



DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social F. HOFFMANN LA ROCHE A.G., una sociedad existente y organizada de conformidad con las leyes de Suiza

No. de Identificación _____

Representante Legal (Persona Jurídica) JOSE ANTONIO LLOREDA

País de Domicilio Suiza

Departamento o Estado _____

Dirección 124 Grenzacherstrasse CH-4070 Basle, Suiza

Ciudad Grenzacherstrasse Teléfono 061 688 11 11

(74) DATOS DEL REPRESENTANTE LEGAL

Nombre JOSE ANTONIO LLOREDA

Dirección y Domicilio Calle 72 No. 5-83 Piso 6, Santafé de Bogotá, Colombia

Ciudad _____ Teléfono 326 42 70

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor(es) Gerald Lewis Kaplan, Achutharan Sidduri, y Jefferson Wright

Identificación _____

Dirección 317 West 93rd Street New York, New York 10025; 22 Washington Court Livingston, New Jersey 07039, y 19 Evergreen Drive North Caldwell, New Jersey 07006, Estados Unidos e América.

Ciudad _____ Teléfono 061 688 11 11

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención "4-PIRIDINIL-N-ACIL-L-FENILALANINAS"

PRIORIDAD REIVINDICADA SI ☒ NO ☐ TIPO DE PRIORIDAD D. 486 ANDINA ☒ UNIONISTA ☐

(33) País US (32) Fecha 06-12-99 (31) No. Solicitud 60/169.090

Para Publicar a los ☒ 6 meses ☐ 12 meses ☐ 18 meses a partir de la fecha de la presente Solicitud

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K31/4412, 31/198.

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

Se describen compuestos de la fórmula I

ANEXOS DE LA SOLICITUD

Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica

☐

El documento de representación legal debidamente otorgado, o mención de su protocolización ante la S.I.C. 15.256

☐

Recibo de la tasa respectiva \$608.000.00

☐

Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación

☐

Si se reivindica prioridad Andina: si

☒

Copia dela primera solicitud US 60/199.060 de 06-12-99

☒

Traducción oficial

☐

Si se reivindica prioridad Unionista:

☐

Copia certificada de la primera solicitud:

☐

Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior

Traducción Simple de María Mercedes Uricoechea

☒

Capítulo descriptivo

☒

Dibujos, planos necesarios

☐

Capítulo reivindicatorio

☒

Tarjeta archivo propietarios según formato

☒

Tarjeta archivo temático según formato

☒

Extracto para publicación según formato

☒

Arte final 12 x 12 cms. Y 6x6 cms

☐

Otros Documentos Traspasos de Inventores a sociedad y de sociedad a sociedad

☒

Nota: Anexo información sobre la fuente normativa de reciprocidad y petición Reconocimiento Personería

☒

**SOLICITO LA CONCESIÓN DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES
NUEVA Y DE MI PROPIEDAD**

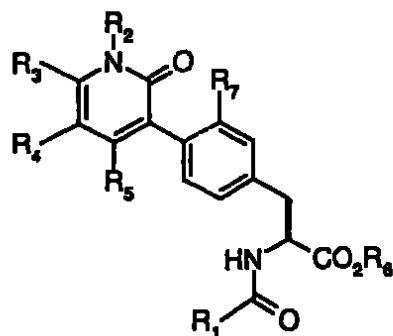
FIRMA

NOMBRE JOSE ANTONIO LLOREDA

C.C. 17.159.681 de Bogotá TP No. 10.784

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

Se describen compuestos de la fórmula I



Certificado en los que de R₁ a R₇ tienen las definiciones descritas
El documento en la especificación; dichos compuestos son inhibidores
Recibo de la unión entre la molécula VCAM-1 y las células de
Recibo de expresión del antígeno VLA-4 y, por consiguiente, son
Si se reivindican útiles para el tratamiento de enfermedades cuyos sínto-
Copia de las mas y/o lesiones pueden atribuirse a la unión de la mo-
Traducción lécular VCAM-1 con las células de expresión del VLA-4.

☐
☐
☐
☐
☒
☒
☐
☐

Copia certificada de la primera solicitud:

Nota: Debe presentarse dentro de los tres (3) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior

Traducción Simple de María Mercedes Uricechea

Capítulo descriptivo

Dibujos, planos necesarios

Capítulo reivindicatorio

Tarjeta archivo propietarios según formato

Tarjeta archivo temático según formato

Extracto para publicación según formato

Arte final 12 x 12 cms. Y 6x6 cms

Otros Documentos Traspasos de Inventores a sociedad y de sociedad a sociedad

Nota: Anexo información sobre la fuente normativa de reciprocidad y petición Reconocimiento Personería

☒
☒
☐
☒
☒
☒
☒
☐
☒
☒

SOLICITO LA CONCESIÓN DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA

NOMBRE JOSE ANTONIO LLOREDA

C.C. 17.159.681 de Bogotá TP No. 10.784

2

Superintendencia y Oficio
Radicación : 00000000000000000000
Fecha (FCD) : 2000-12-05 15:25:19
Trámite : 300 PATENTES : 1. TRAMITADO/ 4.1. PRESENTADO
Origenencia: 2000 DIVISION DE LEYES CREDITICIAS

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 72,306
FECHA : NOVIEMBRE 23 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Vr. PAGO
LLOREDA Y CIA S. A	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00110-6	3037345	6,156,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608,000.00
		TOTAL	608,000.00

SON: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

ANEXO

Atentamente manifiesto a usted que la fuente normativa de la reciprocidad de la cual se deriva el derecho del solicitante para reivindicar prioridad en el presente caso, se encuentra:

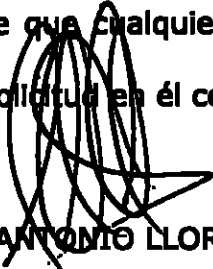
- a) . En el Artículo 2 del Anexo 1C, Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio, del Acuerdo por el cual se establece la "Organización Mundial de Comercio (OMC)" suscrito en Marruecos el 15 de abril de 1994. Este acuerdo fue aprobado por el Congreso de Colombia mediante Ley 170 de 1994 y por la Corte Constitucional Colombiana mediante Sentencia C-137-95 de 28 de marzo de 1995, y entró en vigencia en nuestro país el 30 de abril de 1995, 30 días después de su ratificación.

Dicho Artículo establece que en lo que respecta a las partes II, III y IV del Acuerdo (referidas a la existencia, alcance y ejercicio de los derechos de propiedad intelectual, entre otros) los Miembros cumplirán los artículos 1 a 12 y el Artículo 19 del Convenio de París —el Artículo que establece la prioridad de las patentes de invención es el Artículo 4—

- b) En el Artículo 4 del mencionado Anexo 1C, Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio, del Acuerdo por el cual se establece la Organización Mundial de Comercio (OMC), el cual consagra el "Trato de la nación más favorecida" para los países Miembros del mismo.
- c) En el Artículo 4 del Convenio de París, del cual ya era parte Colombia en el momento en que se presentó la solicitud cuyas prioridades ahora reivindico, con lo cual se cumple la reciprocidad exigida en el Artículo 9 de la Decisión 486 del Acuerdo de Cartagena para con solicitudes provenientes del País Miembro del Acuerdo de Cartagena.

ANEXO

El documento que acredita la calidad REPRESENTANTES LEGALES en Bogotá de los doctores JOSE LLORED A CAMACHO y/o ALFONSO LLORED A CAMACHO y/o JOSE ANTONIO LLORED A para TODOS LOS ASUNTOS RELACIONADOS CON LA PROPIEDAD INDUSTRIAL de la sociedad peticionaria, que faculta a cada uno de dichos abogados para actuar individualmente, se encuentra protocolizado ante esa División bajo el No. 15.256. En consecuencia, ruego a usted reconocer la personería de cada uno de dichos Representantes Legales para actuar dentro del presente expediente, a fin de que cualquiera de ellos pueda intervenir en cualquier tiempo respecto de la solicitud en él contenida.



JOSE ANTONIO LLORED A

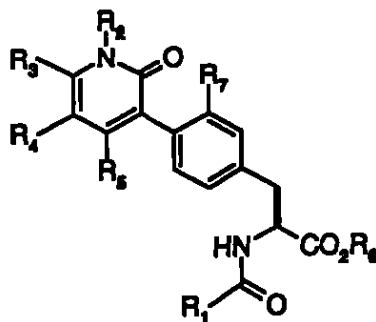
T.P. No. 10.784

CODIGO 231

RESUMEN OBJETO Y FINALIDAD DE LA INVENCION

Se describen compuestos de la fórmula I

5



10

en los que de R₁ a R₇ tienen las definiciones descritas en la especificación; dichos compuestos son inhibidores de la unión entre la molécula VCAM-1 y las células de expresión del antígeno VLA-4 y, por consiguiente, son
15 útiles para el tratamiento de enfermedades cuyos síntomas y/o lesiones pueden atribuirse a la unión de la molécula VCAM-1 con las células de expresión del VLA-4.

-2-

La molécula-1 de adhesión a células vasculares (VCAM-1), miembro de la familia de supergenes de la inmunoglobulina (Ig), se expresa en endotelio activado pero no en reposo. La integrina VLA-4 ($\alpha_4\beta_1$), es un antígeno de aparición muy tardía que se expresa en muchos tipos de células, incluyendo los linfocitos circulantes, eosinófilos, basófilos y monocitos, pero no en neutrófilos, y es el principal receptor de la VCAM-1. Los anticuerpos de VCAM-1 o de VLA-4 pueden bloquear la adhesión de estos leucocitos mononucleares y de las células de melanoma al endotelio activado *in vitro*. Los anticuerpos de ambas proteínas han sido eficaces en inhibir la infiltración de leucocitos y en evitar el daño de los tejidos de varios modelos de inflamación animal. Se ha demostrado que los anticuerpos monoclonales anti-VLA-4 bloquean la emigración de células T en caso de artritis inducida por adyuvantes, impiden la acumulación de eosinófilos y la broncoconstricción en modelos de asma, reducen la parálisis e inhiben la infiltración de monocitos y linfocitos en encefalitis autoinmune experimental (EAE). Se ha demostrado que los anticuerpos monoclonales anti-VCAM-1 prolongan el tiempo de supervivencia de los trasplantes cardíacos homoplásticos. Los estudios recientes han demostrado que los anticuerpos monoclonales anti-VLA-4 pueden prevenir la insulitis y la diabetes de ratones diabéticos no obesos y pueden atenuar de modo significativo la inflamación en caso de modelo de colitis de monos tamarinos del algodón. Se ha demostrado

además que la VCAM se expresa en células del endotelio de tejido inflamado del colon en un modelo de enfermedad intestinal inflamatoria de ratas sometidas a TNB/etanol (*Gastroenterology* 1999, 116, 874-883).

5 Por consiguiente, los compuestos que inhiben la interacción entre integrinas que contienen α_4 y la VCAM-1 pueden ser muy útiles como agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas, tales como la artritis reumatoide (RA), la esclerosis múltiple (MS), el asma y las enfermedades intestinales inflamatorias (IBD). Los compuestos de la presente invención tienen este efecto.

15 Tal como se utiliza en esta descripción, el término "halógeno" significa uno cualquiera de los cuatro halógenos, bromo, cloro, flúor y yodo, a menos que se indique lo contrario. Los halógenos preferidos son el bromo, flúor y cloro.

20 El término "alquilo de bajo peso molecular", solo o en combinación con otro, significa un grupo alquilo de cadena lineal o ramificada que contiene un máximo de seis átomos de carbono (C1-C6), por ejemplo el metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, tert-butilo, n-pentilo, n-hexilo, etcétera.

25 El término "alquilo de bajo peso molecular sustituido" significa un grupo alquilo de bajo peso molecular recién definido que está sustituido por uno o varios grupos elegidos con independencia entre sí entre cicloalquilo, nitro, ariloxi, arilo, hidroxilo, halógeno,

-4-

ciano, alcoxi de bajo peso molecular, alcanóilo de bajo peso molecular, alquiltio de bajo peso molecular, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfinilo, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, amino y mono- o di-(alquilo de bajo peso molecular)-amino. Son ejemplos de grupos alquilo de bajo peso molecular sustituidos el 2-hidroxi-etilo, 3-oxobutilo, cianometilo y 2-nitropropilo. Aunque esta invención se dirige específicamente al grupo alquilo de bajo peso molecular sustituido trifluormetilo para los sustituyentes R_3 y R_5 , también se contempla para estos sustituyentes el pentafluoretilo. Lo mismo se diga de R_{22} y R_{23} .

El término "cicloalquilo" (o cicloalquilo de bajo peso molecular) significa un anillo carbocíclico de 3 a 7 eslabones, sin sustituir o sustituido. Los sustituyentes útiles con arreglo a la presente invención son el hidroxilo, halógeno, ciano, alcoxi de bajo peso molecular, alcanóilo de bajo peso molecular, alquilo de bajo peso molecular, aroilo, (alquilo de bajo peso molecular)-tio, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfinilo, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, arilo, heteroarilo y amino sustituido una o dos veces por alquilo de bajo peso molecular.

El término "alquenilo de bajo peso molecular" significa un grupo alquilenilo que tiene de 2 a 10 átomos de carbono y un doble enlace situado entre dos átomos de carbono adyacentes cualesquiera.

El término "alcoxi de bajo peso molecular" signifi-

-5-

ca un grupo alcoxi de cadena lineal o ramificada que contiene un máximo de seis átomos de carbono, por ejemplo el metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, tert-butoxi, etcétera.

5 El término "(alquilo de bajo peso molecular)-tio" significa un grupo alquilo de bajo peso molecular unido al resto de la molécula mediante un átomo de azufre divalente, un grupo metilmercapto o isopropilmercapto. El término "(alquilo de bajo peso molecular)-sulfinilo" 10 significa un grupo alquilo de bajo peso molecular recién definido, unido al resto de la molécula mediante el átomo de azufre del grupo sulfinilo. El término "(alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo" significa un grupo alquilo de bajo peso molecular recién definido, unido al 15 resto de la molécula mediante el átomo de azufre del grupo sulfonilo.

El término "arilo" significa un grupo aromático mono- o bicíclico, por ejemplo fenilo o naftilo, que está sin sustituir o sustituido por grupos sustituyentes convencionales. Los sustituyentes preferidos son el alquilo 20 de bajo peso molecular, alcoxi de bajo peso molecular, hidroxí-(alquilo de bajo peso molecular), hidroxí, hidroxialcoxi, halógeno, (alquilo de bajo peso molecular)-tio, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfinilo, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, ciano, nitro, perfluoralquilo, alcanóilo, aroilo, arilalquinilo, alquini- 25 lo de bajo peso molecular y (alcanoílo de bajo peso molecular)-amino. Los ejemplos de grupos arilo que pueden

-6-

utilizarse con arreglo a la presente invención son el fenilo, p-tolilo, p-metoxifenilo, p-clorofenilo, m-hidroxifenilo, m-metiltiofenilo, 2-metil-5-nitrofenilo, 2,6-diclorofenilo, 1-naftilo, etcétera.

5 El término "arilalquilo" significa un grupo alquilo de bajo peso molecular tal como se ha definido antes, en el que uno o varios átomos de hidrógeno se han sustituido por un grupo arilo o heteroarilo, definidos en esta descripción. Puede utilizarse con arreglo a esta invención
10 ción cualquier aralquilo convencional, por ejemplo el bencilo, etcétera.

El término "heteroarilo" significa un anillo heteroaromático monocíclico de 5 ó 6 eslabones, sin sustituir o sustituido, o un anillo heteroaromático bicíclico
15 de 9 ó 10 eslabones, que contenga 1, 2, 3 ó 4 heteroátomos que, con independencia entre sí, serán N, S u O. Son ejemplos de anillos heteroarilo la piridina, bencimidazoles, indoles, imidazoles, tiofenos, isoquinolinas, quinolinas, etcétera. En la definición de heteroarilo se
20 incluyen los sustituyentes definidos en el apartado "arilo".

El término "(alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo" significa un grupo alcoxi de bajo peso molecular
unido al resto de la molécula mediante un grupo carbonilo. Son ejemplos de grupos alcoxicarbonilo el etoxi-
25 carbonilo, etcétera.

El término "(alquilo de bajo peso molecular)-carbonilo" significa un grupo (alquilo de bajo peso molecu-

-7-

lar)-carboniloxi unido al resto de la molécula a través de un átomo de oxígeno, por ejemplo un grupo acetoxi. El término "aciloxi" tiene el mismo significado.

El término "alcanoilo de bajo peso molecular" significa un grupo alquilo de bajo peso molecular unido al resto de la molécula mediante un grupo carbonilo y comprende en el sentido de la definición anterior los grupos del tipo acetilo, propionilo, etcétera. El término "perfluor-(alcanoilo de bajo peso molecular)" significa un grupo alquilo de bajo peso molecular perfluorado (un grupo alquilo de bajo peso molecular en el que todos los átomos de hidrógeno se han sustituido por flúor, con preferencia el trifluormetilo o el pentafluoretilo) unido al resto de la molécula mediante un grupo carbonilo. El término "perfluor-(alcanoilo de bajo peso molecular)-amino" significa un alcanoilo de bajo peso molecular perfluorado unido al resto de la molécula a través de un grupo amino.

El término "(alquilo de bajo peso molecular)-carbonilamino" significa grupos (alquilo de bajo peso molecular)-carbonilo unidos al resto de la molécula mediante un átomo de nitrógeno, p.ej. el acetilamino. El término "(alquilo de bajo peso molecular)-aminocarbonilo" significa grupos (alquilo de bajo peso molecular)-amino unidos al resto de la molécula mediante un grupo carbonilo. El término "arilaminocarbonilo" significa grupos arilo unidos a un grupo amino que a su vez está unido al resto de la molécula mediante un grupo carbonilo.

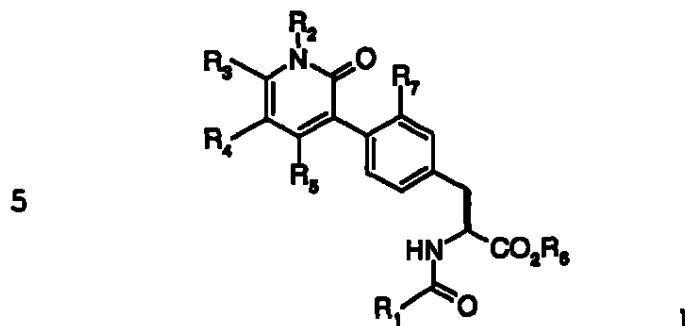
-8-

El término "aróilo" significa un grupo arilo o heteroarilo, mono- o bicíclico, unido al resto de la molécula mediante un grupo carbonilo. Son ejemplos de grupos aróilo el benzoílo, 3-cianobenzoílo, 2-naftoílo, nicotinoílo, etcétera.

Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas por los expertos en la técnica y pueden obtenerse por métodos convencionales, teniendo en cuenta la naturaleza química del compuesto. Son ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables de compuestos ácidos las sales de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos, por ejemplo del sodio, potasio, calcio, magnesio, las sales de aminas básicas o de aminoácidos básicos, las sales de amonio o de alquilamonio. Son sales especialmente deseables de los compuestos de esta invención las de sodio, p.ej. de un compuesto ácido en el que R_6 sea H. La sal de sodio de cualquier ácido de esta invención puede obtenerse fácilmente a partir del ácido por tratamiento con el hidróxido sódico. En caso de compuestos básicos, los ejemplos son sales de ácidos inorgánicos u orgánicos, tales como el ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico, cítrico, fórmico, fumárico, maleico, acético, succínico, tartárico, metanosulfónico y p-toluenosulfónico.

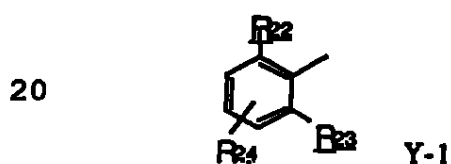
En una ejecución, la presente invención se refiere a un compuesto de la fórmula I

-9-



y a sales farmacéuticamente aceptables del mismo. Comprende también las composiciones farmacéuticas que lo contengan, su utilización como medicamentos para el tratamiento de ciertas enfermedades y los métodos y los productos intermedios requeridos para su obtención.

De acuerdo con la invención, R_1 es un grupo Y-1, Y-2 o Y-3, que se describen a continuación: Y-1 es un grupo de la fórmula



en la que R_{22} y R_{23} , con independencia entre sí, son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alcoxi de bajo peso molecular, cicloalquilo, arilo, arilalquilo, nitro, ciano, (alquilo de bajo peso molecular)-tio, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfinilo, (alquilo de bajo peso

-10-

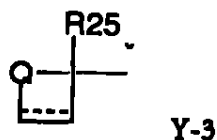
molecular)-sulfonilo, alcanilo de bajo peso molecular, halógeno o perfluor-(alquilo de bajo peso molecular), y por lo menos uno de R_{22} y R_{23} es diferente del hidrógeno, y R_{24} es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alcoxi de bajo peso molecular, arilo, nitro, ciano, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo o halógeno,

Y-2 es un grupo de la fórmula Y-2 que es un anillo heteroaromático de cinco o seis eslabones, unido a través del átomo de carbono al carbonilo de la amida, dicho

anillo contiene uno, dos o tres heteroátomos elegidos entre N, O y S y uno o dos átomos de dicho anillo están sustituidos con independencia entre sí por alquilo de bajo peso molecular, cicloalquilo, halógeno, ciano, perfluor-(alquilo de bajo peso molecular) o arilo y por lo menos uno de dichos átomos sustituidos está adyacente al átomo de carbono unido al carbonilo de la amida,

Y-3 es un anillo de 3-7 eslabones de la fórmula

20



en la que R_{25} es alquilo de bajo peso molecular, alquilo de bajo peso molecular sin sustituir o sustituido por flúor, o un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e-$, R_{26} es arilo, heteroarilo, azido, ciano, hidroxilo, alcoxi de bajo peso molecular, (alcoxi de bajo peso molecular)-car-

bonilo, alcanóilo de bajo peso molecular, (alquilo de bajo peso molecular)-tio, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfinilo, perfluor-(alcanóilo de bajo peso molecular), nitro, o bien R_{26} es un grupo de la fórmula $-NR_{28}R_{29}$, en la que R_{28} es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular, R_{29} es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo, alcanóilo de bajo peso molecular, aroílo, perfluor-(alcanóilo de bajo peso molecular)-amino, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, (alquilo de bajo peso molecular)-aminocarbonilo, arilaminocarbonilo, o bien R_{28} y R_{29} junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico saturado de 4, 5 ó 6 eslabones que contiene un heteroátomo adicional, elegido entre O, S y N- R_{40} , Q es $-(CH_2)_fO-$, $-(CH_2)_fS-$, $-(CH_2)_fN(R_{27})-$, $-(CH_2)_f-$, R_{27} es H, alquilo de bajo peso molecular, arilo, alcanóilo de bajo peso molecular, aroílo o (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo, R_{40} es H, alquilo de bajo peso molecular, arilo, alcanóilo de bajo peso molecular, aroílo o (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo, los átomos de carbono del anillo están sin sustituir o sustituidos por alquilo de bajo peso molecular o halógeno, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3;

R_2 es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular, alquilo de bajo peso molecular sustituido, arilo o aril-(alquilo de bajo peso molecular);

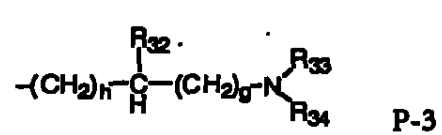
R₃ es hidrógeno, halógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo y puede incluir además al trifluormetilo;

R₄ es hidrógeno, halógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo;

5 R₅ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alcoxi de bajo peso molecular, trifluormetilo u OH;

R₆ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, (alquilo de bajo peso molecular)-carboniloxi-(alquilo de bajo peso molecular), o bien R₆ es un grupo de la fórmula P-3

10

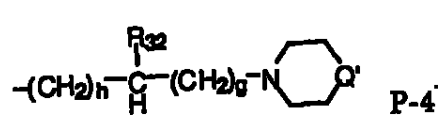


15

en la que R₃₂ es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular, R₃₃ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo, R₃₄ es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular, "h" es un número entero de 0 a 2, "g" es un número

20 entero de 0 a 2, la suma de h y g se sitúa entre 1 y 3; o bien R₆ es un grupo de la fórmula P-4

25



en la que R₃₂, g y h tienen los significados recién de-

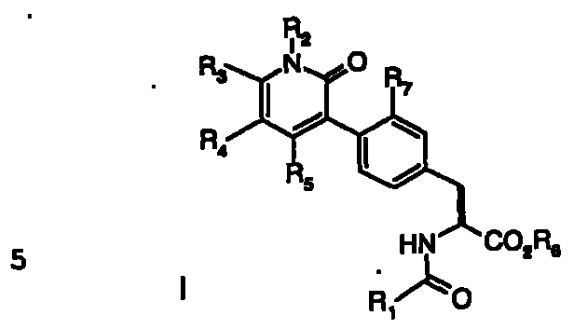
-13-

finidos, Q' es O, S, $-(CH_2)_j-$ o un grupo de la fórmula N-R₃₅, R₃₅ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alcanóilo de bajo peso molecular, (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo, "j" es el número 0, 1 ó 2, R₇ es
5 hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular. Q es con preferencia Q es $-(CH_2)_fO-$, $-(CH_2)_fS-$ o $-(CH_2)_f-$ (fórmula 1a). En los compuestos de la fórmula I o de la fórmula 1a es preferido además que R₅ sea hidrógeno, alquilo de bajo peso
10 molecular o trifluormetilo (fórmula 1b).

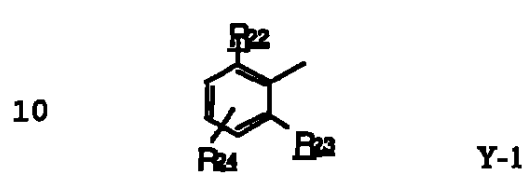
Los compuestos de la invención pueden existir en forma de estereoisómeros, todos ellos están comprendidos dentro del alcance de la presente invención.

En una primera forma de ejecución preferida de los
15 compuestos de la fórmula I, fórmula 1a o fórmula 1b, R₂ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo- (alquilo de bajo peso molecular); R₃ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo, con preferencia hidrógeno; R₄ es hidrógeno o halógeno, con preferencia halógeno; R₅ es hidrógeno, alquilo de bajo peso
20 molecular o trifluormetilo y puede ser además alcoxi de bajo peso molecular, pero es con preferencia hidrógeno; R₆ es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y R₇ es hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o al-
25 quilo de bajo peso molecular.

Otra forma de ejecución preferida de la primera forma de ejecución preferida es un compuesto de la fórmula I, 1a o 1b:



en la que R_1 es un grupo Y-1



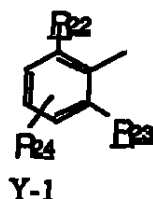
en el que R_{22} y R_{23} , con independencia entre sí, son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alcoxi de bajo peso molecular, cicloalquilo, arilo, arilalquilo, nitro, ciano, (alquilo de bajo peso molecular)-tio, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfinilo, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, alcanoilo de bajo peso molecular, halógeno o perfluor-(alquilo de bajo peso molecular), y al menos uno de R_{22} y R_{23} es distinto de hidrógeno y R_{24} es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alcoxi de bajo peso molecular, arilo, nitro, ciano, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo o halógeno; más en particular, R_{22} y R_{23} con independencia entre sí son alquilo de bajo peso molecular o halógeno y R_{24} es hidrógeno o alcoxi de bajo peso molecular; o bien en el que R_{22} y R_{23} con independencia entre sí son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o halógeno y R_{24} es hidrógeno, al-

-15-

quilo de bajo peso molecular o alcoxi de bajo peso molecular, en especial hidrógeno. En tales compuestos es preferido que R₂ sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o aril-(alquilo de bajo peso molecular), en especial aril-(alquilo de bajo peso molecular). Además, en tal compuesto es preferido que R₃ sea hidrógeno; R₄ sea hidrógeno o halógeno o pueda ser además alquilo de bajo peso molecular (con preferencia que sea halógeno); R₅ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo, o que pueda ser además alcoxi de bajo peso molecular (pero con preferencia que sea hidrógeno); R₆ sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y R₇ sea hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular.

Otra forma de ejecución más preferida de la presente invención es un compuesto de la fórmula I, fórmula 1a o fórmula 1b anteriores, en las que R₁ es un grupo Y-1

20



en el que R₂₂ y R₂₃, con independencia entre sí, son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o halógeno, en especial alquilo de bajo peso molecular o halógeno; R₂₄ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o alcoxi de bajo peso molecular; en especial hidrógeno. En tales

-16-

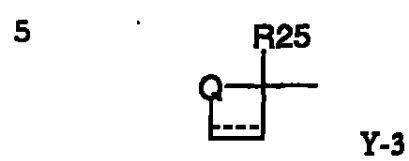
compuestos es preferido que R₂ sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o aril-(alquilo de bajo peso molecular); R₃ sea hidrógeno; R₄ sea hidrógeno o halógeno, R₅ sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; R₆ sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y R₇ sea hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular. En los compuestos especialmente preferidos de esta forma de ejecución más preferida, R₂₂ y R₂₃ con independencia entre sí son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o halógeno, R₂₄ es hidrógeno o alcoxi de bajo peso molecular y R₂ es arilo-(alquilo de bajo peso molecular). Como alternativa, en tales compuestos es preferido que R₂ sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo-(alquilo de bajo peso molecular); R₃ sea hidrógeno; R₄ sea hidrógeno o halógeno o pueda ser además alquilo de bajo peso molecular (pero con preferencia halógeno); R₅ sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo o pueda ser además alcoxi de bajo peso molecular (con preferencia hidrógeno); R₆ sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y R₇ sea hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular.

Otra forma de ejecución preferida de la presente invención es un compuesto de la fórmula I, fórmula 1a o fórmula 1b antes citadas, especialmente de la primera forma de ejecución preferida, en el que R₁ es un anillo heteroaromático de cinco o seis eslabones unido mediante un átomo de carbono al carbonilo de la amida, en el que

dicho anillo contiene uno, dos o tres heteroátomos elegidos entre N, O y S y uno o dos átomos de dicho anillo están sustituidos con independencia entre sí por alquilo de bajo peso molecular, cicloalquilo, halógeno, ciano, perfluor-(alquilo de bajo peso molecular) o arilo y por lo menos uno de dichos átomos sustituidos está adyacente al átomo de carbono unido al carbonilo de la amida. En tales compuestos es preferido en especial que R₂ sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo-(alquilo de bajo peso molecular); R₃ sea hidrógeno; R₄ sea hidrógeno o halógeno (con preferencia halógeno); R₅ sea hidrógeno, trifluormetilo o alquilo de bajo peso molecular (con preferencia hidrógeno); R₆ sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y R₇ sea hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular. Como alternativa, en tales compuestos es preferido que R₂ sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo-(alquilo de bajo peso molecular); R₃ sea hidrógeno; R₄ sea hidrógeno o halógeno o pueda ser además alquilo de bajo peso molecular (pero con preferencia halógeno); R₅ sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo o pueda ser además alcoxi de bajo peso molecular (pero con preferencia sea hidrógeno); R₆ sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y R₇ sea hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular.

Otra forma de ejecución preferida de la presente invención es un compuesto de la fórmula I, fórmula la o

fórmula 1b mencionadas anteriormente, en el que R₁ es un grupo de la fórmula Y-3, que es un anillo de 3-7 eslabones de la fórmula:



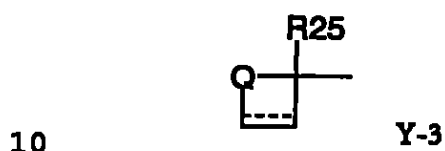
en la que R₂₅ es un grupo de la fórmula R₂₆-(CH₂)_e-, en la que R₂₆ es arilo, heteroarilo, azido, ciano, hidroxí, alcoxí de bajo peso molecular, (alcoxí de bajo peso molecular)-carbonilo, alcanóilo de bajo peso molecular, (alquilo de bajo peso molecular)-tio, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfinilo, perfluor-(alquilo de bajo peso molecular), nitro, o bien R₂₆ es un grupo de la fórmula -NR₂₈R₂₉, en la que R₂₈ es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular, R₂₉ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, (alcoxí de bajo peso molecular)-carbonilo, alcanóilo de bajo peso molecular, aroílo, perfluor-(alcanóilo de bajo peso molecular)-amino, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, (alquilo de bajo peso molecular)-aminocarbonilo, arilaminocarbonilo, o bien R₂₈ y R₂₉ junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico saturado de 4, 5 ó 6 eslabones, que contiene eventualmente otro heteroátomos elegido entre O, S y N-R₄₀, Q es -(CH₂)_fO-, -(CH₂)_fS-, -(CH₂)_fN(R₂₇)-; R₂₇ es H; alquilo

-19-

de bajo peso molecular, arilo, alcanóilo de bajo peso molecular, aroílo o (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo, R_{40} es H, alquilo de bajo peso molecular, arilo, alcanóilo de bajo peso molecular, aroílo o (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo, los átomos de carbono del anillo están sin sustituir o sustituidos por alquilo de bajo peso molecular o halógeno, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3. En tales compuestos es especialmente preferido que R_2 sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o aril- (alquilo de bajo peso molecular); R_3 sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo; R_4 sea hidrógeno o halógeno (con preferencia halógeno); R_5 sea hidrógeno, trifluormetilo o alquilo de bajo peso molecular (con preferencia hidrógeno); R_6 sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y R_7 sea hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular. Como alternativa, en tales compuestos es preferido que R_2 sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo-(alquilo de bajo peso molecular); R_3 sea hidrógeno; R_4 sea hidrógeno o halógeno o pueda ser además alquilo de bajo peso molecular (pero con preferencia halógeno); R_5 sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo o pueda ser además alcoxi de bajo peso molecular (con preferencia que sea hidrógeno); R_6 sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y R_7 sea hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular.

-20-

Otra forma de ejecución más preferida de la fórmula I, fórmula 1a o fórmula 1b anteriores de la presente invención, especialmente de la primera forma de ejecución preferida, en la que R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 tal como se ha definido antes, más en particular en la que es un anillo de 3-7 eslabones de la fórmula



en la que R_{25} es un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e-$, en la que R_{26} es alcoxi de bajo peso molecular, Q es $-(CH_2)_f-$, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3; en tales compuestos es preferido que R_2 sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alquilo de bajo peso molecular sustituido, arilo o arilo-(alquilo de bajo peso molecular), en especial arilo-(alquilo de bajo peso molecular). En tales compuestos es preferido que R_2 sea alquilo de bajo peso molecular o arilo-(alquilo de bajo peso molecular); R_3 sea hidrógeno; R_4 sea hidrógeno o halógeno; R_5 sea hidrógeno; R_6 sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y R_7 sea hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular. Como alternativa, en tales compuestos es preferido que R_2 sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo-(alquilo de bajo peso molecular); R_3 sea hidrógeno; R_4 sea hidrógeno o halógeno o

pueda ser además alquilo de bajo peso molecular (pero con preferencia halógeno); R₅ sea hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo o pueda ser además alcoxi de bajo peso molecular (con preferencia que sea hidrógeno); R₆ sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y R₇ sea hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular.

En cualquier compuesto de esta invención de la fórmula I, fórmula 1a o fórmula 1b, R₁ puede ser un grupo de la fórmula Y-1 o un grupo de la fórmula Y-3; R₂ puede ser hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo (alquilo de bajo peso molecular), con preferencia alquilo de bajo peso molecular, en particular metilo, o arilo (alquilo de bajo peso molecular), en particular bencilo; R₃ puede ser hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo, en particular hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; R₄ puede ser hidrógeno o halógeno; R₅ puede ser hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo; R₆ puede ser hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, (alquilo de bajo peso molecular)-carboniloxi-(alquilo de bajo peso molecular) o un grupo de la fórmula P-3 y puede ser además un grupo de la fórmula P-4; y R₇ puede ser alquilo de bajo peso molecular o hidrógeno, con preferencia hidrógeno.

En cualquier compuesto de esta invención de la fórmula I, fórmula 1a o fórmula 1b, o los compuestos preferidos descritos en el párrafo inmediatamente anterior, los grupos de Y-1 e Y-3 pueden elegirse específicamente

-22-

del modo siguiente: R_{22} y R_{23} son hidrógeno, halógeno, alquilo de bajo peso molecular, R_{24} es hidrógeno o alcoxi de bajo peso molecular, R_{25} es un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e-$, en la que R_{26} es alcoxi de bajo peso molecular, Q es $-(CH_2)_f-$, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3; y/o en los que R_2 es alquilo de bajo peso molecular, R_4 es hidrógeno y R_3 y R_5 son alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo y R_6 es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o (alquilo de bajo peso molecular)-carboniloxi-(alquilo de bajo peso molecular) o un grupo de la fórmula P-3, R_{32} es con preferencia hidrógeno; R_{33} y R_{34} son alquilo de bajo peso molecular; uno de "g" y "h" es 1 y el otro es 0. En tales compuestos, R_6 y R_7 son con preferencia hidrógeno y/o R_2 es alquilo de bajo peso molecular; R_3 es hidrógeno; R_4 es hidrógeno o halógeno y R_5 es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y con preferencia R_{22} y R_{23} son alquilo de bajo peso molecular o halógeno, en especial halógeno y R_{24} es hidrógeno, o bien R_{22} y R_{23} son hidrógeno o halógeno y R_{24} es hidrógeno o alcoxi de bajo peso molecular, con preferencia hidrógeno; o R_1 es Y-3. Son compuestos particulares los siguientes:

- N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
- 25 N-[(2-etil-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
- N-[(2-(1-metiletil)-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;

-23-

N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
 N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina; o

5 N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina.

En otros compuestos de este tipo, R_{22} y R_{23} son con preferencia halógeno o alquilo de bajo peso molecular, R_{24} es hidrógeno o alcoxi de bajo peso molecular, R_{25} es
 10 un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e-$, en la que R_{26} es alcoxi de bajo peso molecular, Q es $-(CH_2)_f-$, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3, en particular la N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina, y/o R_2 es arilo-(alquilo de bajo
 15 peso molecular); R_3 es hidrógeno; R_4 es halógeno y R_5 , R_6 y R_7 son hidrógeno. Es preferido además que R_1 sea Y-1.

En un compuesto especialmente preferido de la fórmula I, fórmula 1a o fórmula 1b, R_1 es un grupo de la
 20 fórmula Y-1 o un grupo de la fórmula Y-3; R_2 es alquilo de bajo peso molecular o arilo-(alquilo de bajo peso molecular); R_3 es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo; R_4 es hidrógeno o halógeno; R_5 es
 25 hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo; R_6 es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, (alquilo de bajo peso molecular)-carboniloxi-(alquilo de bajo peso molecular) o un grupo de la fórmula P-3; y R_7

es hidrógeno (fórmula A).

En un compuesto preferido de la fórmula A, los grupos de Y-1 e Y-3 pueden elegirse específicamente del modo siguiente: R₂₂ y R₂₃ son hidrógeno, halógeno o alquilo de bajo peso molecular, R₂₄ es hidrógeno o alcoxi de bajo peso molecular, R₂₅ es un grupo de la fórmula R₂₆-(CH₂)_e-, en la que R₂₆ es alcoxi de bajo peso molecular, Q es -(CH₂)_f-, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3 (fórmula A-1).

10 En un compuesto preferido de la fórmula A-1, R₂ es alquilo de bajo peso molecular, R₄ es hidrógeno y R₃ y R₅ son alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo (fórmula A-1a). En una forma de ejecución de la fórmula A-1a, R₆ es hidrógeno. En esta forma de ejecución, R₁ puede ser Y-1, en especial en el que R₂₂ y R₂₃ son halógeno o alquilo de bajo peso molecular, o bien R₁ puede ser Y-3. En otras formas de ejecución de la fórmula A-1a, R₆ es alquilo de bajo peso molecular, en especial metilo, o es (alquilo de bajo peso molecular)-carbonil-oxi-(alquilo de bajo peso molecular), en especial 1-(acetoxi)etilo, o es un grupo de la fórmula P-3, en la que R₃₂ es hidrógeno; R₃₃ y R₃₄ son alquilo de bajo peso molecular, en especial metilo o etilo; uno de "g" y "h" es 1 y el otro es 0.

