuados incluyen periodinano Dess-Martin, ácido 2-yodobenzoico con oxona, TEMPO con ácido tricloroisocianúrico, TEMPO con NaOCl, DMSO con cloruro de oxalilo, clorocromato de piridinio, MnO₂, CrO₂ y otros oxidantes adecuados conocidos para los expertos en la técnica. La reacción puede transcurrir en un intervalo de temperaturas de aproximadamente 0°C a aproximadamente 40°C y puede tardar hasta aproximadamente 24 horas en completarse.

[0072] Los reactivos de acoplamiento peptídico adecuados para el uso en las reacciones descritas en el esquema de reacción I incluyen DCC, DIC, HATU, BOP, PyBOP, EDC y otros reactivos de acoplamiento conocidos para los expertos en la técnica.

[0073] Las bases adecuadas para el uso en las reacciones descritas en el esquema de reacción I incluyen, pero no se limitan a, hidróxidos, tales como NaOH, KOH o LiOH; carbonatos, tales como K₂CO₃ o CsCO₃; hidruros, tales como NaH o KH. Otras bases adecuadas son aminas, DIEA, piridina, 2,4,6-colidina y otras bases adecuadas conocidas para los expertos en la técnica.

[0074] Los disolventes orgánicos adecuados para el uso en las reacciones descritas en el esquema de reacción I incluyen DMSO, THF, DMF, DMAc, acetonitrilo, acetona, 2-propanona, butanona, HMPA, NMP, diclorometano, cloroformo, 1,2-dicloroetano, éter dietílico, metanol, etanol, t-butanol, isopropanol, propanol, n-butanol, ciclohexanol, acetonitrilo, dioxano, MTBE, benceno, tolueno y mezclas de los mismos y otros disolventes adecuados conocidos para los expertos en la técnica.

Procedimientos adicionales para la preparación de los compuestos de la invención

[0075] Se puede preparar un compuesto de la invención en forma de una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable haciendo reaccionar el compuesto en forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico farmacéuticamente aceptable. De forma alternativa, se puede preparar una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención haciendo reaccionar el compuesto en forma de ácido libre con una base orgánica o inorgánica farmacéuticamente aceptable.

[0076] De forma alternativa, las formas salinas de los compuestos de la invención se pueden preparar usando sales de los materiales de partida o los productos intermedios.

[0077] Las formas de ácido libre o de base libre de los compuestos de la invención se pueden preparar a partir de la sal de adición de base o la sal de adición de ácido correspondiente, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto

de la invención en forma de sal de adición de ácido se puede convertir en la base libre correspondiente tratándolo con una base adecuada (por ejemplo, solución de hidróxido de amonio, hidróxido de sodio). Un compuesto de la invención en forma de sal de adición de base se puede convertir en el ácido libre correspondiente tratándolo con un ácido adecuado (por ejemplo, ácido clorhídrico).

5

[0078] Los compuestos de la invención en forma no oxidada se pueden preparar a partir de N-óxidos de los compuestos de la invención por tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenilfosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, tricloruro de fósforo, tribromuro) en un disolvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso) a entre 0 y 80°C.

10

[0079] Se pueden preparar derivados profarmacológicos de los compuestos de la invención mediante procedimientos conocidos para los expertos normales en la técnica (para más detalles véase, por ejemplo, Saulnier y col. (1994), *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, vol. 4, pág. 1985). Por ejemplo, se pueden preparar profármacos apropiados por reacción de un compuesto no derivatizado de la invención con un agente de carbamitación adecuado (por ejemplo, carbonocloridato de 1,1-aciloxialquilo, carbonato de para-nitrofenilo).

15

[0080] Los derivados protegidos de los compuestos de la invención se pueden preparar mediante medios conocidos para los expertos normales en la técnica. En T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3ª edición, John Wiley and Sons, Inc., 1999, se puede encontrar una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación.

20

[0081] Los compuestos de la presente invención convenientemente se pueden preparar o formar durante el procedimiento de la invención en forma de solvatos (por ejemplo hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención se pueden preparar convenientemente por recristalización en una mezcla de disolventes acuosos/ orgánicos, usando disolventes orgánicos tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.

25

[0082] Los compuestos de la invención se pueden preparar en forma de sus estereoisómeros individuales por reacción de una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar una pareja de diaestereoisómeros, separación de los diaestereoisómeros y recuperación de los enantiómeros ópticamente puros. La resolución de los enantiómeros se puede llevar a cabo usando derivados diaestereoisoméricos covalentes de los compuestos de la invención o usando complejos disociables (por ejemplo sales diaestereoisoméricas cristalinas). Los diaestereoisómeros poseen propiedades físicas diferentes (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad) y se pueden separar aprovechando estas disimilitudes. Los diaestereoisómeros se pueden separar por cromatografía o mediante técnicas de separación/resolución basadas en diferencias en la solubilidad. El enantiómero ópticamente puro se recupera después, junto con el agente de resolución, mediante cualquier medio práctico que no conduzca a una racemización. En Jean Jacques, Andre Collet, Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, se encuentra una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de estereoisómeros de compuestos a partir de su mezcla racémica.

30

[0083] En resumen, los compuestos de fórmula (1) se pueden preparar mediante un procedimiento que implica:

(a) el del esquema de reacción I;

(b) convertir opcionalmente un compuesto de la invención en una sal farmacéuticamente aceptable;

45

(c) convertir opcionalmente una forma salina de un compuesto de la invención en una forma no salina;

(d) convertir opcionalmente una forma no oxidada de un compuesto de la invención en un N-óxido farmacéuticamente aceptable;

(e) convertir opcionalmente una forma de N-óxido de un compuesto de la invención en su forma no oxidada;

(f) resolver opcionalmente un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros;

50

(g) convertir opcionalmente un compuesto no derivatizado de la invención en un derivado profarmacológico farmacéuticamente aceptable; y

(h) convertir opcionalmente un derivado profarmacológico de un compuesto de la invención en su forma no derivatizada.

55

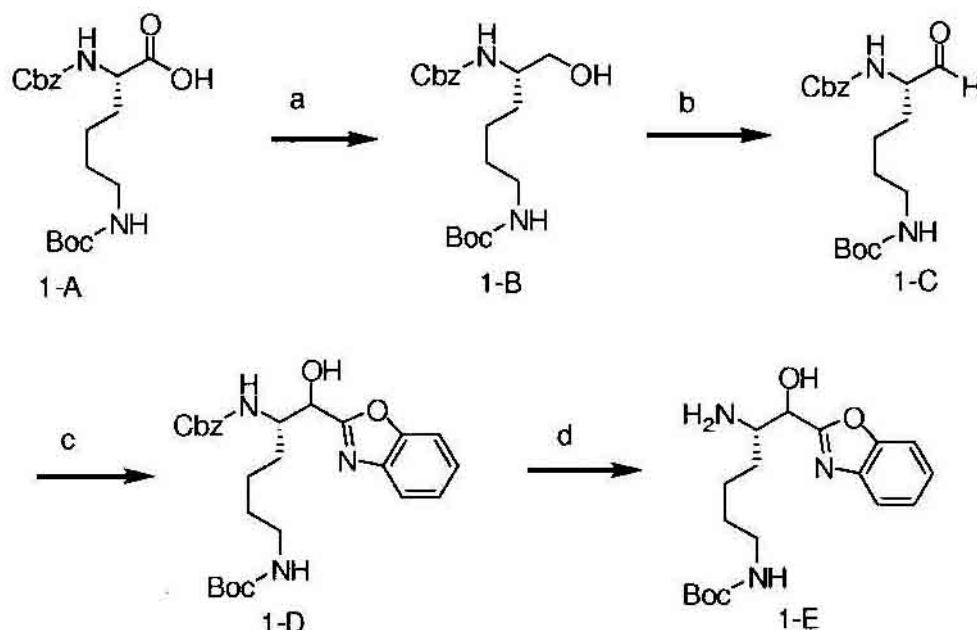
[0084] Siempre que no se describa en particular la producción de los materiales de partida, los compuestos son conocidos o se pueden preparar de forma análoga a los procedimientos conocidos en la técnica o como se describe en los ejemplos más adelante. Un experto en la técnica apreciará que las transformaciones anteriores son solo representativas de procedimientos para la preparación de los compuestos de la presente invención y que se pueden

usar de forma similar otros procedimientos conocidos. La presente invención se ejemplifica adicionalmente mediante los siguientes productos intermedios (compuestos de referencia) y ejemplos que ilustran la preparación de los compuestos de la invención.

- 5 **[0085]** En las metodologías sintéticas a continuación se usan las siguientes abreviaturas comunes conocidas en la técnica: DCM (diclorometano); THF (tetrahidrofurano); y DIEA (diisopropiletilamina).

Compuesto de referencia 1

10 **[0086]**



- [0087]** En el esquema de reacción anterior, los reactivos y las condiciones son los siguientes: (a) iso-BuOCOCl, Et₃N, THF; NaBH₄, H₂O; (b) periodinano Dess-Martin, CH₂Cl₂; (c) iso-PrMgCl, benzoxazol, THF, -20°C, 30 min, después 1-C, -20°C a ta; (d) H₂ (275,8 kPa), EtOH, Pd/C 10%, ta, 18 h.

1-B: El material de partida bruto Z-Lys(Boc)OH (1-A) (320 g, 842 mmoles) se disuelve en THF (2,5 l) y la solución se enfría a -10°C, seguido de la adición de trietilamina (115,2 ml, 1,0 equiv.) y la adición gota a gota de clorocromato de iso-butilo (118,7 ml, 1,1 equiv.). La suspensión resultante se agita durante 2 h a 0°C. La mezcla de reacción se filtra y se enfría a -10°C. Se disuelve NaBH₄ (64,6 g, 2,1 equiv.) en agua (500 ml) a 0°C y la solución se añade gota a gota a la solución de THF (fuerte desprendimiento de CO₂). La mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente y se agita durante una hora. La mezcla de reacción se acidifica con una solución de HCl 1N y la fase acuosa se extrae varias veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavan con agua, una solución acuosa saturada de NaHCO₃ y salmuera; se secan sobre MgSO₄ y el disolvente se elimina al vacío. El producto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en columna (hexanos/ acetato de etilo) para proporcionar el producto deseado en forma de una espuma blanca.

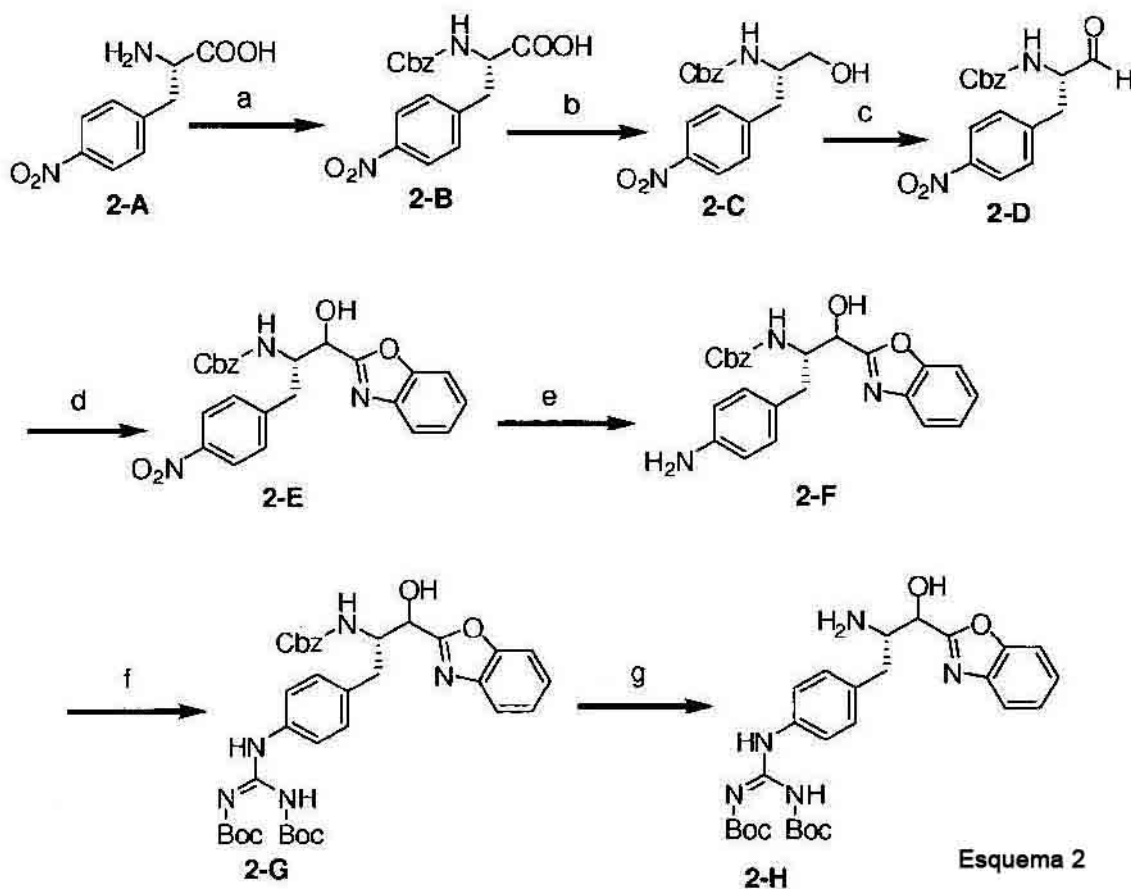
1-C: El alcohol 1-B (200 g, 545,8 mmoles) se disuelve en DCM (2,0 l) y se enfría a 0°C. Se añade en porciones una solución del reactivo Dess-Martin (231 g, 1,0 equiv.) en DCM (2,0 l). La suspensión se deja calentar a temperatura ambiente y se agita hasta la conversión completa (1 a 4 h). Se añade una mezcla 1:1 de una solución acuosa saturada de NaHCO₃ y una solución de Na₂S₂O₃ 1M, y el sistema bifásico resultante se agita vigorosamente durante 20 min. La fase orgánica se separa y la fase acuosa se extrae una vez con DCM. Las fases orgánicas combinadas se destilan al vacío y el aceite resultante se suspende en EtOAc y se lava seis veces con la mezcla NaHCO₃/Na₂S₂O₃, agua y salmuera; se seca sobre MgSO₄ y el disolvente se elimina al vacío para dar el aldehído bruto en forma de un aceite amarillento. El material se usa directamente en el paso siguiente sin purificación adicional.

1-D: A una solución de cloruro de isopropil-magnesio (1,67 equiv. frente a aldehído, 390 ml de una solución 2M en THF de Sigma-Aldrich) en THF (1,5 l) se añade benzoxazol (92,8 g, 1,67 equiv.) en THF (1,0 l) a -20°C. La mezcla de reacción se agita durante 30 min a -20°C (el color cambia a rojo oscuro) y se añade lentamente una solución del aldehído 1-C (170 g, 466 mmoles) en THF (1,5 l) a una temperatura controlada de -20°C a -15°C. La mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente y se agita hasta que se complete. La mezcla de reacción se inactiva con una solución acuosa saturada de NH₄Cl y el disolvente se elimina al vacío. La fase acuosa se extrae tres veces con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavan con un exceso de solución de HCl 1N, agua y salmuera; se secan sobre MgSO₄ y el disolvente se elimina al vacío para dar el benzoxazol bruto en forma de un aceite de color rojo oscuro. La purificación en sílice con EtOAc/hexanos (1:5 a 1:1) proporcionó el benzoxazol en forma de un sólido amarillo.

1-E: Se disuelve una solución del producto intermedio 1-D (25,0 g, 51,7 mmoles) en etanol (150 ml). Se añade Pd/C (10%, húmedo, tipo Degussa) y el matraz se coloca durante la noche en un agitador Parr y se somete a gas hidrógeno a 275,8 kPa. El catalizador se filtra a través de Celite y el disolvente se elimina al vacío. El material bruto se purifica por cromatografía ultrarrápida usando primero un gradiente de hexanos/ EtOAc para eliminar las impurezas menos polares y coloreadas y después un gradiente de DCM/MeOH para eluir el compuesto deseado. El disolvente se elimina al vacío y el compuesto se tritura varias veces en éter para proporcionar el compuesto de referencia 1 deseado en forma de un polvo blanco. ¹H-RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 7,73-7,70 (2H, m), 7,40-7,34 (2H, m), 6,78-6,73 (1H, m), 4,55-4,51 (1H, m), 3,05-3,01 (1H, m), 2,92-2,83 (2H, m), 1,48-1,18 (14H, m). CL-EM: 350,5 (M+H)⁺.

Ejemplo de referencia 2

[0088]



Esquema 2

[0089] En el esquema 2 anterior, los reactivos y las condiciones son los siguientes: (a) Cbz-OSu, Et₃N, THF, H₂O, ta, 18 h; (b) i. iso-BuOCOCl, Et₃N, THF; ii. NaBH, H₂O; (c) periodinano Dess-Martin, CH₂Cl; (d) iso-PrMgCl, benzoxazol, THF, -20°C, 30 min, después 2-D, -20°C a ta; (e) indio, NH₄Cl, EtOH, reflujo, 5 h; (f) N,N-bis(terc.-butoxicarbonil)-1H-pirazol-1-carboxamidina, DIEA, MeOH; (g) H₂ (275,8 kPa), 10% Pd/C, EtOH.

5

2-B: Se añaden hidrocloreuro de L-nitrofenilalanina (4,45 g, 18,0 mmoles) y N-(benciloxicarboniloxi)succinimida (Cbz-OSu) (4,49 g, 18,0 mmoles) a un matraz de fondo redondo que contiene THF (60 ml) y agua (20 ml). La mezcla se agita a temperatura ambiente, se añade Et₃N (10,1 ml, 72,0 mmoles) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. La solución transparente se diluye con EtOAc (200 ml), se lava con HCl 1N (3 x 100 ml) y salmuera (1 x 100 ml) y se seca con MgSO₄. El disolvente se evapora al vacío para dar 2-B en forma de un sólido blanco, que se usa sin purificación adicional.

10

2-C a 2-E: Estos productos intermedios se preparan según procedimientos análogos a los descritos para la preparación de los productos intermedios 1-B a 1-D del compuesto de referencia 1, respectivamente.

15

2-F: El análogo de nitrofenilo 2-E (1,85 g, 4,15 mmoles) se disuelve en EtOH (50 ml) y se calienta a reflujo. Se añade NH₄Cl acuoso saturado (5 ml) y, seguidamente, indio en polvo (3,2 g, 27,9 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 5 h a temperatura de reflujo, se enfría a temperatura ambiente y el disolvente se elimina al vacío. El material bruto se suspende en EtOAc (100 ml) y se lava con NaHCO₃ saturado (3 x 100 ml), se seca con MgSO₄ y se filtra a través de Celite. El disolvente se elimina al vacío para dar la anilina 2-F en forma de un sólido ceroso blanquecino, que se usa sin purificación adicional.

20

2-G: La anilina 2-F (1,52 g, 3,67 mmoles) se disuelve en MeOH (10 ml), se añaden DIEA (0,7 ml, 4,4 mmoles) y N,N-bis(terc.-butoxicarbonil)-1H-pirazol-1-carboxamidina (1,37 g, 4,4 mmoles) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente. Al cabo de 4 h se añaden otros 0,5 equiv. de N,N-bis(terc.-butoxicarbonil)-1H-pirazol-1-carboxamidina (0,685 g, 2,2 mmoles) y la reacción se agita después durante la noche a temperatura ambiente. Se añade EtOAc (100 ml), y la fase orgánica se lava con agua y salmuera y se seca sobre MgSO₄. El disolvente se elimina al vacío y el material bruto se purifica por cromatografía en gel de sílice con EtOAc/hexanos (gradiente de 0 a 100%) para proporcionar el producto 2-G deseado en forma de un aceite.

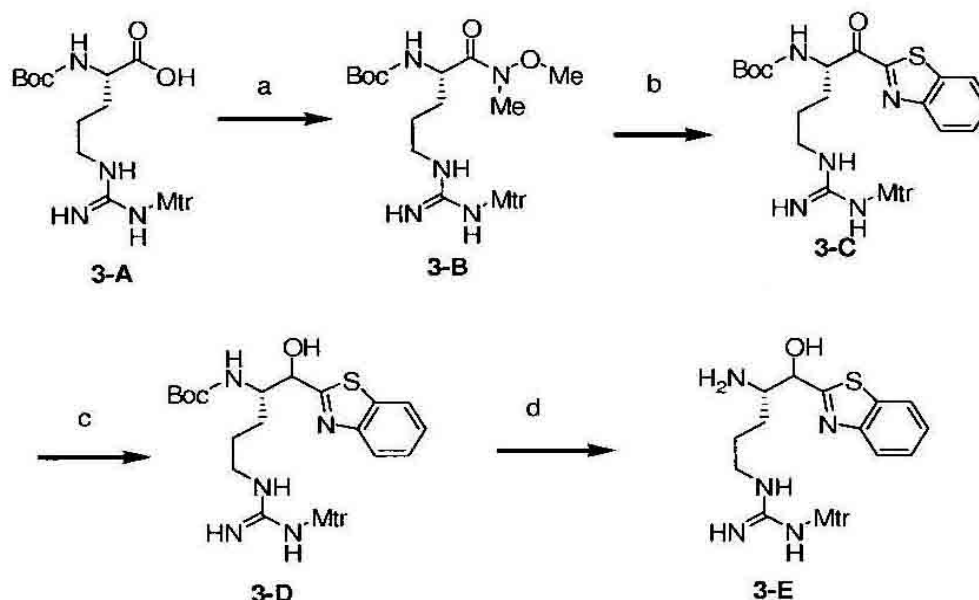
25

2-H: Este compuesto se prepara a partir de 2-G usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del producto intermedio 1-E para el compuesto de referencia 1.

30

Compuesto de referencia 3

[0090]



Esquema 3

5

[0091] En el esquema 3 anterior, los reactivos y las condiciones son los siguientes: (a) HN(OMe)Me-HCl, BOP, Et₃N, DMF, 0°C a ta; (b) n-BuLi (2,5 M en hexanos), benzotiazol, THF, -78°C, después 3-B, THF, -70°C a ta; (c) NaBH₄, MeOH; (d) p-TsOH, CH₂Cl₂, 6 h.

- 10 **3-B:** Se añade BOP (50 g, 112 mmoles) en una porción a una solución en agitación de 3-A (49,92 g, 102,6 mmoles), hidrocloreto de N,O-dimetilhidroxilamina (30,4 g, 224 mmoles) y trietilamina (88 ml, 616 mmoles) en DMF seca (200 ml) bajo argón a 0°C. La mezcla de reacción se deja calentar lentamente a temperatura ambiente en un plazo de 2 h, se filtra a través de tierra de diatomeas y se concentra al vacío. El residuo se disuelve en acetato de etilo, se lava con H₂O, KHSO₄ acuoso 1M, NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera, se seca y se concentra al vacío. El residuo se
15 purifica en columna para dar el compuesto 3-B.

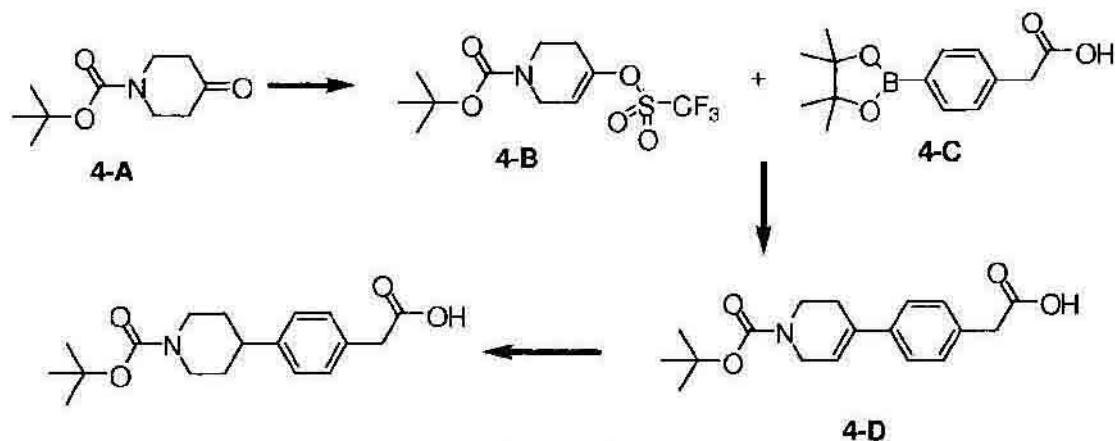
- 3-C:** Se añade gota a gota a -78°C y bajo argón n-butil-litio (2,5 M en hexanos, 272,2 ml, 681,4 mmoles) a una solución en agitación de benzotiazol (115,72 g, 850,7 mmoles) en THF seco (1.660 ml) a una velocidad tal que la temperatura de reacción permanezca por debajo de -64°C. Una vez completada la adición, la mezcla de reacción se
20 agita durante 30 min a -70°C y se añade una solución del compuesto 3-B (45 g, 85,7 mmoles) en THF seco (300 ml) a una velocidad tal que la temperatura de reacción permanezca por debajo de -70°C. La reacción se agita durante 15 min, se inactiva con NH₄Cl acuoso saturado y se agita durante 16 h a temperatura ambiente. La fase orgánica resultante se separa, se diluye con acetato de etilo, se lava con agua y salmuera, se seca, se concentra al vacío y se purifica por cromatografía en gel de sílice para dar el compuesto 3-C.

- 3-D:** A una solución de 3-C (33,7 g, 55,82 mmoles) en MeOH (407 ml) a 0°C se añade NaBH₄ (9,98 g). La mezcla de reacción se calienta lentamente a temperatura ambiente en un plazo de 1 h, después se calienta a 45°C durante 1 h y a continuación se vuelve a enfriar a temperatura ambiente. La reacción se inactiva con acetona (60 ml) y se concentra al vacío. El residuo se disuelve en acetato de etilo, se lava con salmuera y se seca mediante MgSO₄. El
30 material bruto se purifica por cromatografía en gel de sílice para proporcionar el producto 3-D.

- 3-E:** A una solución en agitación del compuesto 3-D (28,2 g) en CH₂Cl₂ (300 ml) se añade p-TsOH a temperatura ambiente hasta que la solución esté saturada. La reacción se agita a temperatura ambiente durante 6 h. Se añade agua, y la fase orgánica se extrae con EtOAc, se lava con una mezcla 1:1 (v/v) de salmuera y Na₂CO₃ acuoso al
35 10%, se seca mediante Na₂SO₄ y se purifica por cromatografía en gel de sílice para dar el producto 3-E.

Compuesto de referencia 4

[0092]



5

[0093] Para la preparación del producto intermedio **4-B** se añade gota a gota n-butil-litio (1,6 M en hexanos, 11,3 ml, 17,9 mmoles) a una solución de i-Pr₂NH (2,53 ml, 17,9 mmoles) en THF (25 ml) enfriada a -78°C y se agita durante 10 min. Se añade gota a gota la cetona **4-A** (3,25 g, 16,3 mmoles) y la solución se sigue agitando a -78°C durante otros 25 min. Se añade gota a gota N-fenil-bis-(trifluorometanosulfonamida) (6,26 g, 17,5 mmoles) disuelta en THF (25 ml) y la mezcla de reacción se coloca en un baño de agua/hielo a 0°C y se agita durante 4 h. El disolvente se evapora, y el residuo bruto se suspende en una cantidad mínima de hexanos y después se filtra a través de un tapón de alúmina usando hexanos:EtOAc 9:1 como eluyente. El disolvente se elimina al vacío para proporcionar el triflato **4-B** deseado.

15

[0094] Los productos intermedios **4-B** (715 mg, 2,16 mmoles) y **4-C** (514 mg, 1,96 mmoles) se disuelven en dioxano (10 ml) en un vial de reacción para microondas. Se añade K₃PO₄ (874 mg, 4,12 mmoles) disuelto en agua (2,5 ml) y la solución de desgasifica mediante tres ciclos de congelación, evacuación y descongelación con nitrógeno líquido. Se añade el catalizador PdCl₂(dppf) (143 mg, 0,196 mmoles) y el vial se purga con nitrógeno y se sella. La reacción se calienta durante 25 min a 150°C en un reactor de microondas Emrys Personal Chemistry. El dioxano se evapora al vacío y el residuo se suspende en y se reparte entre EtOAc (50 ml) y ácido cítrico acuoso al 10% (50 ml). Las capas se separan y la fase orgánica se lava con ácido cítrico acuoso al 10% (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml). La capa orgánica se seca con Na₂SO₄ y se evapora, y el residuo bruto se purifica por cromatografía en gel de sílice (gradiente de hexanos/EtOAc) para proporcionar el producto intermedio **4-D**.

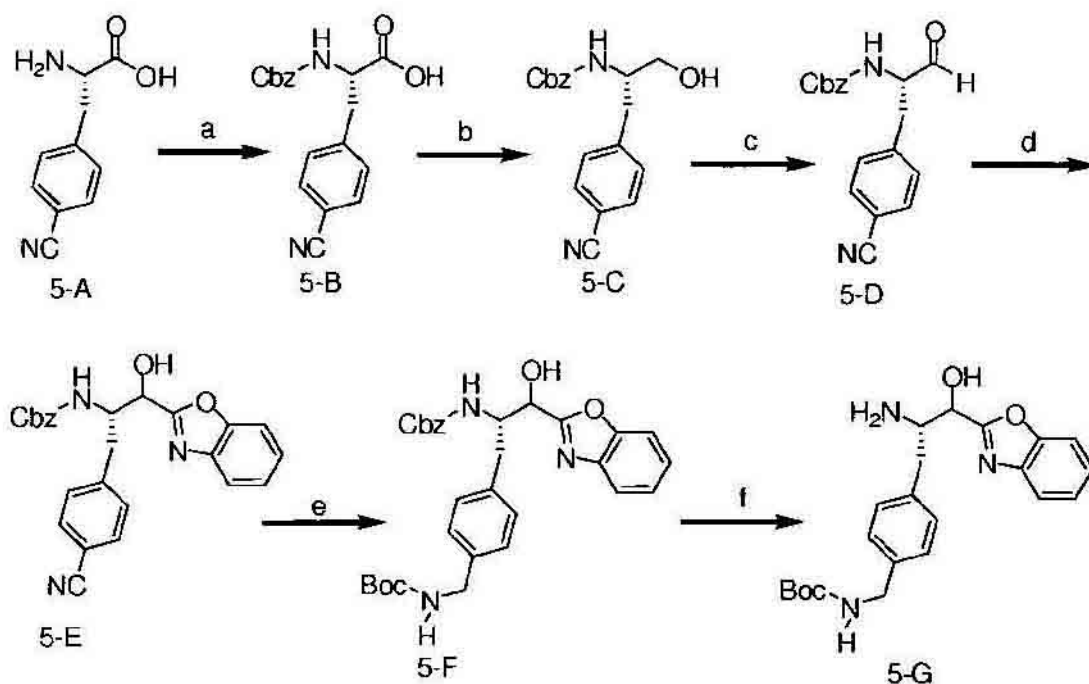
25

[0095] El producto intermedio **4-D** (45 mg, 0,142 mmoles) se disuelve en EtOH (10 ml) en un matraz de 25 ml equipado con un tabique de caucho. Se añade una cantidad catalítica de Pd/C (10%) y se introduce gas hidrógeno desde una bombona equipada con una aguja insertada a través del tabique. La reacción se agita a temperatura ambiente hasta que se haya consumido el material de partida (según se indica mediante CL-EM). A continuación se filtra el catalizador, y el disolvente se evapora hasta la sequedad para proporcionar el compuesto de referencia 4.

30

Ejemplo de referencia 5

[0096]



Esquema 5

5

[0097] En el esquema 5 anterior, los reactivos y las condiciones son los siguientes: (a) Cbz-OSu, Et₃N, THF, H₂O, 18 h; (b) i. iso-BuOCOCl, Et₃N, THF; ii. NaBH₄, H₂O; (c) periodinano Dess-Martin, CH₂Cl₂; (d) iso-PrMgCl, benzoxazol, THF, -20°C, 30 min, después 5-D, -20°C a ta; (e) NaBH₄, NiCl₂, Boc₂O, MeOH, 0°C; (f) H₂ (275,8 kPa), 10% Pd/C, EtOH.

5-B a 5-E: Este compuesto se prepara a partir de L-4-cianofenilalanina (5-A) usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del producto intermedio 2-B del compuesto de referencia 2. Los productos intermedios 5-C a 5-E se preparan según procedimientos análogos a los descritos para la preparación de los productos intermedios 1-B a 1-D del compuesto de referencia 1, respectivamente.

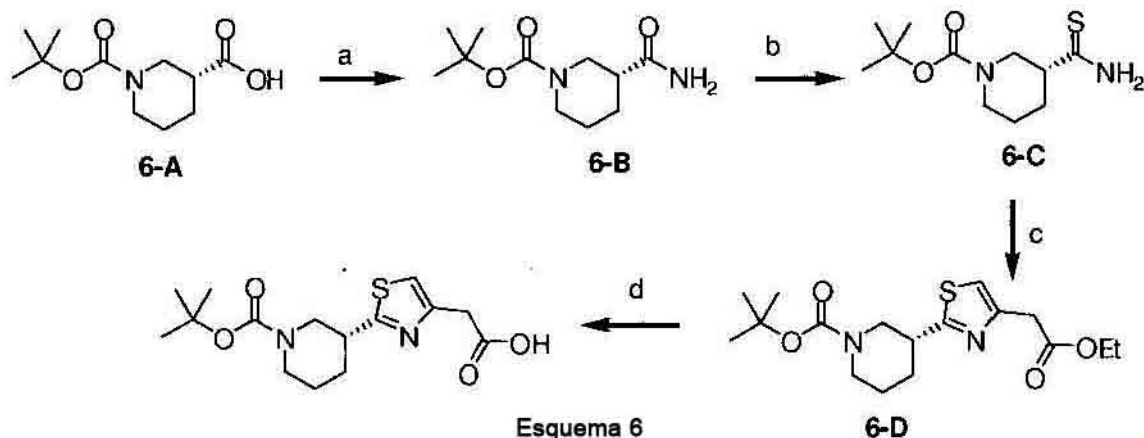
5-F: Se disuelve el nitrilo 5-E (3,68 g, 8,64 mmoles) en metanol (60 ml) y se enfría a 0°C. Se añade Boc₂O (3,77 g, 2 equiv.) seguido de NiCl₂ (210 mg, 0,1 equiv.). La mezcla se agita y se añade lentamente NaBH₄ (2,29 g, 7 equiv.) en porciones pequeñas. La mezcla se deja calentar a temperatura ambiente y se agita durante 1 h. Se añade dietilentriamina (0,94 ml, 1 equiv.) y la mezcla se agita durante otros 30 min, después de lo cual el disolvente se evapora al vacío. El residuo se disuelve en EtOAc y se lava con NaHCO₃ saturado (2 x 100 ml). La solución se seca con MgSO₄ y el disolvente se evapora al vacío. El material bruto se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice con un gradiente de 0 a 100% de EtOAc y hexanos para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite.

25

5-G: Este compuesto se prepara a partir de 5-F usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del producto intermedio 1-E del compuesto de referencia 1.

Compuesto de referencia 6

[0098]



5

[0099] 6-B: Se disuelven ácido (R)-Boc-nipecótico (2,50 g, 10,9 mmoles) y HOBt (1,77 g, 13,1 mmoles) en DMF (50 ml) y se añade EDC (2,30 g, 12,0 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 1 h, se añade amoníaco acuoso al 30% (2,8 ml) y la reacción se agita durante otras 2 h. Después, la reacción se diluye con EtOAc (200 ml) y se reparte con agua (100 ml). La capa orgánica se lava con NaHCO₃ ac. saturado (3 x 200 ml) y después se seca con MgSO₄. El disolvente se elimina al vacío para proporcionar la amida 6-B en forma de un sólido ceroso.

6-C: La amida 6-B (2,40 g, 10,5 mmoles) se disuelve en THF (50 ml). Se añade el reactivo de Lawesson (2,64 g, 6,54 mmoles) y la mezcla de reacción se agita durante 4 h a temperatura ambiente. El disolvente se evapora y el material bruto se purifica por cromatografía en gel de sílice usando un gradiente de 0 a 5% de MeOH en CH₂Cl₂ como eluyente. El disolvente se evapora para proporcionar la tioamida deseada.