25 Si R₆ es alquilo de bajo peso molecular, los compuestos particulares se eligen entre:

éster etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fe-

-25-

nilalanina;

éster etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;

5 éster etílico de N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina o

éster etílico de N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina.
10 nilalanina.

Si R_6 es (alquilo de bajo peso molecular)-carbonil-oxi-(alquilo de bajo peso molecular), los compuestos particulares son los siguientes:

éster 1-(acetoxi)etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
15

éster 1-(acetoxi)etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;

20 éster 1-(acetoxi)etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina o

éster 1-(acetoxi)etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina.
25

Si R_6 es un grupo de fórmula P-3, los compuestos particulares son:

éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de la N-[(2,6-dicloro-

-26-

rofenil) carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;

éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de la N-[(2,6-dicloro-
rofenil) carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-

5 oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina;

éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de la N-[(2-cloro-6-
metilfenil) carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-
oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina o

éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de la N-[(2-cloro-6-
10 metilfenil) carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-
oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina.

En otro compuesto preferido de la fórmula A-1, R₆ es hidrógeno. Es preferido que R₂ sea alquilo de bajo peso molecular; R₃ sea hidrógeno; R₄ sea hidrógeno o ha-
15 lógeno y R₅ sea hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular (fórmula A-1b). En una forma de ejecución de la fórmula A-1b, R₁ es Y-1. R₂₂ y R₂₃ son con preferencia alquilo de bajo peso molecular o halógeno y R₂₄ es hidrógeno, o bien R₂₂ y R₂₃ son halógeno y R₂₄ es hidrógeno,
20 en especial

N-[(2-cloro-6-metilfenil) carbonil]-4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina;

N-[(2-cloro-6-metilfenil) carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina;

25 N-[(2-cloro-6-metilfenil) carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina; o

N-[(2,6-diclorofenil) carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina;

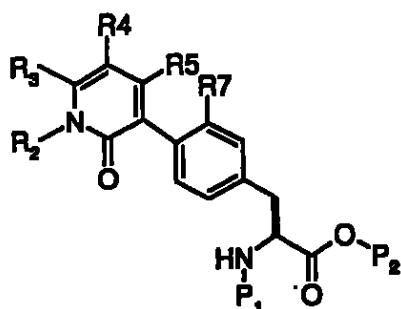
-27-

o R_{22} y R_{24} son hidrógeno o halógeno y R_{23} es alco-
xi de bajo peso molecular. En otra forma de ejecución de
la fórmula A-1b, R_1 es Y-3, en especial la 4-(5-cloro-1-
metil-2-oxo-3-piridinil)-N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina.

En otro compuesto preferido de la fórmula A, en la
que R_1 es Y-1, en el que R_{22} y R_{23} son halógeno o alqui-
lo de bajo peso molecular, R_{24} es hidrógeno o alcoxi de
bajo peso molecular o en el que R_1 es Y-3 en el que R_{25}
es un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e-$, en la que R_{26} es
alcoxi de bajo peso molecular, Q es $-(CH_2)_f-$, "e" es un
número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a
3. R_2 es con preferencia arilo-(alquilo de bajo peso mo-
lecular); R_3 es hidrógeno, R_4 es halógeno y R_5 , R_6 y R_7
son hidrógeno. R_1 es con preferencia Y-1, en especial
la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[(2-cloro-6-
metilfenil)carbonil]-L-fenilalanina; o
la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[[1-(2-meto-
xietil)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a
compuestos de la fórmula II

25



II

-28-

en la que R_2 - R_5 y R_7 tienen los significados definidos para la fórmula I y P_1 y P_2 son en cada caso un grupo protector. Más en particular, P_1 es un grupo protector estándar de nitrógeno, por ejemplo un tert-butiloxi-carbonilo (Boc) o un grupo carbobenciloxi y P_2 es un grupo protector estándar del carboxi, por ejemplo un alquilo de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular sustituido. Estos compuestos son útiles como intermedios de la preparación de los compuestos de la fórmula I.

10 Los compuestos de la invención inhiben la unión de la VCAM-1 y de la fibronectina al antígeno VLA-4 de linfocitos circulantes, eosinófilos, basófilos y monocitos ("células de expresión del VLA-4"). Se sabe que la unión de la VCAM-1 y fibronectina al VLA-4 en tales células
15 conduce a determinados estados patológicos, por ejemplo artritis reumatoide, esclerosis múltiple, enfermedades intestinales inflamatorias y en particular a la unión de eosinófilos al endotelio de las vías aéreas que contribuye a provocar la inflamación pulmonar que se observa
20 en caso de asma. De este modo, los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento del asma.

Por su capacidad de inhibir la unión de la VCAM-1 y de la fibronectina al VLA-4 de linfocitos circulantes, eosinófilos, basófilos y monocitos, los compuestos de la
25 invención pueden utilizarse como medicamentos o como composición farmacéutica en especial para tratar trastornos que se sabe están asociados o causados por tal unión. Son ejemplos de tales trastornos la artritis reu-

-29-

matoide, la esclerosis múltiple, el asma y la enfermedad intestinal inflamatoria. Los compuestos de la invención se utilizan con preferencia para tratar las enfermedades que implican una inflamación pulmonar, por ejemplo el
5 asma. La inflamación pulmonar del asma se debe a la activación e infiltración de eosinófilos, monocitos y linfocitos en los pulmones, la activación se debe a algún acontecimiento o sustancia que desencadena el asma.

Por otro lado, los compuestos de la invención también inhiben la unión de la VCAM-1 y la MadCAM al receptor celular alfa4-beta7, también conocido como LPAM, que se expresa en linfocitos, eosinófilos y células T. Todavía no se conoce a fondo el papel exacto que desempeña la interacción de la alfa4-beta7 con varios ligandos
10 dentro de una situación inflamatoria, por ejemplo el asma, por tanto los compuestos de la invención que inhiben la unión tanto del receptor alfa4-beta1 como del alfa4-beta7 son especialmente eficaces en modelos animales de asma. El trabajo adicional realizado con anticuerpos monoclonales del alfa4-beta7 indica que los compuestos que
15 inhiben la unión del alfa4-beta7 a la MadCAM o la VCAM son útiles para el tratamiento de enfermedades intestinales inflamatorias. Pueden ser útiles además para el tratamiento de otras enfermedades en las que intervenga dicha unión como causa de los daños o los síntomas patológicos.
20

Los compuestos de la invención pueden administrarse por vía oral, rectal o parenteral, p.ej. intravenosa,

-30-

intramuscular, subcutánea, intratecal o transdermal; o sublingal o en forma de preparados oftalmológicos o en forma de aerosol para el caso de inflamación pulmonar. Como ejemplos de formas de administración cabe citar las

5 cápsulas, tabletas, suspensiones o soluciones para administración oral, los supositorios, soluciones inyectables, gotas para los ojos, pomadas o soluciones pulverizables.

La forma preferida de uso es la administración intravenosa, intramuscular, oral o la inhalación. Las dosis de administración de los compuestos de la invención en cantidades efectivas dependerán de la naturaleza del principio activo específico, la edad y las peculiaridades del paciente y del modo de administración. Las dosis

15 pueden determinarse por métodos convencionales, p.ej. por ensayos clínicos de limitación de dosis. Por tanto, la invención comprende además un método de tratamiento de un huésped que sufre una enfermedad en la que la VCAM-1 o la fibronectina se unen a células de expresión

20 del VLA-4 y esta unión es el factor causante de los síntomas o daños de la enfermedad, dicho tratamiento consiste en administrar una cantidad suficiente de un compuesto de la invención para inhibir la unión de la VCAM-1 o de la fibronectina a las células de expresión del

25 VLA-4, de modo que se reduzcan los síntomas o el daño mencionados. En general son preferidas las dosis diarias de 0,1 a 100 mg/kg de peso corporal, siendo preferidas en particular las dosis diarias de 1 a 25 mg/kg y espe-

-31-

cialmente preferidas las dosis diarias de 1 a 10 mg/kg de peso corporal.

En otro aspecto, la invención se refiere además a medicamentos o composiciones farmacéuticas que constan
5 de una cantidad farmacéuticamente eficaz del compuesto de la invención y de un excipiente farmacéuticamente aceptable. Se refiere también a un proceso de fabricación de una composición farmacéutica que consiste en introducir un compuesto de la presente invención o una sal
10 farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable en una forma de administración galénica. Tales composiciones pueden formularse por cualquier método convencional. Las tabletas y granulados pueden contener una serie de aglomerantes, excipientes o
15 diluyentes. Las composiciones líquidas pueden adoptar por ejemplo la forma de una solución estéril miscible con agua. Además del principio activo, las cápsulas pueden contener cargas de relleno o espesantes. Por otro lado pueden estar también presentes los aditivos que me-
20 joran el sabor, así como sustancias que normalmente se utilizan como conservantes, estabilizantes, humectantes o emulsionantes así como sales para variar la presión osmótica, tampones y otros aditivos.

Los excipientes antes mencionados y los diluyentes
25 pueden comprender cualquier sustancia orgánica o inorgánica que sea farmacéuticamente aceptable, p.ej. agua, gelatina, lactosa, almidón, estearato magnésico, talco, goma arábiga, polialquilenglicoles; etcétera.

-32-

Las formas de dosificación de unidades de administración oral, por ejemplo tabletas y cápsulas, contienen con preferencia de 25 mg a 1000 mg de un compuesto de la invención.

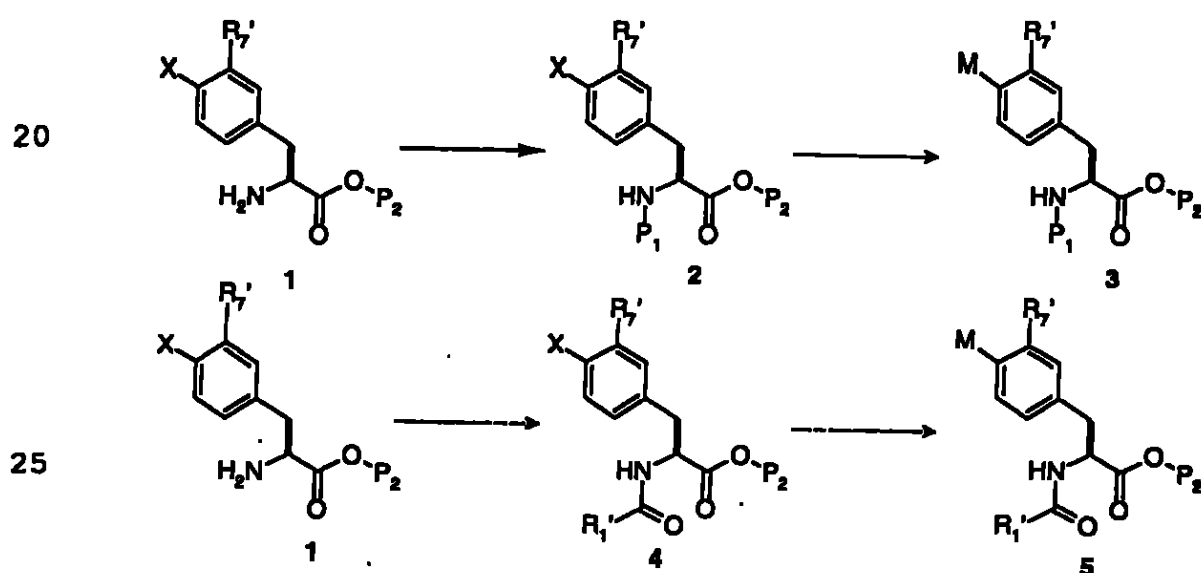
5 En general, los compuestos de la presente invención pueden obtenerse a partir de los derivados idóneos de la fenilalanina por reacción con una 3-halo-2-piridona, la reacción se cataliza con paladio.

Tal como se presenta en el esquema de reacción 1,
10 se convierte un derivado de 4-yodo- o 4-bromo-fenilalanina tal como 1 en el derivado protegido de fenilalanina 2, en el que R₇' es hidrógeno, cloro, alquilo de bajo peso molecular o alcoxi de bajo peso molecular, P₁ es un grupo protector estándar del nitrógeno, p.ej. el Boc, o
15 un grupo carbobenciloxi y P₂ es un alquilo de bajo peso molecular o un alquilo de bajo peso molecular sustituido, elegido oportunamente para que actúe como grupo protector o es un elemento de un profármaco (fármaco que libera el principio activo dentro del cuerpo del paciente). El grupo P₂ puede introducirse por métodos convencionales que el experto en la química de los péptidos conoce perfectamente. El orden de adición de P₁ y P₂ no es fundamental y dependerá de la elección concreta de los reactivos. Theodora W. Greene y Peter G.M. Wuts,
20 *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Wiley Interscience, Nueva York 1991, presentan un estudio del uso e introducción de grupos protectores. Como alternativa se puede convertir un compuesto de la fórmula 1 en un com-

-33-

puesto de la fórmula 4, en el que R_1' significa un componente de un grupo acilo de la invención. Un método conveniente consiste en introducir el grupo éster P_2 en primer lugar y después realizar la reacción de copulación de las aminas libres empleando reactivos convencionales de copulación de péptidos, por ejemplo el HBTU, en presencia de una base del tipo amina terciaria, por ejemplo la dietilisopropilamina. También en este caso, la elección de los reactivos puede dictar una variación del orden de introducción de R_1' y P_2 . La conversión de compuestos de la fórmula 2 ó 4 en los derivados 3 ó 5, en los que M significa un átomo de boro o estaño sustituido, puede llevarse a cabo por tratamiento con un compuesto adecuado, por ejemplo hexametildiestaño, hexabutildiestaño o un tetraalcoxidiboro en presencia de una

Esquema de reacción 1



-34-

fuelle de paladio zero. La metodologla se describe aportando referencias en F. Diederich y P.J. Stang, coordinadores, *Metal Catalyzed Cross Coupling Reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, Alemania, 1998.

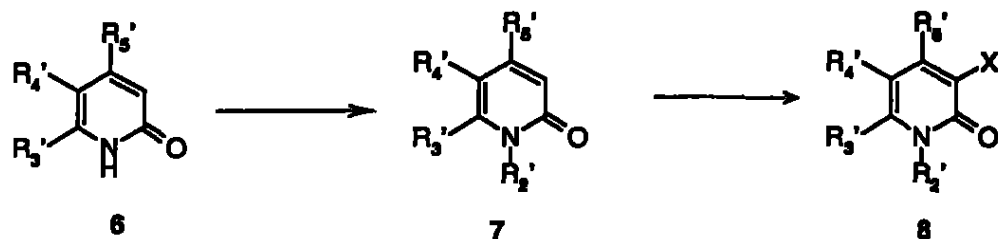
- 5 Las piridonas sustituidas de la fórmula 6, en la que R_3' , R_4' y R_5' son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, perfluor(alquilo de bajo peso molecular), halógeno, arilo, hidroxil o alcoxi de bajo peso molecular son productos comerciaes o que pueden obtenerse por métodos conocidos de la bibliografía técnica (por ejemplo, la descripción de algunos de estos métodos conocidos se puede encontrar en: P. Wirth y col., publicación de patente alemana 28 17 293, 12 de agosto de 1979; Masaru Hojo y col., Chem. Lett. 1976, 499-502; Robert W. Lang y col., Helvetica Chimica Acta, 1988, 71, 596-601). Los compuestos de la fórmula 7, en la que R_2' es alquilo de bajo peso molecular o aril-(alquilo de bajo peso molecular) pueden obtenerse por alquilación de los compuestos de la fórmula 6 mediante tratamiento con agentes alquilantes, por ejemplo yodometano o bromuro de bencilo, en presencia de una base, por ejemplo el carbonato potásico, y, eventualmente, en presencia de un catalizador de transferencia de fase. Para los agentes alquilantes menos reactivos puede ser necesario recurrir a una base más fuerte, por ejemplo un hidróxido de metal alcalino y calentar la mezcla reaccionate. Los compuestos de la fórmula 7 definidos antes pueden halogenarse en posición 3 por tratamiento con agentes halogenantes convenciona-

-35-

les, por ejemplo el bromo, la N-yodosuccinimida o la N-bromosuccinimida, en un disolvente adecuado, por ejemplo ácido acético glacial o ácido acético acuoso, para obtener las halopiridonas de la fórmula 8, X = Br o I, R₂' con independencia de su aparición es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alquilo de bajo peso molecular sustituido o arilo-(alquilo de bajo peso molecular), R₃' y R₅' son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o perfluor-(alquilo de bajo peso molecular). El tratamiento con un exceso de agente halogenante conduce a compuestos de la estructura 8, en la que R₄' = halógeno. Para compuestos de la fórmula 8, en la que R₂' = arilo, es conveniente empezar con N-arilpiridonas que sean compuestos conocidos o bien introducir un grupo arilo, por ejemplo utilizando la reacción de copulación de Ullmann descrita por Masakatusu y col., Chem. Pharm. Bull. 1997, 45, 719.

Esquema de reacción 2

20



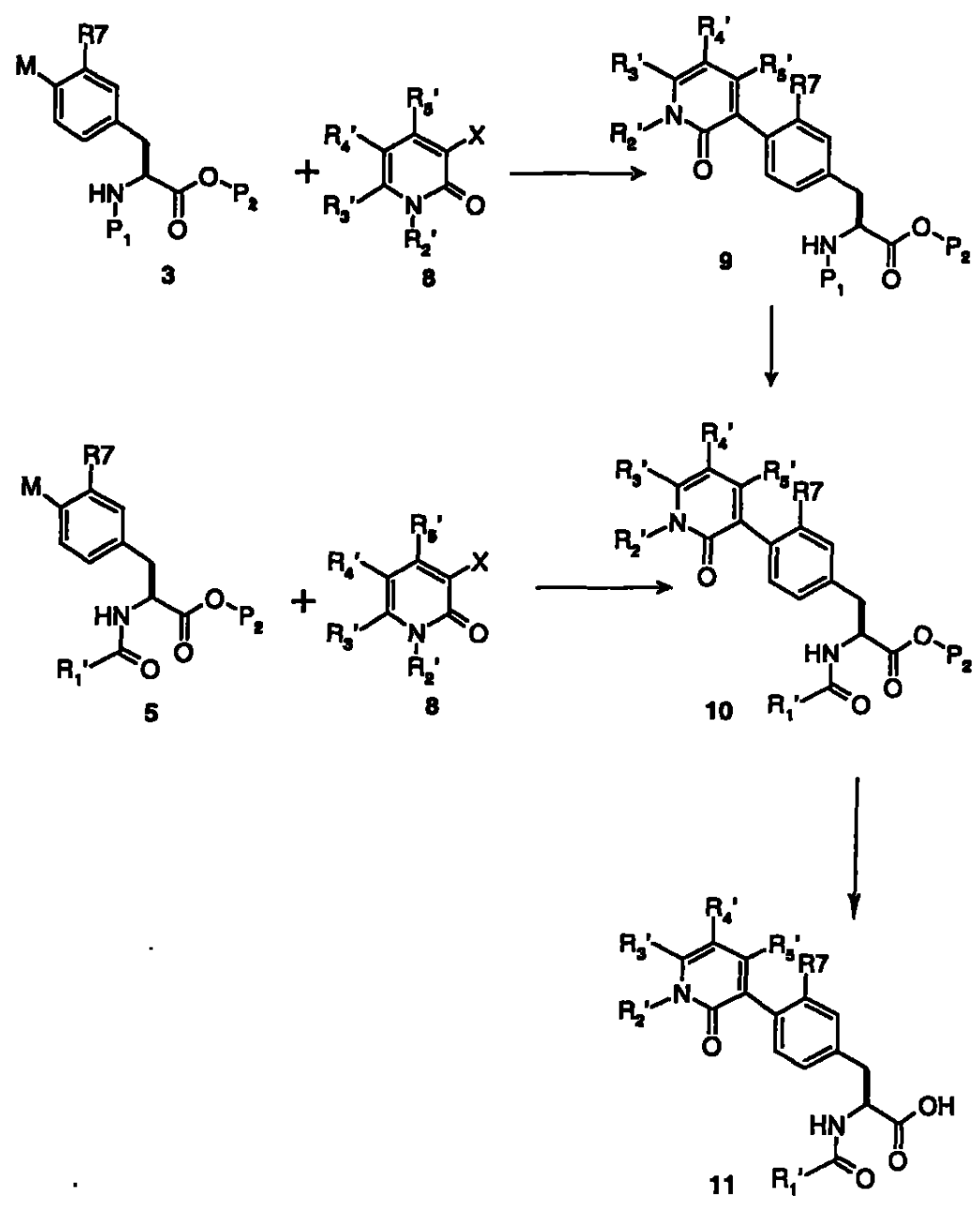
25

Tal como se indica en el esquema de reacción 3, el compuesto de la fórmula 8 puede utilizarse para la reac-

ción de copulación, catalizada con paladio, con un derivado de fenilalanina de la fórmula 3 ó 5. Por ejemplo, cuando M es un estaño sustituido, el tratamiento de una mezcla de 8 y la fenilalanina de la fórmula 3 ó 5 con una fuente de paladio cero, por ejemplo el dicloruro de tetrakis(trifenilfosfina)paladio o de bis(trifenilfosfina)paladio, en presencia de un disolvente inerte, por ejemplo la DMF, a una temperatura comprendida entre temperatura ambiente y 100°C, proporciona un compuesto de la fórmula 9 ó 10. Los compuestos de la estructura 9 pueden convertirse en compuestos de la estructura 10 por eliminación del grupo protector P_1 , que puede llevarse a cabo por métodos convencionales en función del P_1 que se haya elegido. Por ejemplo, si P_1 es un grupo Boc, entonces podrá eliminarse por tratamiento con un ácido fuerte, por ejemplo el ácido trifluoracético, eventualmente en presencia de un disolvente, por ejemplo diclorometano, y de un agente neutralizador. A continuación puede acilarse la amina libre resultante con un ácido de la fórmula $R_1'CO_2H$, empleando técnicas de copulación convencionales en la química de los péptidos. Por ejemplo tratando con HBTU en presencia de una base amina terciaria, por ejemplo la dietilisopropilamina, en presencia de un disolvente aprótico, p.ej. DMF, para obtener el compuesto de la estructura 10.

Si el producto final deseado es el ácido libre 11, entonces puede eliminarse el grupo éster P_2 por métodos convencionales. Por ejemplo, si P_2 es un alquilo de bajo

Esquema de reacción 3

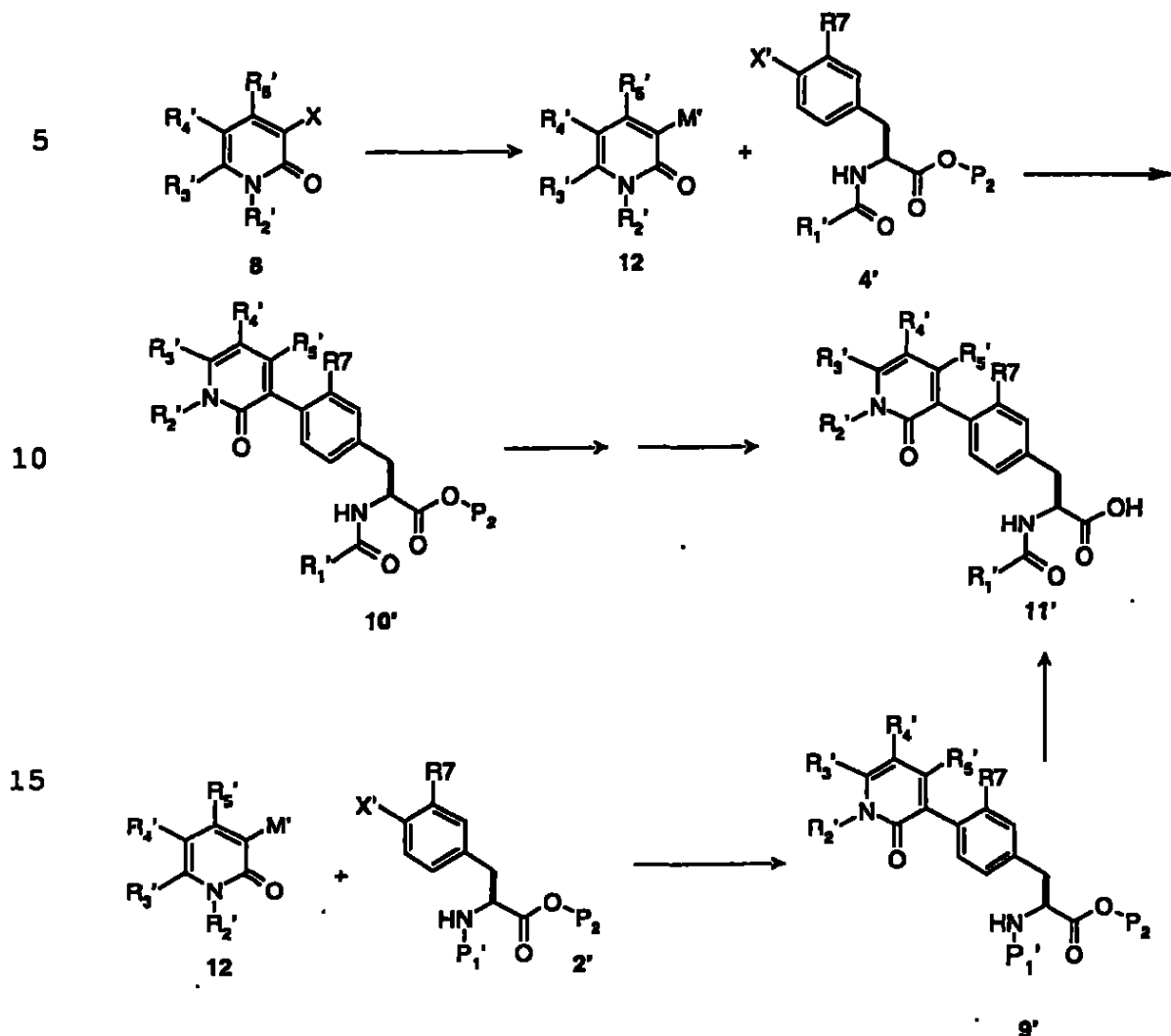


-38-

peso molecular, tal como metilo, puede eliminarse por tratamiento con un hidróxido de metal alcalino, por ejemplo hidróxido de litio, en un disolvente apropiado, por ejemplo THF acuoso que contenga eventualmente metanol para mejorar la solubilidad. Si P_2 es bencilo o bencilo sustituido, podrá eliminarse por hidrogenación catalítica empleando catalizadores de metales nobles, por ejemplo paladio sobre carbón.

Como alternativa, tal como se muestra en el esquema de reacción 4, puede convertirse un compuesto de la estructura 8, en la que X es bromo o yodo, en un compuesto de la fórmula 12, en la que M' significa un átomo de estaño, boro o cinc sustituido. En el caso de derivados de estaño o boro, en los que M' significa un átomo de estaño o boro sustituido, la conversión puede realizarse por tratamiento con un compuesto adecuado, p.ej. hexametildiastaño, hexabutildiastaño o tetraalcoxidiboro en presencia de una fuente de paladio cero. Para la formación del derivado de cinc, 12, $M' = Zn(\text{halógeno})$, la conversión puede tener lugar por tratamiento del compuesto de la fórmula 8, $X = I$, con una fuente de metal cinc activado, en un disolvente idóneo, p.ej. dimetilacetamida, a una temperatura comprendida entre temperatura ambiente y $100^\circ C$, hasta completar la conversión y obtener el compuesto de la fórmula 12, $M' = Zn(\text{halógeno})$. Estos compuestos de la fórmula 12 pueden reaccionar con un derivado de fenilalanina sustituido en posición 4 de la

Esquema de reacción 4



fórmula 4', en la que X' es yodo, bromo o trifluormetil-sulfoniloxi, en presencia de una fuente de paladio cero, para obtener un compuesto de la fórmula 10'. Si el grupo P₂ no fuera parte del compuesto deseado, entonces podrá eliminarse por procedimientos de hidrólisis apropiados para el P₂ concreto. Por ejemplo, si P₂ es alquilo de bajo peso molecular, tal como metilo, podrá eliminarse por hidrólisis básica estándar; empleando un hidróxido

-40-

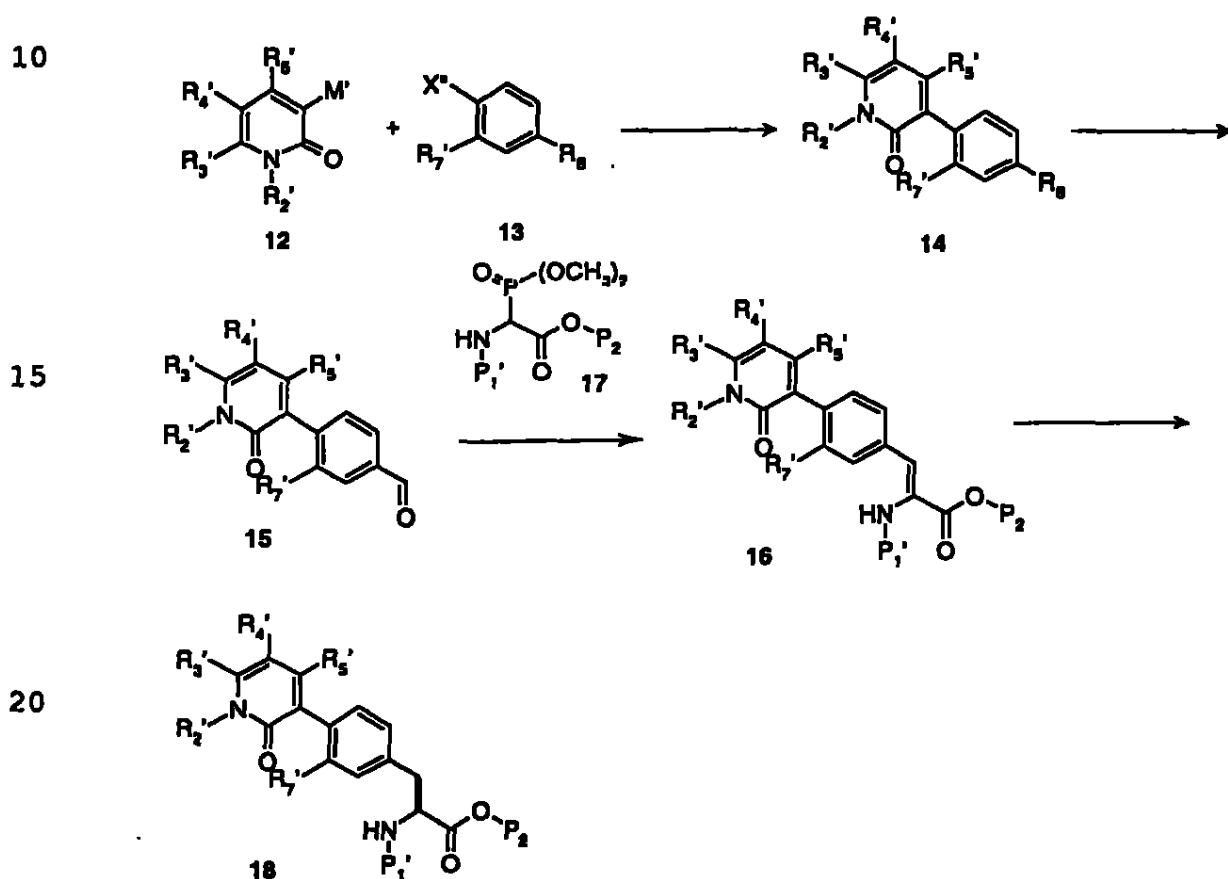
de metal alcalino, por ejemplo hidróxido de litio. En una variante de este procedimiento, puede ser deseable mantener el grupo protector durante la reacción de copulación y eliminarlo a posteriori. En tal caso, un compuesto de la fórmula 2', en el que P_1' sea un (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo o benciloxycarbonilo y X' tenga el significado definido antes, puede copularse con una pirimidinadiona de la estructura 12 para dar un compuesto de la estructura 9', que a su vez puede convertirse en el compuesto de la invención empleando los procedimientos generales descritos a raíz del esquema de reacción 3.

Una vía alternativa de acceso a los compuestos de la invención, tal como se indica en el esquema de reacción 5, que es además especialmente aplicable a los compuestos en los que R_7' es diferente de hidrógeno, consiste en obtener un aldehído de la fórmula 14. Puede realizarse por reacción de un compuesto de la fórmula 12 con un compuesto de la fórmula 13, en la que R_7' es un grupo alquilo de bajo peso molecular o alcoxi de bajo peso molecular y X'' significa un yoduro, bromuro o un resto trifluormetilsulfonilo y R_8 significa un alcohol o aldehído protegidos. En caso de alcoholes, los grupos protectores idóneos son sililéteres, benciléteres. Los aldehídos pueden protegerse con sus derivados acetales. El compuesto de la fórmula 12 puede convertirse en el aldehído de la fórmula 15 mediante etapas de reacción que, en caso de ser R_8 un alcohol, consisten en eliminar

el grupo protector, si fuera necesario, y después oxidar. Puede utilizarse cualquier reactivo idóneo para la oxidación selectiva de alcoholes bencílicos primarios hasta aldehídos, por ejemplo, tratando con dióxido de manganeso activado en un disolvente inerte. Si R₈ es un aldehído protegido, entonces para obtener el aldehído de la fórmula 15 se tendrá que eliminar el grupo protector, por ejemplo mediante hidrólisis de un acetal con ácido diluido. La reacción de 15 para obtener un ácido deshidroamino de la fórmula 16 puede efectuarse por tratamiento con un reactivo de Wittig de la fórmula 17, en la que P₁' es un (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo o benciloxycarbonilo y P₂ tiene el significado definido antes. Por ejemplo, tratando 15 con éster trimetílico de la (1)-N-(benciloxycarbonil)- α -fosfonoglicina en presencia de una base idónea, por ejemplo la tetrametilguanidina, se obtiene directamente un ácido deshidroamino de la fórmula 16, P₂ = metilo y P₁' = benciloxycarbonilo. La reducción enantioselectiva de 16 para obtener el ácido L-amino de la fórmula 18 puede llevarse a cabo utilizando un gran número de reductores idóneos para el fin, por ejemplo el reactivo etil-DuPHOS-rodio descrito recientemente (Burk, M.J.; Feaster, J.E.; Nugent, W.A.; Harlow, R.L. en *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 10125), utilizando fundamentalmente el procedimiento de la bibliografía técnica. La posterior conversión de 18 en los compuestos de la invención puede tener lugar utilizando los procedimientos general descritos anteriormente. Como

alternativa, los métodos generales descritos en el esquema de reacción 5 pueden utilizarse para obtener compuestos de la estructura 4 ó 4', en los que R₇' es distinto de hidrógeno. Los compuestos de la estructura 4 ó 5 4' pueden utilizarse para obtener compuestos de la invención tal como se describe en los esquemas de reacción de 1 a 4.

Esquema de reacción 5



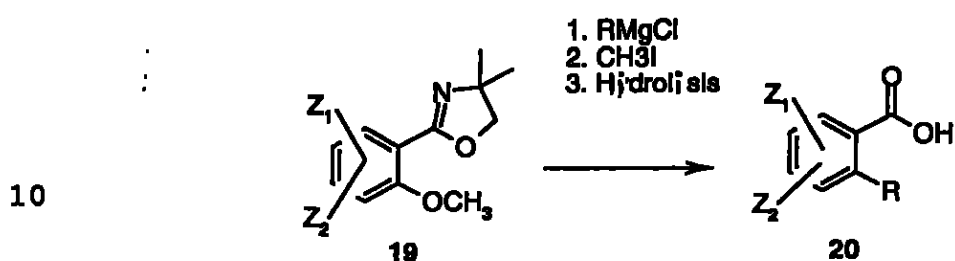
En una forma de ejecución, el grupo N-acilo R₁' de la estructura 11 se deriva de un ácido benzoico sustituido en posición 2'. Los ácidos benzoicos sustituidos en posición 2 son productos comerciales o bien pueden obte-

nerse por métodos convencionales. Por ejemplo carboni-
lando yoduros de arilo orto-sustituídos o triflatos en
presencia de monóxido de carbono y de un catalizador
idóneo de paladio. La obtención de tales productos in-
5 termedios yoduro o triflato es independiente del modelo
particular de sustitución que se desee y pueden obtener-
se yodación directa o diazotación de una anilina seguida
del tratamiento con una fuente de yoduro, por ejemplo el
yoduro potásico. Los triflatos pueden derivarse de los
10 fenoles correspondientes por métodos convencionales, por
ejemplo por tratamiento con anhídrido trifluormetanosul-
fónico en presencia de una base, por ejemplo trietilami-
na o diisopropiletilamina, en un disolvente inerte. Tal
como muestra el esquema de reacción 6, otro método de
15 obtención de ácidos benzoicos orto-sustituídos consiste
en tratar un derivado de 2-metoxifeniloxazolína como es
el compuesto 19, Z_1 y Z_2 = hidrógeno, alquilo, cloro,
perfluor-(alquilo de bajo peso molecular), alcoxi de ba-
jo peso molecular, con un reactivo de Grignard alquila-
20 do, continuando con la hidrólisis del anillo de la oxa-
zolína con arreglo al procedimiento general descrito por
Meyers, A.I., Gabel, R., Mihelick, E.D., en *J. Org.*
Chem. 1978, 43, 1372-1379, para obtener el ácido de la
fórmula 20. También los benzonitrilos sustituídos en po-
25 sición 2 ó 2,6 pueden actuar como precursores idóneos de
los ácidos benzoicos correspondientes. En el caso de ni-
trilos muy impedidos estéricamente, por ejemplo el 2-
cloro-6-metilbenzonitrilo, resulta difícil la hidrólisis

-44-

convencional en medio ácido o básico, obteniéndose mejores resultados por reducción DIBAL que conduce al benzaldehído correspondiente, después se realiza una oxidación con un reactivo oxidante basado en cromo. Otros métodos se describen en Chen y col., WO 99/10312.

Esquema de reacción 6



En lo referente al esquema de reacción 7, los ácidos cíclicos de la fórmula 23 son compuestos conocidos o que pueden obtenerse por métodos ya conocidos. Para obtener ácido alquil- o cicloalquilcarboxílicos sustituidos pueden realizarse reacciones de alquilación empleando un dianión del ácido con metal alcalino o un monoanión del éster correspondiente. Por ejemplo, un éster de ácido cicloalquilcarboxílico de la fórmula 21 puede tratarse con una fase fuerte, por ejemplo diisopropilamida de litio, en un disolvente inerte, por ejemplo THF, y después añadirse el grupo $R_{41}\text{-Lv}$, en el que R_{41} significa una cadena lateral deseada, por ejemplo un bencilo sustituido, un alquilo de bajo peso molecular, un (alcoxi de bajo peso molecular)-alquilo, un azido-(alquilo de bajo peso molecular), etcétera, y Lv significa un grupo

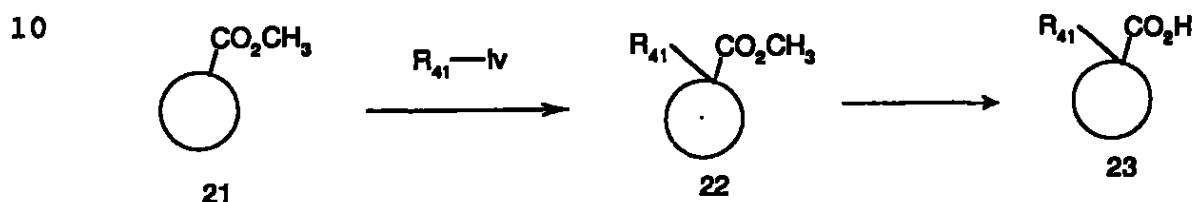
saliente, por ejemplo un bromuro, yoduro, mesilato o similar que ya se conoce que pueden intervenir en reacciones de alquilación de ésteres enolatos. El éster resultante 22 puede hidrolizarse dando el ácido 23 por tratamiento con hidróxido de metal alcalino en un disolvente idóneo, por ejemplo en alcohol acuoso. En función de la naturaleza de R_{41} y del objetivo perseguido, el compuesto 23 puede copularse con una amida, por ejemplo el compuesto 1, y convertirse en el objetivo directamente o bien R_{41} puede someterse a diversas modificaciones en el momento oportuno de la síntesis. Por ejemplo, si R_{41} es un resto azido-(alquilo de bajo peso molecular), la azida puede reducirse por ejemplo con un reactivo trialkilfosfina y después se funcionaliza la amina resultante por alquilación, acilación, sulfonilación y otros procedimientos similares, bien conocidos de los expertos en esta técnica. Si R_{41} incluye un grupo saliente, por ejemplo un átomo de bromo terminal, este grupo podrá desplazarse con un nucleófilo adecuado, por ejemplo metilmercaptida sódica, para dar en este caso un tioéter que puede ser el producto buscado o bien puede someterse a otras modificaciones, por ejemplo una oxidación para obtener un sulfóxido o una sulfona, utilizando condiciones estándar de reacción. Otros nucleófilos que pueden emplearse para obtener productos intermedios que llevan a compuestos de esta invención son: cianuro sódico, metóxido sódico, azida sódica, morfolina y otros. Si R_{41} lleva un grupo cetil, este grupo puede hidrolizarse en

-46-

un momento oportuno de la síntesis para obtener un grupo ceto. Este grupo puede modificarse a su vez, por ejemplo por reducción que conduce a un alcohol o por conversión en un derivado, por ejemplo en una oxima.