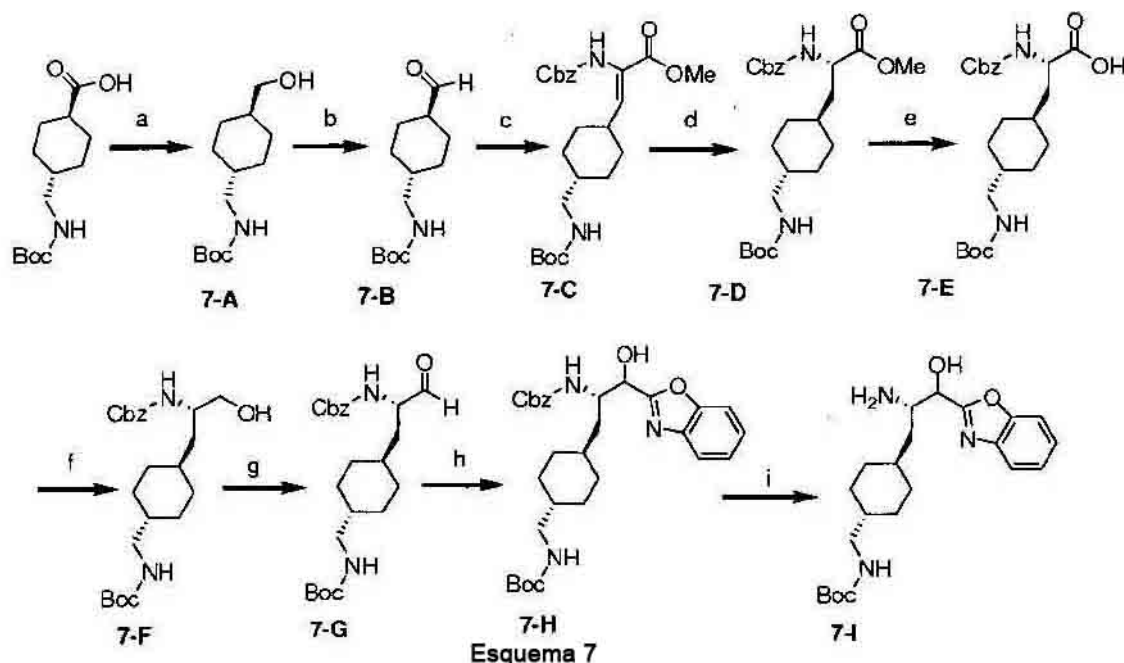
6-D: La tioamida 6-C (1,27 g, 5,20 mmoles) se disuelve en CH₂Cl₂ (50 ml). Se añade 4-cloroacetoacetato de etilo (0,8 ml, 5,72 mmoles) y la solución se agita durante 5 h a temperatura ambiente. El disolvente se elimina al vacío y el residuo bruto se disuelve después en EtOH (50 ml). Se añaden tamices moleculares en polvo activados (1,2 g) y la mezcla de reacción se calienta a reflujo durante 18 h. Después, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y se filtra a través de Celite. Se añade NaHCO₃ ac. saturado (50 ml) a la solución filtrada y después se extrae con EtOAc (3 x 50 ml). La capa orgánica combinada se lava con salmuera (100 ml) y se seca (MgSO₄). El disolvente se evapora al vacío y el material bruto se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice usando un gradiente de 0 a 100% de EtOAc y hexanos para proporcionar el tiazol 6-D.

25

Compuesto de referencia 6: Se disuelve LiOH·H₂O (65 mg, 1,55 mmoles) en agua (5 ml) y se añade gota a gota a una solución en agitación del éster etílico 6-D disuelto en dioxano (20 ml). La reacción se agita durante 2 h y el dioxano se evapora. El residuo bruto se reparte entre EtOAc y NaHSO₄ 1M; la capa orgánica combinada se seca (MgSO₄) y se evapora al vacío, y el material bruto se purifica por HPLC de fase inversa (fase móvil H₂O/MeCN).

Compuesto de referencia 7

[0100]



5

[0101] En el esquema 7 anterior, los reactivos y las condiciones son los siguientes: (a) i. iso-BuOCOCl, Et₃N, THF; ii. NaBH₄, H₂O; (b) ácido tricloroisocianúrico, TEMPO, 0°C a ta, CH₂Cl₂; (c) éster trimetílico de Cbz-α-fosfonoglicina, DBU, DCM; (d) H₂ (413,7 kPa), (S,S)-Me-BPE-Rh(COD)⁺OTf, MeOH, 96 h; (e) LiOH, dioxano, agua; (f) i. iso-BuOCOCl, Et₃N, THF; ii. NaBH₄, H₂O; (g) periodinano Dess-Martin, CH₂Cl₂; (h) iso-PrMgCl, benzoxazol, THF, -20°C, 30 min, después 7-G, -20°C a ta; (i) H₂ (275,8 kPa), 10% Pd/C, EtOH.

7-A: Este compuesto se prepara a partir de ácido trans-4-(terc.-butoxicarbonilaminometil)-ciclohexanocarboxílico (7-A) usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del producto intermedio 1-B del compuesto de referencia 1 en el esquema 1.

15

7-B: El alcohol 7-A (4,14 g, 17,0 mmoles) se disuelve en CH₂Cl₂ (35 ml) y la solución se enfría a 0°C. Se añade ácido tricloroisocianúrico (4,15 g, 17,8 mmoles), seguido de TEMPO (28 mg, 0,17 moles). Después, la reacción se calienta a temperatura ambiente y se agita durante otros 15 min a temperatura ambiente. Se forma un precipitado, y la mezcla de reacción se filtra a través de Celite y se lava con CH₂Cl₂. La solución combinada de CH₂Cl₂ (100 ml) se lava con NaHCO₃ acuoso saturado (2 x 50 ml), HCl 1M (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml), se seca (MgSO₄), se evapora el disolvente y se usa directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional.

20

7-C: Se disuelve éster trimetílico de N-benciloxycarbonil-α-fosfonoglicina (5,63 g, 17 mmoles) en CH₂Cl₂ (35 ml), se añade DBU (5,1 ml, 34 mmoles) y la solución se agita durante 20 min. Se añade gota a gota el aldehído 7-B (4,09 g, 17 mmoles) en forma de una solución en CH₂Cl₂ (10 ml). La reacción se agita durante la noche, el disolvente se evapora y el residuo se disuelve en EtOAc (100 ml), se lava con NaHSO₄ 1 M (2 x 50 ml) y salmuera, después se seca (MgSO₄) y se evapora al vacío. El material bruto se purifica por cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de 0 a 100% de EtOAc/hexanos para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

25

7-D: La olefina 7-C (2,04 g, 4,56 mmoles) se disuelve en MeOH (100 ml) y la solución se desgasifica antes de añadir el catalizador, trifluorometanosulfonato de (-)-1,2-bis((2S,3S)-2,5-dimetilfosfolano)etano-(ciclooctadieno)-rodio(I) (28 mg, 1% en moles). La mezcla de reacción se coloca en un agitador Parr y se agita durante 4 días a una presión de H₂ de 413,7 kPa. El disolvente se evapora después al vacío y el material bruto se purifica por cromatografía ultrarrápida usando un gradiente de 0 a 100% de EtOAc/hexanos para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido blanco.

35

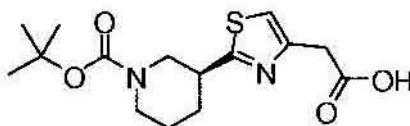
7-E: El éster metílico 7-D (1,81 g, 4,04 mmoles) se disuelve en dioxano (50 ml) y se agita a 0°C. Se añade gota a gota LiOH (203 mg, 4,84 mmoles) disuelto en agua (10 ml) y la solución se calienta después a temperatura ambiente. Una vez desaparecido el material de partida (por CL-EM), el disolvente se evapora y el material bruto se disuelve en EtOAc (100 ml), se lava con NaHSO₄ 1N (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml) y se seca (MgSO₄). El disolvente se elimina al vacío y el producto se usa directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional.

7-F a 7-H: Los productos intermedios 7-F a 7-H se preparan según procedimientos análogos a los descritos para la preparación de los productos intermedios del compuesto de referencia 1.

10 **7-I:** Este compuesto se prepara a partir de 7-H usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del producto intermedio 1-E del compuesto de referencia 1. EM m/z 404,2 (M+1); ¹H-RMN (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,66-7,64 (1H, m), 7,49-7,47 (1H, m), 7,31-7,26 (2H, m), 4,85-4,64 (1H, m), 3,44-3,16 (1H, m), 2,96-2,88 (2H, m), 1,80-1,55 (4H, m), 1,39-1,14 (13H, m), 0,89-0,72 (4H, m).

15 Compuesto de referencia 8

[0102]



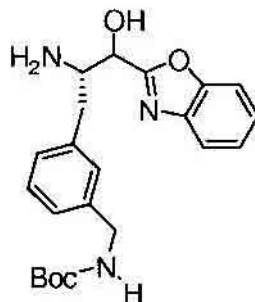
20

[0103] El compuesto de referencia 8 se prepara a partir de ácido (S)-Boc-nipecóico usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 6.

Compuesto de referencia 9

25

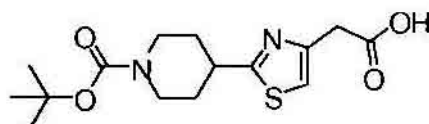
[0104]



30 [0105] El compuesto de referencia 9 se prepara a partir de 3-cianofenilalanina usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 5.

Compuesto de referencia 10

[0106]



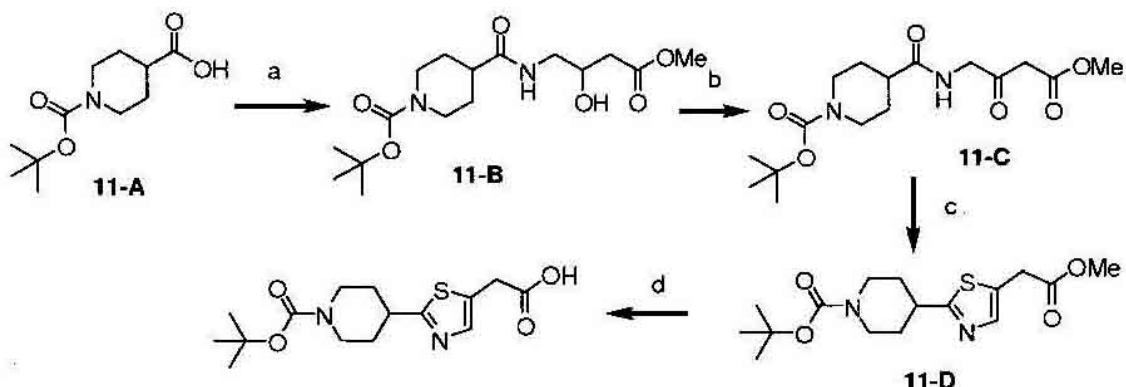
5

[0107] El compuesto de referencia 10 se prepara a partir de ácido Boc-isonipecótico usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 6.

Compuesto de referencia 11

10

[0108]



15 [0109] Se disuelven ácido Boc-isonipecótico (3,24 g, 14,1 mmoles), hidrocloreto del éster metílico del ácido DL-4-amino-3-hidroxi-butírico (2,40 g, 14,1 mmoles) y DIEA (7,0 ml, 42,3 ml) en CH_2Cl_2 (50 ml). Se añade HATU (5,9 g, 15,5 mmoles) y la mezcla de reacción se agita durante 2 h a temperatura ambiente. El disolvente se evapora y el residuo bruto se suspende en EtOAc (100 ml). La fase orgánica se lava con HCl 0,1 M (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se seca con MgSO_4 y se evapora al vacío. El material bruto se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de EtOAc/hexanos) para proporcionar el producto intermedio **11-B**.

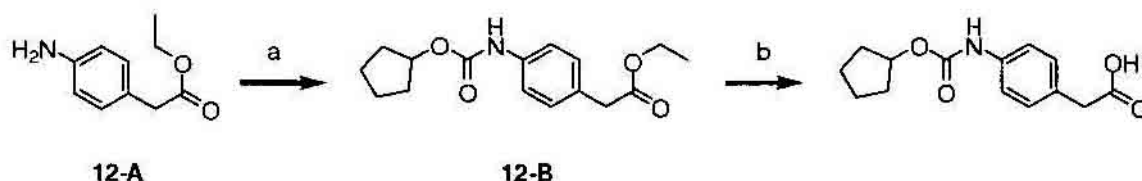
11-C: El alcohol 11-B se oxida a la cetona usando condiciones análogas a las usadas para la preparación del ejemplo 1-F.

25 **11-D:** La cetona 11-C (1,10 g, 3,21 mmoles) se disuelve en THF (100 ml). Se añade el reactivo de Lawesson (650 mg, 1,61 mmoles) y la mezcla de reacción se agita durante 48 h a temperatura ambiente. El disolvente se elimina al vacío y el material bruto se purifica por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (gradiente de EtOAc/hexanos 0:100).

30 **11:** El éster metílico 11-D se saponifica usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 6.

Compuesto de referencia 12

[0110]



5

[0111] Los reactivos y las condiciones en la reacción anterior para el compuesto de referencia 12 son los siguientes: (a) (ciclohexilcarbonyloxi)succinimida, piridina, DMAP, ta, THF; (b) NaOH 1 N en agua.

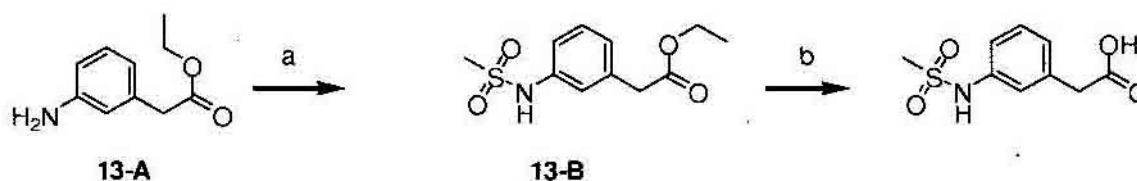
[0112] Se añaden éster etílico del ácido (4-aminofenil)-acético (0,895 g, 5,0 mmoles) y N-(ciclohexilcarbonyloxi)-succinimida (1,051 g, 5,0 mmoles) a un matraz de fondo redondo que contiene THF (20 ml), piridina (0,60 ml) y DMAP (10 mg). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. La solución transparente se diluye con EtOAc (200 ml), se lava con HCl 1N (3 x 100 ml) y salmuera (100 ml) y se seca con MgSO₄. El disolvente se evapora al vacío para proporcionar el producto intermedio **12-B** en forma de un sólido blanco, que se usa sin purificación adicional.

15

[0113] El éster etílico **12-B** (1,46 g, 5 mmoles) se disuelve en NaOH 1N (15 ml, 15 mmoles). Una vez desaparecido el material de partida (por CL-EM), la reacción se acidifica con HCl 1N para proporcionar el compuesto de referencia 12 en forma de un precipitado blanco.

20 Compuesto de referencia 13

[0114]



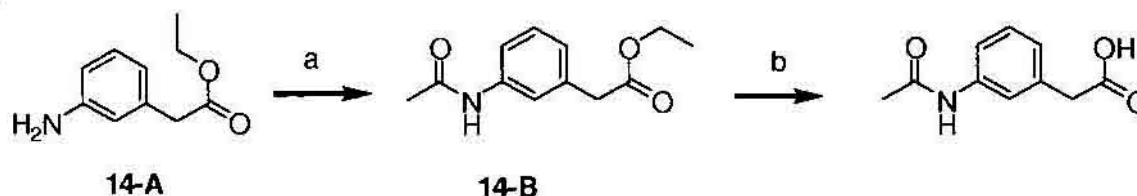
25

[0115] Los reactivos y las condiciones en la reacción anterior para el compuesto de referencia 13 son los siguientes: (a) MeSO₂Cl, piridina, ta, THF; (b) NaOH 1N en agua.

[0116] Se añaden éster etílico del ácido (3-aminofenil)-acético (0,895 g, 5,0 mmoles) y (0,281 ml, 5,0 mmoles) a un matraz de fondo redondo que contiene THF (20 ml) y piridina (0,60 ml). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. La solución transparente se diluye con EtOAc (200 ml), se lava con HCl 1N (3 x 100 ml) y salmuera (100 ml) y se seca con MgSO₄. El disolvente se evapora al vacío para proporcionar el producto intermedio **13-B** en forma de un sólido blanco. El éster etílico 13-B se saponifica según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 12 para proporcionar el compuesto de referencia 13.

Compuesto de referencia 14

[0117]



5

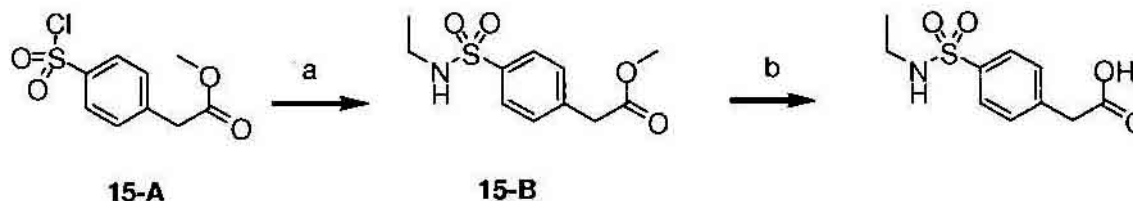
[0118] Los reactivos y las condiciones en la reacción anterior para el compuesto de referencia 14 son los siguientes: (a) CH_3COCl , piridina, DMAP, ta, THF; (b) NaOH 1N en agua.

[0119] Se añaden éster etílico del ácido (3-aminofenil)-acético (0,895 g, 5,0 mmoles) y cloruro de acetilo (0,26 ml, 5,0 mmoles) a un matraz de fondo redondo que contiene THF (20 ml), piridina (0,60 ml) y DMAP (10 mg). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. La solución transparente se diluye con EtOAc (200 ml), se lava con HCl 1N (3 x 100 ml) y salmuera (100 ml) y se seca con MgSO_4 . El disolvente se evapora al vacío para proporcionar el producto intermedio **14-B** en forma de un sólido blanco, que se usa sin purificación adicional. El éster etílico 14-B se saponifica según procedimientos análogos a los descritos anteriormente para proporcionar el compuesto de referencia 14.

Compuesto de referencia 15

[0120]

20



[0121] Los reactivos y las condiciones en la reacción anterior para el compuesto de referencia 15 son los siguientes: (a) EtNH_2 , CH_2Cl_2 , DMAP; (b) NaOH 1N en agua.

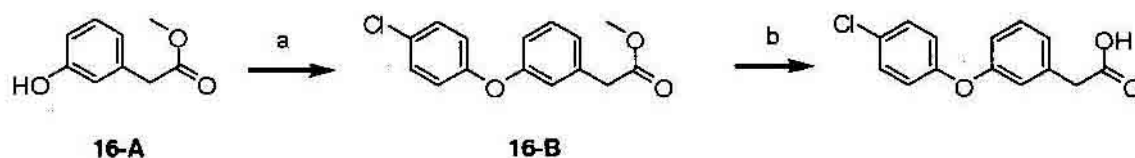
25

[0122] Se añaden éster metílico del ácido (4-clorosulfonil-fenil)-acético (0,895 g, 5,0 mmoles) y dietilamina (1 ml) a un matraz de fondo redondo que contiene CH_2Cl_2 (20 ml) y DMAP (10 mg). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. La solución transparente se diluye con EtOAc (200 ml), se lava con HCl 1N (3 x 100 ml) y salmuera (100 ml) y se seca con MgSO_4 . El disolvente se evapora al vacío para proporcionar el producto intermedio **15-B**, que se purifica a partir de la mezcla de reacción usando una columna de sílice. El éster etílico 15-B se saponifica según procedimientos análogos a los descritos anteriormente para proporcionar el compuesto de referencia 15.

30

Compuesto de referencia 16

[0123]



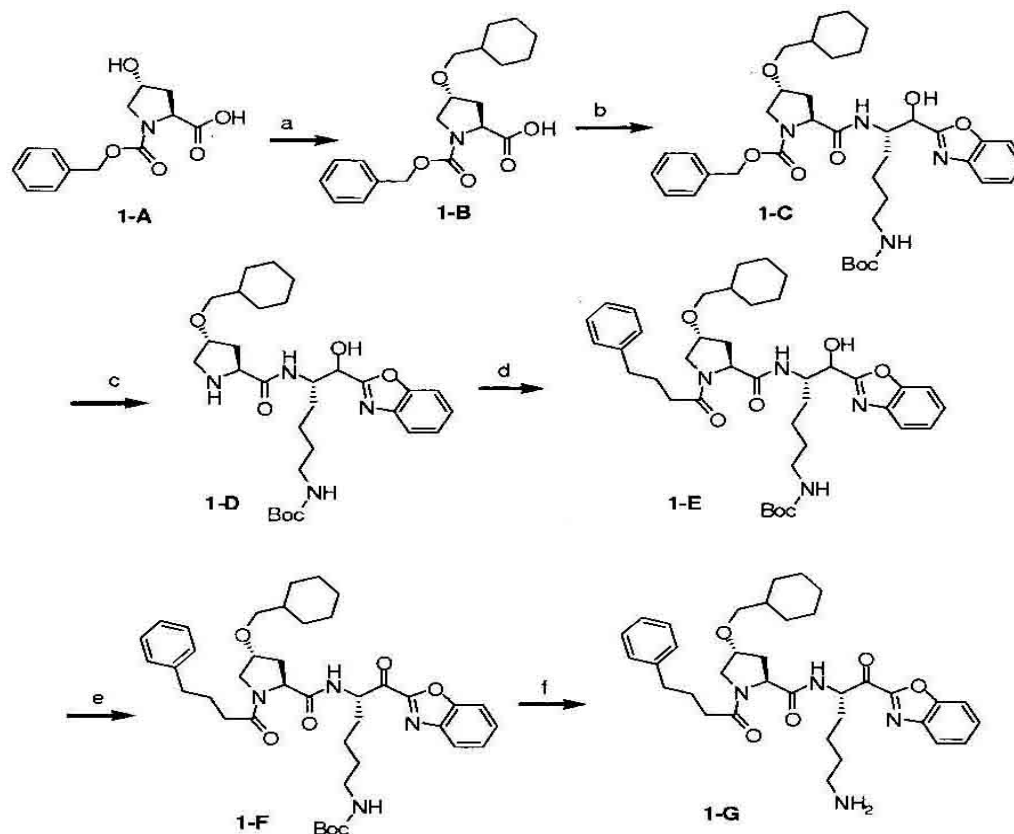
5

[0124] Los reactivos y las condiciones en la reacción anterior para el compuesto de referencia 16 son los siguientes: (a) 4-Cl-PhB(OH)₂, C₂H₄Cl₂, Cu(OAc)₂, piridina, tamices moleculares de 4 Å; (b) NaOH 1N en agua.

[0125] Se añaden éster metílico del ácido (3-hidroxifenil)-acético (0,268 g, 1,6 mmoles), ácido 4-clorofenilbórico (755 mg, 4,84 mmoles), piridina (0,388 ml, 4,8 mmoles) y acetato de cobre(II) (477 mg, 2,4 mmoles) a un matraz de fondo redondo que contiene 1,2-dicloroetano (10 ml) y tamices moleculares de 4 Å (300 mg). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. La solución transparente se diluye con EtOAc (200 ml), se lava con HCl 1N (3 x 100 ml) y se seca con MgSO₄. El disolvente se evapora al vacío para proporcionar el producto intermedio **16-B**, que se purifica a partir de la mezcla de reacción usando una columna de sílice. El éster metílico **16-B** se saponifica según procedimientos análogos a los descritos anteriormente para proporcionar el compuesto de referencia 16.

Ejemplo 1

20 [0126]



[0127] 1-B: Se disuelve KOH en polvo fino (35 g, 0,622 moles) en DMSO, se agita durante 20 min a temperatura ambiente y después se enfría a 0°C. Se disuelve N-Cbz-trans-4-hidroxi-L-prolina (Cbz-Hyp-OH, 1-A) (10 g, 43,3 mmoles) en DMSO (10 ml) y se añade, y la mezcla de reacción se agita durante otros 10 min a 0°C. A continuación se añade bromometilciclohexano (33 g, 0,204 moles) y la mezcla de reacción se agita durante otros 15 minutos a 5 0°C, después de lo cual se retira el baño de hielo y la mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente agitándola durante 4 h. La mezcla de reacción se vierte en agua (300 ml) y el recipiente de reacción se aclara con una alícuota adicional de agua (300 ml). La capa acuosa combinada se extrae con éter (2 x 300 ml) y se desecha. La capa acuosa se acidifica a pH 2,3 con H₃PO₄ al 87% y después se extrae con éter (3 x 300 ml). Los extractos etéreos combinados se lavan con agua (2 x 400 ml) y salmuera (2 x 400 ml), se secan mediante MgSO₄, se filtran y 10 se concentran al vacío. El residuo se purifica por cromatografía en gel de sílice para obtener el compuesto 1-B en forma de un aceite transparente.

1-C: Se carga un vial de 40 ml con 1-B (250 mg, 0,695 mmoles), el compuesto de referencia 1-E (243 mg, 0,695 mmoles, 1 equiv.), HATU (291 mg, 0,765 mmoles, 1,1 equiv.), iPr₂EtN (0,15 ml, 0,834 mmoles, 1,2 equiv.) y CH₂Cl₂ 15 (4 ml). La reacción se agita durante 1 h a temperatura ambiente. Los reactivos volátiles se eliminan a presión reducida y la mezcla de reacción se disuelve en EtOAc. Las capas orgánicas se lavan con NaHSO₄, agua, NaHCO₃ saturado y salmuera. Las capas orgánicas se secan después con MgSO₄ y el producto se purifica a partir de la mezcla de reacción por cromatografía en gel de sílice para proporcionar el compuesto 1-C, que se usa en la preparación de 1-D.

1-D: Se carga un recipiente de reacción Parr con 1-C (2,5 g, 3,6 mmoles), Pd/C (3,6 g, 0,36 mmoles, 1 equiv.), t-BuOH (20 ml) y agua (5 ml). El recipiente se coloca en un aparato Parr y se sacude durante 18 h a una presión de 344,75 kPa de gas H₂. La mezcla de reacción se filtra a través de una almohadilla de Celite para proporcionar el compuesto 1-D, que se usa directamente en la preparación de 1-E.

1-E: Se carga un vial de 40 ml con 1-D (100 mg, 0,18 mmoles), ácido 4-fenilbutírico (30 mg, 0,18 mmoles, 1 equiv.), HATU (75 mg, 0,20 mmoles, 1,1 equiv.), iPr₂EtN (0,04 ml, 0,22 mmoles, 1,2 equiv.) y CH₂Cl₂ (2 ml). La reacción se agita durante 1 h a temperatura ambiente. Los reactivos volátiles se eliminan a presión reducida y la mezcla de reacción se disuelve en EtOAc. Las capas orgánicas se lavan con NaHSO₄, agua, NaHCO₃ saturado y salmuera. 30 Las capas orgánicas se secan con MgSO₄ y el producto se purifica a partir de la mezcla de reacción por cromatografía en gel de sílice 1-E, que se usa en la preparación de 1-F.

1-F: Se disuelve el alcohol 1-E (127 mg, 0,18 mmoles) en DCM (2 ml) y se añade periodinano Dess-Martin (85 mg, 0,2 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. El disolvente se elimina al vacío y el material bruto se purifica por cromatografía ultrarrápida (columna de gel de sílice de 4 g) usando un gradiente de EtOAc:hexanos para proporcionar la cetona 1-F en forma de una espuma blanca, que se usa en la preparación de 1-G.

1-G: Se disuelve la cetona 1-F (128 mg, 0,18 mmoles) en DCM (1 ml) y se añade TFA al 50% en DCM (5 ml). La 40 reacción se agita durante 2 h a temperatura ambiente y el disolvente se elimina al vacío. El material bruto se purifica por HPLC de fase inversa y el disolvente se liofiliza para proporcionar 1-G en forma de un polvo blanco.

Ejemplos 2 a 7

[0128] El ejemplo de referencia 2 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 1, usando ácido 3-terc.-butoxicarbonilamino-propiónico para proporcionar el producto intermedio 2-E.

[0129] El ejemplo 3 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 1, usando el 50 compuesto de referencia 13 para proporcionar el producto intermedio 3-E.

[0130] El ejemplo 4 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 1, usando el compuesto de referencia 14 para proporcionar el producto intermedio 4-E.

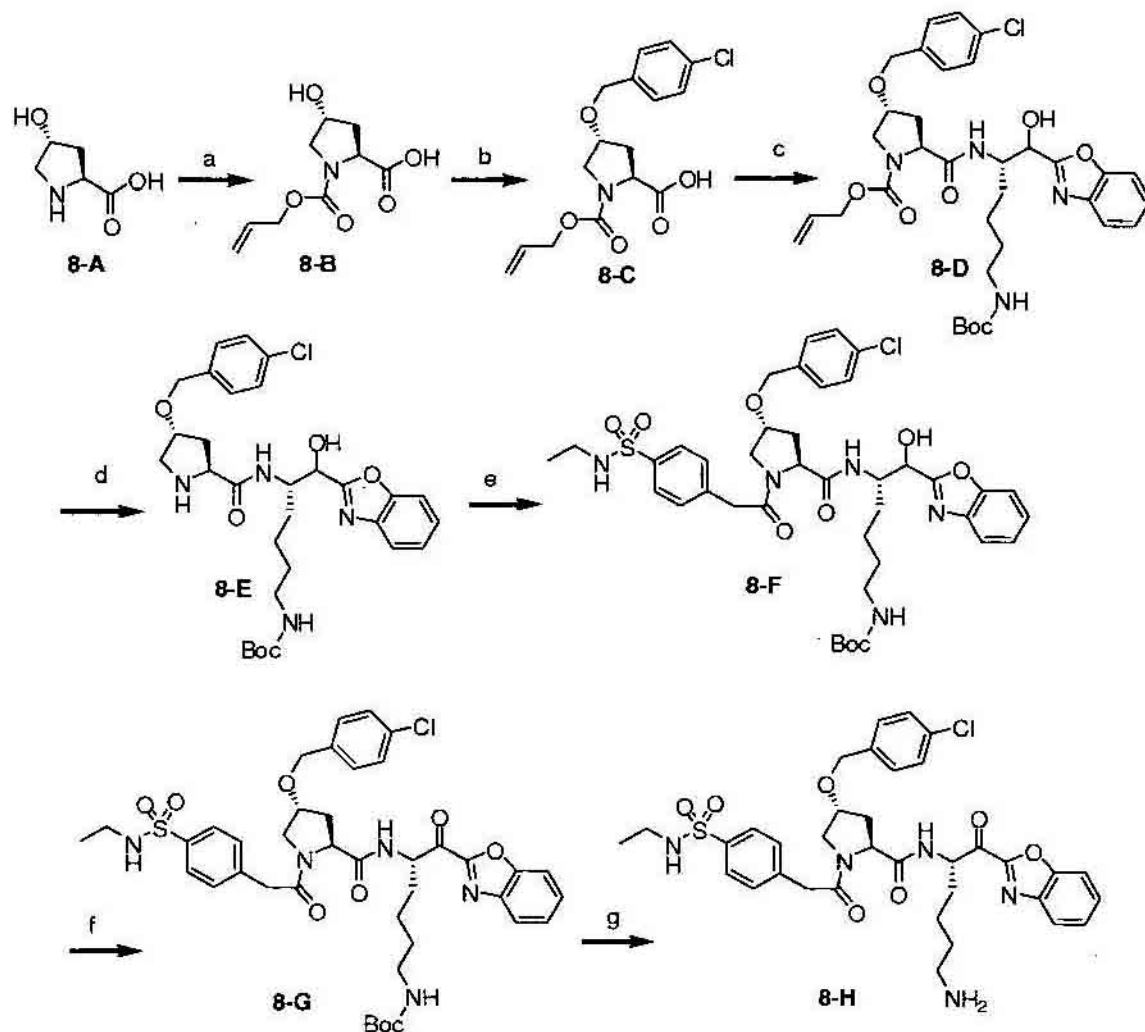
[0131] El ejemplo 5 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 1, usando ácido (4-etanosulfonilamino-fenil)-acético (preparado de forma análoga a la descrita para el compuesto de referencia 13) para proporcionar el producto intermedio 5-E.

[0132] El ejemplo 6 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 1, usando el compuesto de referencia 12 para proporcionar el producto intermedio 6-E.

[0133] El ejemplo 7 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 1, usando ácido 4-(metanosulfonilamino)-fenilacético para proporcionar el producto intermedio 7-E.

5 Ejemplo 8

[0134]



10

[0135] **8-B:** Se añaden trans-4-hidroxiprolina (Hyp-OH) (7,90 g, 60,1 mmoles) y N-(aliloxycarbonilo)succinimida (12,0 g, 60,1 mmoles) a un matraz de fondo redondo que contiene THF (220 ml), trietilamina (21 ml, 150,3 mmoles) y agua (55 ml). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. La solución transparente se acidifica con HCl 1N (100 ml) y se extrae con EtOAc (4 x 150 ml). La capa orgánica combinada se lava con salmuera (100 ml) y se seca con MgSO₄. El disolvente se evapora al vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un sólido blanco, que se usa sin purificación adicional.

15

8-C: Este compuesto se prepara por alquilación de 8-B y 1-cloro-4-clorometilbenceno, usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del producto intermedio 1-B en el ejemplo 1.

20

8-D: Este compuesto se prepara por acoplamiento de 8-C y el compuesto de referencia 1-E mediante HATU usando

procedimientos análogos a los descritos para la preparación del producto intermedio 1-C en el ejemplo 1.

8-E: Se carga un matraz de fondo redondo de 50 ml con el alcohol 8-D (780 mg, 1,16 mmoles), Et₂NH (1,8 ml, 17,43 mmoles, 15 equiv.), Pd₂(dba)₃ (55 mg, 0,06 mmoles, 0,05 equiv.), ligando fosfina dppe (26 mg, 0,06 mmoles, 0,05 equiv.) y THF (5 ml). Los reactivos se agitan durante 15 min a temperatura ambiente y después se concentran hasta la sequedad. El producto (en forma de una mezcla de diaestereoisómeros) se purifica a partir de la mezcla de reacción por cromatografía en gel de sílice usando un gradiente de 2 a 9% de MeOH en CH₂Cl₂. La amina 8-E se usa después en la preparación de 8-F.

10 **8-F:** El compuesto 8-F se prepara según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del producto intermedio 1-E en el ejemplo 1 por acoplamiento de 8-E y ácido (4-etanosulfonilaminofenil)-acético (preparado de manera análoga a la descrita para la preparación del ácido 4-(metanosulfonilamino)fenilacético, que se preparó usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 13) mediante HATU.

15 **8-G:** Este compuesto se prepara por oxidación de 8-F usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del producto intermedio 1-F en el ejemplo 1.

20 **8-H:** Este compuesto se prepara por desprotección de 8-G usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 1.

Ejemplos 9 a 30

25 **[0136]** El ejemplo 9 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando el compuesto de referencia 15 para proporcionar el producto intermedio 9-F.

[0137] El ejemplo 10 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido (4-metoxifenil)-acético para proporcionar el producto intermedio 10-F.

30 **[0138]** El ejemplo 11 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido piridin-4-il-acético para proporcionar el producto intermedio 11-F.

[0139] El ejemplo 12 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido (3-clorofenil)-acético para proporcionar el producto intermedio 12-F.

35 **[0140]** El ejemplo 13 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido [4-(morfolino-4-sulfonil)-fenil]-acético para proporcionar el producto intermedio 13-F.

40 **[0141]** El ejemplo 14 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido (3,5-diclorofenil)-acético para proporcionar el producto intermedio 14-F.

[0142] El ejemplo 15 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido (4-fenil-fenil)-acético para proporcionar el producto intermedio 15-F.

45 **[0143]** El ejemplo 16 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido (2-clorofenil)-acético para proporcionar el producto intermedio 16-F.

[0144] El ejemplo 17 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido (3-fenoxifenil)-acético para proporcionar el producto intermedio 17-F.

50 **[0145]** El ejemplo 18 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido (2-fenil-tiazol-4-il)-acético para proporcionar el producto intermedio 18-F.

[0146] El ejemplo 19 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido (4-fenilmetanosulfonilamino-fenil)-acético (preparado de manera análoga a la descrita para la preparación del compuesto de referencia 13) para proporcionar el producto intermedio 19-F.

[0147] El ejemplo 20 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido [4-(piperidin-1-sulfonil)-fenil]-acético para proporcionar el producto intermedio 20-F.

[0148] El ejemplo 21 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido [3-(4-clorofenoxi)-fenil]-acético para proporcionar el producto intermedio 21-F.

5 **[0149]** El ejemplo 22 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8, usando ácido [4-(trifluoroetanosulfonilamino)-fenil]-acético (según procedimientos análogos a los descritos para el compuesto de referencia 13) para proporcionar el producto intermedio 22-F.