- 5 En Chen. y col., WO 99/10313, se encontrarán ejemplos de aplicación de estos métodos de síntesis de compuestos de la fórmula 23.

Esquema de reacción 7



- 15 En general, los ácidos aromáticos orto-sustituídos requeridos para la obtención de compuestos en los que $R_1 = Y-1$ pueden prepararse del modo descrito en Chen y col., WO 99/10312.

Para la síntesis de ácidos 2-cloro-6-alkilbenzoicos de la fórmula 28, en la que R_{43} es un alkilo de bajo peso molecular o cicloalkilo, es particularmente indicado el procedimiento descrito en el esquema de reacción 8. Un aldehído comercial de la fórmula 24 se convierte en la imida 25, en la que R_{42} es un alkilo de bajo peso molecular, con preferencia butilo, por tratamiento con butilamina en un disolvente orgánico hidrófobo inerte, por ejemplo heptano. Se trata el compuesto resultante de la fórmula 25 con un exceso de un derivado

20

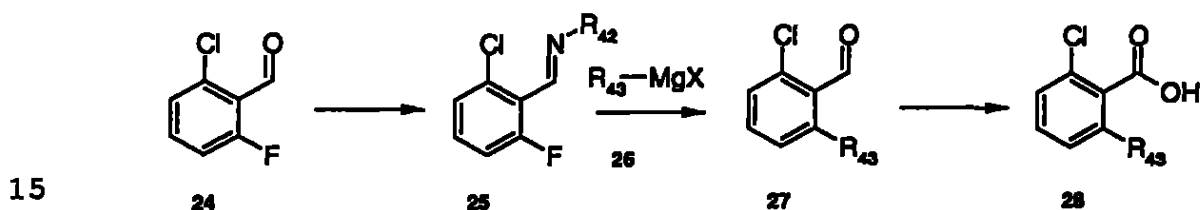
25

-47-

de Grignard 26 en un disolvente inerte, por ejemplo THF, después se trata con ácido durante la purificación para obtener el aldehído de la fórmula 27. La oxidación de 27 para obtener el ácido de la fórmula 28 puede realizarse
 5 por métodos convencionales, por ejemplo tratando una solución de 27 en un disolvente idóneo, por ejemplo acetonitrilo acuoso, con clorito sódico y peróxido de hidrógeno del 30 % a una temperatura igual o inferior a la temperatura ambiente.

10

Esquema de reacción 8



Puede ser deseable la obtención de ésteres profármacos (= fármacos que liberan el principio activo en el
 20 cuerpo del paciente) de los compuestos de esta invención, en los que sea más conveniente la introducción del grupo éster al final de la síntesis. Para este fin puede emplearse un gran número de técnicas comunes de formación de ésteres de ácidos carboxílicos. Los métodos tí-
 25 picos que pueden ser útiles incluyen la reacción de un alcohol con el ácido carboxílico en presencia de un ácido, por ejemplo ácido clorhídrico, en un procedimiento que se conoce como esterificación de Fisher. Como alter-

-48-

nativa puede recurrirse a la unión de un ácido carboxílico y un alcohol con intervención de una diimida, con el uso opcional de un promotor, por ejemplo la 4,4-dimetilaminopiridina. Una diimida típica es la dicitclohexilcarbodiimida. Otra alternativa consiste en tratar el ácido carboxílico con un haluro de alquilo reactivo, por ejemplo un yoduro de alquilo o un cloruro de aciloximetilo, en presencia de una base, por ejemplo bicarbonato sódico, en un disolvente inerte, por ejemplo DMF. La elección del método concreto dependerá de la naturaleza de la combinación de ácido carboxílico concreto y resto éster deseado y será obvia para cualquier entendido en estas técnicas. Los grupos éster, que puedan constituir profármacos, podrán crearse en cualquier momento oportuno de la síntesis. Por ejemplo, el grupo P₂ de la fórmula 1 puede constituir un profármaco deseable y puede mantenerse en el producto final.

EJEMPLOS

Los ejemplos que siguen tienen una finalidad ilustrativa y no pretenden limitar la invención en ningún aspecto.

Métodos generales: los puntos de fusión se determinan en un aparato Thomas-Hoover y no se han corregido. Las rotaciones ópticas se determinan en un polarímetro Perkin-Elmer modelo 241. Los espectros RMN-H¹ se registran en espectrómetros Varian XL-200, Mercury-300 o Unityplus 400 Mhz, utilizando tetrametilsilano (TMS) como patrón interno. Los espectros de masas de impacto elec-

-49-

trónico (IE, 70 ev) y de bombardeo atómico rápido (FAB) se registran en espectrómetros de masas VG Autospec o VG 70E-HF. El gel de sílice empleado para la cromatografía de columna es Mallinkrodt SiliCar 230-400 mesh para cromatografía flash; las cromatografías de columna se asis-
5 ten con una presión de 0-5 psi de nitrógeno en cabeza para activar el flujo. Las cromatografías de capa fina se efectúan en placas de vidrio revestidas de gel de sílice, suministradas por E. Merck (E. Merck, artículo n°
10 1:05719) y se visualizan revelando con luz UV de 254 nm en una caja de revelado, por exposición a vapor de I₂ o por pulverización de ácido fosfomolibdico (PMA) en etanol acuoso, o después de exposición a Cl₂ por pulverización de reactivo 4,4'-tetrametildiaminodifenilmetano,
15 preparado con arreglo a E. von Arx, M. Faupel y M. Bruggger, *J. Chromatography*, 1976, 120, 224-228.

La cromatografía de líquidos de alta eficacia en fase inversa (RP-HPLC) se lleva a cabo en un cromatógrafo HPLC Rainin con una columna Dynamax™ C-18 de 41,4x300
20 mm, 8 µm, y con un caudal de 49 ml/min, utilizando un gradiente de acetonitrilo:agua (conteniendo ambos un 0,75 % de TFA) del 5 al 95 % de acetonitrilo durante 35-40 min. Las condiciones de la HPLC corresponden al formato (5-95-35-214); con él se indica que el gradiente
25 lineal va del 5 % al 95 % de acetonitrilo en agua durante 35 min, al tiempo que se efectúa un seguimiento del flujo saliente con un detector UV en una longitud de onda de 214 nm.

-50-

El cloruro de metileno (diclorometano), 2-propanol, DMF, THF, tolueno, hexano, éter y metanol son reactivos para análisis de Fisher y se utilizaron tal cual sin purificación adicional; el acetonitrilo es de pureza para hplc de Fisher o Baker y se utiliza tal cual.

Las abreviaturas utilizadas son las siguientes:

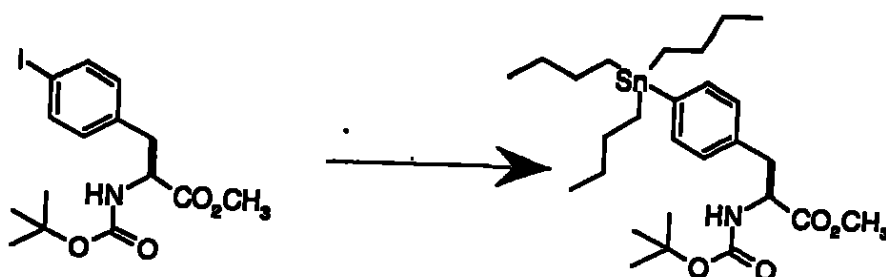
- THF es tetrahidrofurano,
DMF es N,N-dimetilformamida,
DMA es N,N-dimetilacetamida,
10 HOBT es 1-hidroxibenzotriazol,
BOP es hexafluorofosfato de [(benzotriazol-1-il)oxi]tris-(dietilamino)fosfonio,
HATU es hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio,
15 HBTU es hexafluorofosfato de O-benzotriazol-N,N,N',N'-tetrametiluronio,
DIPEA es diisopropiletilamina,
DMAP es 4-(N,N-dimetilamino)piridina,
DPPA es difenilfosforilazida,
20 DPPP es 1,3-bis(difenilfosfino)propano,
DBU es 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno,
NaH es hidruro sódico,
salmuera es una solución acuosa saturada de cloruro sódico,
25 CCF es cromatografía de capa fina,
LDA es diisopropilamida de litio,
BOP-Cl es cloruro bis(2-oxo-3-oxazolidinil)fosfinico,
NMP es N-metilpirrolidona,

reactivo de Lawesson es el 1,3-ditia-2,4-difosfetano-2,4-disulfuro de 2,4-bis(4-metoxifenilo), NIS es el anhídrido N-yodosuccínico.

La cromatografía a través de gel de sílice en columnas Biotage se refiere al uso de sistemas de cromatografía flash suministrado por la división Biotage de la empresa Dyax Corporation, empleando columna preparadas de 40 g (columnas 40s), 90 g (columnas 40m) o 800 g (columnas 75m). La elución se realiza empleando una mezcla de hexano-acetato de etilo con una presión de nitrógeno de 10-15 psi.

Ejemplo 1

Éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-[(tributil)estannil]-L-fenilalanina



20

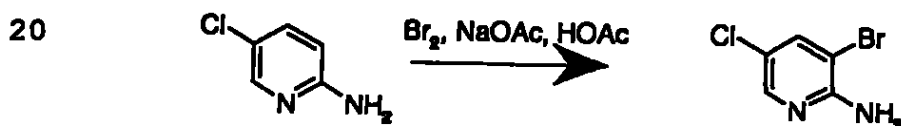
Se desoxigena una solución éster metílico de N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-yodo-L-fenilalanina (5,3 g, 13 μ moles) y hexabutildiestaño (27,5 ml, 54 μ moles) en tolueno (50 ml) alternando la congelación de la mezcla en un baño de nitrógeno líquido con vacío y la descongelación en atmósfera de argón (3 veces). Se añade el tetrakis(trifenilfosfina)paladio (280 mg; 0,22 μ moles) y

-52-

se calienta la mezcla reaccionante a reflujo durante 45 min hasta que el color vira de amarillo a negro. La CCF (acetato de etilo/hexano 1:6) indica la presencia de algo de yoduro de partida y se añade una porción adicional de catalizador (140 mg, 0,11 mmoles). Se prosigue el reflujo durante 1 hora. Se enfría la mezcla y se concentra. Se recoge el residuo en hexano (200 ml) y trietilamina (30 ml), se agita durante 30 min y se filtra. Se concentra el líquido filtrado y se cromatografía a través de una columna con 150 g de gel de sílice, empleando como eluyente hexano y después una mezcla de acetato de etilo/hexano 1:6, para obtener el éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-[(tributil)estannil]-L-fenilalanina (5,7 g, 77 %), en forma de aceite transparente. LR(+)LSIMS ($C_{27}H_{47}NO_4Sn$): m/z 1081 (2M-C₄H₉) 570 (M+H).

Ejemplo 2

2-amino-3-bromo-5-cloropiridina



Se agita mecánicamente una suspensión de 2-amino-5-cloropiridina (5,14 g, 40 mmoles) y acetato sódico anhidro (3,29 g, 40 mmoles) en ácido acético (25 ml) y se calienta sobre un baño, cuya temperatura es de 45°C. Se añade durante 1 hora una solución de bromo (2,1 ml, 40

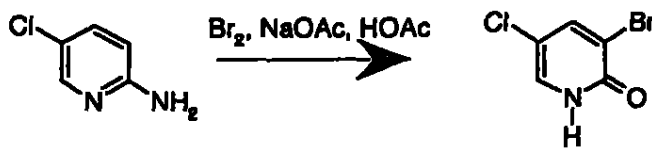
-53-

mmoles) en ácido acético (2 ml). Se enfría la solución resultante de color anaranjado a 15°C y se filtra. Se recogen los sólidos en 400 ml de agua, se basifica la suspensión añadiendo NaOH 1N y se extrae la suspensión con acetato de etilo (5 x 100 ml). Se lavan los extractos combinados con NaHSO₃ del 10 % (1 vez con 100 ml) y se secan con MgSO₄. Se concentra, obteniéndose la 2-amino-3-bromo-5-cloropiridina (4 g, 48 %), p.f. 82-84°C.

Ejemplo 3

10 3-bromo-5-cloro-1H-2-piridona

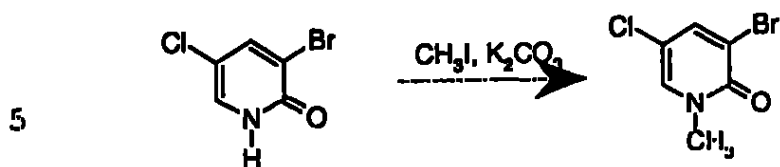
15



Se enfría con un baño de hielo a 0°C una solución de 2-amino-3-bromo-5-cloropiridina (4,0 g, 19,3 mmoles) en agua (30 ml) y HCl conc. (5,2 ml) y se trata con una solución de nitrito sódico (1,33 g, 19,3 mmoles) en agua (12 ml) durante 10 min. Se agita la mezcla durante otros 10 min y se deja calentar a temperatura ambiente durante 48 h. Se filtra la mezcla. Se lavan los sólidos con agua, después con CCl₄ y se secan con vacío a 50°C durante 3 h, obteniéndose la 3-bromo-5-cloro-1H-2-piridona (2,77 g, 69 %), p.f. 173,5-175°C.

Ejemplo 4

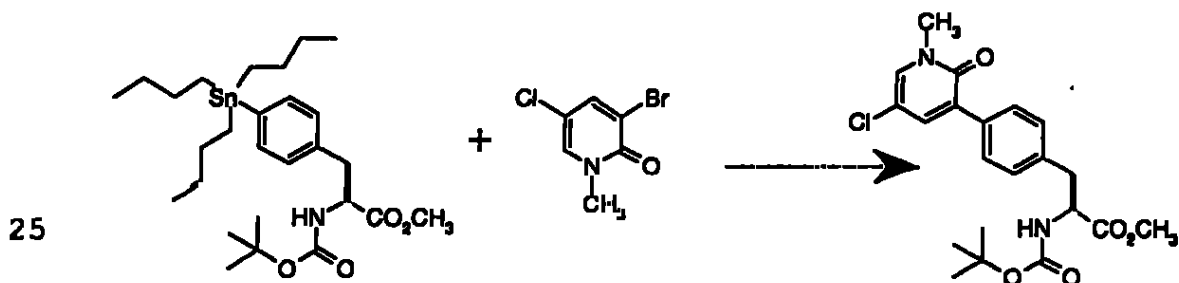
3-bromo-5-cloro-1-metil-2-piridona



Se calienta a reflujo durante 18 h una mezcla de 3-bromo-5-cloro-1H-2-piridona (930 mg, 4,46 mmoles), carbonato potásico (1,25 g, 9,1 mmoles) y yodometano (2,8 ml, 45 mmoles) en 10 ml de DME. Se filtra la mezcla en caliente y se concentra. Se recristaliza el residuo en acetato de etilo para obtener la 3-bromo-5-cloro-1-metil-2-piridona (740 mg, 74 %), p.C. 162-163°C. EM-AR (C₆H₅BrClNO): peso molecular hallado 220,9249, calculado 220,9243 (M+H).

Ejemplo 5

Éster metílico de la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-N-[(1,1-dimetil-1-etoxi)carbonyl]-L-fenilalanina



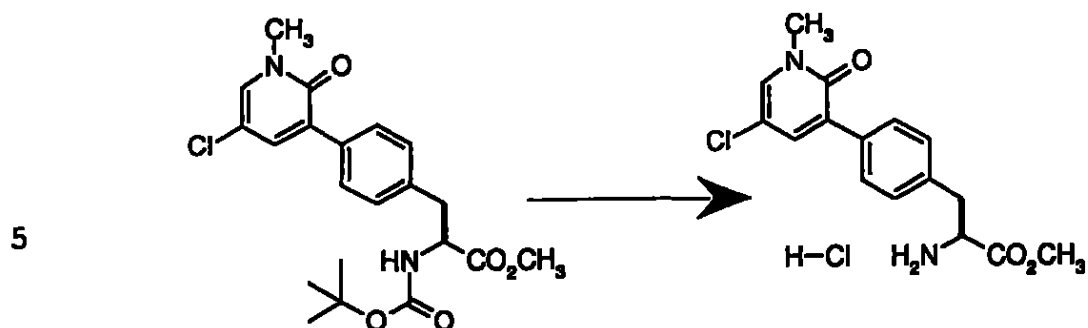
-55-

Se desoxigena una solución de la 3-bromo-5-cloro-1-metil-2-piridona (660 mg, 2,97 mmoles) y de éster metílico de N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-[(tributil)estannil]-L-fenilalanina (1,7 g, 2,99 mmoles) en DMF (30 ml) alternando la congelación de la mezcla en un baño de nitrógeno líquido con vacío y la descongelación en atmósfera de argón (3 veces). Se añade el tetrakis(trifenilfosfina)paladio (140 mg, 0,20 mmoles) y se calienta la mezcla reaccionante a 90°C durante 3 h hasta que el color vira a negro. La CCF indica que la reacción no ha terminado y se añade una porción adicional de 140 g de catalizador y se prosigue el calentamiento durante 4 h. Se enfría la mezcla, se diluye con diclorometano y se filtra a través de un lecho de Celite. Se concentra a sequedad el líquido filtrado y se disuelve el residuo con éter/acetato de etilo 1:1 (60 ml). Se lava la solución con agua (3 veces con 10 ml cada vez) y salmuera (1 vez con 10 ml) y se seca (MgSO₄). Se cromatografía el residuo resultante a través de 150 g de gel de sílice, empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo/hexano 7:3, obteniéndose el éster metílico de la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-L-fenilalanina (670 mg, 54 %). EM-AR-Electrospray: m/z 863 (2M+Na), 858 (2M+NH₄), 443 (M+Na), 438 (M+NH₄), 421 (M+H).

Ejemplo 6

Clorhidrato del éster metílico de la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

-56-

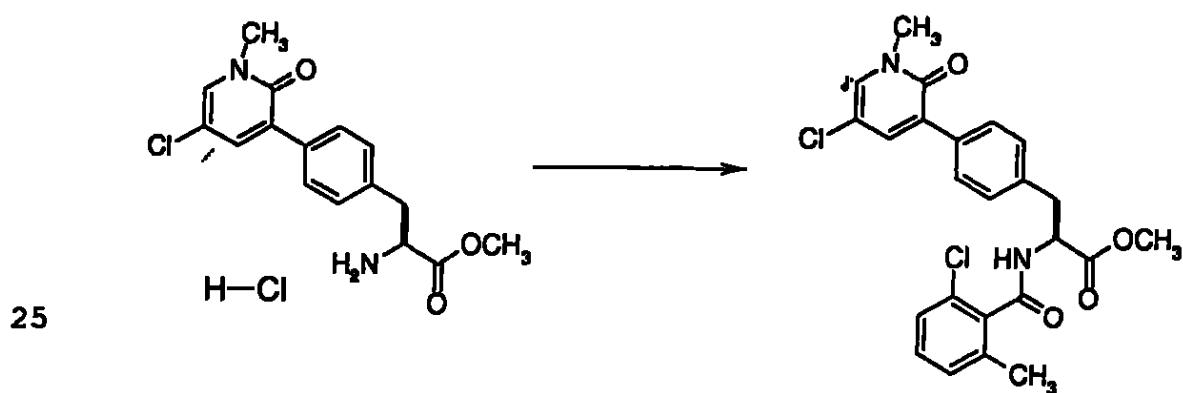


Se agita durante 1 h una solución de éster metílico de la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-N-[(1,1-di-
 10 metiletoxi)carbonil]-L-fenilalanina (210 mg, 0,50 mmol) en HCl 4N en dioxano (10 ml) y se concentra, obteniéndose el clorhidrato del éster metílico de la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (140 mg) en forma de polvo blanco. EM-LR(+)LSI: m/z 641 (2M+H),
 15 321 (M+H).

Ejemplo 7

Éster metílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

20



-57-

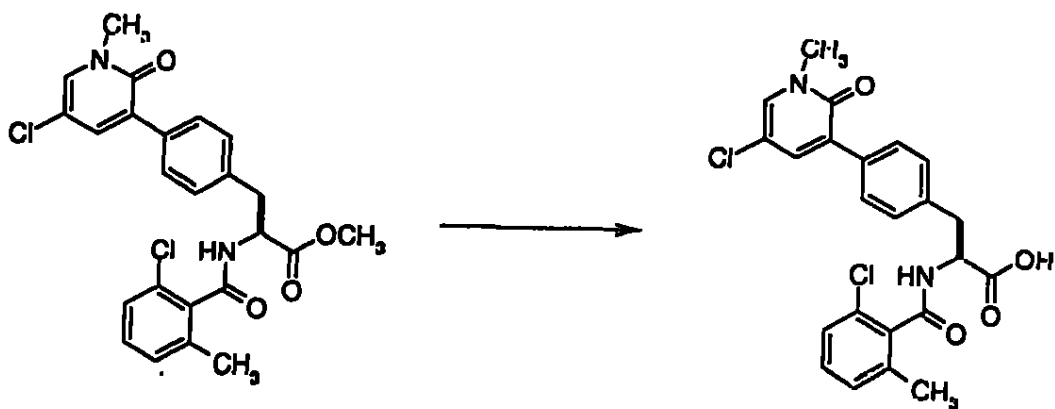
Se agita a temperatura ambiente durante 4 h una solución de clorhidrato del éster metílico de la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (89,5 mg, 0,25 mmoles), ácido 2-cloro-6-metilbenzoico (47 mg, 0,28 mmoles), DIEA (175 μ l, 1,0 mmoles) y HBTU (133 mg, 0,35 mmoles) en DMF (3 ml). Se concentra la mezcla, se disuelve el residuo en acetato de etilo (15 ml), se lava con HCl 0,5 N (1 vez con 5 ml), NaHCO₃ sat. (1 vez con 5 ml), salmuera (1 vez con 5 ml) y se seca (MgSO₄). Se concentra por evaporación, se cromatografía el residuo a través de 25 g de gel de sílice, utilizando como eluyente una mezcla 3:1 de acetato de etilo:hexano, obteniéndose el éster metílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (54 mg). EM-LR(+)LSI: m/z 962 (2M+NH₄), 945 (2M+H), 490 (M+NH₄), 473 (M+H (2 Cl)).

Ejemplo 8

N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

20

25



-58-

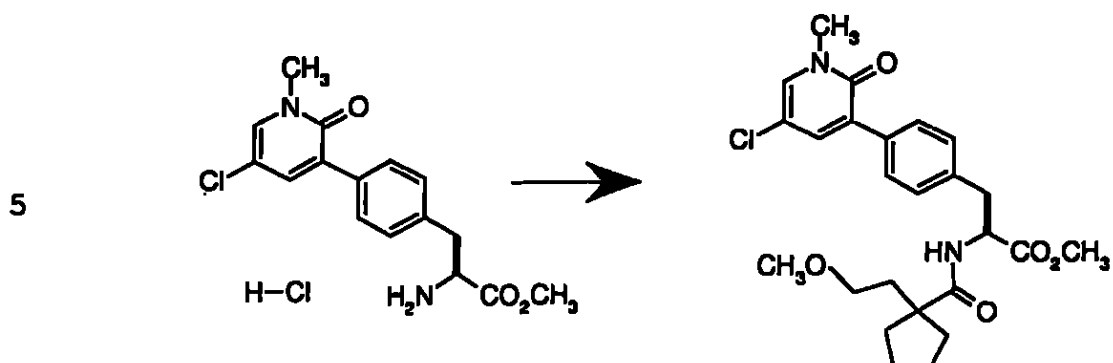
Se trata una solución de éster metílico de la N-
[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(5-cloro-1-metil-2-
oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (51 mg, 0,108 mmoles) en
THF (3 ml) con una solución de hidróxido de litio mono-
5 hidratado (18 mg, 0,43 mmoles) en agua (1,0 ml). Se
agrega THF adicional para lograr una solución transpa-
rente y se agita la mezcla reaccionante durante 1 h. La
CCF (acetato de etilo) indica que el material de partida
se ha consumido en su totalidad. Se añaden unas pocas
10 gotas de ácido acético y se introduce la totalidad de la
mezcla reaccionante en una columna HPLC de fase inversa
del tipo C-18 de 4 x 30 cm y se eluye con un gradiente
lineal de acetonitrilo en agua del 5 al 95 % durante 35
min. Se liofiliza la fracción que contiene producto para
15 obtener la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(5-clo-
ro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (40 mg, 82
%) en forma de sólido blanco. LR-Electrospray: m/z ion
positivo, 481 (M+Na), 459 (M+H (2 Cl)); ion negativo,
457 (M-H (2 Cl)).

20 Ejemplo 9

Éster metílico de la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-
piridinil)-N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-L-
fenilalanina

25

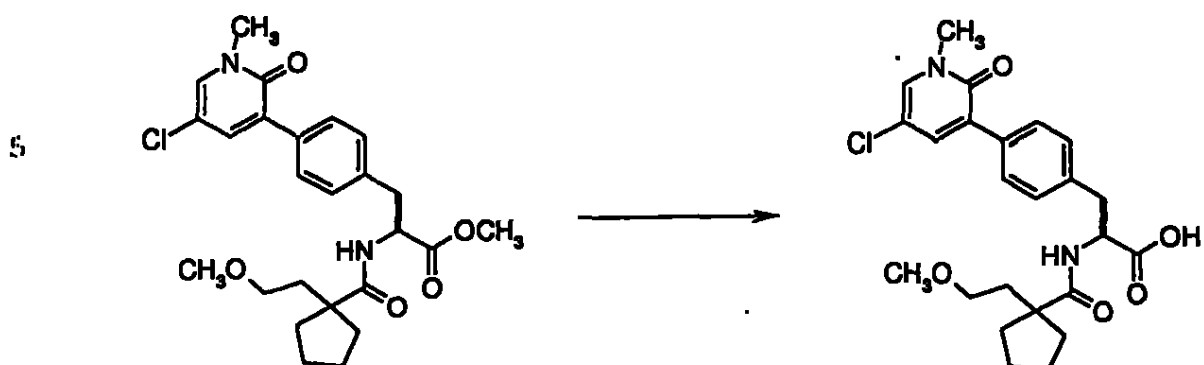
-59-



Se agita a temperatura ambiente durante 4 h una so-
 10 lución de clorhidrato del éster metílico de la 4-(5-clo-
 ro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (47,4 mg,
 0,25 mmoles), ácido 1-(2-metoxietil)ciclopentanocarboxi-
 lico (47 mg, 0,28 mmoles), DIEA (175 μ l, 1,0 mmoles) y
 HBTU (133 mg, 0,35 mmoles) en DMF (3 ml). Se concentra
 15 la mezcla, se disuelve el residuo en acetato de etilo
 (15 ml), se lava con HCl 0,5N (1 vez con 5 ml), NaHCO₃
 (1 vez con 5 ml), salmuera (1 vez con 5 ml) y se seca
 (MgSO₄). Se concentra por evaporación y se cromatografía
 el residuo a través de 25 g de gel de sílice utilizando
 20 como eluyente acetato de etilo, de este modo se obtiene
 el éster metílico de la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piri-
 dinil)-N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-L-fe-
 nilalanina (70,5 mg, 59 %). LR-Electrospray: m/z ion po-
 sitivo, 943 (2M+Na), 483 (M+Na), 478 (M+NH₄), 461 (M+H);
 25 ion negativo 919 (2M-H), 521-459 (M-H).

Ejemplo 10

4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-N-[[1-(2-me-
 toxietil)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina



Se trata una solución de éster metílico de la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina (69 mg, 0,145 mmoles) en THF (3 ml) con una solución de hidróxido de litio monohidratado (24,3 mg, 0,58 mmoles) en agua (1,0 ml). Se añade a la mezcla una cantidad suficiente de THF para lograr la disolución. Se agita la mezcla 1 h y se añaden unas pocas gotas de ácido acético. Se introduce la totalidad de la mezcla reaccionante en una columna HPLC de fase inversa del tipo C-18 de 4 x 30 cm y se eluye con un gradiente lineal de acetonitrilo en agua del 5 al 95 % durante 35 min. Se liofiliza la fracción que contiene producto para obtener la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina (48 mg, 72 %) en forma de sólido blanco. IR-
Electrospray: m/z ion positivo 943 (2M+Na), 483 (M+Na), 478 ((M+NH₄), 461 (M+H); ion negativo 919 (2M-H), 521, 459 (M-H).

15

20

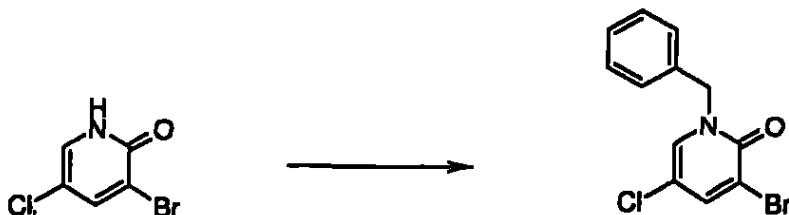
25

-61-

Ejemplo 11

1-bencil-3-bromo-5-cloro-2-piridona

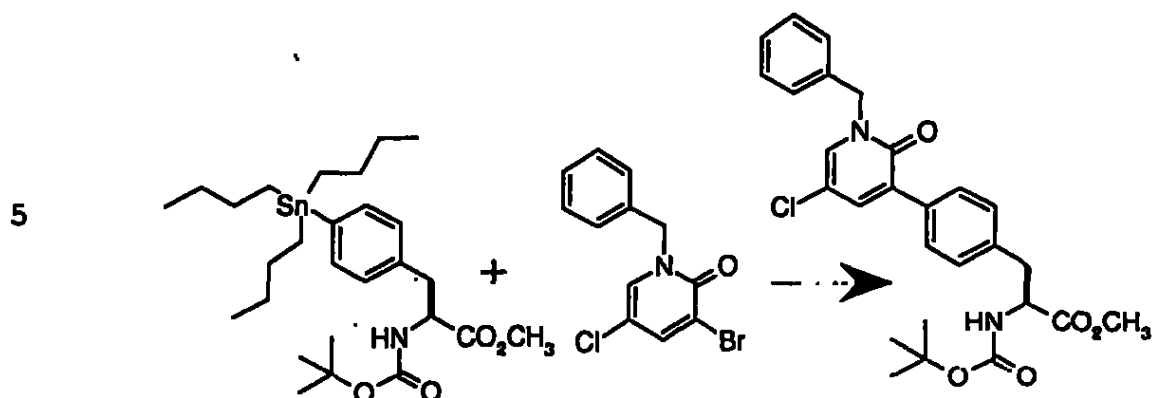
5



10 Se agita mecánicamente durante 30 min una mezcla de
 3-bromo-5-cloro-1H-2-piridona (950 mg, 4,56 mmoles),
 carbonato potásico recién molido (1,26 g, 9,1 mmoles) y
 cloruro de tetrabutilamonio (100 mg) sin disolvente y se
 le añade bromuro de bencilo (0,56 ml, 4,7 mmoles). Se
 15 agita la mezcla a temperatura ambiente durante 72 h. Se
 diluye la mezcla con acetato de etilo, se filtra y se
 lavan los sólidos con acetato de etilo. Se concentra el
 líquido filtrado a sequedad y se tritura el residuo con
 varias porciones de hexano. Se cromatografía el residuo
 20 a través de 90 g de gel de sílice, utilizando como elu-
 yente una mezcla 3:1 de hexano:acetato de etilo y des-
 pués acetato de etilo 100 %, de este modo se obtiene la
 1-bencil-3-bromo-5-cloro-2-piridona (423 mg, 31 %), p.f.
 108-110°C. EM-LR(+)LSI: m/z 595 (2M+H, 2 Cl, 2 Br), 298
 25 (M+H, 1 Cl, 1 Br).

Ejemplo 12

Éster metílico de la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-
 piridinil)-N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-L-fenilalanina



10 Se desoxigena una solución de 1-bencil-3-bromo-5-cloro-2-piridona (296 mg, 0,98 mmoles) y de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-[(tributil)-estannil]-L-fenilalanina (560 mg, 0,99 mmoles) en DMF (15 ml) alternando la congelación de la mezcla en un ba-

15 ño de nitrógeno líquido con vacío y la descongelación en atmósfera de argón (3 veces). Se añade el dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (80 mg, 0,11 mmoles) y se calienta la mezcla reaccionante a 90°C durante 4 h hasta que el color vira a negro. Se añaden 60 mg adicionales

20 del catalizador y se prosigue el calentamiento durante 2 h. Se deja enfriar la mezcla, se diluye con diclorometano y se filtra a través de un lecho de Celite. Se concentra el líquido filtrado a sequedad y se cromatografía el residuo a través de 150 g de gel de sílice empleando

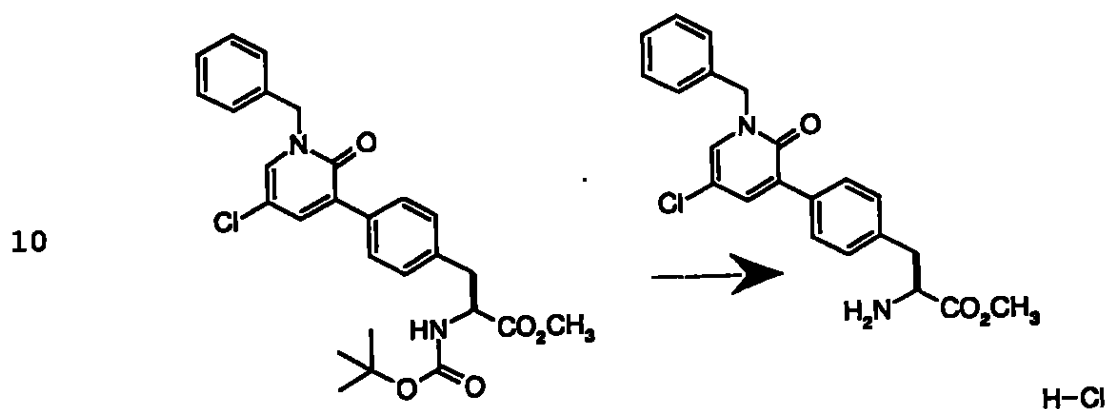
25 como eluyente una mezcla 1:2 de acetato de etilo/hexano, de este modo se obtiene el éster metílico de la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[(1,1-dimetiletoxi)-carbonil]-L-fenilalanina (255 mg, 52 %). LMS-Electro-

-63-

spray: m/z 1015 ($2M+Na$) (4 Cl), 519 ($M+Na$), 514 ($M+NH_4$), 497 ($M+H$).

Ejemplo 13

Clorhidrato del éster metílico de la 4-(1-bencil-5-
5 cloro-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

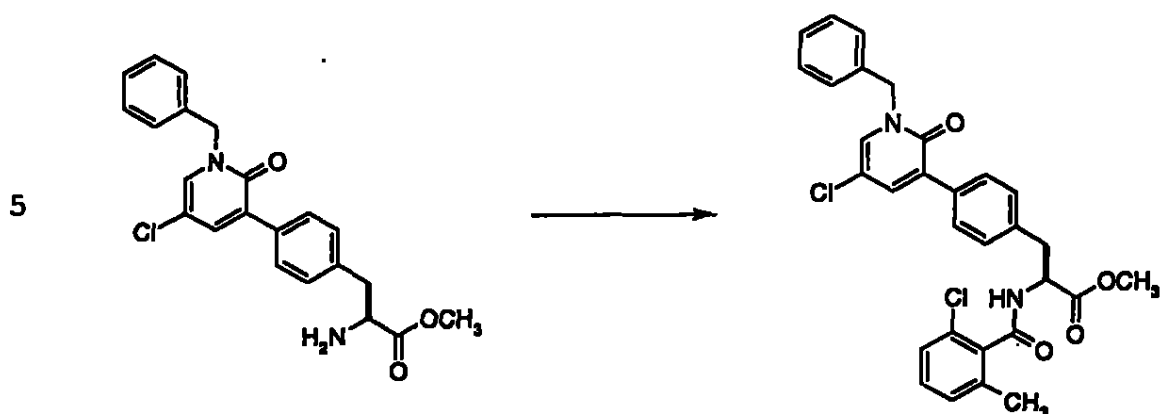


15 Se agita 1 h una solución de éster metílico de la 1-bencil-4-(5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[(1,1-dimetil-etoxi)-carbonil]-L-fenilalanina (248 mg, 0,50 mmoles) en HCl 4N en dioxano (10 ml) y se concentra. Se tritura el residuo con éter (15 ml) y se filtra, obteniéndose el
20 clorhidrato del éster metílico de la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (202 mg, 94 %) en forma de polvo blanco. LR-Electrospray: m/z 1015 ($2M+Na$, 4 Cl), 519 ($M+Na$), 514 ($M+NH_4$), 497 ($M+H$). EM-AR: peso molecular hallado 496,1774, calculado 496,1765 ($m+H$).

25 Ejemplo 14

Éster metílico de la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-L-fenilalanina

-64-

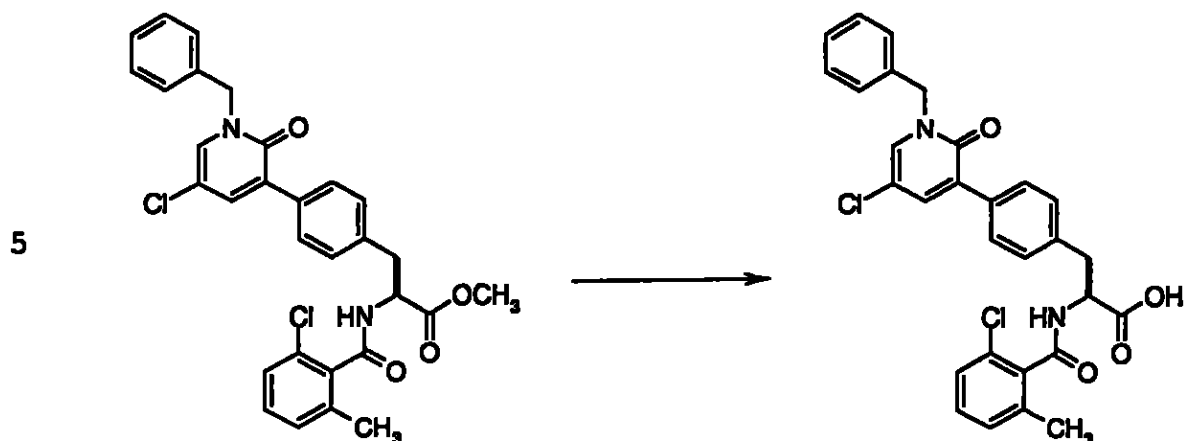


10 Se agita a temperatura ambiente durante 18 h una
 solución de clorhidrato del éster metílico de la 4-(1-
 bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (100
 mg, 0,23 mmoles), ácido 2-cloro-6-metilbenzoico (47 mg,
 0,28 mmoles), DIEA (200 μ l, 1,2 mmoles) y HBTU (133 mg,
 15 0,35 mmoles) en DMF (2 ml). Se concentra la mezcla, se
 disuelve el residuo en acetato de etilo (15 ml), se lava
 con HCl 0,5 N (1 vez con 5 ml), NaHCO₃ sat. (1 vez con 5
 ml), salmuera (1 vez con 5 ml) y se seca (MgSO₄). Se
 concentra por evaporación, se cromatografía el residuo a
 20 través de 25 g de gel de sílice, utilizando como eluyen-
 te una mezcla 45:55 de acetato de etilo:hexano, obte-
 niéndose el éster metílico de la 4-(1-bencil-5-cloro-2-
 oxo-3-piridinil)-N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-L-
 fenilalanina (74 mg, 58 %). Peso mol. hallado 397,1313,
 25 calculado 397,1320 (M+H).