10 **[0150]** Ejemplo 23: Este compuesto se prepara a partir de ácido 1-Boc-piperidin-4-il-propiónico según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

[0151] Ejemplo 24: Este compuesto se prepara a partir de ácido N-Boc-4-piperidin-4-il-butírico según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

15 **[0152]** Ejemplo 25: Este compuesto se prepara a partir de ácido 1-Boc-piperidin-4-il-acético según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

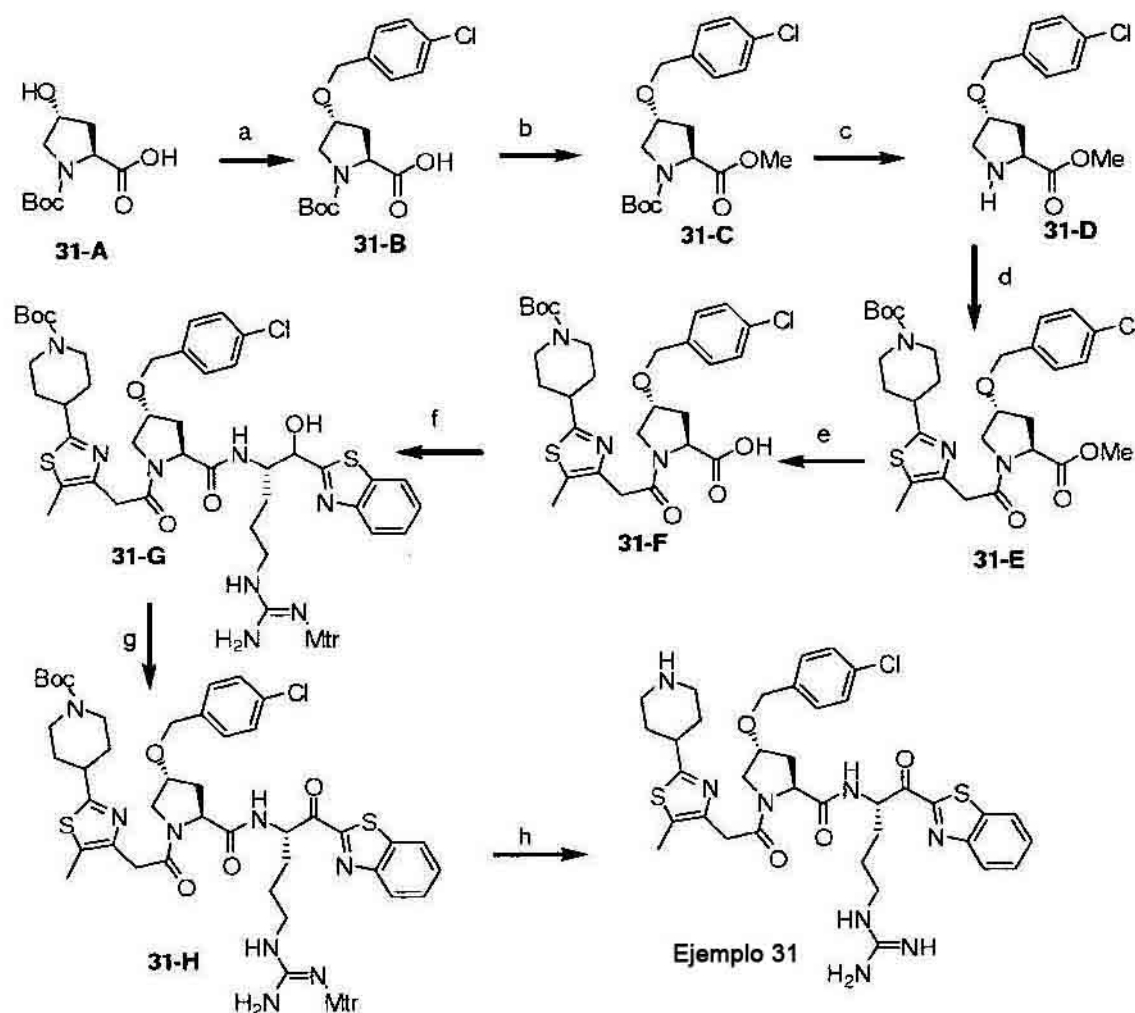
20 **[0153]** Ejemplo 26: Este compuesto se prepara a partir de ácido 1-Boc-piperidin-3-il-acético según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

[0154] Ejemplo 27: Este compuesto se prepara a partir de ácido 1-Boc-piperidin-3-il-propiónico según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

25 **[0155]** Los ejemplos 28 a 30 se preparan según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

Ejemplo 31

[0156]



5

[0157] 31-B: Se disuelve KOH en polvo fino (19,4 g, 0,346 moles) en DMSO, se agita durante 20 min a temperatura ambiente y después se enfría a 0°C. Se disuelve N-Boc-trans-4-hidroxi-L-prolina (Boc-Hyp-OH, 1-A) (10 g, 43,3 mmoles) en DMSO (10 ml) y se añade, y la mezcla de reacción se agita durante otros 10 min a 0°C. A continuación, se añade cloruro de 4-clorobencilo (33 g, 0,204 moles) y la mezcla de reacción se agita durante otros 15 minutos a 0°C, después de lo cual se retira el baño de hielo y la mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente agitándola durante 4 h. La mezcla de reacción se vierte en agua (300 ml) y el recipiente de reacción se aclara con una alícuota adicional de agua (300 ml). La capa acuosa combinada se extrae con éter (2 x 300 ml) y se desecha. La capa acuosa se acidifica a pH 2,3 con H₃PO₄ al 87% y después se extrae con éter (3 x 300 ml). Los extractos etéreos combinados se lavan con agua (2 x 400 ml) y salmuera (2 x 400 ml), se secan mediante MgSO₄, se filtran y se concentran al vacío. El residuo se purifica por cromatografía en gel de sílice con EtOAc/hexanos (gradiente de 0 a 100%) para obtener el compuesto 1-B en forma de un aceite transparente. EM m/z 256,1 (M+1-Boc); ¹H-RMN (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 7,39-7,3 (4H, m), 4,52-4,40 (2H, m), 4,16-4,10 (2H, m), 3,48-3,41 (2H, m), 2,40-2,30 (1H, m), 2,03-1,94 (1H, m), 2,03-1,94 (1H, m), 1,39-1,34 (9H, m).

31-C: Se añade una solución de (trimetilsilil)diazometano (2M en éter dietílico) (4,7 ml, 9,45 mmoles) al ácido

carboxílico 1-B (2,4 g, 8,6 mmoles) disuelto en DCM/MeOH (5:1, 25 ml). Cuando, según determinación por CL-EM, se haya consumido el material de partida, la mezcla de reacción se concentra al vacío y el residuo bruto se purifica por cromatografía ultrarrápida (gradiente de EtOAc:hexanos) para proporcionar el éster metílico en forma de un aceite transparente.

5

31-D: Un matraz de fondo redondo se carga con una varilla de agitación y 1-C (510 mg, 1,38 mmoles). Se añade TFA (50%) en DCM (6 ml) y la solución se agita durante 1 h a temperatura ambiente. El disolvente se elimina al vacío, se añaden hexanos, que después se vuelven a evaporar al vacío hasta la sequedad, y el proceso se repite, si fuera necesario, para formar un azeótropo con el TFA restante. El material bruto se usa directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional.

10

31-E: Este compuesto se prepara a partir de 31-D y ácido {2-[1-(terc.-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}acético disponible en el mercado usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 1-E.

15

31-F: Este compuesto se prepara a partir de 31-E por saponificación de acuerdo con los procedimientos descritos para la preparación del compuesto de referencia 6.

31-G: Este compuesto se prepara a partir de 31-F y el compuesto de referencia 3 usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 1-C.

20

31-H: Este compuesto se prepara a partir de 31-G usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 1-F.

31: El compuesto de referencia 31 se prepara a partir de 31-H usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 1-G.

25

Ejemplos 32 a 43

[0158] El ejemplo 32 se prepara a partir del compuesto de referencia 10 según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 31.

30

[0159] El ejemplo 33 se prepara según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 31.

35

[0160] El ejemplo 34 se prepara a partir del compuesto de referencia 11 según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

[0161] El ejemplo 35 se prepara a partir del compuesto de referencia 8 según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

40

[0162] El ejemplo 36 se prepara a partir del compuesto de referencia 6 según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

[0163] El ejemplo 37 se prepara a partir del compuesto de referencia 2 según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

45

[0164] El ejemplo 38 se prepara a partir del compuesto de referencia 2 según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

50

[0165] El ejemplo 39 se prepara a partir del compuesto de referencia 2 según procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 8.

[0166] El ejemplo 40 se prepara a partir del compuesto de referencia 5 y ácido {2-[1-(terc.-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}acético según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8.

55

[0167] El ejemplo 41 se prepara a partir del compuesto de referencia 9 y ácido {2-[1-(terc.-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}acético según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8.

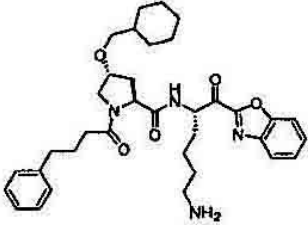
[0168] El ejemplo 42 se prepara a partir del compuesto de referencia 7 y ácido {2-[1-(terc.-butoxicarbonil)piperidin-4-il]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}-acético según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8.

[0169] El ejemplo 43 se prepara a partir del compuesto de referencia 2 y ácido {2-[1-(terc.-butoxicarbonil)piperidin-5-4-il]-5-metil-1,3-tiazol-4-il}-acético según procedimientos análogos a los descritos para el ejemplo 8.

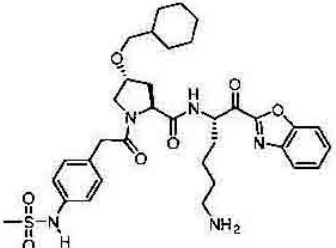
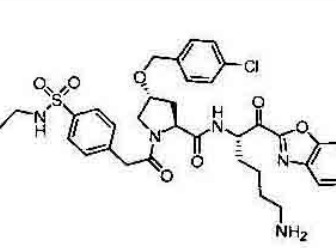
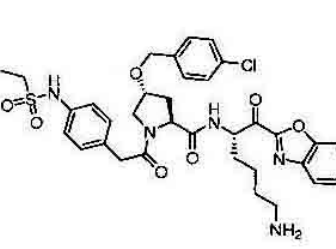
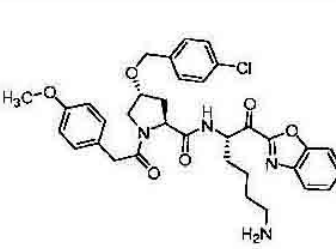
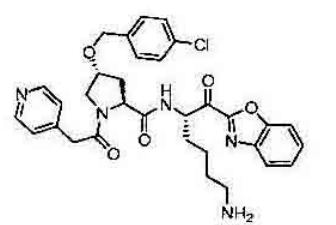
[0170] La tabla 1 muestra compuestos de fórmula (1) como se han descrito en los ejemplos 1 a 42.

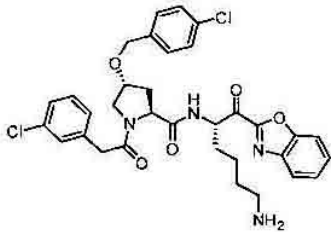
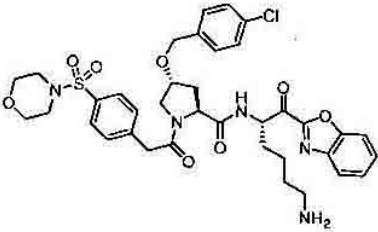
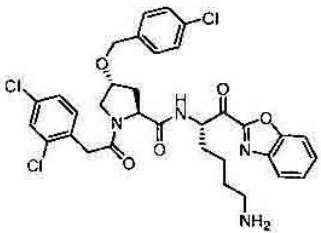
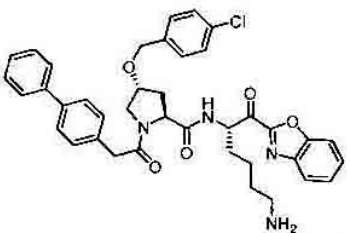
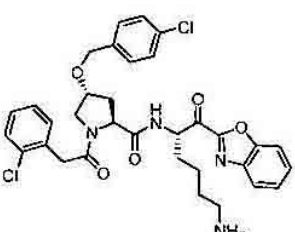
Tabla 1

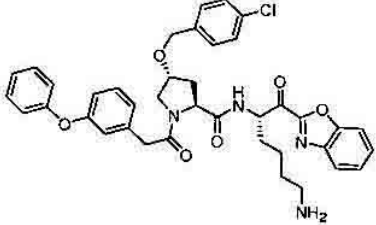
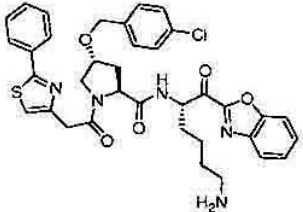
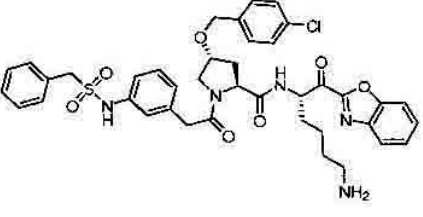
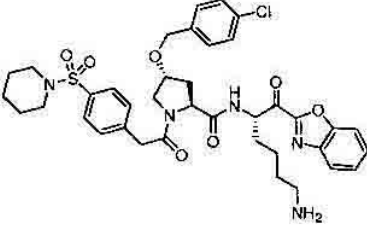
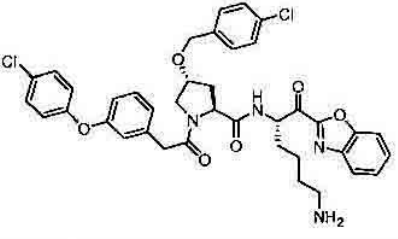
10

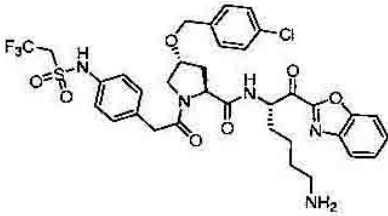
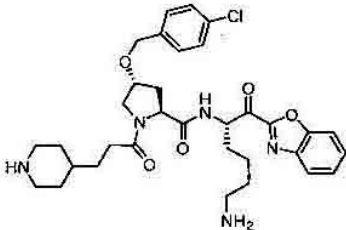
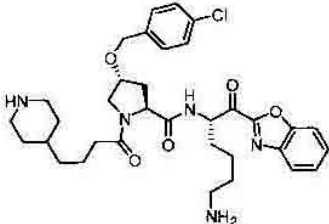
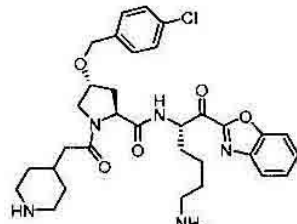
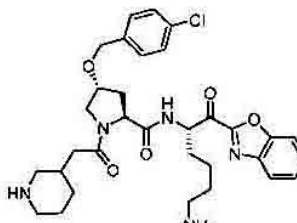
Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
1		EM <i>m/z</i> 603,4 (M + 1); ¹ H-RMN δ 8,08 (s, 2H), 7,90 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,66 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,53-7,57 (m, 1H), 7,45-7,49 (m, 2H), 7,14-7,19 (m, 3H), 5,70-5,71 (m, 1H), 4,47-4,51 (m, 1H), 4,10 (s, 1H), 3,63-3,66 (m, 3H), 3,38-3,41 (m, 1H), 3,01-3,22 (m, 3H), 3,02 (s, 2H), 2,60-2,65 (m, 2H), 2,23-2,28 (m, 4H), 2,06-2,13 (m, 1H), 1,85-1,89 (m, 3H), 1,46-1,51 (m, 2H), 1,11-1,23 (m, 4H), 0,85-0,89 (m, 3H).

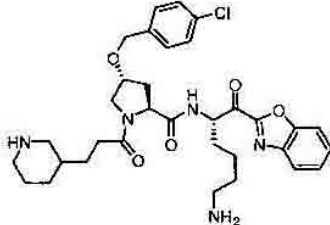
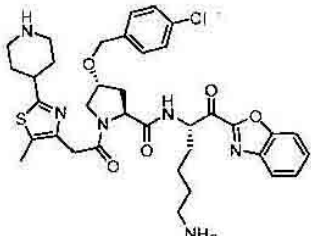
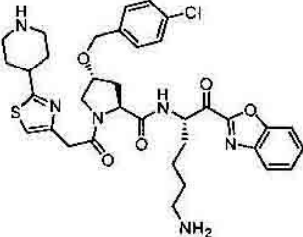
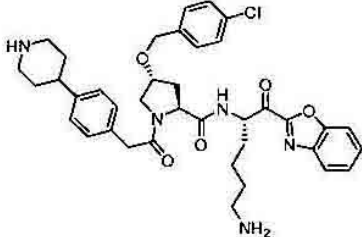
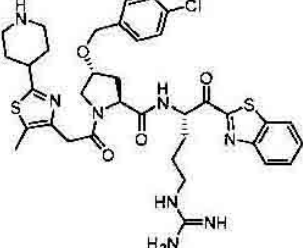
Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
2 *Ref.		EM <i>m/z</i> 528,4 (M + 1); ¹ H-RMN δ 7.90-7.48 (m, 8H), 5.62-5.71 (m, 1H), 4.49-4.51 (m, 1H), 4.15 (s, 1H), 3.82-4.00 (m, 1H), 3.66-3.74 (m, 1H), 3.30 (s, 1H), 3.00-3.22 (m, 4H), 2.51-2.61 (m, 2H), 2.00-2.40 (m, 3H), 1.43-1.81 (m, 12H), 1.1-1.26 (m, 3H), 0.80-0.92 (m, 3H)
3		EM <i>m/z</i> 668,4 (M + 1); ¹ H-RMN δ 8.04 (d, 1H <i>J</i> = 8.0Hz), 7.80 (d, 1H <i>J</i> = 8.0Hz), 7.68-7.72 (m, 1H), 7.60-7.64 (m, 1H), 7.49-7.53 (m, 3H), 7.32 (d, 2H <i>J</i> = 8.0Hz), 7.27 (s, 1H), 7.13 (d, 1H <i>J</i> = 8.0Hz), 4.63-4.67 (m, 1H), 4.32 (s, 1H), 3.98-4.01 (m, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.35-3.37 (m, 2H), 3.27-3.31 (m, 2H), 3.11-3.19 (m, 10H), 4.83 (s, 1H), 2.42-2.48 (m, 1H), 2.34-2.35 (m, 1H), 2.24-2.30 (m, 1H), 1.26-1.41 (m, 4H), 0.99-1.07 (m, 3H).
4		EM <i>m/z</i> 632,4 (M + 1); ¹ H-RMN δ 8.30 (s, 1H), 7.91 (d, 1H <i>J</i> = 8.0Hz), 7.67 (d, 1H <i>J</i> = 8.0Hz), 7.47-7.59 (m, 2H), 7.37 (s, 1H), 7.30 (d, 1H <i>J</i> = 8.0Hz), 7.17-7.19 (m, 3H), 7.97-7.99 (m, 1H), 5.71-5.77 (m, 1H), 4.40-4.44 (m, 1H), 4.20 (s, 1H), 3.84-3.87 (m, 2H), 3.16-3.26 (m, 2H), 2.844 (s, 1H), 2.69 (s, 1H), 2.23-2.37 (m, 2H), 2.17 (s, 3H), 1.14-1.27 (m, 4H), 0.86-0.97 (m, 3H).
5		EM <i>m/z</i> 682,4 (M + 1); ¹ H-RMN δ 7.92 (d, 1H <i>J</i> = 8.0Hz), 7.76 (d, 1H <i>J</i> = 8.0Hz), 7.61-7.65 (m, 1H), 7.52-7.55 (m, 1H), 7.20-7.23 (m, 6H), 5.58-5.61 (m, 1H), 4.51-4.55 (m, 1H), 4.10-4.14 (m, 2H), 3.66-3.79 (m, 5H), 3.19-3.23 (m, 2H), 3.06-3.13 (m, 5H), 2.92-2.95 (m, 2H), 2.66 (s, 1H), 2.32-2.37 (m, 1H), 2.17-2.24 (m, 1H), 1.94-2.01 (m, 1H), 1.27-1.32 (m, 7H), 0.84-0.98 (m, 3H).
6		EM <i>m/z</i> 702,4 (M + 1); ¹ H-RMN δ 7.91 (d, 1H <i>J</i> = 8.0Hz), 7.76 (d, 1H <i>J</i> = 8.0Hz), 7.61-7.65 (m, 1H), 7.52-7.55 (m, 1H), 7.34-7.41 (m, 3H), 7.20 (d, 2H <i>J</i> = 8.0Hz), 5.61-5.64 (m, 1H), 5.12-5.15 (m, 1H), 4.48-4.53 (m, 3H), 4.08 (s, 1H), 3.63-3.78 (m, 5H), 3.11-3.15 (m, 1H), 2.98-3.01 (m, 1H), 2.91-2.94 (m, 3H), 2.66 (s, 1H), 2.31-2.34 (m, 1H), 2.18-2.26 (m, 1H), 1.82-1.99 (m, 4H), 1.38-1.42 (m, 2H), 1.14-1.29 (m, 5H), 0.81-0.94 (m, 3H).

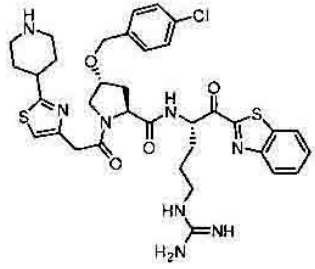
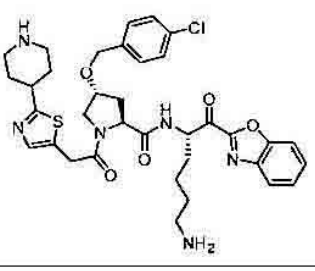
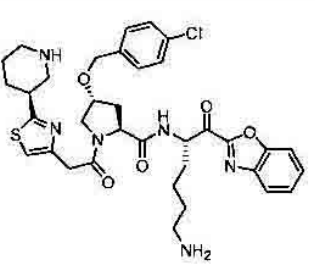
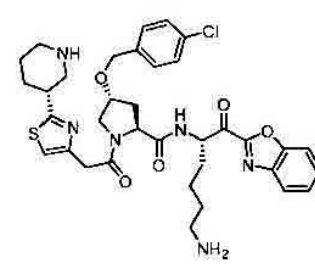
Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
7		EM m/z 668,3 (M+1)
8		EM m/z 710,4 (M+1); ¹ H-RMN δ 7,95 (d, 1H, J=8,0Hz), 7,78-7,81 (m, 2H), 7,63-7,67 (m, 1H), 7,51-7,58 (m, 2H), 7,46-7,49 (m, 2H), 7,38-7,41 (m, 2H), 7,31 (d, 2H, J=8,0Hz), 6,84 (s, 2H), 5,54-5,61 (m, 1H), 4,43-4,52 (m, 2H), 4,27-4,29 (m, 1H), 3,83 (s, 2H), 3,75 (s, 2H), 2,89 (d 3H, J=8,0Hz), 2,30-2,36 (m, 1H), 2,10-2,19 (m, 1H), 2,01-2,08 (m, 1H), 1,57-1,75 (m, 4H), 1,03-1,07 (m, 2H).
9		EM m/z 710,4 (M+1); C ₃₇ H ₄₁ ClF ₃ N ₅ O ₉ S (M+ TFA) C calcd, 53,91 found, 50,06; H calcd, 5,01 found, 4,74; N calcd, 8,50 found, 7,64; ¹ H-RMN δ 7,91-7,96 (m, 1H), 7,75-7,80 (m, 1H), 7,63-7,67 (m, 1H), 7,50-7,57 (m, 1H), 7,37-7,41 (m, 2H), 7,29-7,32 (m, 2H), 7,24 (s, 4H), 4,43-4,51 (m, 2H), 4,28 (s, 1H), 3,70 (s, 2H), 3,06-3,12 (m, 2H), 3,80-3,92 (m, 3H), 2,29-2,32 (m, 1H), 2,12-2,16 (m, 1H), 1,58-1,76 (m, 4H), 1,27-1,31 (m, 3H).
10		EM m/z 633,4 (M+1); ¹ H-RMN δ 7,93 (d, 1H, J=8,0Hz), 7,78 (d, 1H, J=8,0Hz), 7,62-7,66 (m, 1H), 7,52-7,59 (m, 2H), 7,35-7,41 (m, 2H), 7,27 (d, 2H, J=8,0 Hz), 7,14-7,19 (m, 2H), 6,88 (d, 2H, J=8,0Hz), 7,53-7,59 (m, 1H), 4,37-4,48 (m, 3H), 4,25-4,26 (m, 2H), 4,09 (s, 4H), 3,77 (s, 3H), 4,64 (s, 2H), 2,88 (s, 2H), 2,28-2,34 (m, 1H), 2,10-2,18 (m, 1H), 1,99-2,05 (m, 1H), 1,58-1,77 (m, 5H).
11		EM m/z 604,3 (M+1); ¹ H-RMN δ 7,93 (d), 8,72 (s, 1H), 7,78-7,81 (m, 1H), 7,50-7,67 (m, 2H), 7,34-7,41 (m, 3H), 7,02 (s, 2H), 5,47-5,53 (m, 1H), 4,46-4,56 (m, 2H), 4,29-4,31 (m, 1H), 3,95-4,02 (m, 2H), 3,73-3,82 (m, 2H), 2,86 (s, 2H), 2,54 (s, 2H), 2,31-2,37 (1H), 2,06-2,15 (m, 1H), 1,52-1,74 (m, 3H).

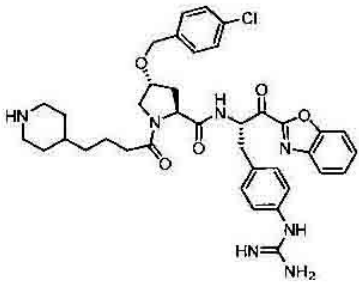
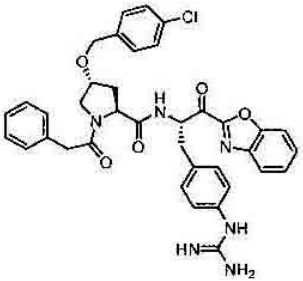
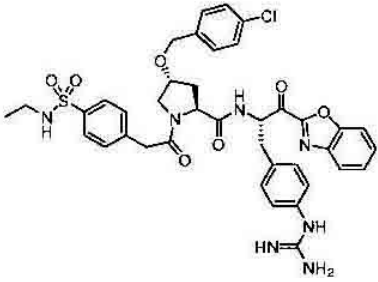
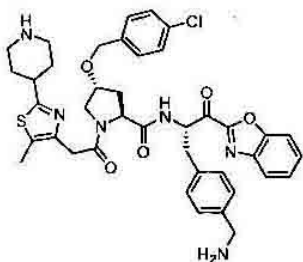
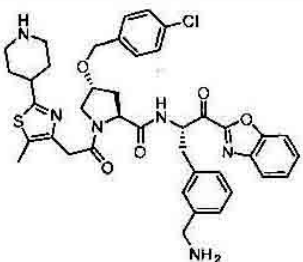
Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
12		EM m/z 637,2 (M+1)
13		EM m/z 752,3 (M+1)
14		EM m/z 671,2(M+1)
15		EM m/z 679,3 (M+1)
16		EM m/z 637,2 (M+1)

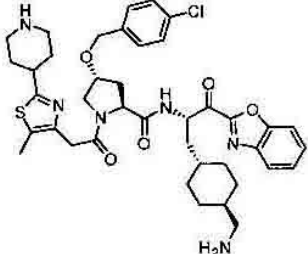
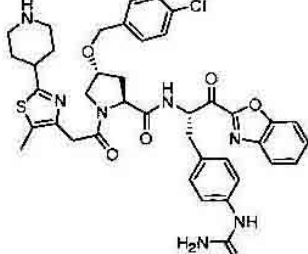
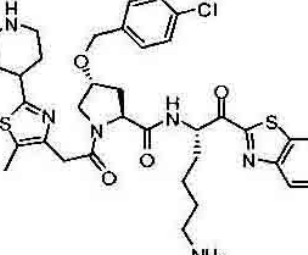
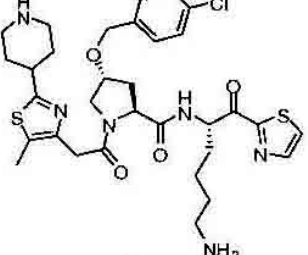
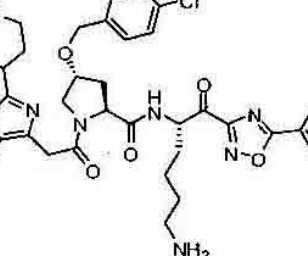
Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
17		EM m/z 695,3 (M+1)
18		EM m/z 686,3 (M + 1); ¹ H-RMN δ 7,93 (d), 7,94-7,95 (m, 3H), 7,79 (d, 1H J= 8,0Hz), 7,63-7,67 (m, 1H), 7,49-7,58 (m, 5H), 7,40 (s, 1H), 7,27-7,35 (m, 5H), 7,03 (s, 2H), 7,50-7,55 (m, 1H), 4,45-4,53 (m, 3H), 4,31 (s, 1H), 4,02 (d, 1H J= 8,0Hz), 3,93 (d, 2H J= 5,2Hz), 3,82-3,86 (m, 1H), 2,32-2,38 (m, 2H), 2,09-2,14 (m, 1H), 1,63-1,78 (m, 7H).
19		EM m/z 772,3(M + 1); ¹ H-RMN δ 8,14 (s, 1H), 7,93 (d, 1H J= 8,0Hz), 7,75-7,78 (m, 2H), 7,61-7,66 (m, 1H), 7,52-7,56 (m, 1H), 7,37-7,38 (m, 6H), 7,30-7,32 (m, 5H), 7,18-7,25 (m, 6H), 7,50-7,55 (m, 1H), 4,44-4,52 (m, 3H), 4,37 (s, 3H), 4,27-4,27 (m, 1H), 3,75 (d, 2H J= 3,2 Hz), 3,68 (s, 2H), 2,88 (s, 3H), 2,29-2,35 (m, 1H), 1,99-2,15 (m, 2H), 1,56-1,75 (m, 6H).
20		EM m/z 750,3 (M + 1); ¹ H-RMN δ 7,93 (d, 1H J= 8,0Hz), 7,77 (d, 1H J= 8,4Hz), 7,62-7,73 (m, 4H), 7,47-7,56 (m, 3H), 7,37-7,39 (m, 3H), 7,29-7,31 (m, 2H), 5,48-5,53 (m, 1H), 4,40-4,55 (m, 3H), 4,24-4,26 (m, 1H), 3,82 (s, 2H), 3,73 (d, 2H J= 3,2 Hz), 2,30-2,36 (m, 1H), 2,01-2,17 (m, 2H), 1,66-1,79 (m, 3H), 1,57-1,62 (m, 8H), 1,36-1,41 (m, 3H).
21		EM m/z 729,3 (M + 1); ¹ H-RMN δ 7,93 (d, 1H J= 8,0Hz), 7,77 (d, 1H J= 8,0Hz), 7,72 (d, 1H J= 8,0Hz), 7,61-7,65 (m, 1H), 7,51-7,56 (m, 1H), 7,33-7,39 (m, 8H), 7,27 (d, 2H J= 8,0Hz), 6,90-7,07 (m, 5H), 5,48-5,54 (m, 1H), 4,37-4,52 (m, 3H), 4,22 (s, 1H), 3,65-3,74 (m, 5H), 3,01 (s, 1H), 2,90-2,91 (m, 1H), 2,88 (s, 1H), 2,27-2,33 (m, 1H), 2,08-2,14 (m, 1H), 1,99-2,05 (m, 1H), 1,65-1,81 (m, 3H), 1,57-1,62 (m, 2H).

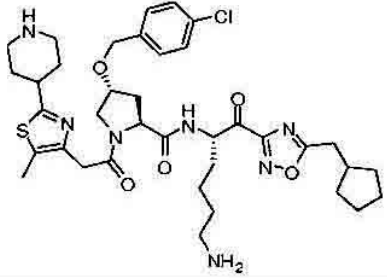
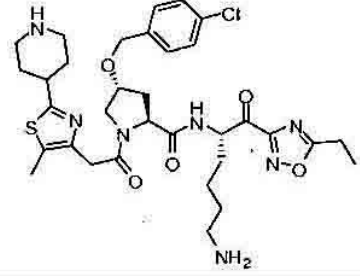
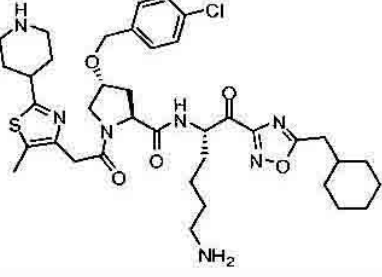
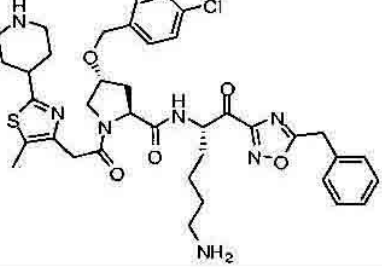
Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
22		EM <i>m/z</i> 764,2 (M + 1); ¹ H-RMN δ 7,93 (d), 8,94 (s, 1H), 7,94 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,79 (d, 1H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,63-7,67 (m, 1H), 7,53-7,57 (m, 2H), 7,39-7,41 (m, 2H), 7,32 (d, 2H <i>J</i> = 8,0Hz), 7,28 (s, 4H), 6,99 (s, 1H), 5,51-5,6 (m, 1H), 4,45-4,53 (m, 3H), 4,28-4,30 (m, 1H), 4,07-4,14 (m, 2H), 3,72-3,77 (m, 4H), 2,85 (s, 2H), 2,53 (s, 1H), 2,27-2,35 (m, 2H), 2,02-2,17 (m, 3H), 1,62-1,74 (m, 3H), 1,55-1,60 (m, 2H).
23		EM <i>m/z</i> 624,3 (M+1)
24		EM <i>m/z</i> 638,3 (M+1)
25		EM <i>m/z</i> 610,3 (M+1)
26		EM <i>m/z</i> 610,3 (M+1)

Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
27		EM m/z 624,3 (M+1)
28		EM m/z 707,3 (M+1)
29		EM m/z 693,3 (M+1)
30		EM m/z 686,3 (M+1)
31		EM m/z 651,3(M + 1)

Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
32		EM m/z 637,3 (M + 1)
33		EM m/z 647,2 (M + 1)
34		EM m/z 693,3 (M + 1)
35		EM m/z 693,3 (M + 1)
36		EM m/z 693,3 (M + 1)

Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
37		EM m/z 714,3 (M + 1)
38		EM m/z 679,2 (M + 1)
39		EM m/z 686,2 (M + 1)
40		EM m/z 755,3 (M + 1)
41		EM m/z 755,3 (M + 1)

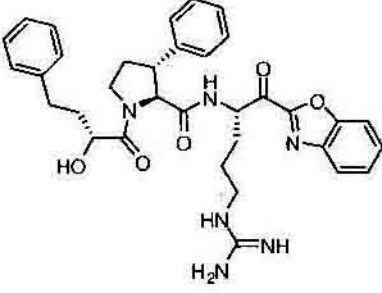
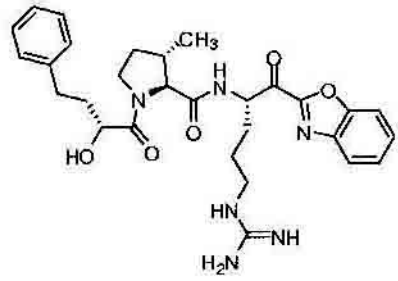
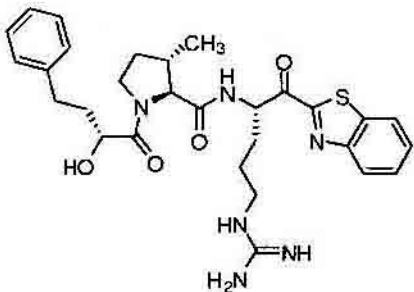
Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
42		EM m/z 761,3 (M + 1)
43		EM m/z 783,3 (M + 1)
44		EM m/z 723,3 (M + 1)
45		EM m/z 723,3 (M + 1)
46		EM m/z 734,3 (M + 1)

Ejemplo	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y ¹ H-RMN 400 MHz (DMSO-d ₆)
47		EM m/z 740,4 (M + 1)
48		EM m/z 686,3 (M + 1)
49		EM m/z 754,4 (M + 1)
50		EM m/z 748,4 (M + 1)

Ejemplos 51 a 53

- 5 [0171] Los ejemplos 51 a 53 en la tabla 2 son compuestos de fórmula (1) ejemplares de la invención que comprenden prolina sustituida con 3-alkilo o 3-arilo que se pueden preparar repitiendo los procedimientos descritos en los ejemplos anteriores usando materiales de partida apropiados obvios para los expertos en la técnica.