Ejemplo 15

4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[(2-cloro-
 6-metilfenil)carbonil]-L-fenilalanina

-65-



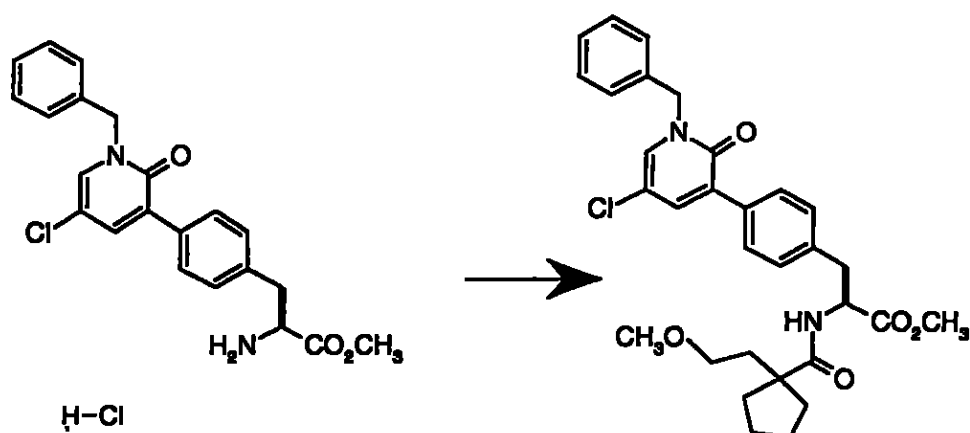
Se trata una solución de éster metílico de la N-
 10 [(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1-bencil-5-cloro-2-
 oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (72 mg, 0,13 mmoles) en
 THF (3 ml) con una solución de hidróxido de litio mo-
 nohidratado (22 mg, 0,52 mmoles) en agua (1,0 ml). Se
 agrega THF adicional para lograr una solución transpa-
 15 rente y se agita la mezcla reaccionante durante 1,5 h,
 en este momento la CCF (acetato de etilo) indica que el
 material de partida se ha consumido en su totalidad. Se
 añaden unas pocas gotas de ácido acético y se introduce
 la totalidad de la mezcla reaccionante en una columna
 20 HPLC de fase inversa del tipo C-18 de 4 x 30 cm y se
 eluye con un gradiente lineal de acetonitrilo en agua
 del 5 al 95 % durante 35 min. Se liofiliza la fracción
 que contiene producto para obtener 4-(1-bencil-5-cloro-
 2-oxo-3-piridinil)-N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-L-
 25 fenilalanina (50 mg, 71 %), en forma de sólido blanco.
 LR-Electrospray: m/z ion negativo 533 (M-H (2 Cl)); ion
 positivo 557 (M+Na), 552 (M+NH₄), 535 (M+H (2 Cl)). EM-
 AR: peso hallado 535,1190; calculado 535,1191 (M+H).

Ejemplo 16

Éster metílico de la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina

5

10



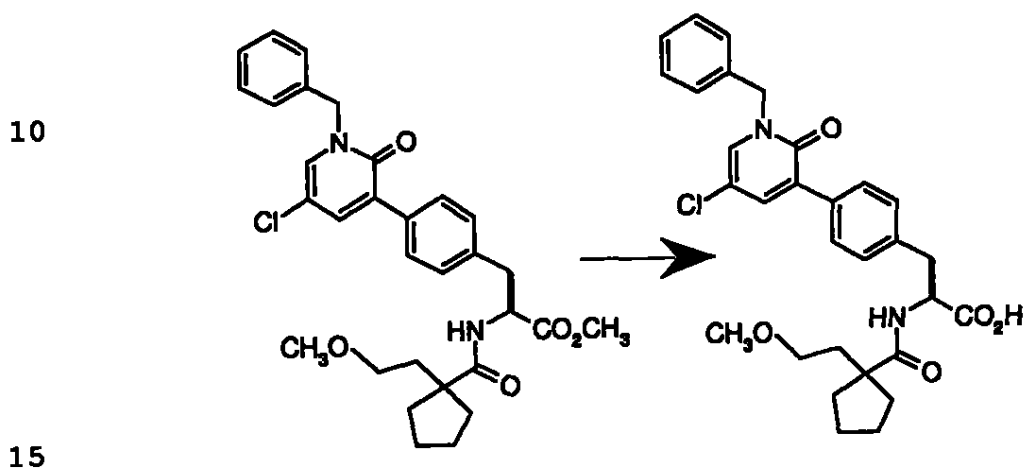
15 . Se agita a temperatura ambiente durante 18 h una
solución de clorhidrato del éster metílico de la 4-(1-
bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (100
mg, 0,25 mmoles), ácido 1-(2-metoxietil)ciclopentanocar-
boxílico (47 mg, 0,28 mmoles), DIEA (200 µl, 1,2 mmoles)
20 y HBTU (133 mg, 0,35 mmoles) en DMF (2 ml). Se concentra
la mezcla, se disuelve el residuo en acetato de etilo
(15 ml), se lava con HCl 0,5 N (1 vez con 5 ml), NaHCO₃
sat. (1 vez con 5 ml), salmuera (1 vez con 5 ml) y se
seca (MgSO₄). Se concentra por evaporación, se cromato-
25 grafía el residuo a través de 25 g de gel de sílice,
utilizando como eluyente una mezcla 60:40 de acetato de
etilo:hexano, de este modo se obtiene el éster metílico
de la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[1-(2-me-

-67-

toxietyl)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina (80 mg, 63 %). LR-Electrospray: m/z 1123 (2M+Na), 1118 (2M+NH₄), 573 (M+Na), 568 (M+NH₄), 551 (M+H (1 Cl)). EM-AR: peso hallado 551,2297, calculado 551,2313 (M+H).

5 Ejemplo 17

4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina



Se trata una solución de éster metílico de la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina (78 mg, 0,142 mmoles) en THF (3 ml) con una solución de hidróxido de litio monohidratado (24 mg, 0,57 mmoles) en agua (1,0 ml). Se añade a la mezcla una cantidad suficiente de THF para lograr la disolución. Se agita la mezcla 1 h y se añaden unas pocas gotas de ácido acético. Se introduce la totalidad de la mezcla reaccionante en una columna HPLC de

20

25 fase inversa del tipo C-18 de 4 x 30 cm y se eluye con un gradiente lineal de acetonitrilo en agua del 5 al 95 % durante 35 min. Se liofiliza la fracción que contiene producto para obtener la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-pi-

72
72

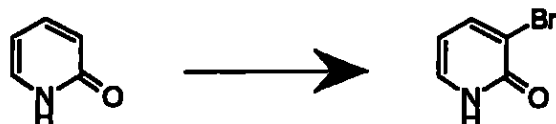
-68-

ridinil)-N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-L-fe-
nilalanina (45 mg, 60 %) en forma de polvo blanco. EM-
LR-Electrospray: m/z ion positivo 559 (M+Na), 554
(M+NH₄), 537 (M+H (1 Cl)); ion negativo 535 (M-H (1
5 Cl)). EM-AR: peso hallado 537,2151, calculado 537,2156
(M+H).

Ejemplo 18

3-bromo-1H-2-piridona

10

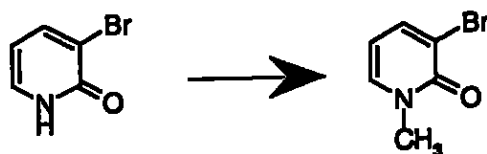


A una solución de 1H-2-piridona (1,9 g, 20 mmoles)
15 en bromuro potásico 1M en agua (20 ml) se le añade du-
rante 5 min una solución de bromo (3,2 g, 20 mmoles) en
bromuro potásico 1M en agua (40 ml). Se deja reaccionar
durante una noche y se recoge el precipitado formado,
obteniéndose 1,4 g. Se recristaliza en acetonitrilo, ob-
20 teniéndose 0,78 g de la 3-bromo-1H-2-piridona.

Ejemplo 19

3-bromo-1-metil-2-piridona

25

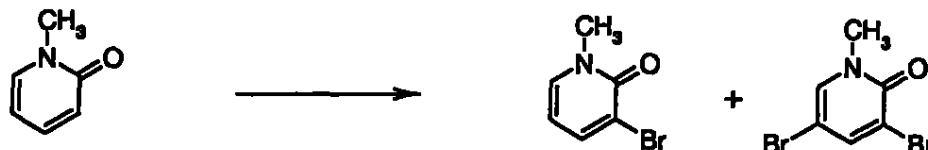


-69-

Se calienta a reflujo durante una noche una mezcla de 3-bromo-1H-2-piridona (740 mg, 4,25 mmoles), carbonato potásico (1,18 g, 8,5 mmoles) y yodometano (2,65 ml, 42,5 mmoles) en DME (10 ml). Se filtra la mezcla, se lava con acetato de etilo y se concentra el líquido filtrado por evaporación a sequedad. Se purifica el residuo por cromatografía de columna seca a través de 27 g de gel de sílice, utilizando como eluyente el acetato de etilo, de este modo se obtiene la 3-bromo-1-metil-2-piridona (0,63 g, 79 %). EM-LR (electrospray), ion positivo 188 (M+H).

Ejemplo 20

3-bromo-1-metil-2-piridona y 3,5-dibromo-1-metil-2-piridona



20

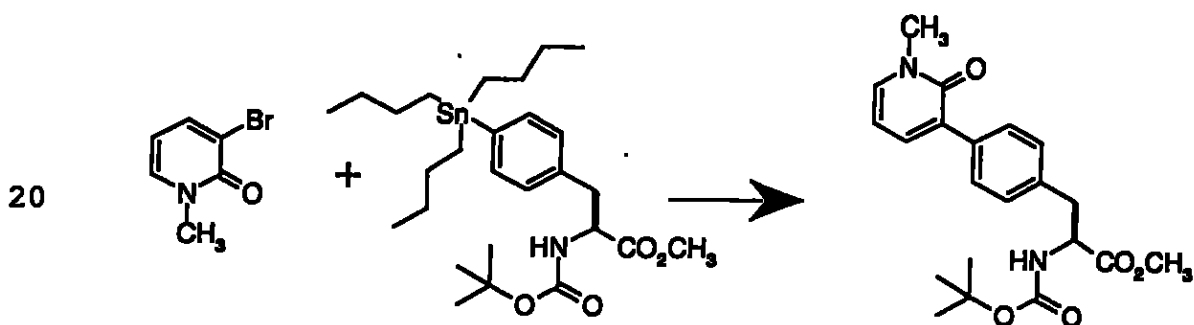
Se agita a temperatura ambiente durante 48 h una solución de 1-metil-2-piridona (2,73 g, 25 mmoles) y bromo (1,4 ml, 27 mmoles) en ácido acético glacial (150 ml). Se concentra la mezcla. Se recoge el residuo en agua (100 ml), se basifica frente a papel de tornasol con hidróxido sódico 10N y se extrae con diclorometano (3 veces con 50 ml cada vez). Se reúnen los extractos,

-70-

se lavan con salmuera (30 ml) y se secan (MgSO_4). Se filtra y se concentra por evaporación del disolvente, obteniéndose 4,7 g que se purifican por cromatografía seca a través de 150 g de gel de sílice, utilizando como eluyente una mezcla 1:6 de acetato de etilo:hexano y después 1:1 acetato de etilo:hexano. El primer compuesto eluido es la 3,5-dibromo-1-metil-2-piridona (2,0 g, 30 %), LR-electrospray: m/z 266 ($M+H$ (2 Br)). RMN (CDCl_3 , δ 3,597 (s, 3H), 7,426 (d, $j = 2,7$, 1H), 7,791 (d, $j =$
 10 2,7, 1H). El segundo compuesto eluido es la 3-bromo-1-metil-2-piridona (1,39 g, 30 %), LR-electrospray: m/z ion positivo (251 ($M+\text{Na}+\text{CH}_3\text{CN}$), 188 ($M+H$)).

Ejemplo 21

Éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbo-
 15 nil]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina



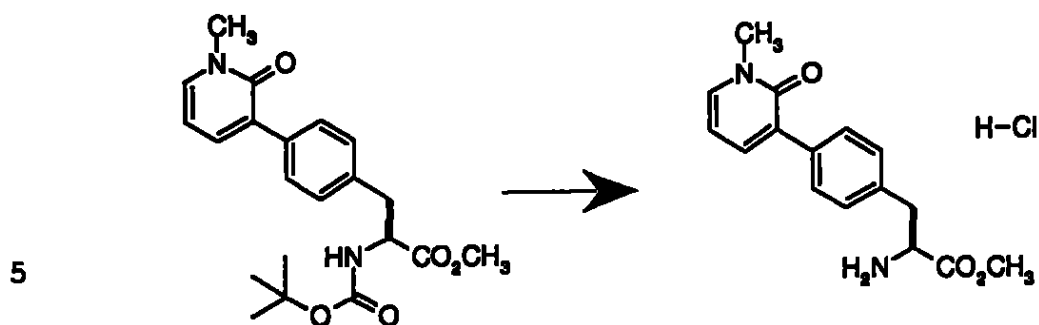
25 Se desoxigena una solución de 3-bromo-1-metil-2-piridona (94 mg, 0,50 mmoles) y de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-[(tributil)estannil]-L-fenilalanina (284 mg, 0,50 mmoles) en DMF (3 ml) alter-

75

nando la congelación de la mezcla en un baño de nitrógeno líquido con vacío y la descongelación en atmósfera de argón (3 veces). Se añade el dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (40 mg, 0,057 mmoles) y se calienta la
5 mezcla reaccionante a 90°C durante 3 h hasta que el color vira a negro. La CCF indica la reacción no se ha completado y se añade una porción adicional de 20 mg de catalizador y se prosigue el calentamiento durante 4 horas. Se enfría la mezcla y se diluye con diclorometano
10 (20 ml) y se filtra a través de un lecho de Celite. Se concentra el líquido filtrado por evaporación a sequeda y se disuelve el residuo en una mezcla 1:1 de éter:acetato de etilo (20 ml). Se lava la solución con agua (1 vez con 10 ml), fluoruro potásico 5 % (2 veces
15 con 5 ml) y agua (1 vez con 10 ml) y se seca (MgSO₄). Se concentra, se cromatografía el residuo a través de 25 g de gel de sílice utilizando como eluyente una mezcla 4:6 de acetato de etilo:hexano, de este modo se obtiene el éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-
20 (1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (64 mg, 33 %). EM-LR-electrospray: m/z ion positivo 795 (2M+Na), 409 (M+Na), 387 (M+H). EM-AR: peso hallado 387,1935, calculado 387,1920 (M+H).

Ejemplo 22

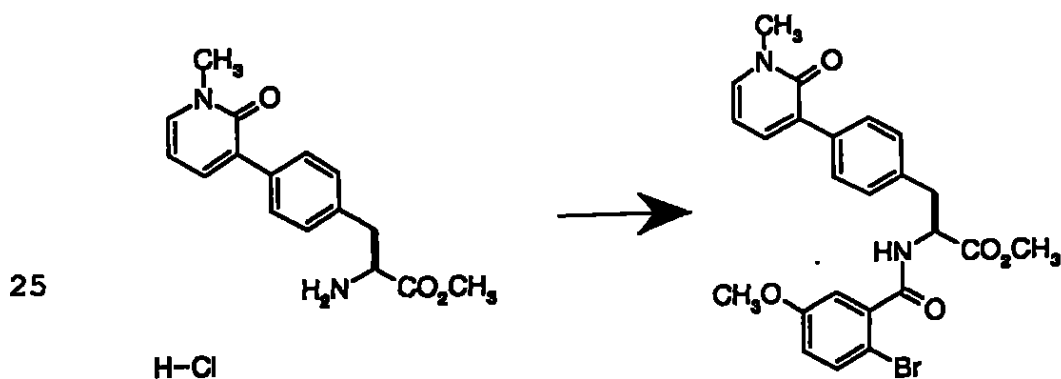
25 Clorhidrato del éster metílico de la 4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina



Se agita durante 2 h una solución de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonyl]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (60 mg, 0,155 mmoles) en HCl 10 4N en dioxano (4 ml) y se concentra. Se tritura el residuo con varias porciones de éter, obteniéndose el clorhidrato del éster metílico de la 4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (55 mg, rendimiento cuantitativo = 100 %), en forma de polvo blanco. EM-LR-electrospray: 15 m/z ion positivo 573 (2M+H), 328 (M+H+CH₃CN), 319 (M+H+CH₃OH), 287 (M+H). EM-AR: peso hallado 287,1396, calculado 287,1396 (M+H).

Ejemplo 23

Éster metílico de la N-[(2-bromo-5-metoxifenil)carbonyl]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina 20



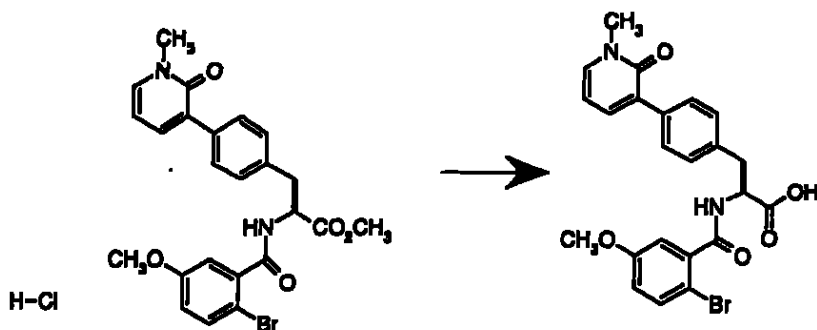
-73-

Se agita a temperatura ambiente una solución de clorhidrato del éster metílico de la 4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (52 mg, 0,16 mmoles), ácido 2-bromo-5-metoxibenzoico (45 mg, 0,19 mmoles), DIEA (140
 5 μ l, 0,80 mmoles) y HBTU (85 mg, 0,22 mmoles) en DMF (3 ml). Se concentra la mezcla, se disuelve el residuo en acetato de etilo (15 ml), se lava con HCl 0,5 N (1 vez con 5 ml), NaHCO₃ sat. (1 vez con 5 ml), salmuera (1 vez con 5 ml) y se seca (MgSO₄). El residuo de la evapora-
 10 ción (85 mg) se cromatografía a través de 25 g de gel de sílice, utilizando como eluyente el acetato de etilo, obteniéndose el éster metílico de la N-[(2-bromo-5-metoxifenil)carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (54 mg, 68 %). EM-AR: peso hallado 499,0872 y
 15 calculado 499,0869 (M+H).

Ejemplo 24

N-[(2-bromo-5-metoxifenil)carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

20



25

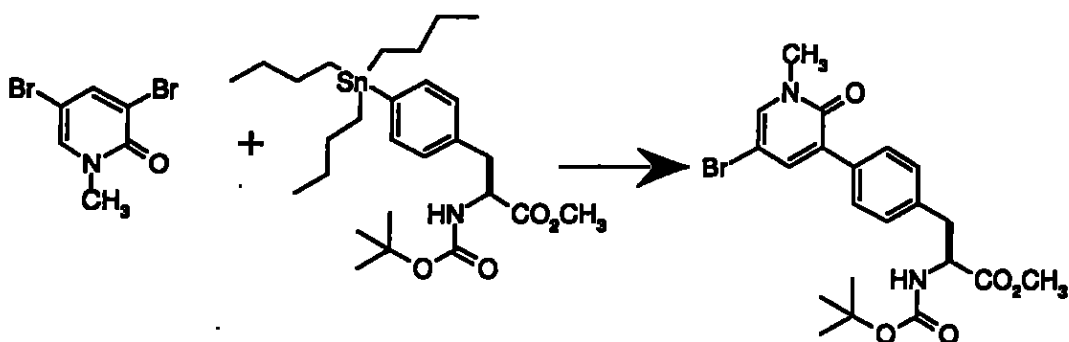
Se trata una solución de éster metílico de la N-

[(2-bromo-5-metoxifenil)carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (52 mg, 0,104 mmoles) en THF (3 ml) con una solución de hidróxido de litio monohidratado (20 mg, 0,47 mmoles) en agua (1,0 ml). Se agrega metanol (0,5 ml) para lograr una solución transparente y se agita la mezcla reaccionante durante 18 h. Se añade ácido acético (0,5 ml) y se introduce la totalidad de la mezcla reaccionante en una columna HPLC de fase inversa del tipo C-18 de 4 x 30 cm y se eluye con un gradiente de acetonitrilo en agua del 5 al 95 % durante 35 min. Se liofiliza la fracción que contiene producto, obteniéndose la N-[(2-bromo-5-metoxifenil)carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (39 mg, 78 %) en forma de sólido blanco. EM-AR: peso hallado 485,0703, calculado 485,0712 (M+H).

Ejemplo 2b

Éster metílico de la 4-(5-bromo-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-L-fenilalanina

20



25

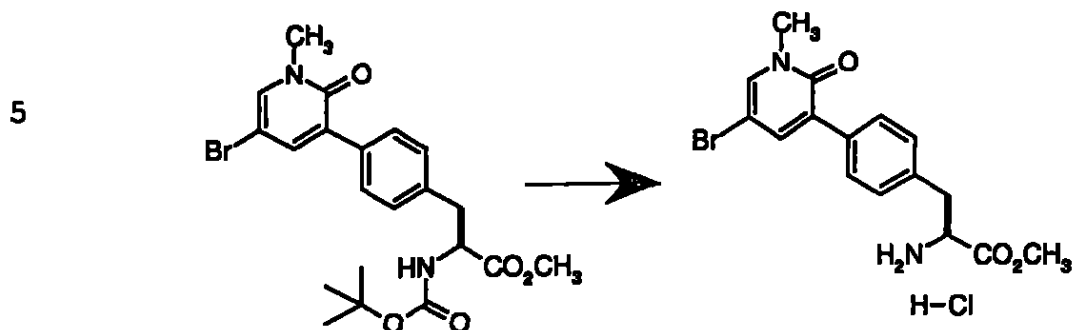
Se desoxigena una solución de 3,5-dibromo-1-metil-

-75-

2-piridona (267 mg, 1,0 mmoles) y de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-[(tributilestannil)]-L-fenilalanina (568 mg, 1,0 mmoles) en DMF (7 ml) alternando la congelación de la mezcla en un baño de nitrógeno líquido con vacío y la descongelación en atmósfera de argón (3 veces). Se añade el dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (80 mg, 0,11 mmoles) y se calienta la mezcla reaccionante a 90°C durante 3 h hasta que el color vira a negro. La CCF indica que la reacción no se ha completado, se añade una porción adicional de 40 mg de catalizador y se prosigue el calentamiento durante 4 h. Se enfría la mezcla, se diluye con diclorometano (40 ml) y se filtra a través de un lecho de Celite. Se concentra el líquido filtrado por evaporación a sequedad y se disuelve el residuo en acetato de etilo (30 ml). Se lava la solución con agua (1 vez con 10 ml), fluoruro potásico del 5 % (2 veces con 10 ml cada vez) y salmuera (1 vez con 5 ml) y se seca (MgSO₄). Se cromatografía el residuo resultante a través de 45 g de gel de sílice, empleando como eluyente una mezcla de acetato de etilo/hexano 3:7, obteniéndose el éster metílico de la 4-(5-bromo-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-L-fenilalanina (140 mg, 30 %). EM-FAB: 465 (M+H (1 Br)).

25 Ejemplo 26

Clorhidrato del éster metílico de la 4-(5-bromo-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

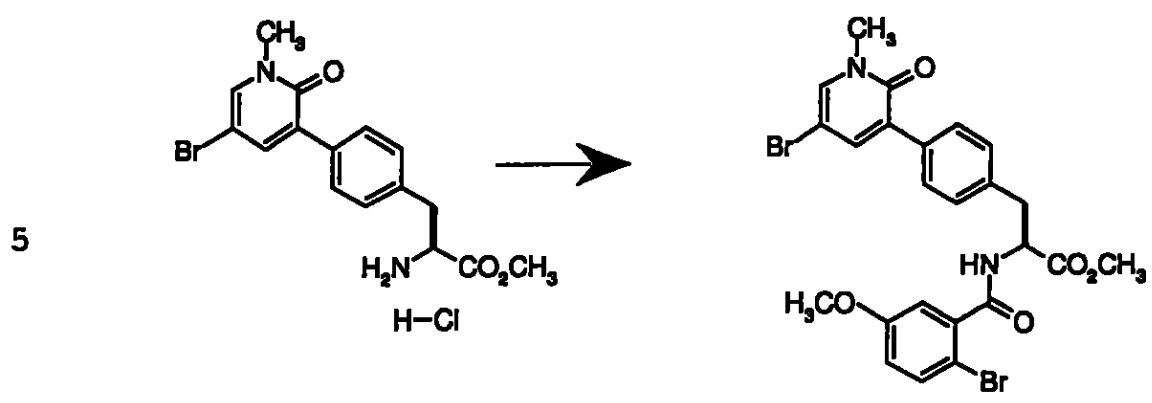


10

Se agita durante 2 h una solución de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-(5-bromo-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (135 mg, 0,29 mmoles) en HCl 4N en dioxano (5 ml) y se concentra. Se tritura el residuo con varias porciones de éter, obteniéndose el clorhidrato del éster metílico de la 4-(5-bromo-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (120 mg, rendimiento cuantitativo), en forma de polvo blanco. EM-LR-electro-spray: m/z ion positivo 729 (2M+H, (2 Br)), 406 (M+H+CH₃CN), 397 (M+H+CH₃CN (1 Br)), 365 (M+H (1 Br)). EM-AR: peso hallado 365,0504, calculado 365,0501 (M+H).

Ejemplo 27

Éster metílico de la N-[(2-bromo-5-metoxifenil)carbonil]-4-(5-bromo-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

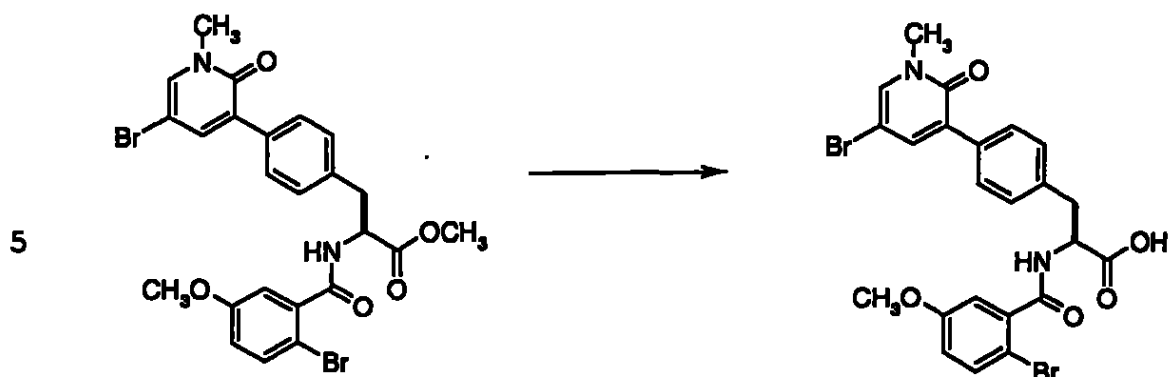


Se agita a temperatura ambiente durante 18 h una
10 solución de clorhidrato del éster metílico de la 4-(5-bromo-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (120 mg, 0,30 mmoles), ácido 2-bromo-5-metoxibenzoico (82 mg, 0,36 mmoles), DIEA (260 µl, 1,5 mmoles) y HBTU (157 mg, 0,41 mmoles) en DMF (4 ml). Se concentra la mezcla, se
15 disuelve el residuo en acetato de etilo (15 ml), se lava con HCl 0,5 N (1 vez con 5 ml), NaHCO₃ sat. (1 vez con 5 ml), salmuera (1 vez con 5 ml) y se seca (MgSO₄). Se concentra por evaporación, se cromatografía el residuo (180 mg) a través de 25 g de gel de sílice, utilizando
20 como eluyente una mezcla 3:1 de acetato de etilo:hexano, de este modo se obtiene el éster metílico de la N-[(2-bromo-5-metoxifenil)carbonil]-4-(5-bromo-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (130 mg, 76 %). EM-AR: peso hallado 576,9959, calculado 576,9973 (M+H).

25 Ejemplo 28

N-[(2-bromo-5-metoxifenil)carbonil]-4-(5-bromo-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

-78-

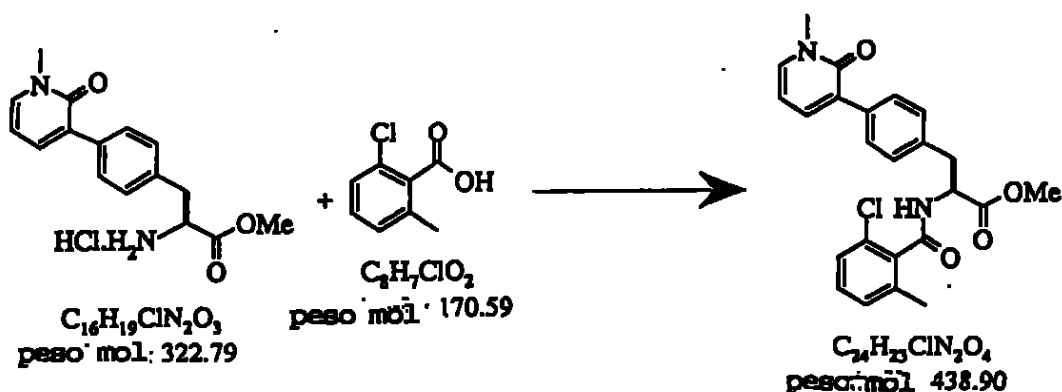


Se trata una solución de éster metílico de la N-
 10 [(2-bromo-5-metoxifenil)carbonil]-4-(5-bromo-1-metil-2-
 oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (29 mg, 0,05 mmoles) en
 THF (3 ml) con una solución de hidróxido de litio mono-
 hidratado (20 mg, 0,47 mmoles) en agua (1,0 ml). Se
 agrega metanol (0,5 ml) para lograr una solución trans-
 15 parente y se agita la mezcla reaccionante durante 18 h.
 Se añade ácido acético (0,5 ml) y se introduce la tota-
 lidad de la mezcla reaccionante en una columna HPLC de
 fase inversa del tipo C-18 de 4 x 30 cm y se eluye con
 un gradiente de acetonitrilo en agua del 5 al 95 % du-
 20 rante 35 min. Se liofiliza la fracción que contiene pro-
 ducto, obteniéndose la N-[(2-bromo-5-metoxifenil)carbo-
 nil]-4-(5-bromo-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalani-
 na (22 mg, 79 %) en forma de sólido blanco. EM-AR: peso
 hallado 562,9814, calculado 562,9817 (M+H).

25 Ejemplo 29

Obtención del éster metílico de la N-[(2-cloro-6-
 metilfenil)carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fe-
 nilalanina

-79-



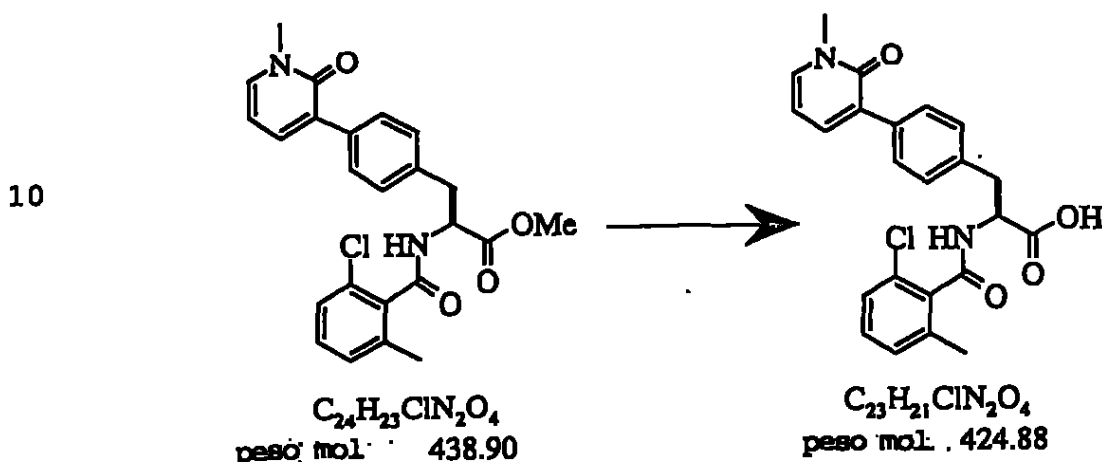
- 10 A una suspensión de sal clorhidrato del éster metílico de la 4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (101 mg, 0,313 mmoles), ácido 2-cloro-6-metilbenzoico (60 mg, 0,35 mmoles) y HBTU (133 mg, 0,35 mmoles) en DMF (2 ml) se le añade a temperatura ambiente DIEA (122 μ l,
- 15 0,88 mmoles). Se agita la mezcla resultante durante 15 h. Se vierte la mezcla sobre agua (25 ml) y se extrae el compuesto orgánico con acetato de etilo (2 veces con 15 ml cada vez). Se reúnen los extractos de acetato de etilo, se lavan sucesivamente con HCl 0,5 N (25 ml), solución saturada de NaHCO_3 (25 ml), solución de salmuera (25 ml) y se seca con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, obteniéndose un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice empleando
- 20 para ello una columna Biotage (40s), de este modo se obtienen 122 mg (rendimiento del 88 %) del éster metílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina en forma de sólido amor-
- 25

-80-

fo de color blanco. El EM-AR-FAB m/e calculado del $C_{24}H_{23}ClN_2O_4$ (M+H) es de 439,1425, el hallado es de 439,1414.

Ejemplo 30

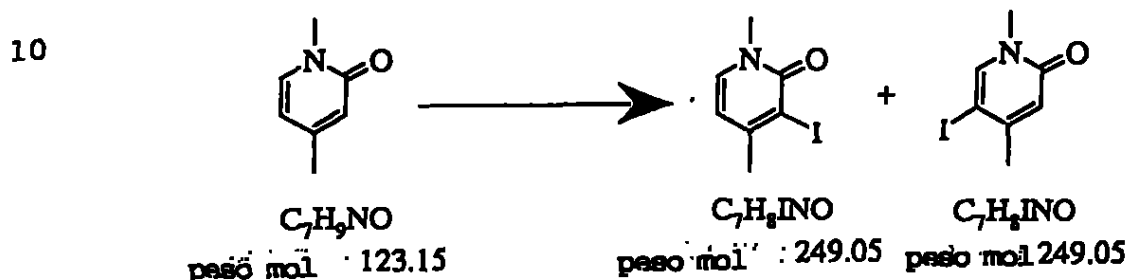
- 5 Obtención de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina



- 15 A una suspensión de éster metílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (118 mg, 0,269 mmoles) en etanol (6 ml) se le añade a temperatura ambiente hidróxido sódico 1N en agua (4 ml). Se calienta la mezcla a 50°C y se agita
- 20 2 h. Se elimina el etanol con vacío y se diluye el residuo con agua (25 ml). Se lava la solución acuosa con éter de dietilo (25 ml) para eliminar cualquier impureza neutra. Se acidifica la fase acuosa con HCl 1,0 N y se extrae el producto con acetato de etilo (2 veces con 25
- 25 ml cada vez). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con solución de salmuera (50 ml) y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el agente secante y se concentra el líquido filtrado, resultando 81 mg (rendi-

purifica por cromatografía a través de gel de sílice en una columna Biotage (40m), resultando 2,5 g (rendimiento del 44 %) de la 1,4-dimetil-2(1H)-piridona en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-FAB m/e calculado del C_7H_9NO (M+H) es de 123,0241, el hallado es de 123,0241.

b) Obtención de la 1,4-dimetil-3-yodo-2(1H)-piridona y de la 1,4-dimetil-5-yodo-2(1H)-piridona



15 Se calienta a ebullición con reflujo durante 5 min una mezcla reaccionante que contiene 1,4-dimetil-2-piridona (2,46 g, 20 mmoles), ácido trifluoracético (31 ml) y anhídrido trifluoracético (6,25 ml). Se añade NIS (5,62 g, 25 mmoles) y se agita la mezcla reaccionante

20 durante 15 h. Se enfría la mezcla reaccionante a temperatura ambiente y se elimina el disolvente con vacío. Se diluye el residuo con acetato de etilo (100 ml) y se recoge por filtración el sólido blanco que se forma. Se lava el líquido filtrado con una solución saturada de

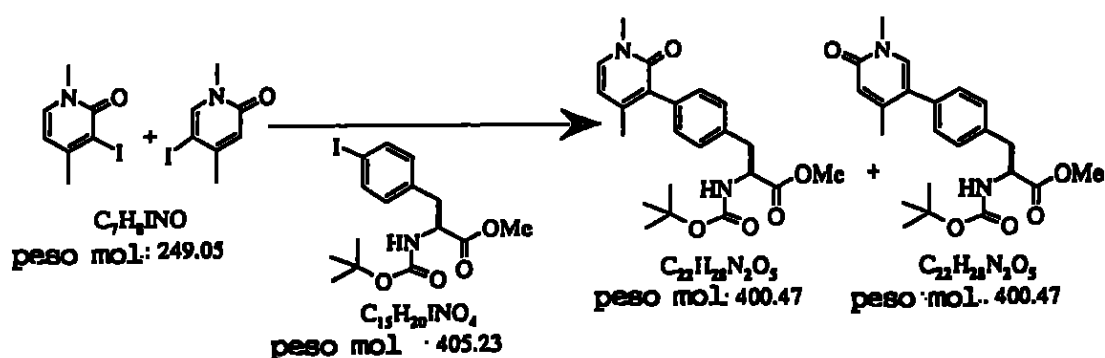
25 bicarbonato sódico (2 veces con 100 ml cada vez), una solución de salmuera (100 ml) y se seca con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, obteniéndose un producto en

-83-

bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice en una columna Biotage (40m), resultando 0,92 g (rendimiento del 5 %) de una mezcla ~ 1:1 de 1,4-dimetil-3-yodo-2(1H)-piridona y 1,4-dimetil-5-yodo-2(1H)-piridona que se utiliza directamente para la etapa siguiente. RMN- ^1H (300 MHz, D6-DMSO, ppm) 8,06 (s, 1H), 7,6 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz), 6,4 (s, 1H), 6,2 (d, 1H, $J = 5,5$ Hz), 3,4 (s, 3H), 3,3 (s, 3H), 2,3 (s, 3H), 2,15 (s, 3H).

c) Obtención del éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina y del éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-5-piridinil)-L-fenilalanina

15



20

A una suspensión de cinc en polvo (0,66 g, 10 mmol) en THF (1,0 ml) se le añade a temperatura ambiente 1,2-dibromoetano (86 μl , 1 mmol). Se calienta esta suspensión a 60-65°C con un calentador tipo pistola hasta que cesa el desprendimiento de gas etileno. Se enfría la suspensión a temperatura ambiente, se añade trimetilclorosilano (0,126 ml, 1 mmol) y se agita la mezcla durante

-84-

15 min. Se calienta una suspensión de 1,4-dimetil-3-yodo-2(1H)-piridona y 1,4-dimetil-5-yodo-2(1H)-piridona (0,92 g, 3,69 mmoles) en DMA (3 ml) para obtener una solución transparente y se añade de una sola vez a la mezcla reaccionante. Una vez finalizada la adición se calienta la mezcla a 70°C y se agita durante 15 h, entonces la CCF de una parte alícuota que se ha extinguido con una solución saturada de cloruro amónico indica que ya no existe material de partida. Se diluye la mezcla reaccionante con THF (4 ml) y se enfría a temperatura ambiente. Se deja sedimentar el exceso de cinc en polvo hasta lograr un líquido sobrenadante transparente (~3 h).