Tabla 2

Ejemplo	Estructura	Datos de EM
51		EM m/z 611,3 (M + 1)
52		EM m/z 549,3 (M + 1)
53		EM m/z 565,3 (M + 1)

Ensayos

5

[0172] La adecuación de un inhibidor de proteasas activadoras de canal, tal como un inhibidor de prostasina, para el tratamiento de una enfermedad mediada por la inhibición de una proteasa activadora de canal se puede ensayar determinando el efecto inhibitor del inhibidor de proteasas activadoras de canal sobre: (1) la proteasa activadora de canal nativa, aislada, purificada o recombinante, usando un formato de ensayo bioquímico adecuado, usando el

10

15 Ensayos bioquímicos

[0173] Se generan prostasina y matriptasa humanas y prostasina de cobaya recombinantes de acuerdo con los procedimientos descritos en Shipway y col., Biochem. Biophys. Res. Commun. 2004, 324(2):953-63. Las enzimas recombinantes se incuban en un tampón electrolítico que contiene los compuestos de ensayo o el vehículo en una

20

placa de ensayo adecuada de múltiples pocillos, tal como una placa de 96 o 384 pocillos. Transcurrido un tiempo definido después del mezclado de la enzima con el compuesto o el vehículo, se añade a la mezcla de ensayo un sustrato peptídico fluorescente adecuado. A medida que el sustrato es digerido por la enzima activa, la fluorescencia

(medida con un lector de placas de fluorescencia adecuado) aumenta, y se puede cuantificar la tasa de recambio del sustrato (es decir, la actividad enzimática) y, de este modo, el efecto inhibitor de cualquier compuesto de ensayo. La eficacia de los compuestos de ensayo se expresa como la concentración que induce una atenuación del 50% en la actividad enzimática (K_i).

- 5 **[0174]** En general, los compuestos de la invención pueden presentar valores de K_i comprendidos entre 0,1 nM y 5 μ M. En algunos ejemplos, los compuestos de la invención pueden presentar valores de K_i comprendidos entre 0,1 nM y 500 nM; entre 0,1 nM y 50 nM, entre 0,1 nM y 5 nM; o entre 0,1 nM y 0,5 nM. En ejemplos concretos, los compuestos de la invención pueden presentar valores de K_i comprendidos entre 0,1 nM y 0,5 nM; entre 0,5 nM y 5 nM; entre 5 nM y 50 nM; entre 50 nM y 500 nM; o entre 500 nM y 5 μ M. En aún otros ejemplos, los compuestos pueden presentar valores de K_i inferiores a 0,1 nM o superiores a 5 μ M.

Transporte iónico epitelial

- 15 **[0175]** Se cultivan células epiteliales bronquiales humanas de acuerdo con los procedimientos descritos en Danahay y col., Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2002; 282(2):L226-36. Cuando estén adecuadamente diferenciadas (días 14 a 21 después de establecer una interfase apical-aire), las células epiteliales se tratan durante 90 minutos con vehículo, aprotinina (200 μ g/ml) o compuesto de ensayo. Después, los epitelios se colocan en cámaras, como se describe en Danahay y col., Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2002; 282(2):L226-36),
20 manteniendo la concentración de vehículo, aprotinina o compuesto de ensayo en el lado apical de los epitelios. A continuación se mide la corriente de cortocircuito (CCC) por fijación del voltaje de los epitelios a cero milivoltios. Después se mide la CCC sensible a amilorida añadiendo amilorida (10 μ M) a la superficie apical de los epitelios. La potencia del compuesto de ensayo se expresa como la concentración que induce una inhibición del 50% en la componente total sensible a aprotinina de la CCC sensible a amilorida.

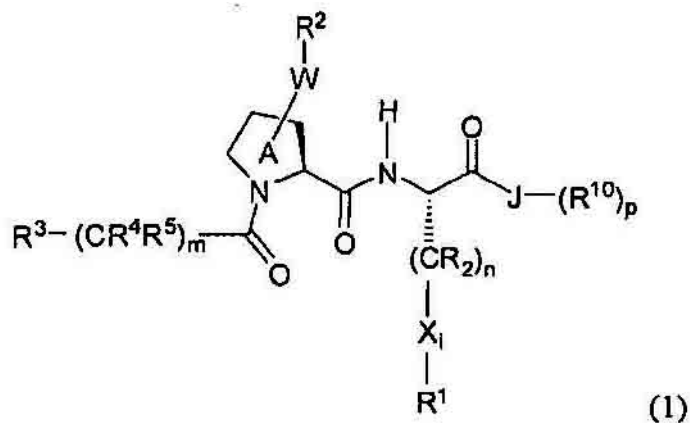
- 25 **[0176]** En general, los compuestos de la invención pueden presentar valores de CI_{50} comprendidos entre 1 nM y 10 μ M. En algunos ejemplos, los compuestos de la invención pueden presentar valores de CI_{50} comprendidos entre 1 nM y 1 μ M; o, más concretamente, entre 1 nM y 100 nM. En aún otros ejemplos, los compuestos de la invención pueden presentar valores de CI_{50} comprendidos entre 100 nM y 1 μ M, o entre 1 μ M y 10 μ M. En aún otros ejemplos,
30 los compuestos pueden presentar valores de CI_{50} inferiores a 1 nM o superiores a 10 μ M.

Diferencia de potencial traqueal (*in vivo*)

- 35 **[0177]** Se anestesian cobayas usando una anestesia inhalatoria de corta acción, tal como halotano y N_2O . Bajo la anestesia de corta acción se inserta por vía orofaríngea una jeringa para administración oral en la tráquea. Una vez dentro de la tráquea, se infunde en las vías respiratorias un pequeño volumen (50 a 200 μ l) de vehículo o compuesto de ensayo en un diluyente de base acuosa adecuado. Después, los animales se recuperan y se vuelven a ser totalmente móviles. De forma alternativa, los compuestos de ensayo se pueden administrar a los animales usando una dosificación en aerosol o en polvo seco. Transcurrido un tiempo definido después de la dosificación, los
40 animales se anestesian quirúrgicamente usando una anestesia adecuada, tal como ketamina y xilazina. A continuación se expone la tráquea y se inserta un electrodo de plástico con puente de agar en la luz traqueal. Igualmente se inserta un electrodo de referencia en las capas musculares del cuello del animal. La diferencia de potencial traqueal se mide usando un voltímetro de alta impedancia adecuado, como se describe en Takahashi y col., Toxicol Appl Pharmacol. 1995; 131(1):31-6. La potencia del compuesto de ensayo se expresa como la dosis
45 que induce una reducción del 50% en la componente sensible de la diferencia de potencial traqueal.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (1):



5

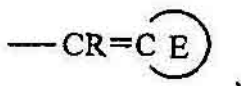
y sales, hidratos, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que J es un anillo monocíclico o carbocíclico condensado de 5 a 12 miembros, un anillo arilo, heteroarilo o heterocíclico que contiene N, O y/o S;

R¹ es $-(\text{CR}_2)_1\text{-NR}_2$, $-(\text{CR}_2)_1\text{-NRC(=NR)-NR}_2$, $-(\text{CR}_2)_1\text{-C(=NR)-NR}_2$ o un anillo heterocíclico no aromático de 5 a 7 miembros que contiene nitrógeno;

W-R² es un sustituyente en cualquier posición del anillo A;

W es $-\text{O}(\text{CR}_2)_k$, $-\text{S}(\text{CR}_2)_k$, $-\text{S}(\text{O})(\text{CR}_2)_k$, $-\text{SO}_2(\text{CR}_2)_k$ o $-\text{OC}(\text{O})(\text{CR}_2)_k$;

R² es alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, R⁶, $-\text{CR}^9=\text{CR}^9\text{-R}^6$ o



15

en el que el anillo E es un anillo monocíclico o carbocíclico o heterocíclico condensado de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido; o

W-R² forman juntos alquilo C₁₋₆, arilo de 5 a 7 miembros o $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^7\text{R}^8$,

R³ es R⁶;

20 R⁴ y R⁵ son independientemente H, alquilo C₁₋₆, OH o alcoxi C₁₋₆;

R⁷ y R⁸ son independientemente H, alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆ o $-(\text{CR}_2)_1\text{-R}^6$; o R⁷ y R⁸ pueden formar junto con N un anillo monocíclico o heterocíclico condensado de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido;

R⁹ es H o alquilo C₁₋₆;

R¹⁰ es halógeno, alquilo C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆, OR¹¹ o $-(\text{CR}_2)_1\text{-R}^{11}$;

25 R⁶, R¹¹ y X son independientemente un anillo carbocíclico, un anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo de 5 a 7 miembros opcionalmente sustituido; o R¹¹ es H o alquilo C₁₋₆;

cada R es H o alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆ o alquino C₂₋₆, en el que un carbono puede estar sustituido o reemplazado opcionalmente por NR, O o S;

i es 0 a 1;

30 k y 1 son independientemente 0 a 6;

m y n son independientemente 1 a 6; y

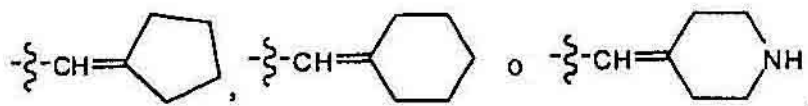
p es 0 a 3.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹ es $-(\text{CH}_2)_l\text{-NH}_2$, $-(\text{CH}_2)_l\text{-NHC(=NH)-NH}_2$ o $-(\text{CH}_2)_l\text{-C(=NH)-NH}_2\text{NH}_2$, en el que cada l es 0 a 1; o R¹ es piperidino.

35

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que W es $-\text{O}(\text{CR}_2)_k$, $-\text{S}(\text{CR}_2)_k$, $-\text{S}(\text{O})(\text{CR}_2)_k$, $-\text{SO}_2(\text{CR}_2)_k$ o $-\text{OC}(\text{O})(\text{CR}_2)_k$; y k es 1.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^2 es fenilo, cicloalquilo C_{5-7} , tienilo, furanilo, piperidinilo, metilenciclohexilo opcionalmente sustituido,



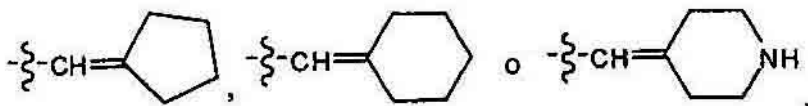
5

5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^3 es fenilo, piridilo, tiazolilo o piperidinilo opcionalmente sustituido.

6. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R , R^4 , R^5 , R^7 y R^8 son cada uno H.

10

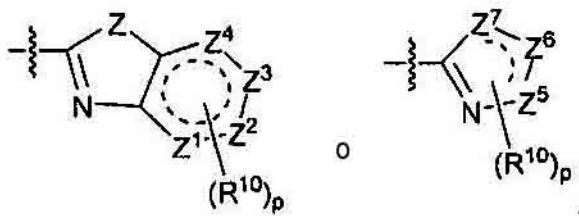
7. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R^6 es fenilo, cicloalquilo C_{3-7} , piridilo, tiazolilo, piperidinilo, ciclohexanol, imidazolilo, tienilo, furanilo opcionalmente sustituido,



15

8. El compuesto de la reivindicación 1, en el que X es ciclohexilo, fenilo o piperidinilo.

9. El compuesto de la reivindicación 1, en el que $-J-(R^{10})_p$ en conjunto es



20

Z es O o S;

Z^1 , Z^2 , Z^3 o Z^4 son independientemente N, CH o C cuando están unidos a R^{10} ;

Z^5 , Z^6 o Z^7 son independientemente N, O, S, CH o C cuando están unidos a R^{10} ;

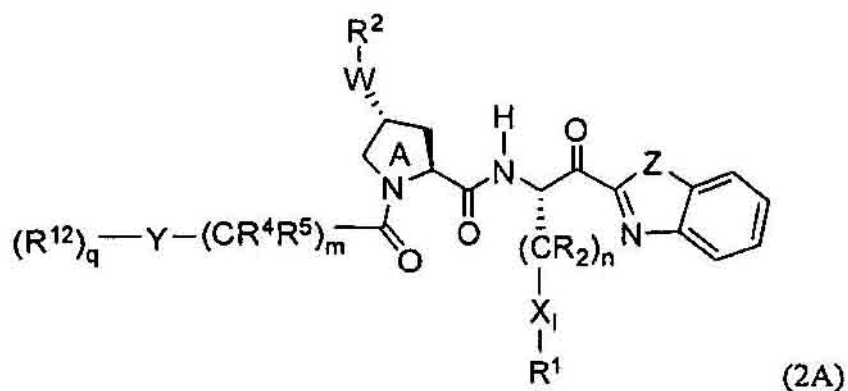
25 R^{10} es alquilo C_{1-6} o $-(CR_2)-R^{11}$;

R^{11} es fenilo o cicloalquilo C_{5-7} ; y

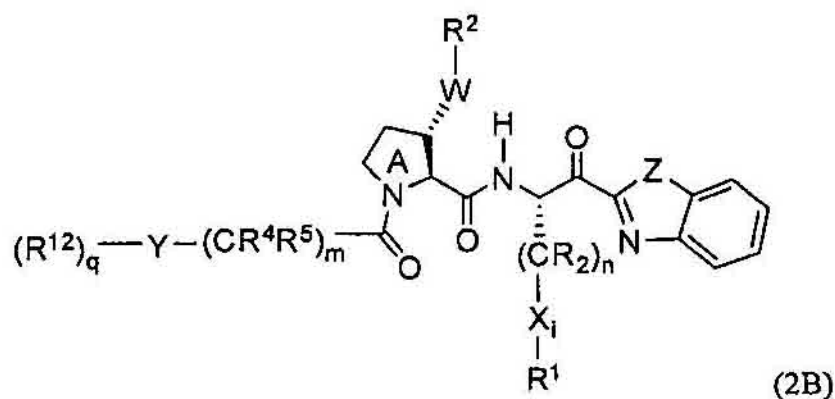
p es 0 a 1.

10. El compuesto de la reivindicación 1, en el que J es benzotiazolilo, benzoxazolilo, tiazolilo u
30 oxadiazolilo.

11. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto presenta la fórmula (2A) o (2B):



0



en las que Z es O o S;

R¹ es NH₂, -NHC(=NH)-NH₂ o -C(=NH)-NH₂;

5 W es -O(CH₂)_k- o -S(O)(CH₂)_k-;

R² es fenilo opcionalmente sustituido, o W-R² forman juntos alquilo C₁₋₆ o fenilo opcionalmente sustituido;

R, R⁴ y R⁵ son independientemente H;

Y es un anillo arilo, heteroarilo o heterocíclico de 5 a 7 miembros que contiene N, O o S;

R¹² es halógeno, alquilo C₁₋₆ o -L-(CH₂)_i-R¹³;

10 L es un enlace, O, SO₂, NHCO, NHSO₂ o SO₂NH;

R¹³ es alquilo C₁₋₆ opcionalmente halogenado o cicloalquilo C₃₋₇ opcionalmente sustituido o un anillo arilo, heteroarilo o heterocíclico de 5 a 7 miembros;

i es 0;

k es 1;

15 l es 0 a 1;

m y n son independientemente 1 a 4; y

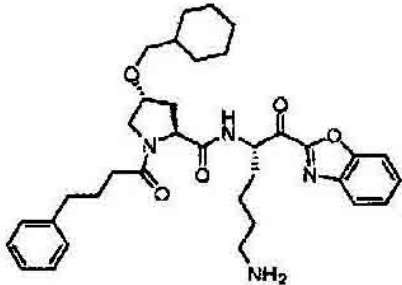
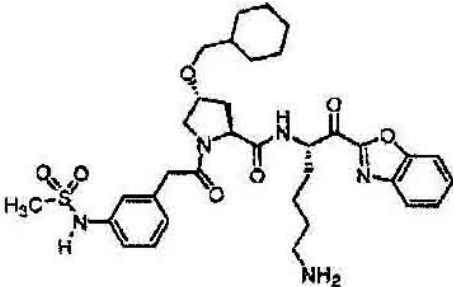
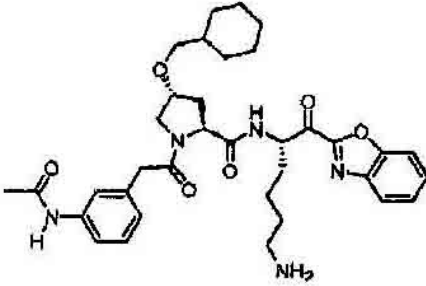
q es 0 a 3.

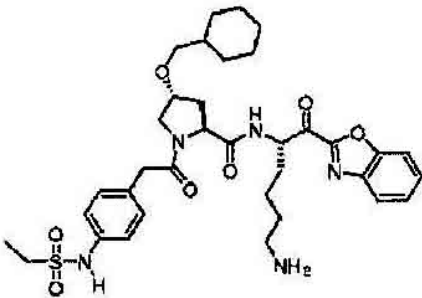
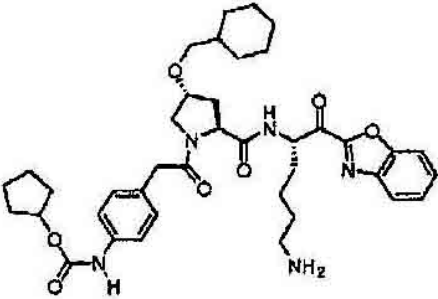
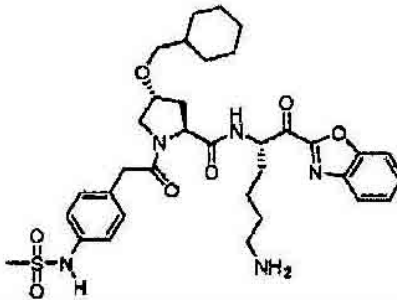
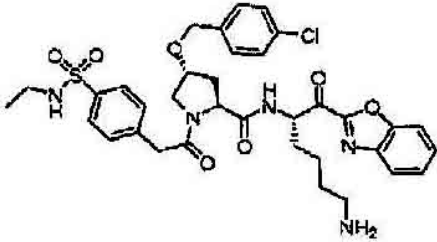
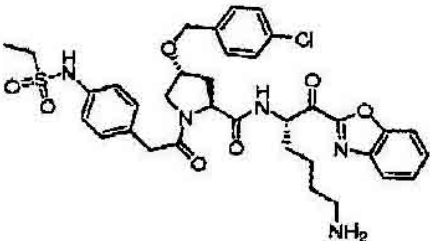
12. El compuesto de la reivindicación 11, en el que Y es fenilo, piridilo, tiazolilo o piperidinilo.