Se añade a temperatura ambiente esta solución que contiene el compuesto de cinc (3,69 mmoles) a una solución de Pd(dba)₂ (54 g, 0,1 mmoles), trifurilfosfina (102 mg, 0,4 mmoles) y éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-yodo-L-fenilalanina (1,01 g, 2,5 mmoles) en THF (4 ml) y se agita la mezcla de color amarillo claro resultante a 50°C durante 15 h. Se vierte la mezcla reaccionante sobre una solución saturada de cloruro amónico y se extrae con acetato de etilo (3 veces con 50 ml cada vez). Se reúnen los extractos, se lavan con una solución de salmuera (150 ml) y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, resultando un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice empleando para ello una columna

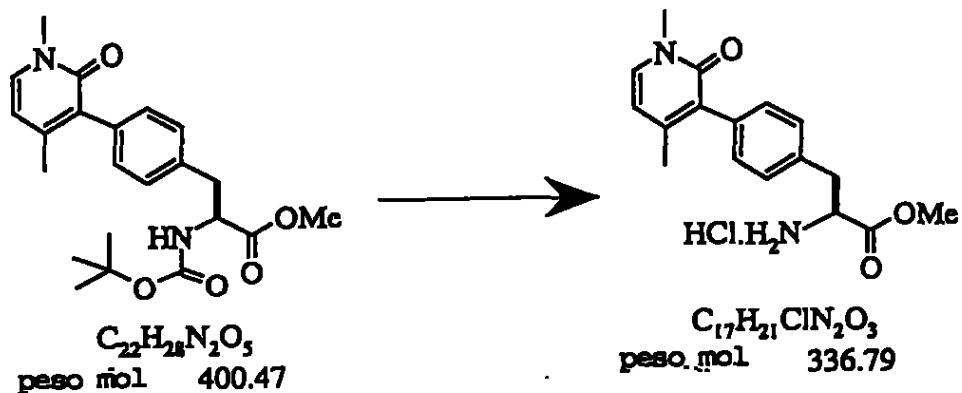
-85-

Biotage (40m), de este modo se obtienen 0,141 g (rendimiento del 14 %) de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{22}H_{28}N_2O_5$ (M+Na) es de 423,1890, el hallado es de 423,1894 y 0,350 g (rendimiento del 35 %) de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-5-piridinil)-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{22}H_{28}N_2O_5$ (M+Na) es de 423,1890, el hallado es de 423,1897.

d) Obtención de la sal clorhidrato del éster metílico de la 4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

15

20



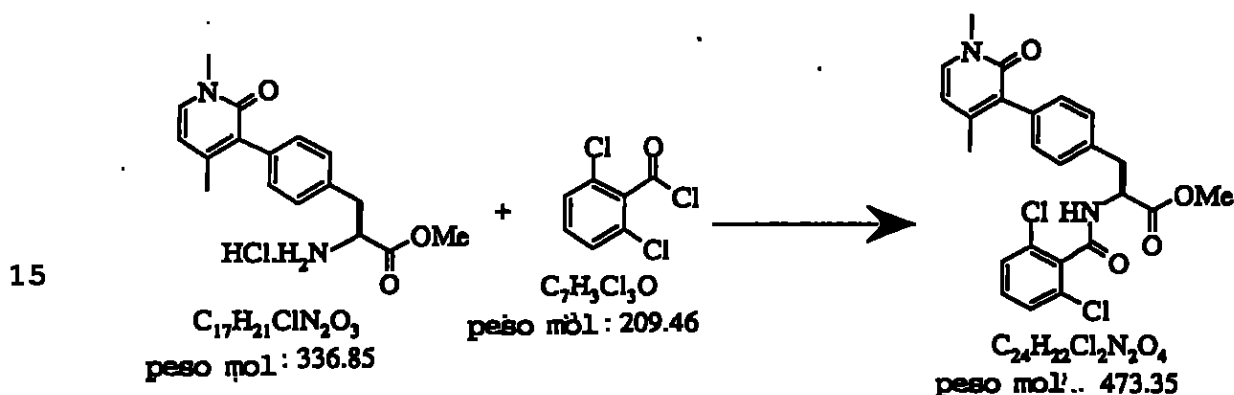
A una solución de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (132 mg, 0,33 mmoles) en dioxano (1 ml) se le añade a temperatura ambiente una solución de HCl 4N en dioxano (1,5 ml). Se agita la solución durante 4 h y se concentra con vacío. Se disuelve el residuo en me-

-86-

tanol (5 ml) y tolueno (5 ml) y se concentra con vacío, obteniéndose 111 mg (rendimiento del 99 %) de la sal clorhidrato del éster metílico de la 4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-EI m/e calculado del $C_{17}H_{20}N_2O_3$ (M^+) es de 300,1474, el hallado es de 300,1486.

e) Obtención del éster metílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

10



A una suspensión de sal clorhidrato del éster metílico de la 4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (34 mg, 0,1 mmoles) y cloruro de 2,6-diclorobenzoylo (25 mg, 0,12 mmoles) en diclorometano (2 ml) se añade a temperatura ambiente DIEA (174 μ l, 1,0 mmoles). Pasados 5 min se obtiene una solución transparente que se agita durante 72 horas. Se concentra la mezcla, se disuelve el residuo con acetato de etilo (25 ml), se lava con ácido clorhídrico 0,5N (25 ml), solución saturada de $NaHCO_3$ (25 ml) y una solución de salmuera (15 ml) y se

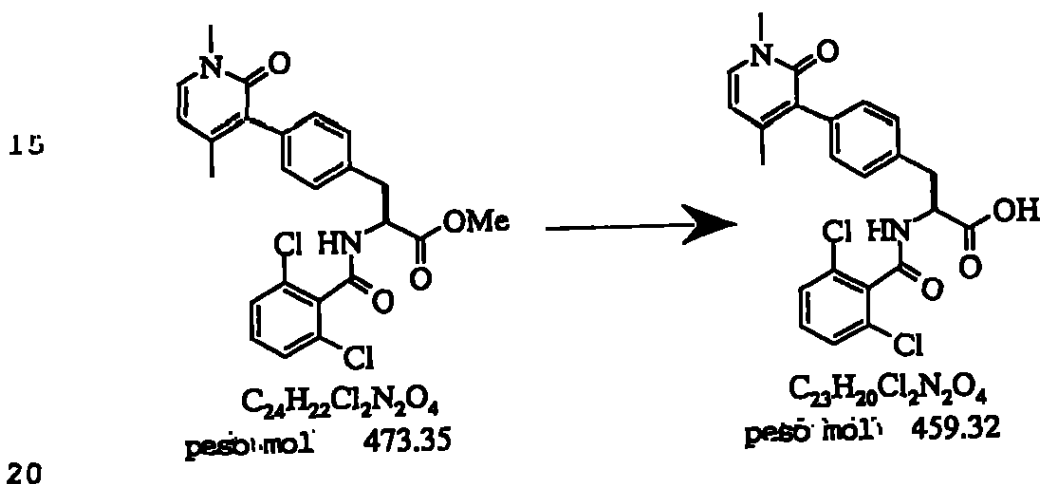
20

25

-87-

seca con sulfato magnésico. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, resultando un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice empleando para ello una columna Biotage (40s), de este modo se obtienen 23 mg (rendimiento del 49 %) de éster metílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{24}H_{22}Cl_2N_2O_4$ (M+Na) es de 495,0850 y el hallado es de 495,0859.

f) Obtención de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina



A una suspensión de éster metílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (20 mg, 0,04 mmoles) en etanol (1 ml) se le añade a temperatura ambiente una solución de hidróxido sódico 1N en agua (0,5 ml). Se calienta la mezcla a 40-45°C y se agita 3 h. Se elimina el etanol con vacío y se diluye el residuo con agua (10 ml). Se lava la solución acuosa con éter de dietilo (25 ml) para

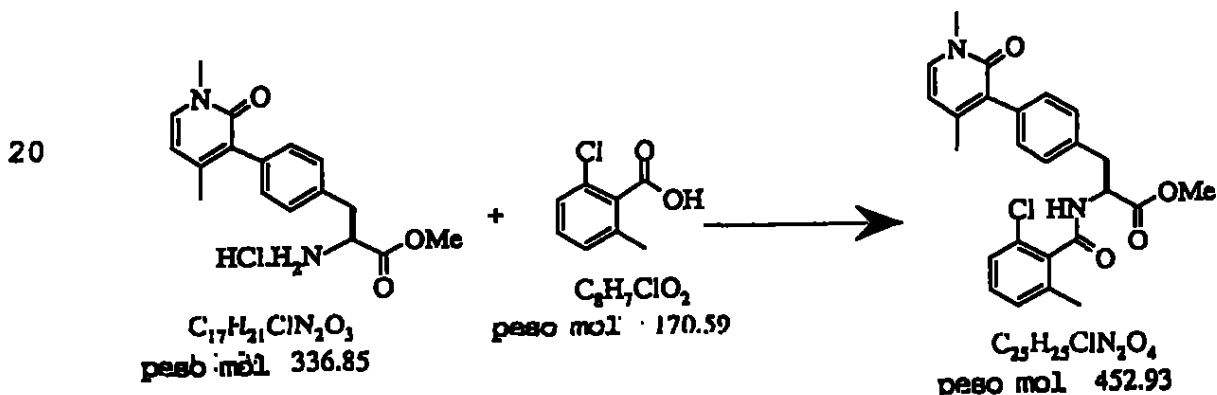
-88-

eliminar cualquier impureza neutra. Se acidifica la fase acuosa con HCl 1,0 N y se extrae el producto con acetato de etilo (2 veces con 25 ml cada vez). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con solución de salmuera (50 ml) y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el agente secante y se concentra el líquido filtrado, resultando 17 mg (rendimiento del 89 %) de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{23}H_{20}Cl_2N_2O_4$ (M+Na) es de 481,0691, el hallado es de 481,0699.

Ejemplo 32

Obtención de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

a) Obtención del éster metílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina

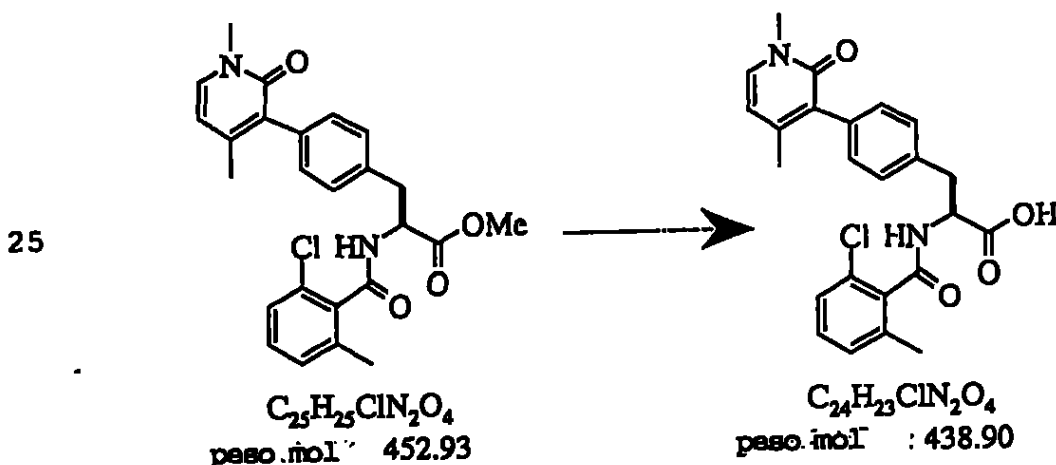


25 A una suspensión de sal clorhidrato del éster metílico de la 4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (68 mg, 0,2 mmoles), ácido 2-cloro-6-metilbenzoico (45 mg, 0,25 mmoles) y HBTU (95 mg, 0,25 mmoles) en DMF

-89-

(1,5 ml) se le añade a temperatura ambiente DIEA (174 μ l, 1,0 mmoles). Se agita la mezcla resultante durante 72 h, se vierte la mezcla sobre agua (25 ml) y se extrae el compuesto orgánico con acetato de etilo (2 veces con 15 ml cada vez). Se reúnen los extractos de acetato de etilo, se lavan sucesivamente con HCl 0,5 N (25 ml), solución saturada de NaHCO₃ (25 ml), solución de salmuera (25 ml) y se seca con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, obteniéndose un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice empleando para ello una columna Biotage (40s), de este modo se obtienen 24 mg (rendimiento del 27 %) del éster metílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina en forma de sólido amorfo de color blanco. El EM-AR-ES m/e calculado del C₂₅H₂₅ClN₂O₄ (M+Na) es de 475,1395, el hallado es de 475,1400.

b) Obtención de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina



-90-

A una suspensión de éster metílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina (22 mg, 0,048 mmoles) en etanol (1 ml) se le añade a temperatura ambiente una solución de

5 hidróxido sódico 1N en agua (0,5 ml). Se calienta la mezcla resultante a 40-45°C y se agita durante 2 h. Se elimina el etanol con vacío y se diluye el residuo con agua (25 ml). Se lava la solución acuosa con éter de di-

etilo (25 ml) para eliminar cualquier impureza neutra.

10 Se acidifica la fase acuosa con HCl 1,0 N y se extrae el producto con acetato de etilo (2 veces con 25 ml cada vez). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con solución de salmuera (50 ml) y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el agente secante y se concen-

15 tra el líquido filtrado, obteniéndose 18 mg (rendimiento del 86 %) de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{24}H_{23}ClN_2O_4$ (M+H) es de 439,1419, el hallado es de

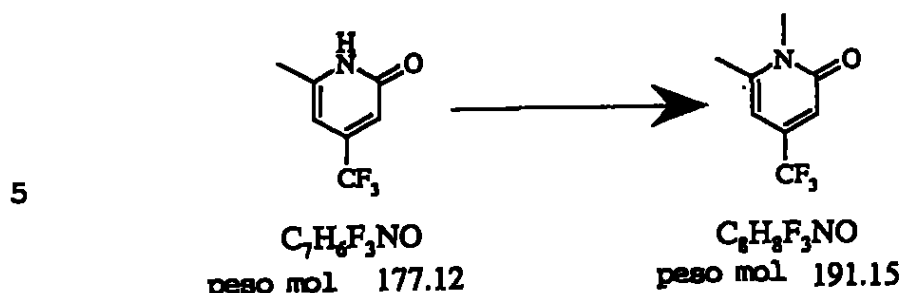
20 439,1425.

Ejemplo 33

Obtención de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

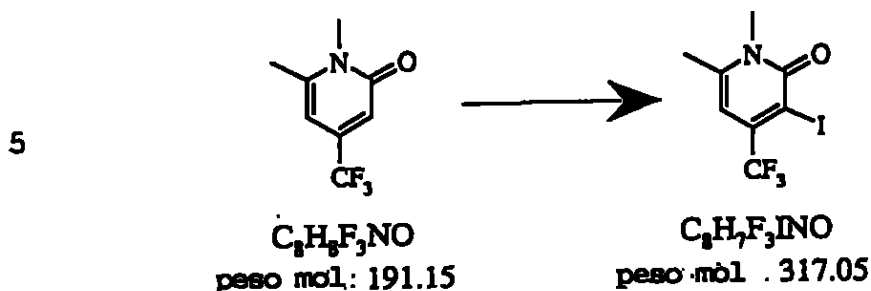
25 a) Obtención de la 1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-piridona

-91-



A una suspensión de 6-metil-4-(trifluormetil)-1H-2-
 10 piridona (2 g, 11,25 mmoles) y carbonato potásico (4,68
 g, 33,9 mmoles) en DME (25 ml) se le añade a temperatura
 ambiente yodometano (9,62 g, 67,8 mmoles) y se calienta
 la mezcla reaccionante a reflujo durante una noche. Se
 enfría la mezcla reaccionante a temperatura ambiente, se
 15 vierte sobre agua (100 ml) y se extrae con acetato de
 etilo (3 veces con 100 ml cada vez). Se reúnen los ex-
 tractos, se lavan con una solución de salmuera (200 ml)
 y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el
 material secante y se concentra el líquido filtrado por
 20 evaporación del disolvente, obteniéndose un producto en
 bruto que se purifica por cromatografía a través de gel
 sílice en columna Biotage (40m), resultando 2,1 g (ren-
 dimiento del 97 %) de la 1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-
 2-piridona en forma de sólido blanco: p.f. 80-82°C. El
 25 EM-AR-EI m/e calculado de $\text{C}_8\text{H}_8\text{F}_3\text{NO}$ (M^+) es de 191,0558,
 el hallado es de 191,0559.

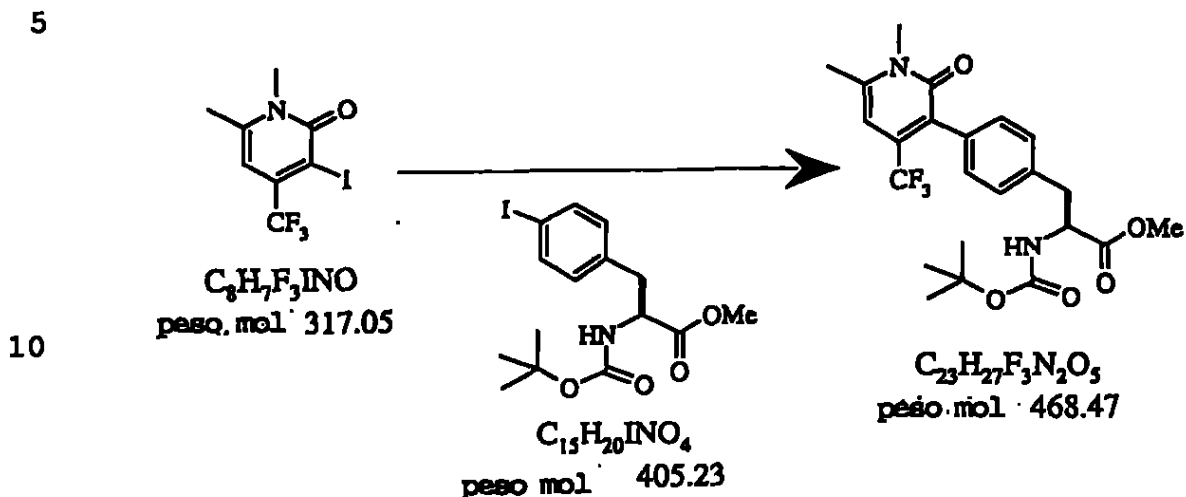
b) Obtención de la 1,6-dimetil-3-yodo-4-(trifluor-
 metil)-2-piridona



Se calienta a ebullición con reflujo durante 5 min una mezcla que contiene 1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-piridona (2,1 g, 10,98 mmoles), ácido trifluoracético (18 ml) y anhídrido trifluoracético (3,5 ml). Se añade NIS (3,15 g, 14 mmoles) y se agita la mezcla reaccionante durante 15 h. Se enfría la mezcla reaccionante a temperatura ambiente y se elimina el disolvente con vacío. Se diluye el residuo con acetato de etilo (100 ml) y se lava con una solución saturada de bicarbonato sódico (2 veces con 100 ml cada vez) y una solución de salmuera (100 ml) y se seca con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, obteniéndose un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice en una columna Biotage (40m), resultando 2,15 g (rendimiento del 62 %) de la 1,6-dimetil-3-yodo-4-(trifluormetil)-2-piridona en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-EI m/e. calculado de $\text{C}_8\text{H}_7\text{F}_3\text{INO}$ (M^+) es de 316,9524, el hallado es de 316,9527.

c) Obtención del éster metílico de la N-[(1,1-dime-

tiletoxil) carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



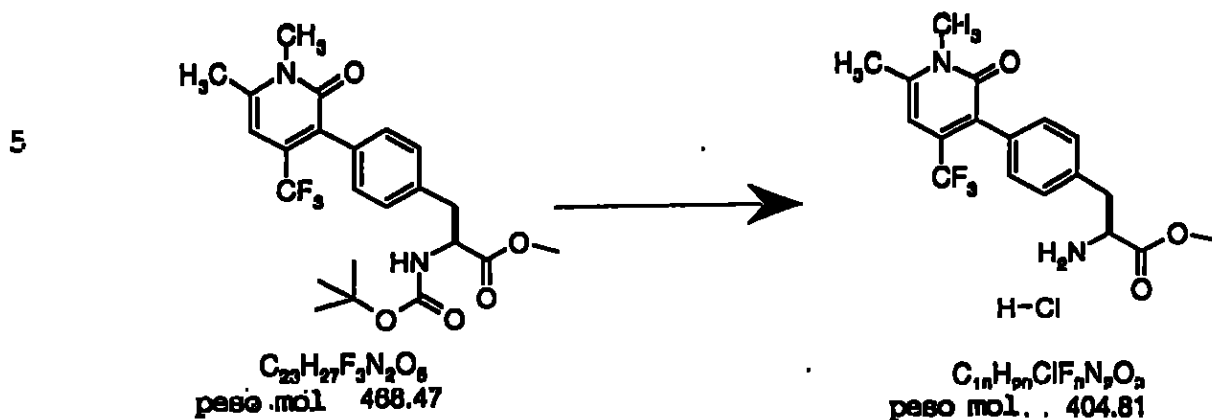
A una suspensión de cinc en polvo (1,96 g, 30 mmol) en THF (2,0 ml) se le añade a temperatura ambiente 1,2-dibromoetano (172 μ l, 2 mmol). Se calienta esta suspensión a 60-65°C con un calentador tipo pistola hasta que cesa el desprendimiento de gas etileno. Se enfría la suspensión a temperatura ambiente, se añade trimetilclorosilano (127 μ l, 1 mmol) y se agita la mezcla durante 15 min. Se calienta una suspensión de 1,6-dimetil-3-yodo-4-(trifluormetil)-2-piridona (2,15 g, 6,78 mmol) en DMA (6 ml) con un calentador tipo pistola para obtener una solución transparente y se añade de una sola vez a la mezcla reaccionante. Una vez finalizada la adición se calienta la mezcla a 70°C y se agita durante 15 h, entonces la CCF de una parte alícuota que se ha extinguido con una solución saturada de cloruro amónico indi-

-94-

ca la ausencia de material de partida. Se diluye la mezcla reaccionante con THF (6 ml) y se enfría a temperatura ambiente y se deja sedimentar el exceso de cinc en polvo.

5 Se añade a temperatura ambiente esta solución que contiene el compuesto de cinc (6,78 mmoles) a una solución de $\text{Pd}(\text{dba})_2$ (108 g, 0,2 mmoles), trifurilfosfina (204 mg, 0,8 mmoles) y éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoksi)carbonil]-4-yodo-L-fenilalanina (1,62 g, 4
10 mmoles) en THF (8 ml) y se agita la mezcla de color amarillo claro resultante a 50°C durante 15 h. Se vierte la mezcla reaccionante sobre una solución saturada de cloruro amónico y se extrae con acetato de etilo (3 veces con 70 ml cada vez). Se reúnen los extractos, se lavan
15 con una solución de salmuera (150 ml) y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, resultando un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice empleando para ello una columna
20 Biotage (40m), de este modo se obtienen 0,711 g (rendimiento del 38 %) de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoksi)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado del $\text{C}_{23}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_5$
25 (M+Na) es de 491,1764, el hallado es de 491,1770.

d) Obtención de la sal clorhidrato del éster metílico de la 4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



10

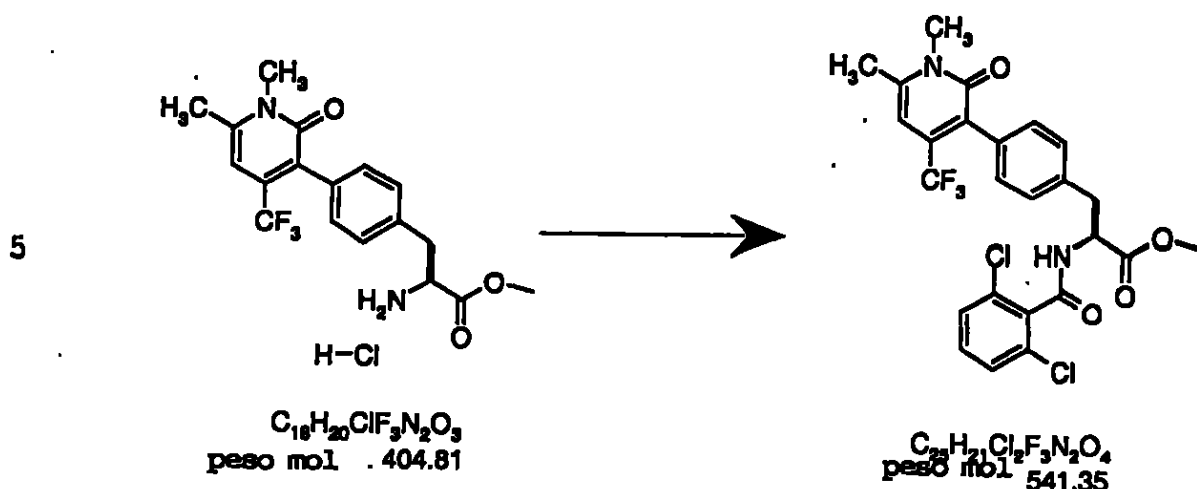
A una solución de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (132 mg, 0,33 mmoles) en dioxano (3 ml) se le añade a temperatura ambiente una

15 solución de HCl 4N en dioxano (4,5 ml). Se agita la solución durante 4 h hasta que se forma un sólido blanco. Se diluye con éter de dietilo (50 ml) y se recogen los sólidos por filtración, lavando con éter de dietilo. Se seca con alto vacío, obteniéndose 315 mg (rendimiento

20 del 92 %) de la sal clorhidrato del éster metílico de la 4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado del $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_3$ (M+Na) es de 391,1241, el hallado es de 391,1241.

25

e) Obtención del éster metílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



10 A una suspensión de sal clorhidrato del éster metílico de la 4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (150 mg, 0,37 mmoles) y cloruro de 2,6-diclorobenzoilo (85 mg, 0,4 mmoles) en diclorometano (6 ml) se añade a temperatura ambiente DIEA (257

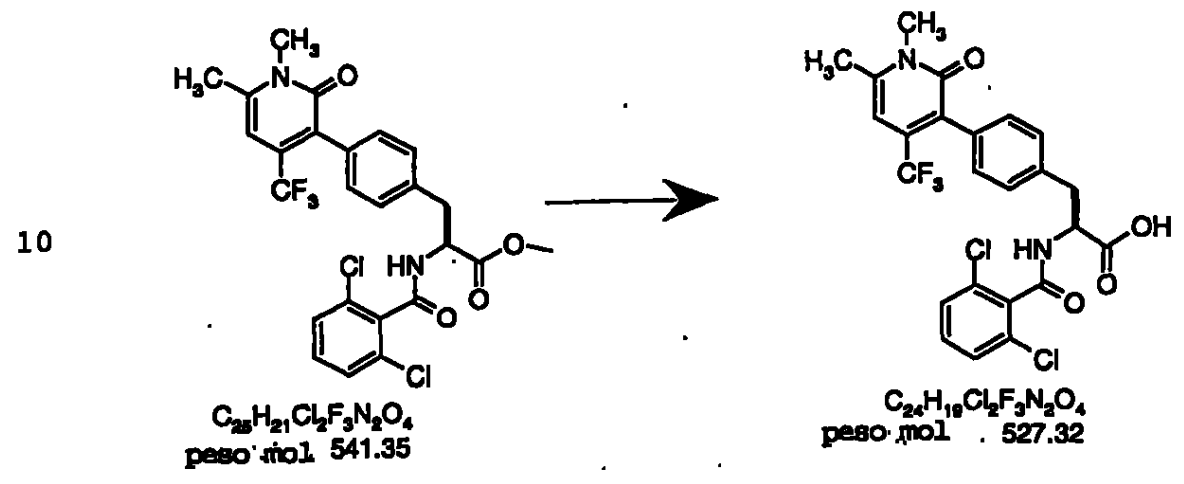
15 µl, 1,48 mmoles). Pasados 5 min se obtiene una solución transparente que se agita durante 48 h. Se concentra la mezcla, se disuelve el residuo con acetato de etilo (50 ml), se lava con ácido clorhídrico 0,5N (50 ml), solución saturada de NaHCO₃ (50 ml) y una solución de sal-

20 muera (50 ml) y se seca con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, resultando un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice empleando para ello una columna Biotage (40m), de este modo se ob-

25 tienen 190 mg (rendimiento del 95 %) de éster metílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado

del $C_{25}H_{21}Cl_2F_3N_2O_4$ (M+Na) es de 563,0724 y el hallado es de 563,0726.

f) Obtención de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



15 A una suspensión de éster metílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (177 mg, 0,326 mmoles) en etanol (6 ml) se le añade a temperatura ambiente una solución de hidróxido sódico 1N en agua (4 ml). Se agita

20 la mezcla durante 5 h. Se elimina el etanol con vacío y se diluye el residuo con agua (20 ml). Se lava la solución acuosa con éter de dietilo (50 ml) para eliminar cualquier impureza neutra. Se acidifica la fase acuosa con HCl 1,0 N y se extrae el producto con acetato de

25 etilo (2 veces con 50 ml cada vez). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con solución de salmuera (50 ml) y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el agente secante y se concentra el líquido filtrado,

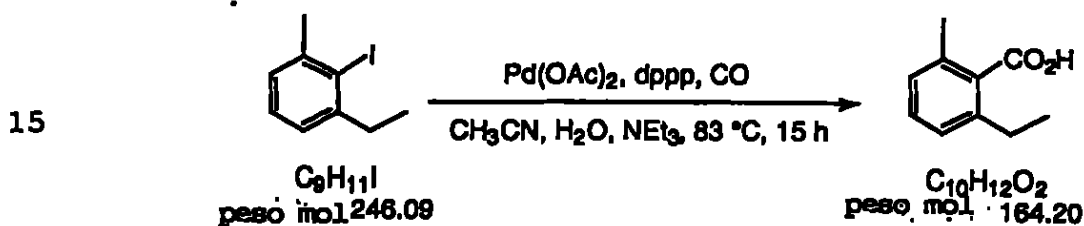
-98-

resultando 159 mg (rendimiento del 92 %) de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido blanco, p.f. 238-240°C. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{24}H_{19}Cl_2F_3N_2O_4$ (M+Na) es de 549,0567, el hallado es de 549,0570.

Ejemplo 34

Obtención de la N-[(2-etil-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

a) Obtención del ácido 2-etil-6-metilbenzoico

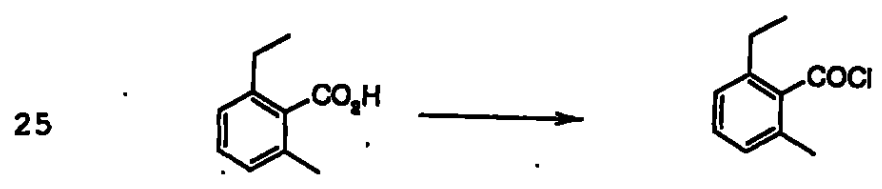


20 Se introduce en un frasco de presión de 250 ml 2-etil-6-yodobenceno (30,07 mmoles, 7,4 g), Pd(OAc)_2 (1,43 mmoles, 334 mg) y dppp (1,43 mmoles, 620 mg). Se cierra el frasco con un tapón de caucho y se lava tres veces con argón practicando el vacío. Se añaden sucesivamente

25 mediante una jeringuilla acetonitrilo (96 ml), trietilamina (189 mmoles, 19,0 g, 26,25 ml) y agua (19,1 ml) y se sustituye el tapón de caucho por un tapón revestido de teflón, conectado a una fuente de monóxido de carbono.

no. Se introduce en el frasco monóxido de carbono a presión (40 psi) y se suelta el exceso de presión. Se repite el proceso tres veces y para terminar se agita la mezcla durante 5 min con una presión de monóxido de carbono de 40 psi. Se desconecta el frasco de la botella de monóxido de carbono y se sumerge en un baño de aceite precalentado (83-85°C). El color de la mezcla reaccionante vira a negro durante 1 h y se agita durante otras 14 h a la misma temperatura. A continuación se enfría la mezcla a temperatura ambiente y se suelta la presión. Se diluye la mezcla resultante con éter (200 ml) y NaOH 1,0N (20 ml). Se extra el ácido formado con agua (2 veces con 100 ml cada vez). Se reúnen los extractos, se neutralizan con HCl 1,0N y se extrae el ácido con diclorometano (3 veces con 100 ml cada vez). Se reúnen los extractos de diclorometano, se lavan con una solución de salmuera y se secan con MgSO₄. Se filtra el material secante y se elimina el disolvente con vacío, obteniéndose 3,58 g (72,5 %) de un aceite pardo viscoso que solidifica lentamente durante una noche. EM-AR: peso hallado 164,0833, calculado 164,0837 (M+).

b) Obtención del cloruro de 2-etil-6-metilbenzoílo



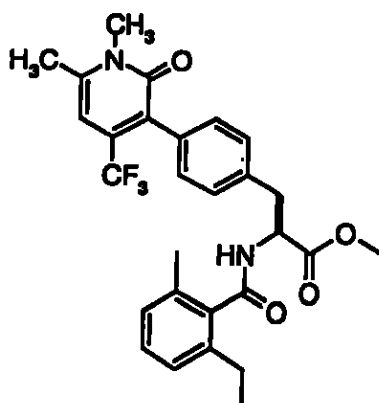
peso molecular = 182,65
fórmula condensada = C₁₀H₁₁ClO

-100-

Se trata una solución de ácido 2-etil-6-metilbenzoico (49 mg, 0,30 mmoles) en diclorometano (3 ml) que contiene DMF (1 gota) con cloruro de oxalilo (0,14 ml, 1,6 mmoles) y se agita la mezcla durante 15 h. Se concentra la mezcla, se eliminan las trazas de cloruro de oxalilo por destilación azeotrópica con tolueno y se utiliza el residuo directamente en la etapa siguiente.

c) Obtención del éster metílico de la N-[(2-etil-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

15



peso molecular = 514,54

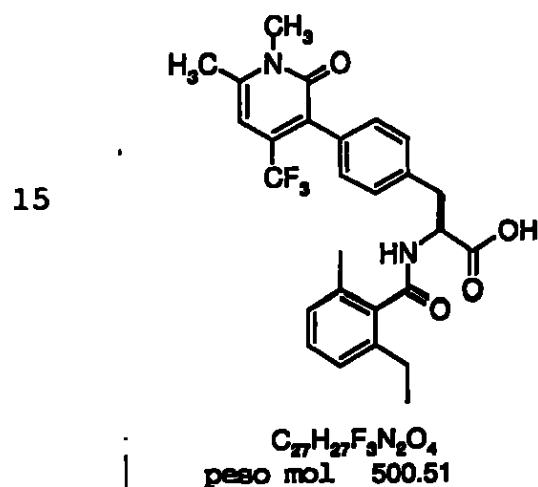
20 fórmula condensada = $C_{28}H_{29}F_3N_2O_4$

Se trata una mezcla del cloruro de ácido recién obtenido, 4-(1,6-dimetil-2-oxo-4-(trifluormetil)-3-piridinil)-L-fenilalanina (100 mg, 0,25 mmoles) en diclorometano (5 ml) con DIPEA (0,17 ml, 1,0 mmoles) y se agita durante 3 días la solución de color pardo claro resultante. Se concentra la mezcla, se diluye con acetato de etilo, se lava con HCl 1N y una solución de salmuera y se seca con sulfato magnésico. Se filtra y se concentra,

-101-

obteniéndose una residuo que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice en una columna Biotage (40s), resultando el éster metílico de la N-[(2-etil-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de espuma blanca (79 mg, 62 %). El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{28}H_{29}F_3N_2O_4$ (M+Na) es de 537,1974, el hallado es de 537,1972.

d) Obtención de la N-[(2-etil-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



Se calienta a 40-45°C durante 3 h una solución de éster metílico de la N-[(2-etil-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (74 mg, 0,14 mmoles) e hidróxido sódico 1N (2 ml, 2 mmoles) en etanol (3 ml). Se elimina el etanol con vacío y se diluye el residuo con agua. Se lava la solución acuosa con éter de dietilo para eliminar cualquier impureza neutra. Se acidifica la fase acuosa con

HCl 1,0 N y se extrae el producto con acetato de etilo. Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con solución de salmuera y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el agente secante y se concentra el líquido fil-
5 trado, resultando 68 mg (rendimiento del 95 %) de la N-[(2-etil-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (p.f. 219-221°C). El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{27}H_{27}F_3N_2O_4$ (M+Na) es de 523,1815, el hallado es de 523,1816.

10 Ejemplo 35

Obtención de la N-[(2-(1-metiletil)-6-metilfenil)-carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

a) Obtención del 2-(1-metiletil)-6-metilyodobenceno

15



20

peso molecular = 260,11

fórmula cond. = $C_{10}H_{13}I$

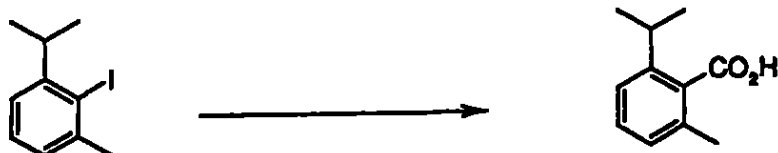
A una suspensión de 2-(1-metiletil)-6-metilanilina (15,57 mmoles, 14,9 g) en HCl conc. (50 ml) y 30 g de hielo se le añade por goteo durante 30 min una solución
25 de $NaNO_2$ (110 mmoles, 8 g) en H_2O (35 ml) a una temperatura entre -5°C y 5°C. Una vez terminada la adición se agita la solución de color rojo durante otros 30 min. A continuación se añade por goteo a 0-5°C durante 20 min ..