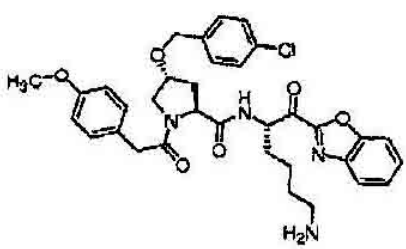
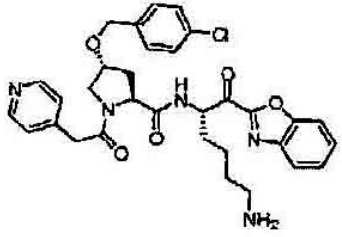
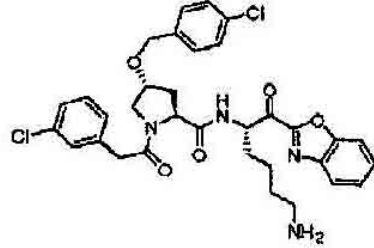
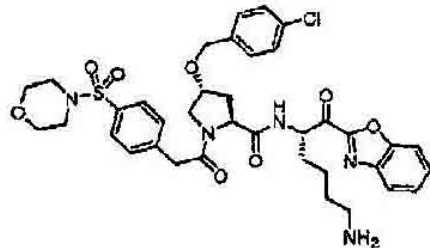
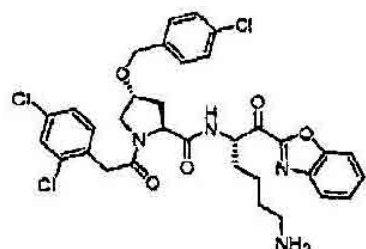
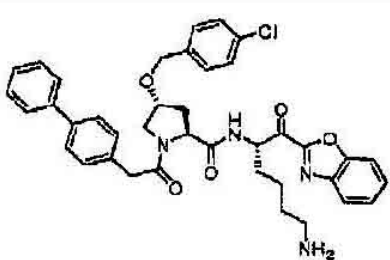
20

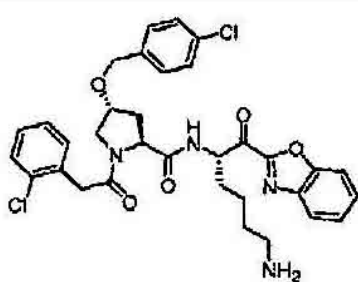
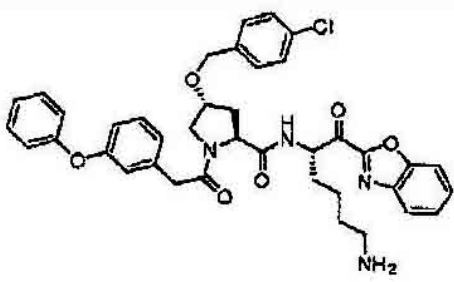
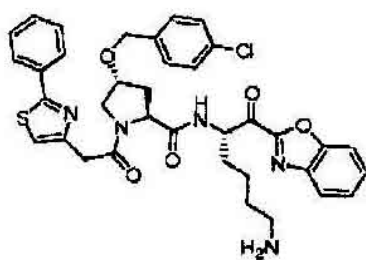
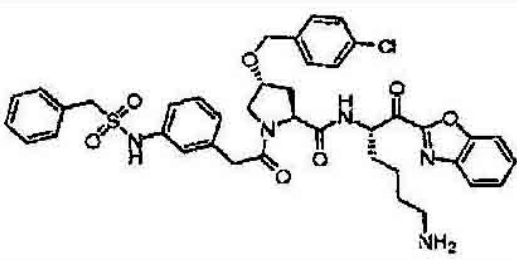
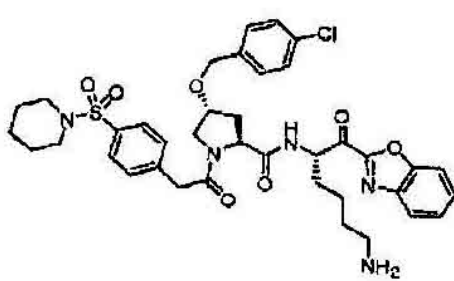
13. El compuesto de la reivindicación 11, en el que R¹² es -L-(CH₂)_i-R¹³; y R¹³ es alquilo C₁₋₆ opcionalmente halogenado, cicloalquilo C₃₋₇, morfolinilo, fenilo o piperidinilo.

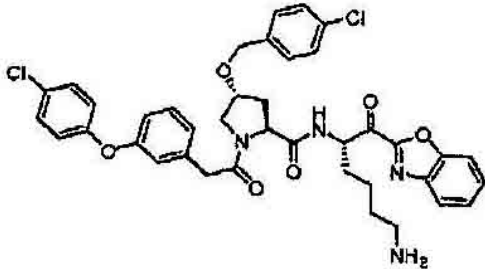
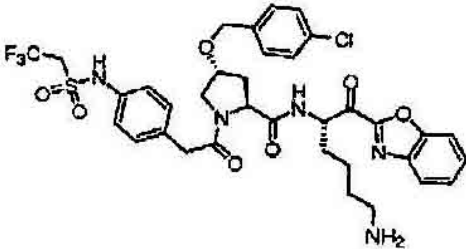
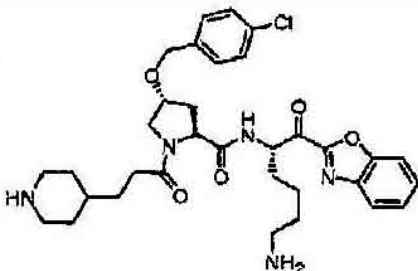
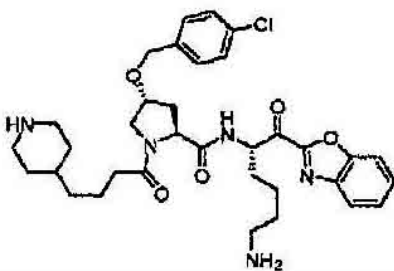
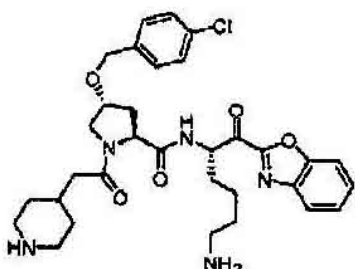
14. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona entre:

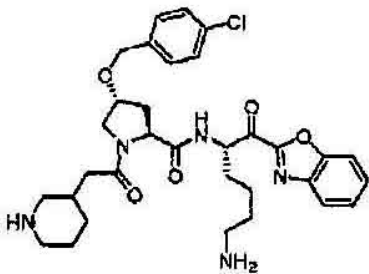
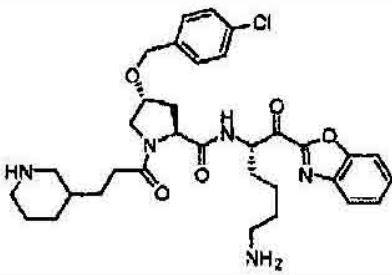
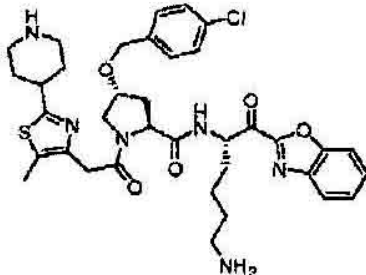
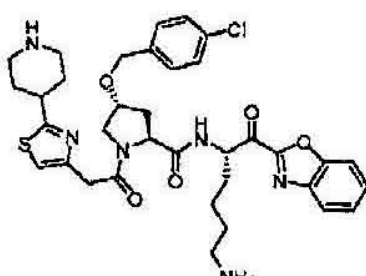
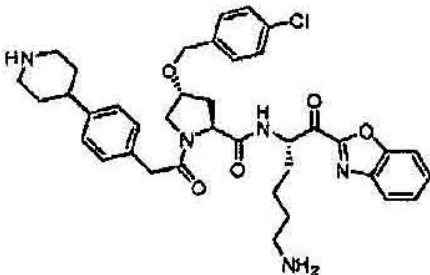
1	
3	
4	

5	
6	
7	
8	
9	

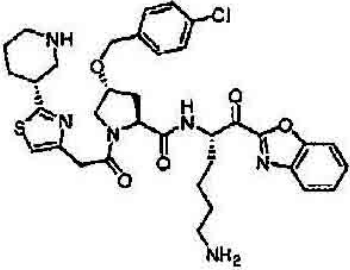
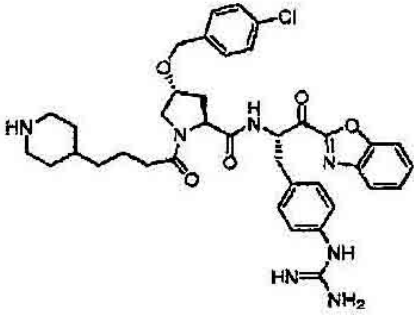
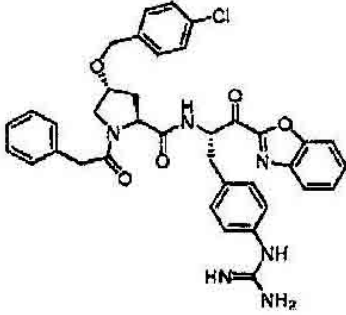
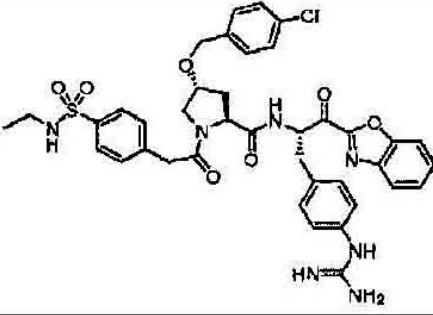
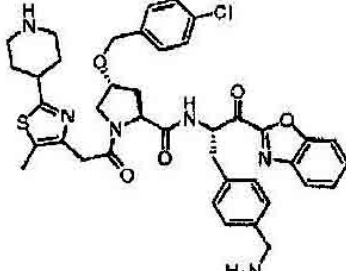
10	
11	
12	
13	
14	
15	

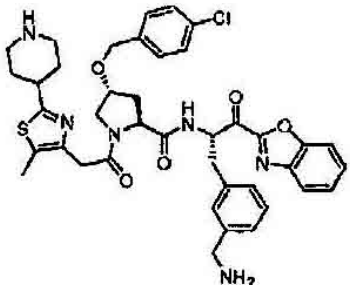
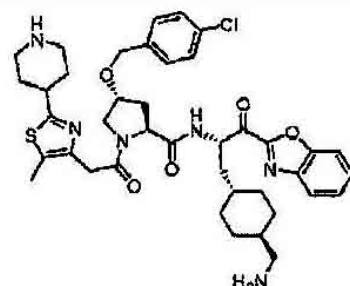
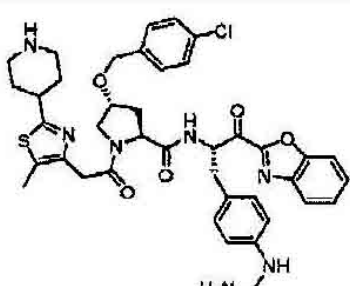
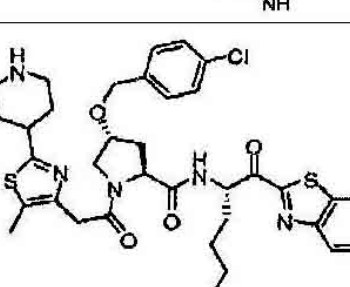
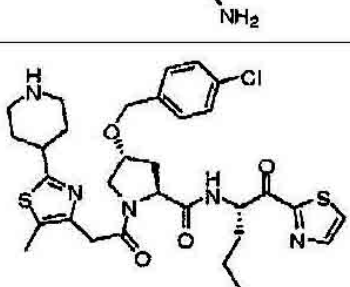
16	
17	
18	
19	
20	

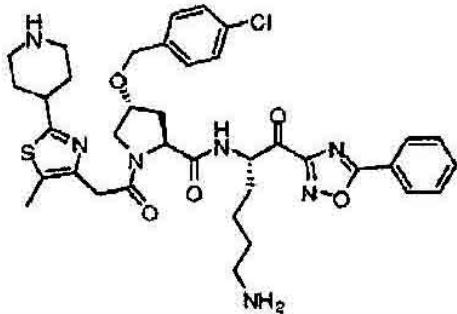
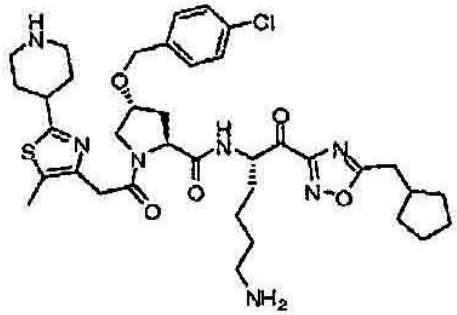
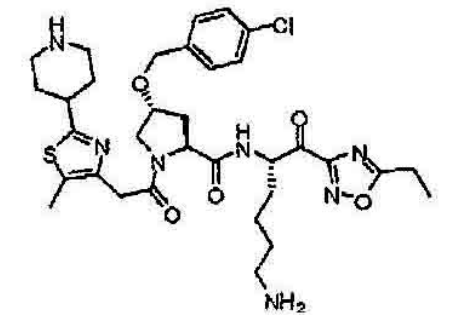
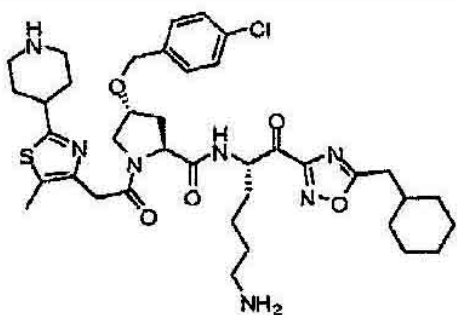
21	
22	
23	
24	
25	

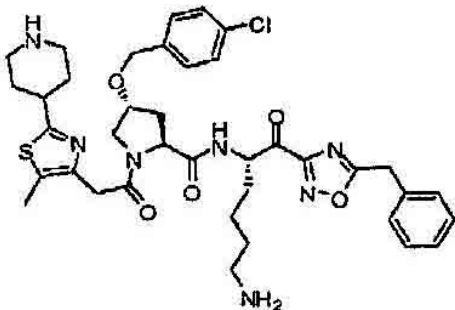
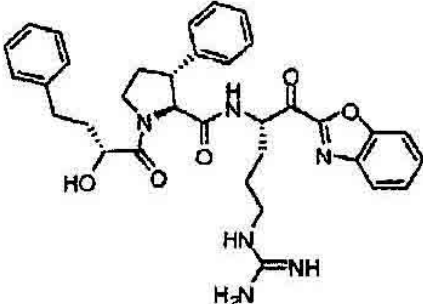
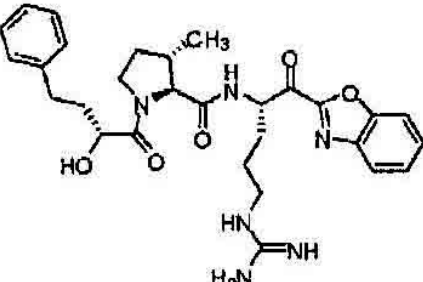
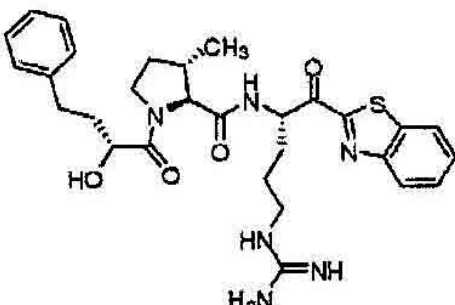
26	
27	
28	
29	
30	

31	
32	
33	
34	
35	

36	
37	
38	
39	
40	

41	
42	
43	
44	
45	

46	
47	
48	
49	

50	
51	
52	
53	

15. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

5

16. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo, para el uso en un procedimiento para la modulación de una proteasa activadora de canal.

10 17. El compuesto de la reivindicación 16, en el que dicha proteasa activadora de canal es prolasina, PRSS22, TMPRSS11 (por ejemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2),

matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A o elastasa neutrófila.

18. El compuesto de la reivindicación 17, en el que dicha proteasa activadora de canal es prostasina.
- 5 19. El compuesto de la reivindicación 16, en el que el procedimiento comprende la administración del compuesto o de sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo a células o a un sistema tisular.
20. El compuesto de la reivindicación 19, en el que dichas células son células epiteliales bronquiales.
- 10 21. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo, opcionalmente en combinación con un segundo agente terapéutico, para el uso en un procedimiento para mejorar un estado mediado por una proteasa activadora de canal.
- 15 22. El compuesto para el uso en un procedimiento terapéutico de la reivindicación 21, en el que dicha proteasa activadora de canal es prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (por ejemplo, TMPRSS11B, TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A o elastasa neutrófila.
- 20 23. El compuesto para el uso en un procedimiento terapéutico de la reivindicación 22, en el que dicha proteasa activadora de canal es prostasina.
24. El compuesto para el uso en un procedimiento terapéutico de la reivindicación 21, en el que dicho estado está asociado al movimiento de líquido a través de los epitelios transportadores de iones o a la acumulación
- 25 de moco y esputo en los tejidos respiratorios o a una combinación de ellos.
25. El compuesto para el uso en un procedimiento terapéutico de la reivindicación 21, en el que dicho estado es fibrosis quística, discinesia ciliar primaria, carcinoma de pulmón, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma o una infección del tracto respiratorio.
- 30 26. El compuesto para el uso en un procedimiento terapéutico de la reivindicación 21, en el que dicho segundo agente terapéutico es un antiinflamatorio, broncodilatador, antihistamínico, antitusivo, antibiótico o DNasa.
27. Uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, o sales farmacéuticamente
- 35 aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo, opcionalmente en combinación con un segundo agente terapéutico, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un estado mediado por una proteasa activadora de canal, en el que el estado se selecciona entre:
(a) fibrosis quística, discinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), asma, infecciones del tracto respiratorio (agudas y crónicas; víricas y bacterianas) y carcinoma pulmonar; o
40 (b) xerostomía (sequedad de la boca) o queratoconjuntivitis seca (sequedad de los ojos); o
(c) para promover la diuresis; o
(d) enfermedad pulmonar obstructiva crónica, que incluye bronquitis crónica o disnea asociada a ella, enfisema, exacerbación de la hiperreactividad de las vías respiratorias como consecuencia de otra terapia farmacológica, en particular otra terapia farmacológica inhalada; o
45 (e) bronquitis, que incluye bronquitis aguda, araquídica, catarral, crupal, crónica o fenoide; o
(f) asma, que incluye asma intrínseca (no alérgica) y asma extrínseca (alérgica), asma leve, asma moderada, asma grave, asma bronquítica, asma inducida por ejercicio, asma ocupacional, asma inducida por infección bacteriana, asma incipiente o de fase temprana o "síndrome sibilante de la infancia".