-103-

una solución de KI (200 mmoles, 33,2 g) en H₂O (50 ml). Después se deja calentar la mezcla a temperatura ambiente, en este período tiene lugar una reacción exotérmica con desprendimiento de gas. Se agita la solución resultante de color rojo durante 18 h. Se extrae la mezcla con acetato de etilo (3 veces con 100 ml cada vez). Se reúnen los extractos, se lavan con una solución de tiosulfato sódico (200 ml), una solución de salmuera y se secan con MgSO₄. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado por evaporación del disolvente con vacío, resultando un compuesto coloreado que se purifica por cromatografía de columna a través de gel de sílice, de este modo se obtiene el 2-(1-metiletil)-6-metilyodobenceno puro (17,8 g, 68 %) en forma de aceite amarillo. EM-AR, peso hallado 260,0063, peso calculado 260,0062 (M+).

b) Obtención del ácido 2-(1-metiletil)-6-metilbenzoico

20



25 peso molecular = 260,11

peso molecular = 178,23

fórmula cond. = C₁₀H₁₃Ifórmula cond. = C₁₁H₁₄O₂

Se introduce en un frasco de presión de 250 ml 2-(1-metiletil)-6-yodobenceno (25,2 mmoles, 6,55 g),

-104-

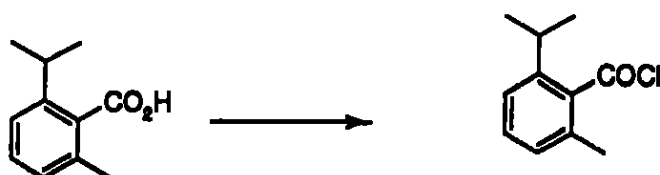
Pd(OAc)₂ (1,2 mmoles, 280 mg) y dppp (1,2 mmoles, 520 mg). Se cierra el frasco con un tapón de caucho y se lava tres veces con argón practicando el vacío. Se añaden sucesivamente mediante una jeringuilla acetonitrilo (96 ml), trietilamina (188,7 mmoles, 19,0 g, 26,25 ml) y agua (19,1 ml) y se sustituye el tapón de caucho por un tapón revestido de teflón, conectado a una fuente de monóxido de carbono. Se introduce en el frasco monóxido de carbono a presión (40 psi) y se suelta el exceso de presión. Se repite el proceso tres veces y para terminar se agita la mezcla durante 5 min con una presión de monóxido de carbono de 40 psi. Se desconecta el frasco de la botella de monóxido de carbono y se sumerge en un baño de aceite precalentado (83-85°C). El color de la mezcla reaccionante vira a negro durante 1 h y se agita durante otras 4 h a la misma temperatura. A continuación se enfría la mezcla a temperatura ambiente y se suelta la presión. Se diluye la mezcla resultante con éter (200 ml) y NaOH 1,0N (10 ml). Se extra el ácido formado con agua (2 veces con 100 ml cada vez). Se reúnen los extractos, se neutralizan con HCl 1,0N y se extrae el ácido con acetato de etilo (2 veces con 100 ml cada vez). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con una solución de salmuera y se secan con MgSO₄. Se filtra el material secante y se elimina el disolvente con vacío, obteniéndose 2,8 g (62 %) de un aceite amarillo viscoso. EM-AR: peso hallado 178,0996, calculado 178,0994 (M+).

c) Obtención del cloruro de 2-(1-metiletil)-6-me-

-105-

tilbenzoilo

5



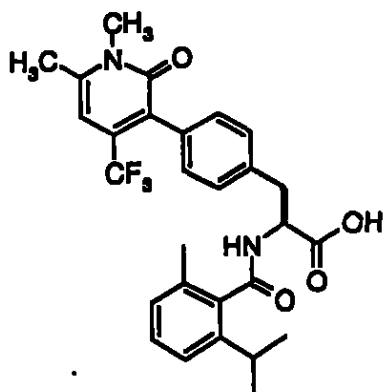
peso molecular = 196,68

fórmula condensada = $C_{11}H_{13}ClO$

Se trata una solución de ácido 2-(1-metiletil)-6-metilbenzoico (64 mg, 0,35 mmoles) en diclorometano (3 ml) que contiene DMF (2 gotas) con cloruro de oxalilo (0,16 ml, 1,8 mmoles) y se agita la mezcla durante 15 h. Se concentra la mezcla; se eliminan las trazas de cloruro de oxalilo por destilación azeotrópica con tolueno y se utiliza el residuo directamente en la etapa siguiente.

d) Obtención de la N-[(2-(1-metiletil)-6-metilfenil]carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

20



25

 $C_{28}H_{29}F_3N_2O_4$

peso molecular = 514,54

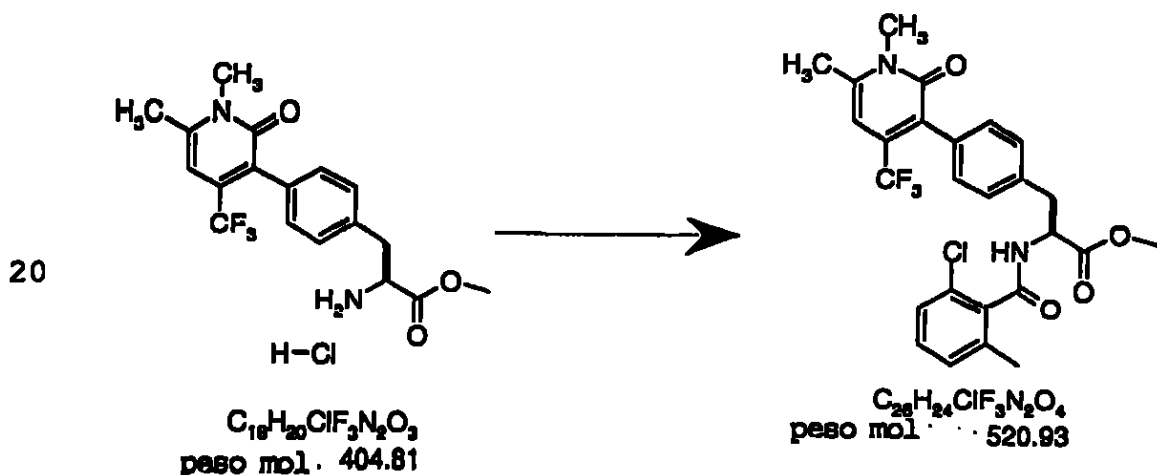
-106-

Se obtiene la N-[[2-(1-metiletil)-6-metilfenil]carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina a partir del éster metílico de la 4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina y del cloruro de 2-(1-metiletil)-6-metilbenzoico con arreglo a los métodos generales descritos en el ejemplo 33. El EM-AR-ES m/e calculado de $C_{28}H_{29}F_3N_2O_4$ (M+Na) es de 537,1972; el hallado es de 537,1977.

Ejemplo 36

Obtención de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

a) Obtención del éster metílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

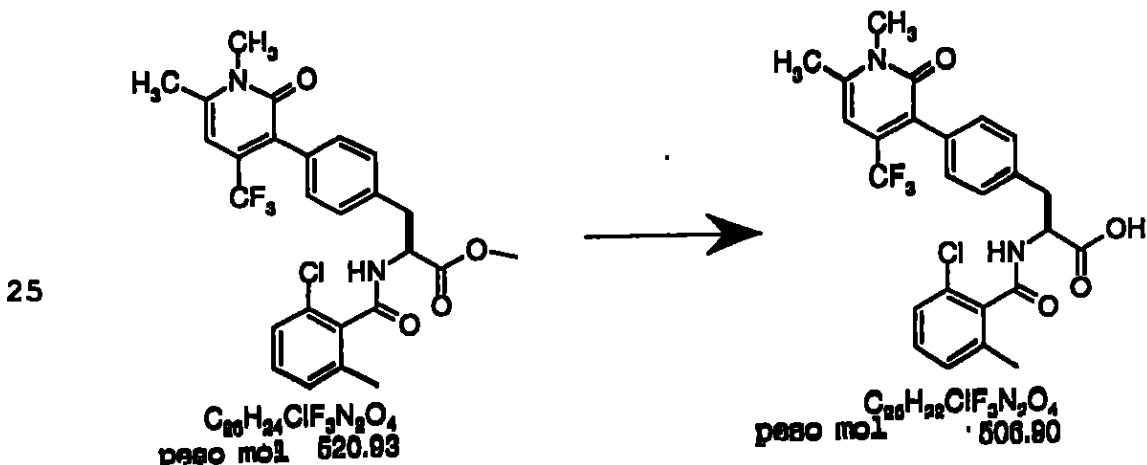


A una suspensión de sal clorhidrato del éster metílico de la 4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (100 mg, 0,25 mmoles), ácido 2-cloro-6-metilbenzoico (60 mg, 0,35 mmoles) y HBTU (132 mg, 0,35 mmoles) en DMF (2 ml) se le añade a temperatura

-107-

ambiente DIEA (174 μ l, 1,0 mmoles). Se agita la mezcla resultante durante 72 h, se vierte la mezcla sobre agua (25 ml) y se extrae con acetato de etilo (2 veces con 15 ml cada vez). Se reúnen los extractos de acetato de etilo, se lavan sucesivamente con HCl 0,5 N (25 ml), solución saturada de NaHCO_3 (25 ml), solución de salmuera (25 ml) y se seca con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, obteniéndose un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice empleando para ello una columna Biotage (40s), de este modo se obtienen 98 mg (rendimiento del 75 %) del éster metílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido amorfo de color blanco. El EM-AR-ES m/e calculado del $\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{ClF}_3\text{N}_2\text{O}_4$ (M+Na) es de 543,1268, el hallado es de 543,1275.

b) Obtención de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



-108-

A una suspensión de éster metílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (91 mg, 0,174 mmoles) en etanol (5 ml) se le añade a temperatura ambiente una solución de hidróxido sódico 1N en agua (4 ml). Se calienta la mezcla a 40-45°C y se agita 4 h. Se elimina el etanol con vacío y se diluye el residuo con agua (25 ml). Se lava la solución acuosa con éter de dietilo (25 ml) para eliminar cualquier impureza neutra.

10 Se acidifica la fase acuosa con HCl 1,0 N y se extrae con acetato de etilo (2 veces con 25 ml cada vez). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con solución de salmuera (50 ml) y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el agente secante y se concentra el líquido filtrado, resultando 71 mg (rendimiento del 80 %) de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina, en forma de sólido blanco, p.f. 220-223°C. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{25}H_{22}ClF_3N_2O_4$ (M+Na) es de 529,1111, el

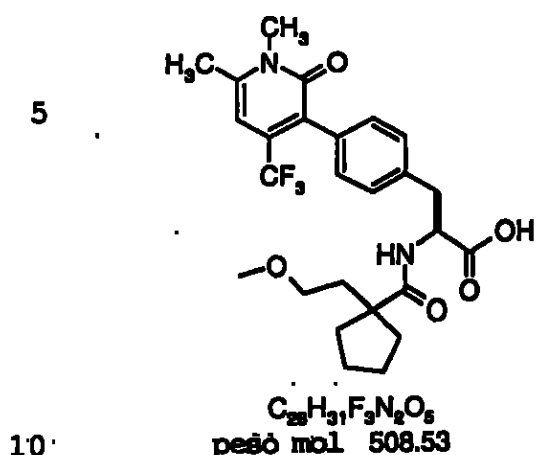
15

20 hallado es de 529,1119.

Ejemplo 37

Obtención de la N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]-carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

-109-

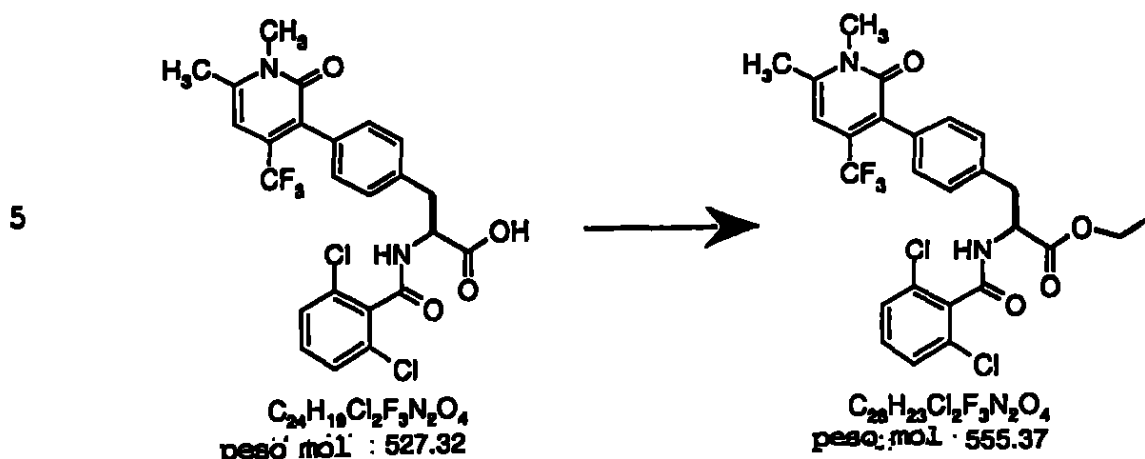


Se obtiene la N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]car-
bonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridi-
nil]-L-fenilalanina (p.f. 181-183°C) a partir del éster
15 metílico de la 4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-
piridinil]-L-fenilalanina y del ácido 1-(2-metoxietil)-
ciclopentanocarboxílico (obtenido por el método descrito
en WO-99/10313) con arreglo a los procedimientos genera-
les descritos en el ejemplo 36. El EM-AR-ES m/e cal-
20 culado del $C_{26}H_{31}F_3N_2O_5$ (M+Na) es de 531,2077, el halla-
do es de 531,2084.

Ejemplo 38

Obtención del éster etílico de la N-[(2,6-dicloro-
fenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-
25 3-piridinil]-L-fenilalanina

-110-



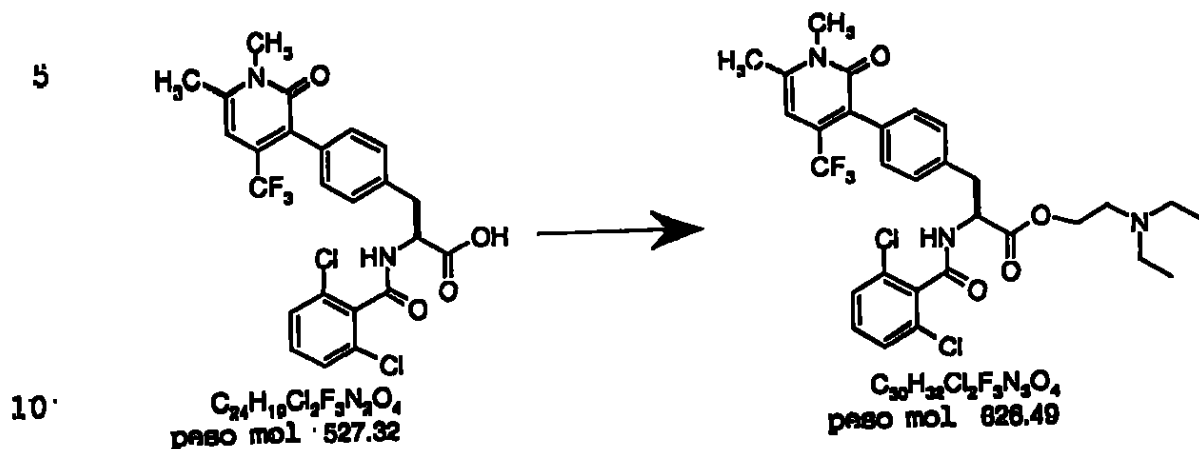
- 10 A una suspensión de N-[(2,6-diclorofenil)carbonyl]-
 4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-
 fenilalanina (145 mg, 0,275 mmoles), bicarbonato sódico
 (185 mg, 2,2 mmoles) en DMF (2 ml) se le añade a tempe-
 ratura ambiente yodoetano (343 mg, 2,2 mmoles). Se agita
 15 la mezcla a temperatura ambiente durante 72 h. Se vierte
 la mezcla reaccionante sobre agua (30 ml) se extrae con
 acetato de etilo (3 veces con 20 ml cada vez). Se reúnen
 los extractos orgánicos, se lavan con una solución de
 salmuera (60 ml) se secan con sulfato magnésico anhidro.
 20 Se filtra el material secante y se concentra el líquido
 filtrado, obteniéndose 129 mg (rendimiento del 85 %) del
 éster etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonyl]-4-
 [1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fe-
 nilalanina en forma de sólido blanco cristalino, p.f.
 25 86-91°C. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{26}H_{23}Cl_2F_3N_2O_4$
 (M+Na) es de 577,0876, el hallado es de 577,0887.

Ejemplo 39

Obtención del éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de

-111-

la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



A una mezcla de N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (145 mg, 0,275 mmoles), clorhidrato del cloruro de 2-dietilaminoetilo (487 mg, 2,75 mmoles) y carbonato potásico (380 mg, 2,7 mmoles) se le añade a temperatura ambiente acetato de etilo (3 ml) y agua (3 ml). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 72 h. Se vierte la mezcla reaccionante sobre una mezcla de agua (30 ml) y acetato de etilo (30 ml). Se separan las capas y se extrae la fase acuosa con acetato de etilo (2 veces con 20 ml cada vez). Se reúnen los extractos, se lavan con una solución de salmuera (60 ml) y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, resultando un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice en una columna Biotage (40s), de este modo se obtienen 122 mg (rendimiento del 71 %) del

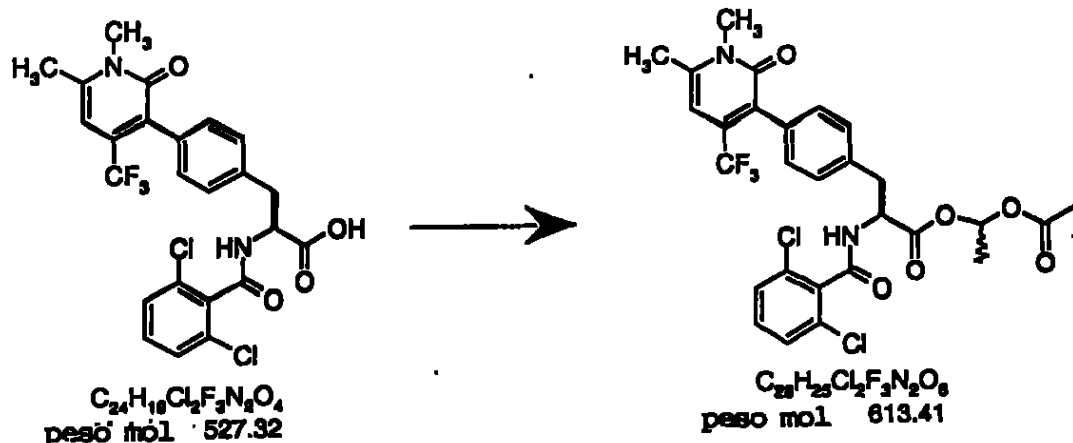
éster 2-[(N,N-dietil)amino]etilico de la N-[(2,6-dicloro-
rofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-
oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido blan-
co amorfo. El EM-AR-ES m/a calculado del $C_{30}H_{32}Cl_2F_3N_3O_4$
5 (M+H) es de 626,1796, el hallado es de 626,1802.

Ejemplo 40

Obtención del éster 1-(acetoxi)etilico de la N-
[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluor-
metil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

10

15



A una suspensión de N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-
20 4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-
fenilalanina (145 mg, 0,275 mmoles), bicarbonato sódico
(185 mg, 2,2 mmoles) en DMF (2 ml) se le añade a tempe-
ratura ambiente acetato de 1-cloroetilo (270 mg, 2,2
mmoles). Se agita la mezcla a temperatura ambiente du-
25 rante 48 h. Se vierte la mezcla reaccionante sobre agua
(30 ml) se extrae con acetato de etilo (3 veces con 20
ml cada vez). Se reúnen los extractos orgánicos, se la-
van con una solución de salmuera (60 ml) se secan con

-113-

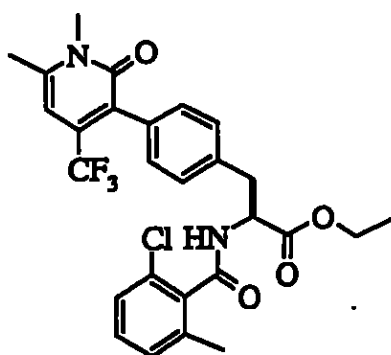
sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, resultando un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice en una columna Biotage (40s), obteniéndose 110 mg (rendimiento del 65 %) del éster 1-(acetoxi)etilico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{28}H_{25}Cl_2F_3N_2O_6$ (M+Na) es de 635,0931 y el hallado es de 635,0932.

Ejemplo 41

Obtención del éster etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

15

20



$C_{27}H_{26}ClF_3N_2O_4$
peso mol 534.95

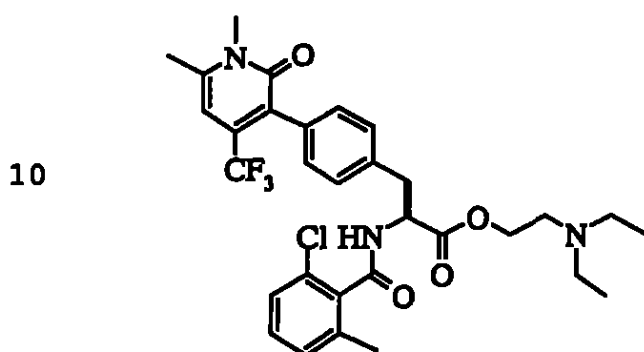
25 El éster etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)-carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina puede obtenerse a partir de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(tri-

-114-

fluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina y yodoetano por el método general descrito en el ejemplo 38.

Ejemplo 42

Obtención del éster 2-[(N,N-dietil)amino]etilico de
 5 la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



$C_{31}H_{33}ClF_3N_3O_4$
 peso.mol : 606.08

15

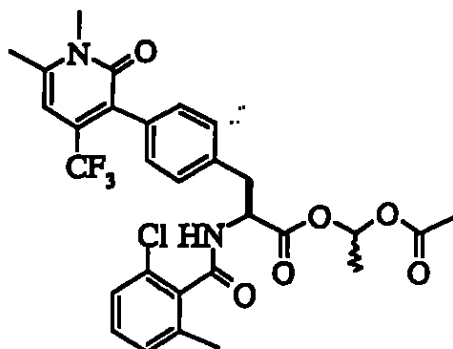
El éster 2-[(N,N-dietil)amino]etilico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina puede obtenerse
 20 a partir de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina y del clorhidrato del cloruro de 2-[(N,N-dietil)amino]etilo por el método general descrito en el ejemplo 39.

25

Ejemplo 43

Obtención del éster 1-(acetoxi)etilico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

5



$C_{29}H_{28}ClF_3N_2O_6$
peso mol 592.99

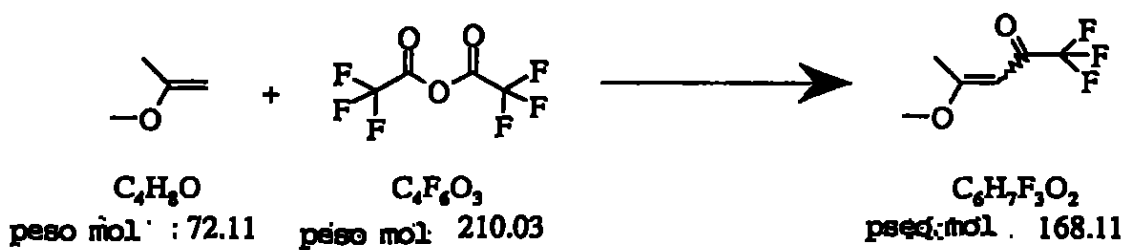
El éster 1-(acetoxi)etilico de la N-[(2-cloro-6-me-
10 tilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-
oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina puede obtenerse a partir
de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-
4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina y
del acetato de 1-cloroetilo por el método general des-
15 crito en el ejemplo 40.

Ejemplo 44

Obtención de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-
[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fe-
nilalanina

20 a) Obtención de la 4-metoxi-1,1,1-trifluoropent-3-
en-2-ona

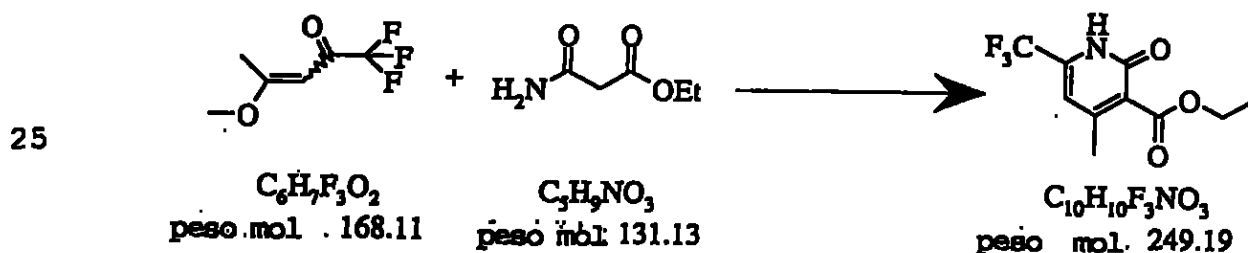
25



-116-

A una solución de 2-metoxipropeno (3,68 g, 51,03 mmoles) y piridina (1,35 g, 16,69 mmoles) en diclorometano (15 ml) se le añade a 0°C en un período de 10-12 min una solución de anhídrido trifluoracético (10 ml, 46,56 mmoles) en diclorometano (8 ml). Después de la adición, el color de la solución vira a pardo rojizo oscuro, entonces se retira el baño de enfriamiento y se interrumpe la agitación. Se deja la mezcla en reposo durante 16 h y se diluye con agua enfriada con hielo (45 ml) y diclorometano (120 ml). Se separan las dos capas y se lava la capa orgánica sucesivamente con HCl 2N (35 ml), una solución saturada de carbonato sódico (75 ml) y una solución de salmuera (25 ml) y se seca con sulfato sódico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, resultando un producto en bruto que se purifica por destilación con alto vacío, obteniéndose 5,546 g (rendimiento del 65 %) de la 4-metoxi-1,1,1-trifluorpent-3-en-2-ona en forma de aceite de color amarillo claro.

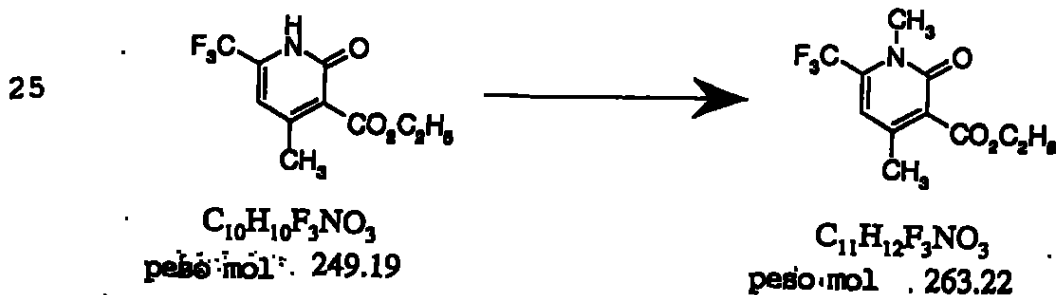
b) Obtención del 4-metil-2(1H)-oxo-6-(trifluormetil)piridina-3-carboxilato de etilo



-117-

A una suspensión de 4-metoxi-1,1,1-trifluoropent-3-en-2-ona (5,53 g, 32,89 mmoles) y monoamida de malonato de etilo (4,31 g, 32,89 mmoles) en etanol (30 ml) se le añade a temperatura ambiente etóxido sódico (11,72 g, 36,18 mmoles, pureza del 21 %) y se calienta la mezcla reaccionante a ~85°C. Se agita durante 18 h, se enfría la mezcla reaccionante a temperatura ambiente y se le añade HCl del 15 % (10 ml). Se diluye con agua (10 ml) y se extrae con cloroformo (2 veces con 50 ml cada vez). Se reúnen los extractos, se lavan con una solución de salmuera (100 ml) y se secan con sulfato sódico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, resultando un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice en columna Biotage (40m), obteniéndose 5,22 g (rendimiento del 62 %) del 4-metil-2(1H)-oxo-6-(trifluormetil)piridina-3-carboxilato de etilo en forma de sólido blanco amorfo. EM-LR-ES m/z 313,4 (M+Na+CH₃CN).

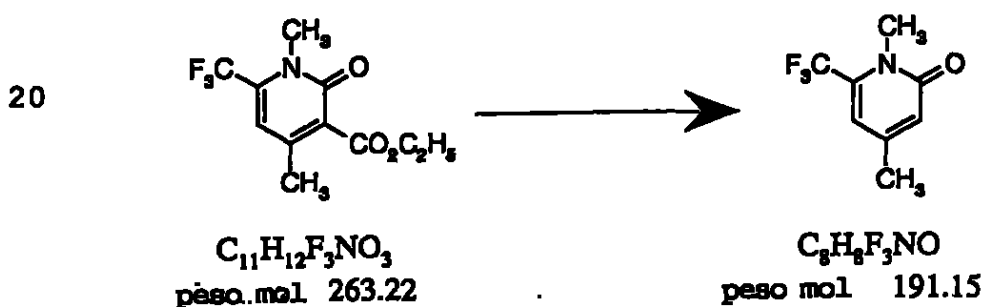
c) Obtención del 1,4-dimetil-2(1H)-oxo-6-(trifluorometil)piridina-3-carboxilato de etilo



-118-

A una suspensión de 4-metil-2(1H)-oxo-6-(trifluorometil)piridina-3-carboxilato de etilo (5,2 g, 20,87 mmoles) y carbonato potásico (8,65 g, 62,59 mmoles) en DME (50 ml) se le añade a temperatura ambiente yodometano (12 ml, 192,8 mmoles) y se calienta la mezcla reaccionante a reflujo durante 18 h. Se enfría la mezcla reaccionante a temperatura ambiente, se filtran los sólidos inorgánicos y se lavan con DME. Se concentra por evaporación del disolvente con vacío y se purifica el residuo por cromatografía a través de gel de sílice en una columna Biotage (40m), obteniéndose 4,02 g (rendimiento del 71 %) del 1,4-dimetil-2(1H)-oxo-6-(trifluormetil)piridina-3-carboxilato de etilo en forma de sólido blanco amorfo. El EM-HR-ES m/e calculado de $C_{11}H_{12}F_3NO_3$ (M+Na) es de 286,0661, el hallado es de 286,0664.

d) Obtención de la 1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-1H-piridin-2-ona

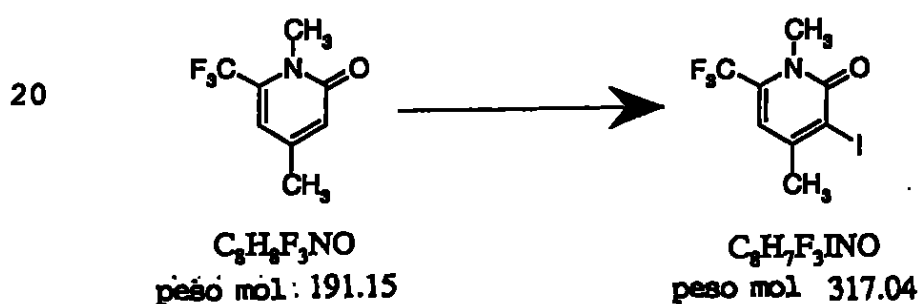


25 A una mezcla de 1,4-dimetil-2(1H)-oxo-6-(trifluorometil)piridina-3-carboxilato de etilo (2,5 g, 9,5 mmoles) y cloruro de litio (1,0 g, 23,6 mmoles) se le añade a temperatura ambiente DMF (15 ml) y agua (0,38 ml). Se

-119-

calienta la mezcla reaccionante sobre un baño cuya temperatura es de 160°C y se agita durante 19 h. Se enfría la mezcla reaccionante a temperatura ambiente y se diluye con acetato de etilo y éter de dietilo fríos (75 ml, 5 1:1). Se lava la mezcla resultante con agua fría (3 veces con 20 ml cada vez), una solución de salmuera (20 ml) y se seca con sulfato sódico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado por evaporación del disolvente, resultando un producto en 10 bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice en columna Biotage (40s), obteniéndose 1,45 g (rendimiento del 80 %) de la 1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-1H-piridin-2-ona en forma de sólido de color amarillo claro. El EM-HR-ES m/e calculado de $C_8H_8F_3NO$ (M+H) 15 es de 192,0631, el hallado es de 192,0632.

e) Obtención de la 1,4-dimetil-3-yodo-6-(trifluorometil)-1H-piridin-2-ona



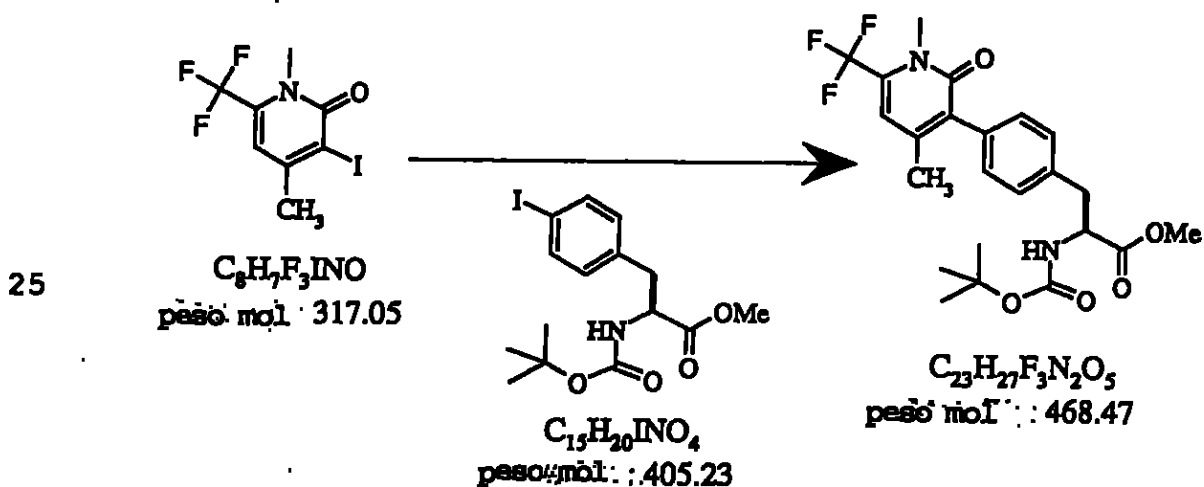
25 A una solución de 1,4-dimetil-6-(trifluorometil)-1H-piridin-2-ona (1,44 g; 7,23 mmoles), ácido trifluoracético (9 ml) y anhídrido trifluoracético (1,53 ml, 10,85 mmoles) se le añade a temperatura ambiente NIS (2,569 g,

-120-

10,85 mmoles). Se calienta la mezcla a 70-85°C y se agita durante 2 h. Se enfría la mezcla reaccionante a temperatura ambiente y se le añade lentamente una solución saturada de carbonato sódico para neutralizar la solución. Se extrae la mezcla acuosa con acetato de etilo (2 veces con 50 ml cada vez). Se reúnen los extractos y se lavan sucesivamente con una solución saturada de tiosulfato sódico (100 ml) y una solución de salmuera (100 ml) y se seca con sulfato sódico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado por evaporación del disolvente, resultando un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice en columna Biotage (40m), obteniéndose 1,02 g (rendimiento del 45 %) de la 1,4-dimetil-3-yodo-6-(trifluorometil)-1H-piridin-2-ona en forma de sólido blanco amorfo. EM-LR-ES m/z 318,1 (M+H)⁺, 381,2 (M+Na+CH₃CN).

f) Obtención del éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletóxil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

20



-121-

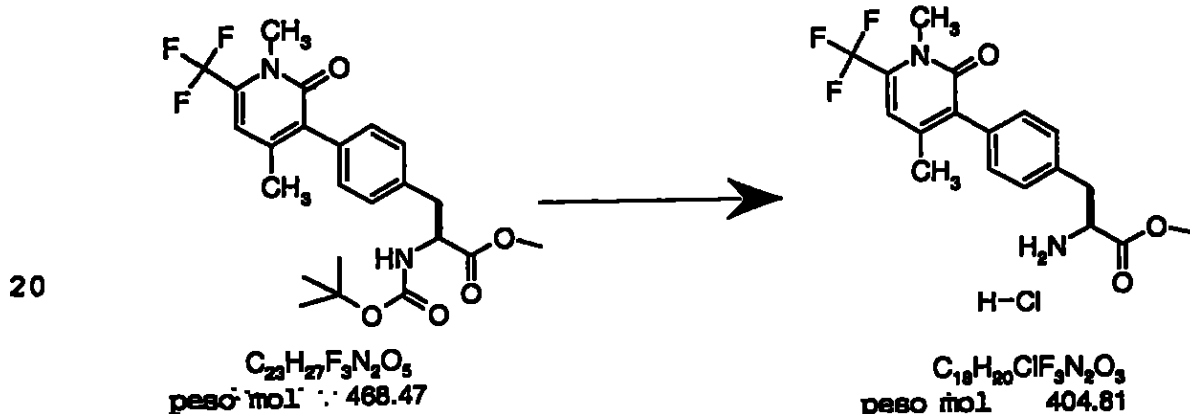
A una suspensión de cinc en polvo (1,96, 30 mmoles) en THF (10 ml) se le añade a temperatura ambiente 1,2-dibromoetano (172 μ l, 2 mmoles). Se calienta esta suspensión a 60-65°C con un calentador tipo pistola hasta
5 que cesa el desprendimiento de gas etileno. Se enfría la suspensión a temperatura ambiente, se añade trimetilclorosilano (150 μ l, 1,2 mmoles) y se agita la mezcla durante 15 min. Se calienta una suspensión de 1,4-dimetil-3-yodo-6-(trifluormetil)-2-piridona (2,4 g, 7,57 mmoles)
10 en DMA (6 ml) para obtener una solución transparente y se añade de una sola vez a la mezcla reaccionante. Una vez finalizada la adición se calienta la mezcla a 70-75°C y se agita durante 2 h, entonces la CCF de una parte alícuota que se ha extinguido con una solución saturada de cloruro amónico indica la ausencia de material
15 de partida. Se diluye la mezcla reaccionante con THF (5 ml) y se enfría a temperatura ambiente y se deja sedimentar el exceso de cinc en polvo.

Se añade a temperatura ambiente esta solución que
20 contiene el compuesto de cinc (7,57 mmoles) a una solución de Pd(dba)₂ (274 g, 0,478 mmoles), trifurilfosfina (391 mg, 1,287 mmoles) y éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-yodo-L-fenilalanina (3 g, 7,411 mmoles) en THF (7 ml) y se agita la mezcla de color amarillo claro resultante a 50-55°C durante 40 h. Se vierte
25 la mezcla reaccionante sobre una solución saturada de cloruro amónico y se extrae con acetato de etilo (3 veces con 70 ml cada vez). Se reúnen los extractos, se la-

van con una solución de salmuera (100 ml) y se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, resultando un producto en bruto que se purifica por cromatografía a través de gel de sílice empleando para ello una columna Biotage (40m), de este modo se obtienen 1,289 g (rendimiento del 36 %) de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{23}H_{27}F_3N_2O_5$ (M+Na) es de 491,1764, el hallado es de 491,1764.

g) Obtención de la sal clorhidrato del éster metílico de la 4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

15

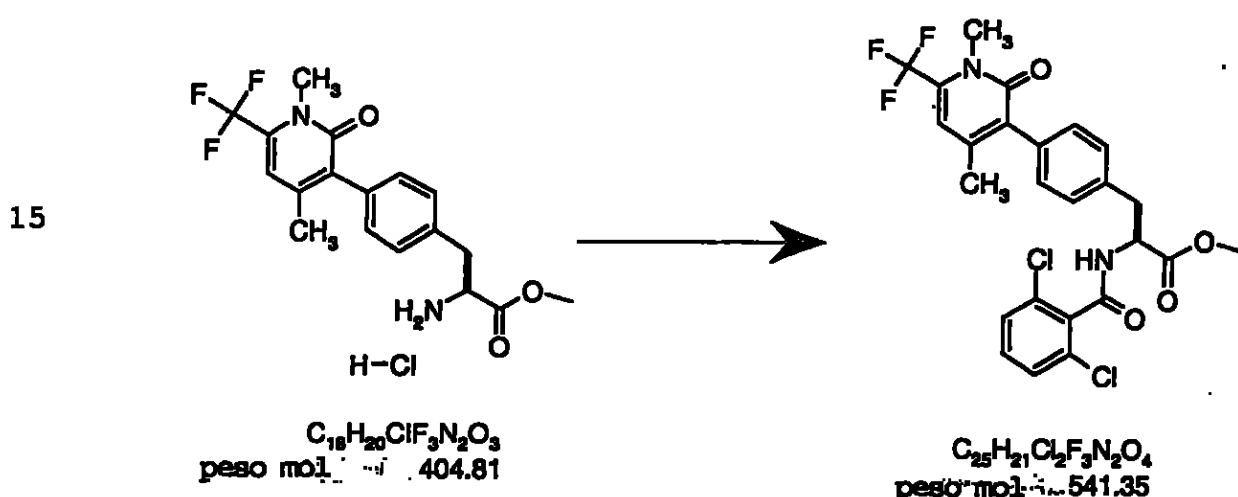


A una solución de éster metílico de la N-[(1,1-dimetiletoxi)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (253 mg, 0,54 mmoles) se trata a temperatura ambiente con una solución de HCl 4N en dioxano (4,0 ml). Se agita la solución durante 2 h y

-123-

se forma un sólido blanco. Se concentra con vacío y se disuelve el residuo en metanol. Se elimina el metanol y se seca el residuo con alto vacío, obteniéndose 221 mg (rendimiento del 100 %) de la sal clorhidrato del éster metílico de la 4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/z 369,3 (M+H), 410,3 (M+CH₃CN).

h) Obtención del éster metílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



20

A una suspensión de sal clorhidrato del éster metílico de la 4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (216 mg, 0,53 mmoles) y cloruro de 2,6-diclorobenzoylo (120 mg, 0,57 mmoles) en THF (6 ml) se le añade a temperatura ambiente DIEA (210 µl, 1,19 mmoles). Pasados 5 min se obtiene una solución transparente que se agita durante 18 horas. Se concentra la mezcla y se disuelve el residuo con acetato de etilo

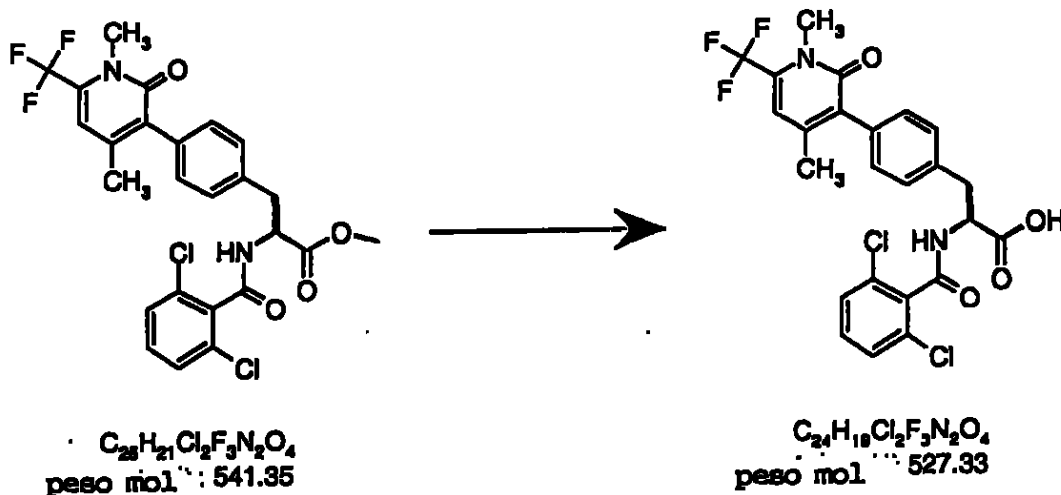
-124-

(50 ml). Se lava la solución de acetato de etilo sucesivamente con HCl 0,5N (50 ml), solución saturada de NaHCO₃ (50 ml) y una solución de salmuera (50 ml) y se seca con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido filtrado, resultando un producto en bruto que se disuelven en acetato de etilo (~3 ml) y hexano (~3-4 ml) y se guarda en el frigorífico. Se recoge el sólido y se lava con hexano. Después de secar con alto vacío se obtienen 270 mg (rendimiento del 93,5 %) de éster metílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido blanco, p.f. 170-173°C. El EM-AR-ES m/e calculado del C₂₅H₂₁Cl₂F₃N₂O₄ (M+Na) es de 563,0724 y el hallado es de 563,0730.

1) Obtención de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

20

25



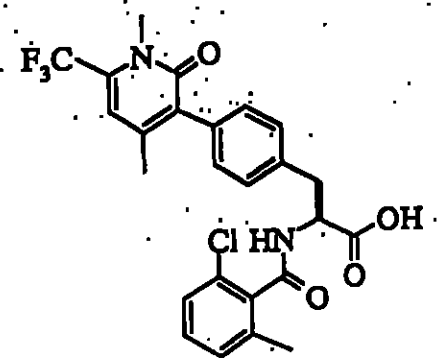
-125-

A una suspensión de éster metílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina (243 mg, 0,45 mmoles) en etanol (5 ml) se le añade a temperatura ambiente una
5 solución de hidróxido sódico 1N en agua (1,8 ml). Se calienta la mezcla a 45-50°C y se agita durante 2 h. Se elimina el etanol con vacío y se diluye el residuo con agua (20 ml). Se lava la solución acuosa con acetato de etilo (50 ml) para eliminar las impurezas neutras. Se
10 acidifica la fase acuosa con HCl 1,0N y se extrae el producto con acetato de etilo (2 x 50 ml). Se reúnen los extractos orgánicos, se lavan con una solución de salmuera (50 ml) se secan con sulfato magnésico anhidro. Se filtra el material secante y se concentra el líquido
15 filtrado, obteniéndose 186 mg (rendimiento del 79 %) de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina en forma de sólido blanco amorfo. El EM-AR-ES m/e calculado del $C_{24}H_{19}Cl_2F_3N_2O_4$ (M+Na) es de 549,0567 y el hallado es de
20 549,0573.

Ejemplo 45

Obtención de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

5



$C_{27}H_{22}ClF_3N_2O_4$
peso mol 506.90

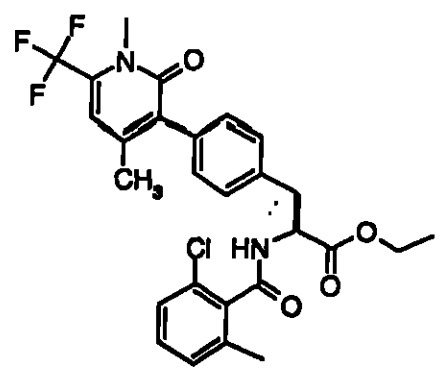
La N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dime-
10 til-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina
se obtiene a partir del éster metílico de la 4-[1,4-di-
metil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalani-
na y del cloruro de 2-cloro-6-metilbenzoilo por los mé-
todos generales descritos en el ejemplo 44. EM-LR-ES m/z
15 507,1 (M+H), 529,1 (M+Na).

Ejemplo 46

20

Obtención del éster etílico de la N-[(2-cloro-6-me-
tilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-
oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

25



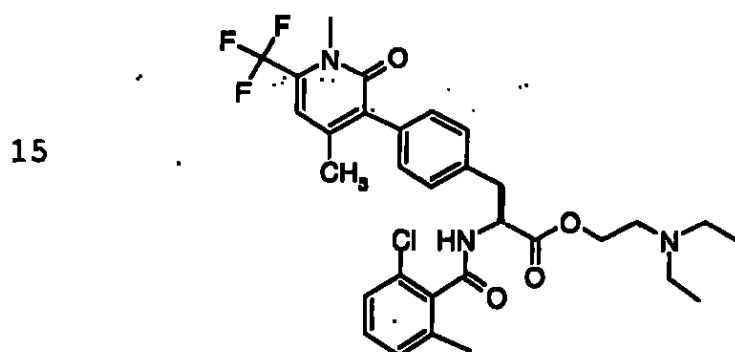
$C_{29}H_{26}ClF_3N_2O_4$
peso mol 534.95

-127-

El éster etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)-
carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piri-
dinil]-L-fenilalanina puede obtenerse a partir de la N-
[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(tri-
5 fluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina y de yodo-
etano por el método general descrito en el ejemplo 38.

Ejemplo 47

Obtención del éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de
la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-
10 (trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



$C_{31}H_{35}ClF_3N_3O_4$
peso mol 606.08

20

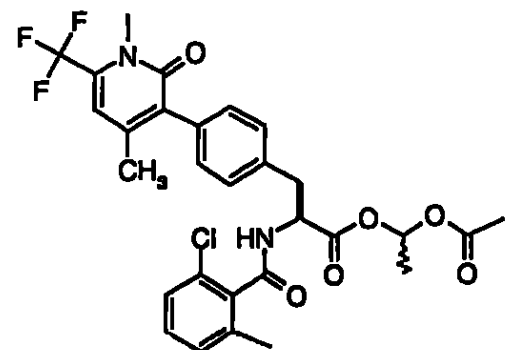
El éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de la N-[(2-
cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluor-
metil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina puede obtenerse
a partir de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-
25 [1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fe-
nilalanina y del clorhidrato del cloruro de 2-[(N,N-di-
etil)amino]etilo por el método general descrito en el
ejemplo 39.

Ejemplo 48

Obtención del éster 1-(acetoxi)etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluorometil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

5

10



$C_{29}H_{29}ClF_3N_2O_6$
peso mol . 592.99

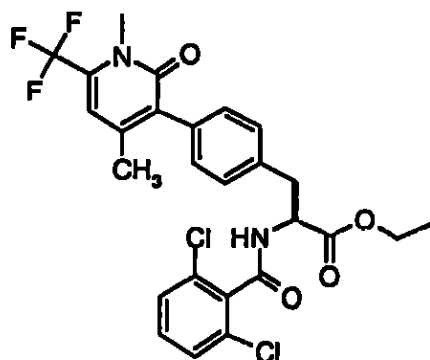
15 El éster 1-(acetoxi)etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina puede obtenerse a partir de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina y
20 del acetato de 1-cloroetilo por el procedimiento general descrito en el ejemplo 40.

Ejemplo 49

Obtención del éster etílico de la N-[(2,6-dicloro-fenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina

25

-129-

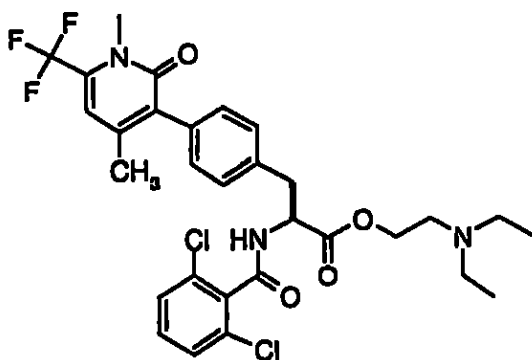


$C_{28}H_{23}Cl_2F_3N_2O_4$
peso mol 555.37

10 El éster etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbo-
nil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridi-
nil]-L-fenilalanina puede obtenerse a partir de la N-
[(2,6-diclorofenil)carbonyl]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluor-
metil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina y de yodoetano
15 por el método general descrito en el ejemplo 38.

Ejemplo 50

Obtención del éster 2-[(N,N-dietil)amino]etilico de
la N-[(2,6-diclorofenil)carbonyl]-4-[1,4-dimetil-6-(tri-
fluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



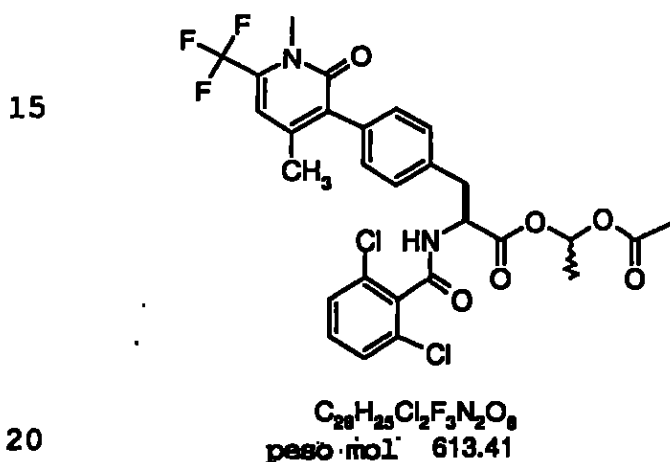
$C_{30}H_{32}Cl_2F_3N_3O_4$
peso mol 626.49

-130-

El éster 2-[(N,N-dietil)amino]etilico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluorometil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina puede obtenerse a partir de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina y del clorhidrato del cloruro de 2-[(N,N-dietil)amino]etilo por el método general descrito en el ejemplo 39.

Ejemplo 51

Obtención del éster 1-(acetoxi)etilico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluorometil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina



El éster 1-(acetoxi)etilico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina puede obtenerse a partir de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina y del acetato de 1-cloroetilo por el procedimiento general descrito en el ejemplo 40.

-131-

Ejemplo de bioensayoEjemplo A

Ensayo de exploración (screening) de VLA-4/VCAM-1

Se cuantifica la actividad antagonista de VLA-4, definida como la capacidad de competir por la unión con la VCAM-1 inmovilizada, empleando una ELISA anticuerpo dual de fase sólida. El VLA-4 (integrina $\alpha 4\beta 1$) unido a la VCAM-1 se detecta con un complejo de anticuerpo anti-integrina $\beta 1$: IgG anti-ratón conjugado HRP: sustrato cromogénico (K-Blue). Inicialmente, esto supone recubrir placas de 96 hoyos (Nunc Maxisorp) con VCAM-1 recombinante humana (0,4 μ g en 100 μ l de PBS), sellar cada placa y dejar las placas en reposo a 4°C durante unas 10 h. Las placas recubiertas con VCAM se bloquean a continuación con 250 μ l de BSA del 1 %/NaN₃ del 0,02 % para reducir las uniones no específicas. El mismo día del ensayo se lavan todas las placas dos veces con tampón de ensayo VCAM (200 μ l/hoyo de Tris-HCl 50 mM, NaCl 100 mM, MnCl₂ 1mM, Tween 20 del 0,05 %; pH 7,4). Se disuelven los compuestos a ensayar en DMSO del 100 % y después se diluyen 1:20 con tampón de ensayo VCAM completado con 1 mg/ml de BSA (es decir, DMSO final = 5 %). Se efectúa una serie de diluciones 1:4 para conseguir un intervalo de concentraciones de 0,005 nM a 1,563 μ M para cada compuesto de ensayo. Se añaden a las placas revestidas de VCAM 100 μ l de cada dilución a cada hoyo, seguidos de 10 μ l de VLA-4 derivado de células de Ramos. Estas placas se mezclan sucesivamente en un agitador de plataformas

durante 1 min, se incuban a 37°C durante 2 h y se lavan cuatro veces con 200 µl/hoyo de tampón de ensayo VCAM. Se añade a cada hoyo 100 µl de anticuerpo anti-humano de integrina $\beta 1$ (0,6 µg/ml de tampón de ensayo VCAM + 1 mg/ml de BSA) y se mantiene en incubación a 37°C durante 1 h. Una vez finalizado el período de incubación se lavan todas las placas cuatro veces con tampón de ensayo VCAM (200 µl por hoyo). Entonces se añade a cada hoyo un segundo anticuerpo, IgG conjugado HRP de cabra anti-ratón (100 µl por hoyo a razón de una dilución 1:800 en tampón de ensayo VCAM + 1 mg/ml de BSA), a continuación se incuba a temperatura ambiente durante 1 h y se termina con tres lavados (200 µl/hoyo) con tampón de ensayo VCAM. Se inicia el revelado de color por adición de 100 µl de K-Blue por hoyo (15 min de incubación, temperatura ambiente) y se termina con la adición de 100 µl de tampón de paro en rojo a cada hoyo. Todas las placas se leen en un espectrómetro UV/Vis en una longitud de onda de 650 nm. Se calculan los resultados como % de inhibición de la unión total (es decir, VLA-4 + VCAM-1 en ausencia del compuesto de ensayo). En la tabla I se recogen los resultados (A = $CI_{50} < 1$ nM; B = $CI_{50} < 10$ nM)

Tabla I

Compuesto del ej.	Actividad en ensayo ELISA VCAM/VLA-4
8	A
10	B
15	B
17	B
24	A
28	A

Ejemplo B

Protocolo de ensayo de exploración basado en células (VLA-4)/VCAM-1 de Ramos

Materiales:

5 Se purifica VCAM-1 recombinante humana soluble (mezcla de segmentos 5- y 7-Ig) de los medios de cultivo celular CHO por cromatografía de inmunoafinidad y se mantiene en una solución que contiene Tris-glicina 0,1 M (pH 7,5), NaCl 0,1 M, EDTA 5 mM, PMSF 1 mM, NaN₃ del
10 0,02 % y 10 µg/µl de leupeptina. La calceína-AM se adquiere de la empresa Molecular Probes Inc.

Métodos:

Se cuantifica la actividad antagonista de VLA-4 (integrina $\alpha 4\beta 1$), definida como capacidad de competir
15 con superficie celular VLA-4 por la unión con la VCAM-1 inmovilizada, mediante un ensayo de adhesión celular de VCAM-1. Se marcan con colorante fluorescente (Calceína-AM) las células de Ramos que llevan superficie celular VLA-4 y se dejan unir a la VCAM-1 en presencia o ausen-
20 cia de los compuestos de ensayo. Una reducción de la intensidad de fluorescencia asociada a las células adherentes (% de inhibición) refleja la inhibición competitiva de la adhesión celular de VLA-4 debida al compuesto de ensayo.

25 Inicialmente esto supone revestir placas de 96 hoyos (Nunc Maxisorp) con VCAM-1 recombinante humana (100 ng en 100 µl de PBS), sellar cada placa y dejar las placas en reposo a 4°C durante 18 h. Se lavan las placas

-134-

revestidas con VCAM sucesivamente dos veces con Tween 20 del 0,05 % en PBS y después se bloquean durante 1 h (a temperatura ambiente) con 200 µl de tampón de bloqueo (BSA del 1 %/timerosal del 0,02 %) para reducir las uniones no específicas. Después de la incubación con el tampón de bloqueo se invierten las placas, se secan y se aspira el tampón remanente. Se lava cada placa con 300 µl de PBS, se invierte y se aspira el PBS residual.

Se disuelven los compuestos de ensayo en DMSO del 100 % y después se diluye 1:25 con tampón de ensayo de adhesión de células VCAM (CaCl₂ 4 mM, MgCl₂ 4 mM en Tris-HCl 50 mM, pH 7,5) (DMSO final = 4 %). Se realiza una serie de ocho diluciones 1:4 para cada uno de los compuestos (intervalo general de concentración de 1 nM a 12.500 nM). Se añade a las placas revestidas de VCAM 100 µl de cada dilución/hoyo y después 100 µl de células de Ramos (200.000 células/hoyo en BSA/PBS del 1 %). Se incuban a temperatura ambiente durante 45 min las placas que contienen compuestos de ensayo y células de Ramos, después se añaden 165 µl de PBS/hoyo. Se invierten las placas para eliminar las células no adheridas, se secan y se añaden 300 µl de PBS/hoyo. Se invierten las placas otra vez, se secan y se aspira suavemente el tampón residual. Se añaden a cada hoyo 100 µl de tampón de lisis (SDS del 0,1 % en Tris-HCl 50 mM, pH 8,5) y se agita durante 2 min en una plataforma agitadora giratoria. A continuación se lee la intensidad de la fluorescencia de las placas en un sistema de medición de fluorescencia

Cytofluor 2300 (Millipore), (excitación = 485 nm, emisión = 530 nm). Los resultados se recogen en la tabla II (A = CI₅₀<100 nM; B = CI₅₀<10000 nM; C = IC₅₀<5.000 nM)

Tabla II

Compuesto del ejemplo	Actividad en ensayo VCAM/VLA-4 en células de Ramos
8	B
10	B
15	C
24	B
28	C
30	B
31	B
32	B
33	A
34	B
35	B
36	A
37	B

5 Ejemplo C

Protocolo de ensayo alfa4-beta7

Dos semanas antes del día previo al ensayo se revisten placas inmuno F96 Maxisorp de alta adherencia de la empresa Nunc, artículos nº 442404 y 439454, con 25
10 ng/hoyo (0,25 µg/ml) de MadCAM en un volumen de 100 µl/hoyo. Se cubren las placas con sellante y se envuelven con sarán, después se incuban en frigorífico durante 24 horas como mínimo. El tampón empleado para el revestimiento se compone de: tampón carbonato/bicarbonato 10
15 mM hecho con 0,8 gde carbonato sódico/litro y 1,55 g de bicarbonato sódico/litro, que se ajusta a pH 9,6 por adición de HCl 1N. Los tampones de ensayo tienen la composición siguiente:

tampón de lavado: Tween 20 al 0,05 % en PBS

tampón de bloqueo: leche desnatada seca al 1 % en PBS

tampón de marcado: PBS

tampón celular: RPMI 1640 medio (sin aditivos)

- 5 tampón de unión: CaCl_2 1,5 mM, MnCl_2 0,5 mM, Tris-HCl 50 mM; se añade NaOH por goteo hasta pH 7,5; se enrasa con H_2O , se ajusta el pH a 7,5

tampón de dilución: DMSO al 4 % en tampón de unión.

- 10 Se lavan las placas 2 veces con tampón de lavado y después se bloquean a temperatura ambiente durante 1 hora por lo menos con tampón de bloqueo. Las placas selladas a veces se bloquean durante una noche en el frigorífico. Después se lavan las placas con PBS y se secan manualmente. Se aspira el líquido residual de los hoyos.

- 15 Se toman células RPMI 8866 suficientes de la cepa para el ensayo (2×10^6 células/ml $\times$ 10 ml/hoyo $\times$ número de placas) y se colocan en un tubo de centrifuga. Se llenan los tubos con PBS y se centrifugan durante 8 minutos a una velocidad de 200 rpm. Se tira el tampón y se
- 20 vuelven a suspender las células en una concentración de 10×10^6 /ml en PBS y se añade una solución patrón de calceína en DMSO (5 mg/ml) en una cantidad de 5 μ l/ml de suspensión celular. Se incuba la suspensión a 37°C y en la oscuridad durante 30 minutos. Después se lavan las
- 25 células con PBS. Se tira el PBS y se vuelven a suspender las células en el tampón celular en una concentración de 2×10^6 células/ml para depositarlas en las placas de ensayo..

-137-

Se prepara una solución patrón de los compuestos de ensayo de 25 x primera dilución deseada en DMSO 100 %. Las primeras diluciones para el patrón y también para los compuestos de ensayo es de 1:25 en el tampón de unión tal cual, mientras que las demás series de diluciones se realizan en el tampón de dilución (tampón de unión/DMSO del 4 %). Las concentraciones del patrón y las diluciones de los compuestos de exploración se determinan por actividad anticipada.

- 10 Para el ensayo se colocan 129 µl del tampón de unión en la primera hilera de hoyos y 100 µl de tampón de dilución en los hoyos restantes de la placa. Se pipetea 5,4 µl de parte alícuota de cada compuesto a los hoyos etiquetados idóneos, por triplicado. Después se
- 15 diluyen los compuestos en la placa (34 µl + 100 µl ⇒ dilución cuádruple). Para los controles se introduce en las placas 100 µl de tampón de dilución + 100 µl de tampón celular en hoyos de fondo no específico (sin células, sin compuestos) y 100 µl de tampón de dilución +
- 20 100 µl de células se introducen en los hoyos de unión sola (sin compuesto = unión 100 %). A cada hoyo que contiene compuesto se le añaden células marcadas en una cantidad de 2×10^6 células/ml, 100 µl/hoyo ($= 2 \times 10^5$ células/hoyo). Se sellan las placas y se incuban a tem-
- 25 peratura ambiente y en la oscuridad durante 45 minutos. Después de la incubación se eliminan las células no unidas por adición de 150 µl de PBS/hoyo. Se invierten las placas, se secan sobre toalla de papel y se lavan aña-

-138-

diendo suavemente 200 μ l de PBS a los hoyos y secando otra vez. Se aspira con cuidado el tampón residual de los hoyos. Finalmente se añaden 100 μ l de PBS a cada hoyo.

- 5 Se lee la intensidad de fluorescencia de las placas en un sistema de medida de fluorescencia Cytofluor 2300 (Millipore) (excitación = 485 nm, emisión = 530 nm). Se determinan las IC_{50} de cada compuesto por análisis de regresión lineal. Los resultados se recogen en la tabla

10 III.

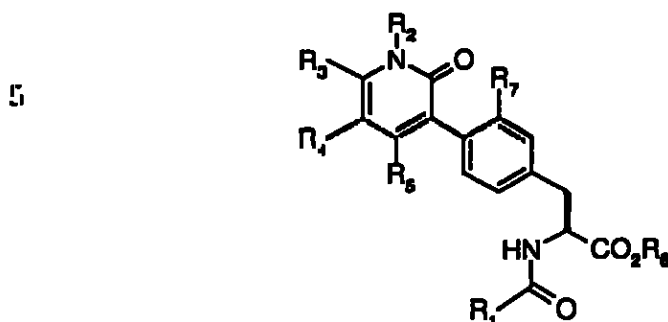
Tabla III

Compuesto del ejemplo	Actividad en ensayo celular MadCAM/RPMI (A = IC_{50} <100 nM; B = IC_{50} <10000 nM; C = IC_{50} < 5.000 nM)
30	B
31	B
32	B
33	A
34	B
35	C
36	B
37	B

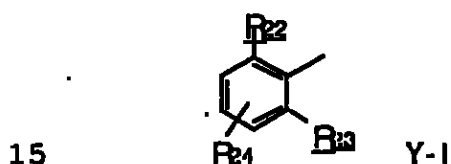
-139-

Reivindicaciones

1. Un compuesto de la fórmula



10

en la que R_1 es un grupo de la fórmula Y-1

en la que R_{22} y R_{23} , con independencia entre sí, son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alcoxí de bajo peso molecular, cicloalquilo, arilo, arilalquilo, nitro, ciano, (alquilo de bajo peso molecular)-tílo, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfinilo, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, alcanoílo de bajo peso molecular, halógeno o perfluor-(alquilo de bajo peso molecular), y por lo menos uno de R_{22} y R_{23} es diferente del hidrógeno, y R_{24} es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alcoxí de bajo peso molecular, arilo, nitro, ciano, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo o halógeno, o

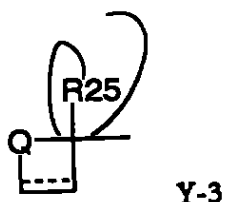
bien

R_1 es un grupo de la fórmula Y-2 que es un anillo heteroaromático de cinco o seis eslabones, unido a través del átomo de carbono al carbonilo de la amida, dicho

5 anillo contiene uno, dos o tres heteroátomos elegidos entre N, O y S y uno o dos átomos de dicho anillo están sustituidos con independencia entre sí por alquilo de bajo peso molecular, cicloalquilo, halógeno, ciano, perfluor-(alquilo de bajo peso molecular) o arilo y por lo

10 menos uno de dichos átomos sustituidos está adyacente al átomo de carbono unido al carbonilo de la amida, o bien R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3-7 eslabones de la fórmula

15



20 en la que R_{25} es alquilo de bajo peso molecular, alquilo de bajo peso molecular sin sustituir o sustituido por flúor, o un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e-$, R_{26} es arilo, heteroarilo, azido, ciano, hidroxilo, alcoxi de bajo peso molecular, (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo, alcanilo de bajo peso molecular, (alquilo de bajo peso molecular)-tio, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, perfluor-(alcanilo de bajo peso molecular), ni-

25

-141-

tro, o bien R_{26} es un grupo de la fórmula $-NR_{28}R_{29}$, en la que R_{28} es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular, R_{29} es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo, alcanóilo de bajo peso molecular, aroilo, perfluor-(alcanóilo de bajo peso molecular)-amino, (alquilo de bajo peso molecular)-sulfonilo, (alquilo de bajo peso molecular)-aminocarbonilo, arilaminocarbonilo, o bien R_{28} y R_{29} junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos forman un anillo heterocíclico saturado de 4, 5 ó 6 eslabones que contiene un heteroátomo adicional, elegido entre O, S y N- R_{40} , Q es $-(CH_2)_fO-$, $-(CH_2)_fS-$, $-(CH_2)_fN(R_{27})-$, $-(CH_2)_f-$, R_{27} es H, alquilo de bajo peso molecular, arilo, alcanóilo de bajo peso molecular, aroilo o (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo, R_{40} es H, alquilo de bajo peso molecular, arilo, alcanóilo de bajo peso molecular, aroilo o (alcoxi de bajo peso molecular)-carbonilo, los átomos de carbono del anillo están sin sustituir o sustituidos por alquilo de bajo peso molecular o halógeno, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3;

R_2 es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular, alquilo de bajo peso molecular sustituido, (arilo o aril-(alquilo de bajo peso molecular));

R_3 es hidrógeno, halógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo y puede incluir además al trifluorometilo;

R_4 es hidrógeno, halógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo;

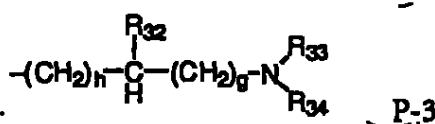
-142-

R₅ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alcoxi-
de bajo peso molecular, trifluormetilo u. OH;

R₆ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, (alqui-
lo de bajo peso molecular)-carboniloxi-(alquilo de bajo
5 peso molecular),

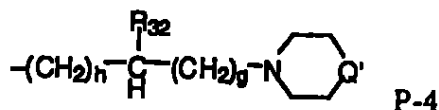
o bien R₆ es un grupo de la fórmula P-3

10



en la que R₃₂ es hidrógeno o alquilo de bajo peso mole-
cular, R₃₃ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular
15 o arilo, R₃₄ es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecu-
lar, "h" es un número entero de 0 a 2, "g" es un número
entero de 0 a 2, la suma de h y g se sitúa entre 1 y 3;
o bien R₆ es un grupo de la fórmula P-4

20



25 en la que R₃₂, g y h tienen los significados recién de-
finidos, Q' es O, S, -(CH₂)₄- o un grupo de la fórmula
N-R₃₅, R₃₅ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular,
alcanoilo de bajo peso molecular, (alcoxi de bajo peso

-143-

molecular)-carbonilo, "j" es el número 0, 1 ó 2, y

R₇ es hidrógeno, cloro, ~~alcoxi~~ de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular; o bien las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R₃ es hidrógeno, halógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo.

3. Un compuesto según la reivindicación 1 ó 2, en el que R₁ es Y-3 y Q es $-(CH_2)_fO-$, $-(CH_2)_fS-$ o $-(CH_2)_f-$.

10 4. Un compuesto según la reivindicación 3 en el que R₅ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo.

5. Un compuesto según la reivindicación 1 ó 2, en el que R₁ es un grupo Y-1 en el que R₂₂ y R₂₃ con independencia entre sí son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o halógeno y R₂₄ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o alcoxi de bajo peso molecular.

6. Un compuesto según la reivindicación 5 en el que R₂₂ y R₂₃ con independencia entre sí son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o halógeno y R₂₄ es hidrógeno o alcoxi de bajo peso molecular y R₂ es arilo (alquilo de bajo peso molecular).

7. Un compuesto según la reivindicación 1 ó 2, en el que R₁ es un grupo de la fórmula Y-3 en la que R₂₅ es un grupo de la fórmula R₂₆ $-(CH_2)_e-$, en la que R₂₆ es alcoxi de bajo peso molecular, Q es $-(CH_2)_f-$, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3.

8. Un compuesto según la reivindicación 1 ó 2, en el que R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 y R_2 es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, alquilo de bajo peso molecular sustituido o arilo-(alquilo de bajo peso molecular).

9. Un compuesto según la reivindicación 8, en el que R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 en la que R_{25} es un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e-$, en la que R_{26} es alcoxi de bajo peso molecular, Q es $-(CH_2)_f-$, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3; y R_2 es arilo-(alquilo de bajo peso molecular).

10. Un compuesto según la reivindicación 1 ó 2, en el que

R_2 es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo-(alquilo de bajo peso molecular);

R_3 es hidrógeno;

R_4 es hidrógeno o halógeno;

R_5 es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, o trifluormetilo, o alcoxi de bajo peso molecular;

R_6 es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular; y

R_7 es hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o alquilo de bajo peso molecular.

11. Un compuesto según la reivindicación 10, en el que R_1 es un grupo de la fórmula Y-1.

12. Un compuesto según la reivindicación 11, en el

que R_1 es un grupo de la fórmula Y-1 en la que R_{22} y R_{23} con independencia entre sí son hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o halógeno y R_{24} es hidrógeno, alquilo

de bajo peso molecular o alcoxi de bajo peso molecular.

13. Un compuesto según la reivindicación 12, en el que R₁ es un grupo Y-1 en el que R₂₄ es hidrógeno y R₂ es arilo- (alquilo de bajo peso molecular)

5 14. Un compuesto según la reivindicación 10, en el que R₁ es Y-2.

15. Un compuesto según la reivindicación 10, en el que R₁ es un grupo de la fórmula Y-3.

10 16. Un compuesto según la reivindicación 15, en el que R₁ es un grupo de la fórmula Y-3 en la que R₂₅ es un grupo de la fórmula R₂₆-(CH₂)_e-, en la que R₂₆ es alcoxi de bajo peso molecular, Q es -(CH₂)_f-, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3.

15 17. Un compuesto según la reivindicación 10, en el que

R₂ es hidrógeno, (alquilo de bajo peso molecular o arilo- (alquilo de bajo peso molecular));

R₃ es hidrógeno;

R₄ es halógeno;

20 R₅ es hidrógeno;

R₆ es hidrógeno o (alquilo de bajo peso molecular); y

R₇ es hidrógeno, cloro, alcoxi de bajo peso molecular o (alquilo de bajo peso molecular).

25 18. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 ó 4, en el que R₁ es un grupo de la fórmula Y-1 o un grupo de la fórmula Y-3;

R₂ es hidrógeno, (alquilo de bajo peso molecular o arilo- (alquilo de bajo peso molecular));

R₃ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular o arilo-
(alquilo de bajo peso molecular);

R₄ es hidrógeno o halógeno;

5 R₅ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, o tri-
fluormetilo;

R₆ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, (alqui-
lo de bajo peso molecular)-carboniloxi-(alquilo de bajo
peso molecular) o un grupo de la fórmula P-3 o un grupo
de la fórmula P-4; y

10 R₇ es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular.

19. Un compuesto según la reivindicación 18, en el
que

R₂ es alquilo de bajo peso molecular o arilo-(alquilo de
bajo peso molecular);

15 R₆ es hidrógeno, alquilo de bajo peso molecular, (alqui-
lo de bajo peso molecular)-carboniloxi-(alquilo de bajo
peso molecular) o un grupo de la fórmula P-3; y

R₇ es hidrógeno.

20. Un compuesto según la reivindicación 19, en el
20 que R₁ es Y-1 en el que R₂₂ y R₂₃ son hidrógeno, halóge-
no o alquilo de bajo peso molecular y R₂₄ es hidrógeno o
alcoxi de bajo peso molecular, o bien R₁ es un grupo de
la fórmula Y-3 en la que R₂₅ es un grupo de la fórmula
R₂₆-(CH₂)_e-, en la que R₂₆ es alcoxi de bajo peso mole-
25 cular, Q es -(CH₂)_f-, "e" es un número entero de 0 a 4 y
"f" es un número entero de 0 a 3.

21. Un compuesto según la reivindicación 20, en el
que R₂ es alquilo de bajo peso molecular; R₄ es hidróge-

2

no; R₃ y R₅ son alquilo de bajo peso molecular o trifluormetilo.

22. Un compuesto según la reivindicación 21, en el que R₆ es hidrógeno.

5 23. Un compuesto según la reivindicación 22, en el que R₁ es Y-1.

24. Un compuesto según la reivindicación 23, en el que R₂₂ y R₂₃ son halógeno o alquilo de bajo peso molecular.

10 25. Un compuesto según la reivindicación 24 que es
N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
N-[(2-etil-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
15 N-[(2-(1-metiletil)-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
20 N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina.

26. Un compuesto según la reivindicación 22 en el que R₁ es Y-3. *la sup. 7?*

25 27. Un compuesto según la reivindicación 26, que es
N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina.

28. Un compuesto según la reivindicación 21 en el

-148-

que R₆ es alquilo de bajo peso molecular.

29. Un compuesto según la reivindicación 28 que es éster etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;

éster etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;

éster etílico de N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina o

éster etílico de N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina.

30. Un compuesto según la reivindicación 21 en el que R₆ es (alquilo de bajo peso molecular)-carboniloxi-(alquilo de bajo peso molecular).

31. Un compuesto según la reivindicación 30 que es éster 1-(acetoxi)etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;

éster 1-(acetoxi)etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;

éster 1-(acetoxi)etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina o

éster 1-(acetoxi)etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfe-

nil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina.

32. Un compuesto según la reivindicación 21 en el que R₆ es un grupo de fórmula P-3, en la que R₃₂ es hidrógeno, R₃₃ y R₃₄ son alquilo de bajo peso molecular, uno de "h" y "g" es distinto de 0.

33. Un compuesto según la reivindicación 32 que es éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
 éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina;
 éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,6-dimetil-4-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina o
 éster 2-[(N,N-dietil)amino]etílico de la N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-[1,4-dimetil-6-(trifluormetil)-2-oxo-3-piridinil]-L-fenilalanina.

34. Un compuesto según la reivindicación 20 en el que R₆ es hidrógeno.

35. Un compuesto según la reivindicación 34, en el que R₂ es alquilo de bajo peso molecular; R₃ es hidrógeno; R₄ es hidrógeno o halógeno y R₅ es hidrógeno o alquilo de bajo peso molecular.

36. Un compuesto según la reivindicación 35, en el que R₁ es Y-1. *Ar, Ar', (R₂, R₃ y R₄)*

37. Un compuesto según la reivindicación 36, en el

-150-

que R₂₂ y R₂₃ son ~~alquilo~~ de bajo peso molecular o halógeno y R₂₄ es hidrógeno.

38. Un compuesto según la reivindicación 37 que es
N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(5-cloro-1-metil-2-
5 oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina;

N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-
piridinil)-L-fenilalanina;

N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-
3-piridinil)-L-fenilalanina.

10 39. Un compuesto según la reivindicación 36 en el
que R₂₂ y R₂₃ son halógeno y R₂₄ es hidrógeno.

40. Un compuesto según la reivindicación 39 que es
la N-[(2,6-diclorofenil)carbonil]-4-(1,4-dimetil-2-oxo-
3-piridinil)-L-fenilalanina.

15 41. Un compuesto según la reivindicación 36 en el
que R₂₂ y R₂₃ son ~~halógeno~~ o hidrógeno y R₂₄ es ~~alcoxi~~
de ~~bajo peso molecular~~.

42. Un compuesto según la reivindicación 41 que es
N-[(2-bromo-5-metoxifenil)carbonil]-4-(1-metil-2-oxo-3-
20 piridinil)-L-fenilalanina o

N-[(2-bromo-5-metoxifenil)carbonil]-4-(5-bromo-1-metil-
2-oxo-3-piridinil)-L-fenilalanina.

43. Un compuesto según la reivindicación 35, en el
que R₁ es Y-3. 9 495 57

25 44. Un compuesto según la reivindicación 43 que es
la 4-(5-cloro-1-metil-2-oxo-3-piridinil)-N-[[1-(2-meto-
xietil)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina.

45. Un compuesto de la reivindicación 19, en el que

-151-

R₂₂ y R₂₃ son halógeno o alquilo de bajo peso molecular, R₂₄ es hidrógeno o alcoxi de bajo peso molecular, R₂₅ es un grupo de la fórmula R₂₆-(CH₂)_e-, en la que R₂₆ es alcoxi de bajo peso molecular, Q es -(CH₂)_f-, "e" es un número entero de 0 a 4 y "f" es un número entero de 0 a 3.

46. Un compuesto según la reivindicación 45 en el que R₂ es arilo-(alquilo de bajo peso molecular); R₃ es hidrógeno, R₄ es halógeno y R₅, R₆ y R₇ son hidrógeno.

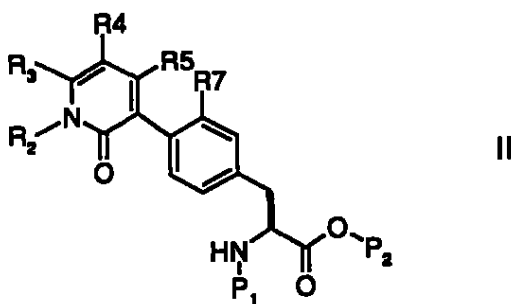
47. Un compuesto según la reivindicación 46 en el que R₁ es Y-1.

48. Un compuesto según la reivindicación 47 que es la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[(2-cloro-6-metilfenil)carbonil]-L-fenilalanina; o

la 4-(1-bencil-5-cloro-2-oxo-3-piridinil)-N-[[1-(2-metoxietil)ciclopentil]carbonil]-L-fenilalanina.

49. Un compuesto de la fórmula II

20



25

en la que R₂-R₅ y R₇ tienen los significados definidos en la reivindicación 1 y P₁ y P₂ son en cada caso un

grupo protector.

50. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-48 destinado a utilizarse como medicamento.

51. Una composición farmacéutica que consta de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-48 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable. ✓

52. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-48 destinado a utilizarse en el tratamiento de estados patológicos debidos a la unión de la molécula VCAM-1 o del antígeno VLA-4 o de células de expresión del VLA-4, en especial en el tratamiento de artritis reumatoide, esclerosis múltiple, enfermedades inflamatorias intestinales y asma.

53. Un procedimiento de fabricación de una composición farmacéutica que consiste en incorporar un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-48 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable a una forma de administración galénica.

54. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-48 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para ser usado en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la artritis reumatoide, de la esclerosis múltiple, de las enfermedades inflamatorias intestinales y del asma.

REPUBLICA DE COLOMBIA
MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES

CERTIFICACION

Se hace constar que el Señor(a) MARIA MERCEDES URICOECHEA TORRES

se encuentra debidamente registrado(a) ante el Ministerio de Relaciones

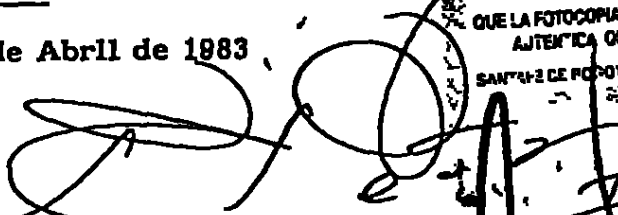
Exteriores, como traductor e interprete oficial para los idiomas _____

Inglés - Español - Inglés según resolución N° 10607

de fecha 31 de Diciembre de 1981 del Ministerio de Justicia

Se expide a los 6 dias del mes de Abril de 1983

Atentamente,


RAFAEL HUMBERTO PEÑA FLOREZ

JEFE DE NEGOCIOS GENERALES

COMO NOTARIO DEL DEPARTAMENTO DE SANTAFÉ DE BOGOTÁ
HAGO CONSTAR
QUE LA FOTOCOPIA CONCIDE CON LA FOTOCOPIA
AUTÉNTICA QUE HE TENIDO A LA VISTA
SANTAFÉ DE BOGOTÁ
16 JUN 1998

COMO NOTARIO SEXTO ENCARGADO DE SANTAFÉ DE BOGOTÁ
HAGO CONSTAR
QUE LA FOTOCOPIA CONCIDE CON LA FOTOCOPIA
AUTÉNTICA QUE HE TENIDO A LA VISTA
SANTAFÉ DE BOGOTÁ
15 ABR 2000
PABLO GONZÁLEZ BARRAL

COMO NOTARIO SEXTO ENCARGADO DE SANTAFÉ DE BOGOTÁ
HAGO CONSTAR
QUE LA FOTOCOPIA CONCIDE CON LA FOTOCOPIA
AUTÉNTICA QUE HE TENIDO A LA VISTA
SANTAFÉ DE BOGOTÁ
29 JUL 1989
JUAN MANUEL BOTERO MEDINA
NOTARIO

COMO NOTARIO SEXTO ENCARGADO DE SANTAFÉ DE BOGOTÁ
HAGO CONSTAR
QUE LA FOTOCOPIA CONCIDE CON LA FOTOCOPIA
AUTÉNTICA QUE HE TENIDO A LA VISTA
SANTAFÉ DE BOGOTÁ
24 NOV 1998

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
BOGOTÁ

Folios 158 y
159 tarjetas

161 F. Hoffmann
20515
157



A TODOS A QUIENES LLEGUE EL PRESENTE:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

Oficina de Marcas y Patentes

26 de julio del 2000.

LA PRESENTE CERTIFICA QUE LA ADJUNTA ES UNA COPIA TOMADA DE LOS REGISTROS DE LA OFICINA DE MARCAS Y PATENTES DE LOS ESTADOS UNIDOS, DE LOS DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD DE PATENTE ABAJO IDENTIFICADA Y LA CUAL CUMPLE CON LOS REQUISITOS PARA QUE LE SEA CONFERIDA UNA FECHA DE RADICACIÓN SEGÚN 35 USC 111.

NUMERO DE SOLICITUD 60/169,090

FECHA DE RADICACIÓN: 06 de diciembre de 1999

Por Autoridad del

COMISIONADO DE MARCAS Y PATENTES

(FIRMA H. PHILLIPS

Oficial de Certificaciones

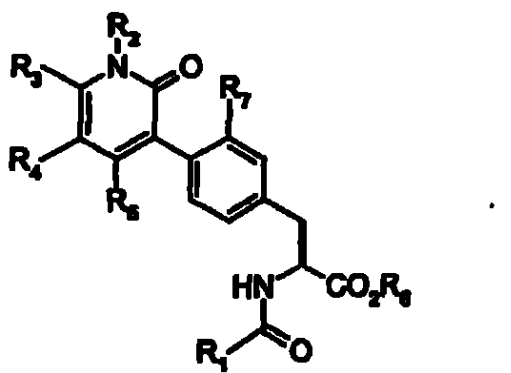
(SELLO DORADO DE OBLEA)

Maria Mercedes Uricache
Res. No. 1007/1999
Traducción Juramentada
Maria Mercedes Uricache

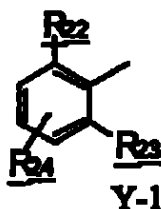
E4-PIRIDINIL-N-ACIL-L-FENILALANINAS

REIVINDICACIONES:

1. Un compuesto de la fórmula:



en donde R₁ es un grupo Y-1



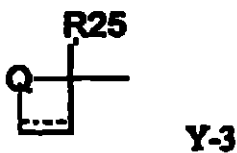
en donde R₂₂ y R₂₃ son independientemente hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, cicloalquil más bajo, aril, arilalquil, nitro, ciano, alquiltio más bajo, alquilsulfinil más bajo, alquil sulfonil más bajo, alcanol más bajo, halógeno o perfluoro alquil más bajo y al menos uno de R₂₂ y R₂₃ es diferente de hidrógeno, y R₂₄ es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, aril, nitro, ciano, alquil sulfonil más bajo, o halógeno; o

R₁ es un anillo heteroaromático de cinco o seis miembros ligado por un átomo de carbono a la amida carbonil, en donde dicho anillo

No Cede Cidem
los capítulos
sustanciales
de la solicitud
SA Reivindicaciones
y este 28.

contiene uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo compuesto por N, O y S y uno o dos átomos de dicho anillo son sustituidos independientemente por alquil más bajo, cicloalquil, halógeno, ciano, perfluoroalquil, o aril y al menos uno de dichos átomos sustituidos es adyacente al átomo de carbono ligado a la amida carbonil;
o

R₁ es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3 a 7 miembros de la fórmula:



en donde R₂₅ es alquil más bajo, alquenil más bajo insustituido o sustituido por flúor, o un grupo de la fórmula R₂₆—(CH₂)_n—, R₂₆ es aril, heteroaril, azido, ciano, hidroxil, alcoxi más bajo, alcoxicarbonil más bajo, alcanoil más bajo, alquiltio más bajo, alquil sulfonil más bajo, alquil sulfinil más bajo, perfluoro alcanoil más bajo, nitro, o R₂₆ es un grupo de la fórmula —NR₂₈R₂₉, en donde R₂₈ es hidrógeno o alquil más bajo, R₂₉ es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxicarbonil más bajo, alcanoil más bajo, aroil, perfluoro alcanoilamino más bajo, alquil sulfonil más bajo, alquilaminocarbonil más bajo, arilaminocarbonil; o

R₂₈ y R₂₉ tomados junto con el átomo de nitrógeno fijo, forman un anillo heterocíclico saturado de 4, 5 o 6 miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, S, y N-R₄₀.

Q es —(CH₂)_rO—, —(CH₂)_rS—, —(CH₂)_rN(R₂₇)—, (CH₂)_r—,

R₂₇ es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcóxicarbonil más bajo,

R₄₀ es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcóxicarbonil más bajo, los átomos de carbono en el anillo son sustituidos o insustituidos por alquil más bajo o halógeno, e es un entero de 0 a 4, y f es un entero de 0 a 3;

R₂ es hidrógeno, alquil más bajo, alquil más bajo sustituido, aril o aril alquil má bajo;

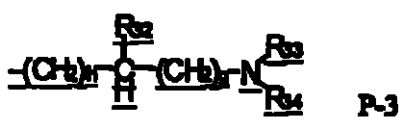
R₃ es hidrógeno, halógeno alquil más bajo o aril;

R₄ es hidrógeno, halógeno, alquil más bajo o aril;

R₅ es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, trifluorometil u OH;

R₆ es hidrógeno, alquil más bajo acloxi alquil más bajo,

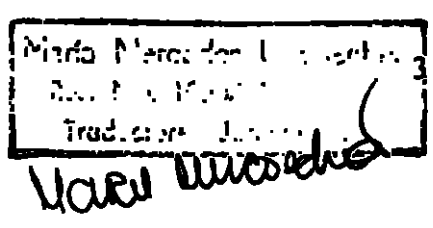
o R₆ es un grupo de la fórmula P-3:

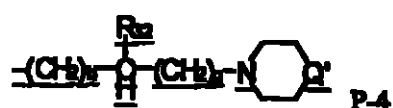


en donde:

R₃₂ es hidrógeno o alquil más bajo; R₃₃ es hidrógeno, alquil más bajo, aril; R₃₄ es hidrógeno o alquil más bajo; h es un entero de 0 a 2; g es un entero de 0 a 2; la suma de h y g es 1 a 3; o

R₆ es un grupo de la fórmula P-4:

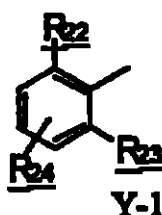




en donde: R_{32} , g y h son como se define anteriormente; Q' es O, S, -
 $(\text{CH}_2)_j$, o un grupo de la fórmula N-R_{35} ; en donde R_{35} es hidrógeno,
 alquil más bajo, alcanol más bajo, alcoxicarbonil más bajo; j es 0, 1 o
 2; y

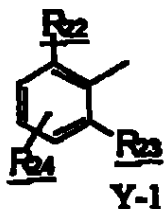
R_7 es hidrógeno, cloro, alcoxi más bajo, o alquil más bajo.

2. Un compuesto de la reivindicación 1, en donde R_1 es un
 grupo Y-1:



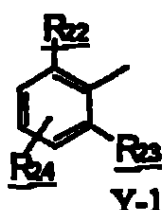
en donde R_{22} y R_{23} son Independientemente hidrógeno, alquil más
 bajo, alcoxi más bajo, cicloalquil más bajo, aril, arilalquil, nitro, ciano,
 alquiltio más bajo, alquilsulfinil más bajo, alquil sulfonil más bajo,
 alcanol más bajo, halógeno o perfluoro alquil más bajo y al menos uno
 de R_{22} y R_{23} es diferente de hidrógeno, y R_{24} es hidrógeno, alquil más
 bajo, alcoxi más bajo, aril, nitro, ciano, alquil sulfonil más bajo, o
 halógeno.

3. Un compuesto de la reivindicación 2, en donde R_1 es un
 grupo Y-1



en donde R_{22} y R_{23} son Independientemente alquil más bajo o halógeno y R_{24} es hidrógeno.

4. Un compuesto de la reivindicación 2, en donde R_1 es un grupo Y-1

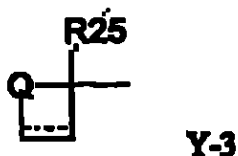


en donde R_{22} y R_{23} son Independientemente hidrógeno, alquil más bajo o halógeno y R_{24} es hidrógeno, alquil más bajo o alcoxi más bajo.

5. Un compuesto de la reivindicación 1, en donde R_1 es anillo heteroaromático de cinco o seis miembros ligado por un átomo de carbono a la amida carbonil, en donde dicho anillo contiene uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo compuesto por N, O y S y uno o dos átomos de dicho anillo son sustituidos Independientemente por alquil más bajo, cicloalquil, halógeno, ciano, perfluoroalquil, o aril y al menos uno de dichos átomos sustituidos es adyacente al átomo de carbono ligado a la amida carbonil.

Harold M. S. S. S.

6. Un compuesto de la reivindicación 1, en donde R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3 a 7 miembros de la fórmula:



en donde R_{25} es alquil más bajo, alquenal más bajo insustituido o sustituido por flúor, o un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_n-$, R_{26} es aril, heteroaril, azido, clano, hidroxil, alcoxi más bajo, alcoxycarbonil más bajo, alcanoil más bajo, alquiltio más bajo, alquil sulfonil más bajo, alquil sulfinil más bajo, perfluoro alcanoil más bajo, nitro, o R_{26} es un grupo de la fórmula $-NR_{28}R_{29}$, en donde R_{28} es hidrógeno o alquil más bajo, R_{29} es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxycarbonil más bajo, alcanoil más bajo, aroil, perfluoro alcanoilamino más bajo, alquil sulfonil más bajo, alquilaminocarbonil más bajo, arilaminocarbonil; o

R_{28} y R_{29} tomados junto con el átomo de nitrógeno fijo, forman un anillo heterocíclico saturado de 4, 5 o 6 miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, S, y N- R_{40} .

Q es $-(CH_2)_rO-$, $-(CH_2)_rS-$, $-(CH_2)_rN(R_{27})-$, $-(CH_2)_r-$,

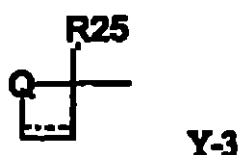
R_{27} es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcoxycarbonil más bajo,

R_{40} es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcoxicarbonil más bajo, los átomos de carbono en el anillo son sustituidos o insustituidos por alquil más bajo o halógeno,

e es un entero de 0 a 4, y

f es un entero de 0 a 3;

7. Un compuesto de la reivindicación 6, en donde R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3 a 7 miembros de la fórmula:



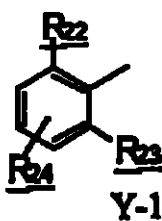
en donde R_{25} es un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e-$, en donde R_{26} es alcoxi más bajo,

Q es $-(CH_2)_f-$,

e es un entero de 0 a 4, y

f es un entero de 0 a 3;

8. Un compuesto de la reivindicación 1, en donde R_1 es un grupo Y-1

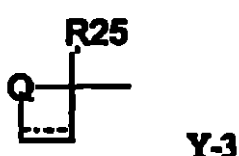


en donde R_{22} y R_{23} son independientemente hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, cicloalquil más bajo, aril, arilalquil, nitró, clano, alquiltio más bajo, alquilsulfinil más bajo, alquil sulfonil más bajo, alcanoil más bajo, halógeno o perfluoro alquil más bajo y al menos uno de R_{22} y R_{23} es diferente de hidrógeno, y R_{24} es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, aril, nitró, clano, alquil sulfonil más bajo, o halógeno; y

R_2 es hidrógeno o alquil más bajo, alquil más bajo sustituido, aril o aril alquil más bajo.

9. Un compuesto de la reivindicación 8, en donde R_{22} y R_{23} son independientemente hidrógeno, alquil más bajo o halógeno, R_{24} es hidrógeno o alcoxi más bajo y R_2 es aril alquil más bajo.

10. Un compuesto de la reivindicación 1, en donde R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3 a 7 miembros de la fórmula:



en donde R_{25} es alquil más bajo, alquenil más bajo insustituido o sustituido por flúor, o un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e-$, R_{26} es aril, heteroaril, azido, clano, hidroxil, alcoxi más bajo, alcoxycarbonil más bajo, alcanoil más bajo, alquiltio más bajo, alquil sulfonil más bajo, alquil sulfinil más bajo, perfluoro alcanoil más bajo, nitró, o R_{26} es un grupo de la fórmula $-NR_{28}R_{29}$, en donde R_{28} es hidrógeno o alquil más

bajo, R_{29} es hidrógeno, alquil más bajo, alcóxicarbonil más bajo, alcanol más bajo, aroil, perfluoro alcanolamino más bajo, alquil sulfonil más bajo alquilaminocarbonil más bajo, arilaminocarbonil; o

R_{28} y R_{29} tomados junto con el átomo de nitrógeno fijo, forman un anillo heterocíclico saturado de 4, 5 o 6 miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, S, y N- R_{40} .

Q es $-(CH_2)_fO-$, $-(CH_2)_fS-$, $-(CH_2)_fN(R_{27})-$, $-(CH_2)_f-$,

R_{27} es H, alquil más bajo, aril, alcanol más bajo, aroil o alcóxicarbonil más bajo,

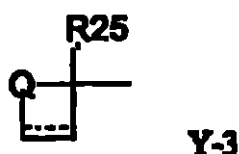
R_{40} es H, alquil más bajo, aril, alcanol más bajo, aroil o alcóxicarbonil más bajo, los átomos de carbono en el anillo son sustituidos o insustituidos por alquil más bajo o halógeno,

e es un entero de 0 a 4, y

f es un entero de 0 a 3;

R_2 es hidrógeno o alquil más bajo, alquil más bajo sustituido o aril alquil más bajo.

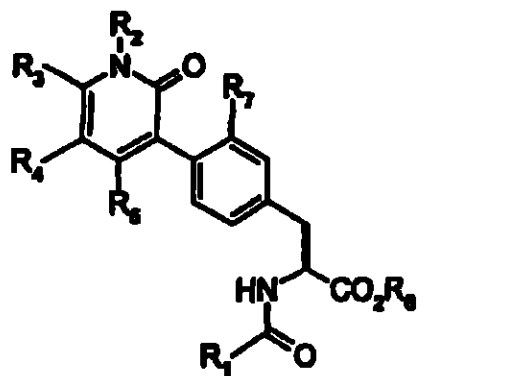
11. Un compuesto de la reivindicación 10, en donde R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3 a 7 miembros de la fórmula:



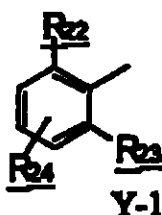
en donde R_{25} es un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e$, en donde R_{26} es alcoxi,

Q es $-(CH_2)_f$, e es un entero de 0 a 4, f es un entero de 0 a 3 y R_2 es aril alquil más bajo.

12. Un compuesto de la fórmula:



en donde R_1 es un grupo Y-1



en donde R_{22} y R_{23} son independientemente hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, cicloalquil más bajo, aril, arilalquil, nitro, ciano, alquiltio más bajo, alquilsulfinil más bajo, alquil sulfonil más bajo, alcanoil más bajo, halógeno o perfluoro alquil más bajo y al menos uno de R_{22} y R_{23} es diferente de hidrógeno, y R_{24} es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, aril, nitro, ciano, alquil sulfonil más bajo, o halógeno; o

R_{28} y R_{29} tomados junto con el átomo de nitrógeno fijo, forman un anillo heterocíclico saturado de 4, 5 o 6 miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, S, y N- R_{40} .

Q es $-(CH_2)_rO-$, $-(CH_2)_rS-$, $-(CH_2)_rN(R_{27})-$, $-(CH_2)_r-$,

R_{27} es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcoxycarbonil más bajo,

R_{40} es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcoxycarbonil más bajo, los átomos de carbono en el anillo son sustituidos o insustituidos por alquil más bajo o halógeno, e es un entero de 0 a 4, y f es un entero de 0 a 3;

R_2 es hidrógeno, alquil más bajo o aril alquil más bajo;

R_3 es hidrógeno;

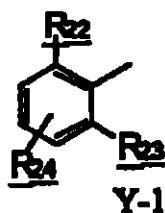
R_4 es hidrógeno o halógeno

R_5 es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, trifluorometil o alcoxi más bajo;

R_6 es hidrógeno o alquil más bajo,

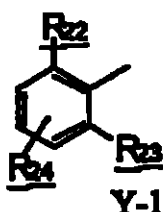
R_7 es hidrógeno, cloro, alcoxi más bajo o alquil más bajo.

13. Un compuesto de la reivindicación 12, en donde R_1 es un grupo Y-1



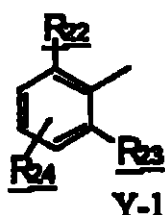
en donde R_{22} y R_{23} son independientemente hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, cicloalquil más bajo, aril, arilalquil, nitro, ciano, alquiltio más bajo, alquilsulfinil más bajo, alquil sulfonil más bajo, alcanoil más bajo, halógeno o perfluoro alquil más bajo y al menos uno de R_{22} y R_{23} es diferente de hidrógeno, y R_{24} es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, aril, nitro, ciano, alquil sulfonil más bajo, o halógeno.

14. Un compuesto de la reivindicación 13, en donde R_1 es un grupo Y-1



en donde R_{22} y R_{23} son Independientemente alquil más bajo o halógeno y R_{24} es hldrógeno o alcoxi más bajo.

15. Un compuesto de la reivindicación 13, en donde R_1 es un grupo Y-1

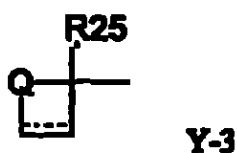


125
171

en donde R_{22} y R_{23} son Independientemente hidrógeno, alquil más bajo o halógeno y R_{24} es hidrógeno, alquil más bajo o alcoxi más bajo.

16. Un compuesto de la reivindicación 12, en donde R_1 es anillo heteroaromático de cinco o seis miembros ligado por un átomo de carbono a la amida carbonil, en donde dicho anillo contiene uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo compuesto por N, O y S y uno o dos átomos de dicho anillo son sustituidos independientemente por alquil más bajo, cicloalquil, halógeno, ciano, perfluoroalquil, o aril y al menos uno de dichos átomos sustituidos es adyacente al átomo de carbono ligado a la amida carbonil.

17. Un compuesto de la reivindicación 12, en donde R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3 a 7 miembros de la fórmula:



en donde R_{25} es alquil más bajo, alquenil más bajo insustituido o sustituido por flúor, o un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_n-$, R_{26} es aril, heteroaril, azido, ciano, hidroxil, alcoxi más bajo, alcoxycarbonil más bajo, alcanoil más bajo, alquiltio más bajo, alquil sulfonil más bajo, alquil sulfinil más bajo, perfluoro alcanoil más bajo, nitro, o R_{26} es un grupo de la fórmula $-NR_{28}R_{29}$, en donde R_{28} es hidrógeno o alquil más bajo, R_{29} es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxycarbonil más bajo, alcanoil

176
172

más ajo, aroil, perfluoro alcanoilamino más bajo, alquil sulfonil más bajo alquillaminocarbonil más bajo, arilaminocarbonil; o

R₂₈ y R₂₉ tomados junto con el átomo de nitrógeno fijo, forman un anillo heterocíclico saturado de 4, 5 o 6 miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, S, y N-R₄₀.

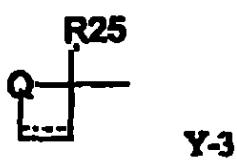
Q es -(CH₂)_rO-, -(CH₂)_rS-, -(CH₂)_rN(R₂₇)-, -(CH₂)_r-,

R₂₇ es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcoxicarbonil más bajo,

R₄₀ es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcoxicarbonil más bajo, los átomos de carbono en el anillo son sustituidos o insustituidos por alquil más bajo o halógeno,

e es un entero de 0 a 4, y f es un entero de 0 a 3;

18. Un compuesto de la reivindicación 17, en donde R₁ es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3 a 7 miembros de la fórmula:



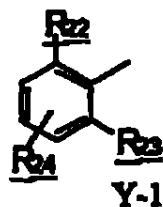
en donde R₂₅ es un grupo de la fórmula R₂₆—(CH₂)_e—, en donde R₂₆ es alcoxi más bajo,

Q es -(CH₂)_r-, e es un entero de 0 a 4 y f es un entero de 0 a 3.

María Mercedes Luchessa
 Traductora Jurada
 15

María Mercedes Luchessa

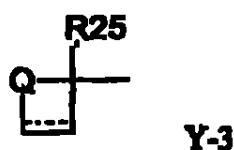
19. Un compuesto de la reivindicación 12, en donde R_1 es un grupo Y-1



en donde R_{22} y R_{23} son Independientemente hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, cicloalquil más bajo, aril, arilalquil, nitro, ciano, alquiltio más bajo, alquilsulfinil más bajo, alquil sulfonil más bajo, alcanoil más bajo, halógeno o perfluoro alquil más bajo y al menos uno de R_{22} y R_{23} es diferente de hidrógeno, y R_{24} es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxi más bajo, aril, nitro, ciano, alquil sulfonil más bajo, o halógeno.

20. Un compuesto de la reivindicación 19, en donde R_{22} y R_{23} son Independientemente hidrógeno, alquil más bajo o halógeno, R_{24} es hidrógeno y R_2 es aril alquil más bajo.

21. Un compuesto de la reivindicación 12, en donde R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3 a 7 miembros de la fórmula:



en donde R_{25} es alquil más bajo, alquenil más bajo insustituido o sustituido por flúor, o un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_n$, R_{26} es aril,

heteroaril, azido, clano, hidroxil, alcoxi más bajo, alcoxycarbonil más bajo, alcanoil más bajo, alquiltio más bajo, alquil sulfonil más bajo, alquil sulfinil más bajo, perfluoro alcanoil más bajo, nitro, o R_{26} es un grupo de la fórmula $-NR_{28}R_{29}$, en donde R_{28} es hidrógeno o alquil más bajo, R_{29} es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxycarbonil más bajo, alcanoil más bajo, aroil, perfluoro alcanoilamino más bajo, alquil sulfonil más bajo alquilaminocarbonil más bajo, arilaminocarbonil; o

- R_{28} y R_{29} tomados junto con el átomo de nitrógeno fijo, forman un anillo heterocíclico saturado de 4, 5 o 6 miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, S, y N- R_{40} .

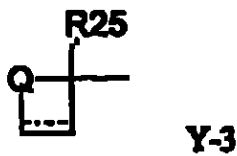
Q es $-(CH_2)_eO-$, $-(CH_2)_fS-$, $-(CH_2)_fN(R_{27})-$, $-(CH_2)_f-$,

R_{27} es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcoxycarbonil más bajo,

R_{40} es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcoxycarbonil más bajo, los átomos de carbono en el anillo son sustituidos o insustituidos por alquil más bajo o halógeno,

e es un entero de 0 a 4, y f es un entero de 0 a 3.

22. Un compuesto de la reivindicación 21, en donde R_1 es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3 a 7 miembros de la fórmula:

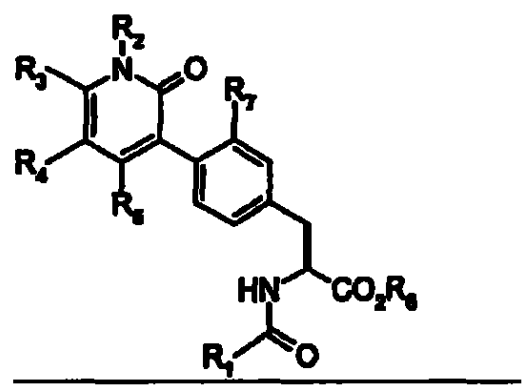


174
175

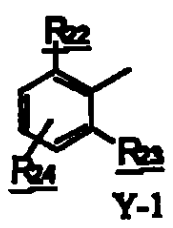
en donde R_{25} es un grupo de la fórmula $R_{26}-(CH_2)_e-$, en donde R_{26} es alcoxil más bajo,

Q es $-(CH_2)_f-$, e es un entero de 0 a 4 y f es un entero de 0 a 3.

23. Un compuesto de la fórmula:



en donde R_1 es un grupo Y-1

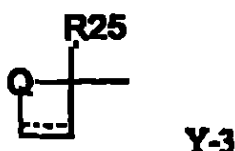


en donde R_{22} y R_{23} son independientemente hidrógeno, alquil más bajo, alcoxil más bajo, cicloalquil más bajo, aril, arilalquil, nitro, ciano, alquiltio más bajo, alquilsulfinil más bajo, alquil sulfonil más bajo, alcanoll más bajo, halógeno o perfluoro alquil más bajo y al menos uno de R_{22} y R_{23} es diferente de hidrógeno, y R_{24} es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxil más bajo, aril, nitro, ciano, alquil sulfonil más bajo, o halógeno; o

R_1 es un anillo heteroaromático de cinco o seis miembros ligado por un átomo de carbono a la amida carbonil, en donde dicho anillo

contiene uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo compuesto por N, O y S y uno o dos átomos de dicho anillo son sustituidos independientemente por alquil más bajo, cicloalquil, halógeno, ciano, perfluoroalquil, o aril y al menos uno de dichos átomos sustituidos es adyacente al átomo de carbono ligado a la amida carbonil;
o

R₁ es un grupo de la fórmula Y-3 que es un anillo de 3 a 7 miembros de la fórmula:



en donde R₂₅ es alquil más bajo, alquenil más bajo insustituido o sustituido por flúor, o un grupo de la fórmula R₂₆—(CH₂)_n—, R₂₆ es aril, heteroaril, azido, ciano, hidroxil, alcoxi más bajo, alcoxicarbonil más bajo, alcanoil más bajo, alquiltio más bajo, alquil sulfonil más bajo, alquil sulfinil más bajo, perfluoro alanoil más bajo, nitro, o R₂₆ es un grupo de la fórmula —NR₂₈R₂₉, en donde R₂₈ es hidrógeno o alquil más bajo, R₂₉ es hidrógeno, alquil más bajo, alcoxicarbonil más bajo, alcanoil más bajo, aroil, perfluoro alcanoilamino más bajo, alquil sulfonil más bajo alquilaminocarbonil más bajo, arilaminocarbonil; o

R₂₈ y R₂₉ tomados junto con el átomo de nitrógeno fijo, forman un anillo heterocíclico saturado de 4, 5 o 6 miembros que opcionalmente contiene un heteroátomo adicional seleccionado de O, S, y N-R₄₀.

Q es —(CH₂)_rO—, —(CH₂)_rS—, —(CH₂)_rN(R₂₇)—, —(CH₂)_r—,

181
177

R₂₇ es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcóxicarbonil más bajo,

R₄₀ es H, alquil más bajo, aril, alcanoil más bajo, aroil o alcóxicarbonil más bajo, los átomos de carbono en el anillo son sustituidos o insustituidos por alquil más bajo o halógeno, e es un entero de 0 a 4, y f es un entero de 0 a 3;

R₂ es hidrógeno, alquil más bajo o aril alquil más bajo;

R₃ es hidrógeno;

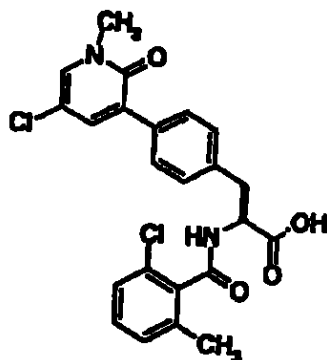
R₄ es halógeno;

R₅ es hidrógeno;

R₆ es hidrógeno o alquil más bajo, y

R₇ es hidrógeno, cloro, alcoxi más bajo o alquil más bajo.

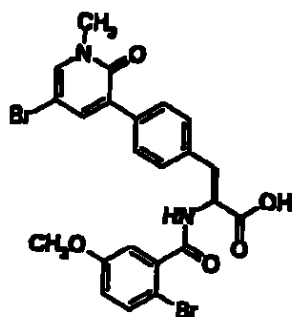
24. Un compuesto de la fórmula:



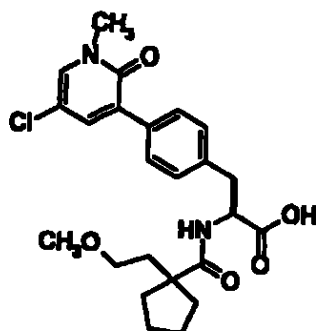
25. Un compuesto de la fórmula:

María Mercedes Utracheco
R.O. No. 16527 Traductora
Traductora Jurada
20
Utracheco

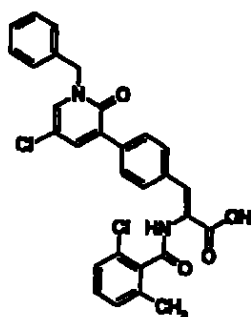
+32
178



26. Un compuesto de la fórmula:



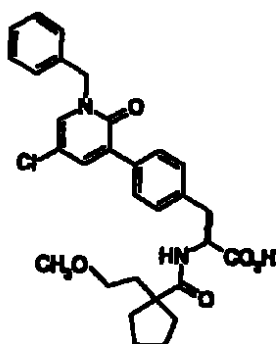
27. Un compuesto de la fórmula:



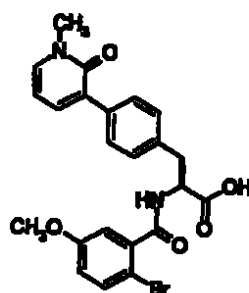
28. Un compuesto de la fórmula:

David Mascher

923
179



29. Un compuesto de la fórmula



María Mercedes López Sánchez
Res. No. 12117
Tribunal de Justicia

María Mercedes López Sánchez

PA 201249

THE UNITED STATES OF AMERICA

**TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME;
UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE**

United States Patent and Trademark Office

July 26, 2000

**THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED IS A TRUE COPY FROM THE
ASSIGNMENT RECORDS OF ALL DOCUMENTS FOUND OF RECORD AS
OF THE DATE OF THIS CERTIFICATION FOR:**

APPLICATION NUMBER: 60/169,090

FILING DATE: December 06, 1999



**By Authority of the
COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS**

H. Phillips
H. PHILLIPS
Certifying Officer

12-07-99
CERTIFICATION UNDER 37 CFR 1.30

AIR 181
JCS53 U.S. PTO
60/169090
12/06/99

I hereby certify that this New Application Transmitted and the documents referred to as enclosed therein are being deposited with the United States Postal Service on this date December 6, 1999 in an envelope as "Express Mail Post Office to Addressee" Mailing Label Number EL26186743213 addressed to the: Assistant Commissioner for Patents, Washington, D.C. 20231.

Francis Johnston
(Print Name)

(Signature)

PROVISIONAL APPLICATION COVER SHEET

This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION under 37 CFR 1.53(b)(2).

Docket No. 1102P

INVENTOR(s)/APPLICANT(s)

Name: Kaplan, Gerald Lewis
Residence: New York, New York 10025
Citizenship: United States
Post Office Address: 317 West 93rd Street, New York, New York 10025

Name: Sidduri, Achyutharao
Residence: Livingston, Essex County, New Jersey
Citizenship: India
Post Office Address: 22 Washington Court, Livingston, New Jersey 07039

Name: Tilley, Jefferson Wright
Residence: North Caldwell, New Jersey
Citizenship: United States
Post Office Address: 19 Evergreen Drive, North Caldwell, New Jersey 07006

TITLE OF THE INVENTION

4-PYRIDINYL-N-ACYL-L-PHENYLALANINES

CORRESPONDENCE ADDRESS

George W. Johnston
Hoffmann-La Roche Inc.
340 Kingsland Street
Nutley, NJ 07110

ENCLOSED APPLICATION PARTS (check all that apply)

☒ Specification	No. of Pages <u>63</u>	☒ Declaration	No. of Pages <u>3</u>
☒ Claims	No. of Claim <u>29</u>	☐ Drawings	Sheets of Drawings <u> </u>
☐ Sequence Listing	No. of Pages <u> </u>	☐ Other	<u> </u>

136
182

METHOD OF PAYMENT

☒ The Commissioner is hereby authorized to
charge any fees or credit any overpayment
to Deposit Account Number: 08-2525

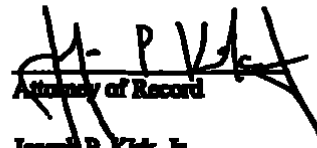
Provisional
Filing Fee
Amount \$150.00

The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government.

☒ No

☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are: _____

Respectfully submitted,


Attorney of Record

Joseph P. Kirk, Jr.
(Reg. No 36,844)
Telephone: (973) 235-4393
Telefax: (973) 235-2363
Date: December 6, 1999

91897

60457070-120370

87
183

4-PYRIDINYL-N-ACYL-L-PHENYLALANINES

BACKGROUND OF THE INVENTION

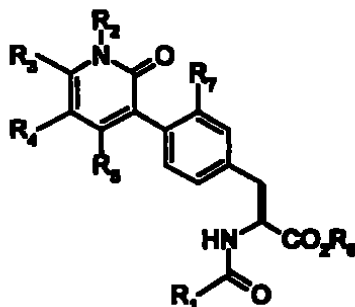
Vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), a member of the immunoglobulin (Ig) supergene family, is expressed on activated, but not resting, endothelium. The integrin VLA-4 ($\alpha_4\beta_1$), which is expressed on many cell types including circulating lymphocytes, eosinophils, basophils, and monocytes, but not neutrophils, is the principal receptor for VCAM-1. Antibodies to VCAM-1 or VLA-4 can block the adhesion of these mononuclear leukocytes, as well as melanoma cells, to activated endothelium *in vitro*. Antibodies to either protein have been effective at inhibiting leukocyte infiltration and preventing tissue damage in several animal models of inflammation. Anti-VLA-4 monoclonal antibodies have been shown to block T-cell emigration in adjuvant-induced arthritis, prevent eosinophil accumulation and bronchoconstriction in models of asthma, and reduce paralysis and inhibit monocyte and lymphocyte infiltration in experimental autoimmune encephalitis (EAE). Anti-VCAM-1 monoclonal antibodies have been shown to prolong the survival time of cardiac allografts. Recent studies have demonstrated that anti-VLA-4 mAbs can prevent insulinitis and diabetes in non-obese diabetic mice, and significantly attenuate inflammation in the cotton-top tamarin model of colitis. It has further been shown that VCAM is expressed on endothelial cells of inflamed colonic tissue in a TNB/ethanol rat model of inflammatory bowel disease (*Gastroenterology* 1999, 116, 874-883).

Thus, compounds which inhibit the interaction between α_4 -containing integrins and VCAM-1 will be useful as therapeutic agents for the treatment of chronic inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis (RA), multiple sclerosis (MS), asthma, and inflammatory bowel disease (IBD).

128
184

SUMMARY OF THE INVENTION

It has been discovered that compounds of the formula:



I

and the pharmaceutically acceptable salts and esters thereof wherein R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 and R_7 are as defined below, inhibit the binding of VCAM-1 to VLA-4 and so would be useful in treating inflammatory diseases in which such binding contributes to the disease process.

DETAILED DESCRIPTION OF THE INVENTION

As used in this specification, the term "lower alkyl", alone or in combination, means a straight-chain or branched-chain alkyl group containing a maximum of six carbon atoms, such as methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, sec.butyl, isobutyl, tert.butyl, n-pentyl, n-hexyl and the like. Also, as used herein "lower alkyl" may be groups which are unsubstituted or substituted by one or more groups selected independently from cycloalkyl, nitro, aryloxy, aryl, hydroxy, halogen, cyano, lower alkoxy, lower alkanoyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfinyl, lower alkyl sulfonyl, and substituted amino. Examples of substituted lower alkyl groups include 2-hydroxyethyl, 3-oxobutyl, cyanomethyl, and 2-nitropropyl.

The term "cycloalkyl" means an unsubstituted or substituted 3- to 7-membered carbocyclic ring. Substituents useful in accordance with the present invention are hydroxy, halogen, cyano, lower alkoxy, lower alkanoyl, lower alkyl, aroyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfinyl, lower alkyl sulfonyl, aryl, heteroaryl and substituted amino.

189
185

The term "lower alkoxy" means a straight-chain or branched-chain alkoxy group containing a maximum of six carbon atoms, such as methoxy, ethoxy, n-propoxy, isopropoxy, n-butoxy, tert-butoxy and the like.

The term "lower alkylthio" means a lower alkyl group bonded through a divalent sulfur atom, for example, a methyl mercapto or a isopropyl mercapto group.

The term "aryl" means a mono- or bicyclic aromatic group, such as phenyl or naphthyl, which is unsubstituted or substituted by conventional substituent groups. Preferred substituents are lower alkyl, lower alkoxy, hydroxy lower alkyl, hydroxy, hydroxyalkoxy, halogen, lower alkylthio, lower alkylsulfinyl, lower alkylsulfonyl, cyano, nitro, perfluoroalkyl, alkanoyl, aroyl, aryl alkynyl, lower alkynyl and lower alkanoylamino. Examples of aryl groups that may be used in accordance with this invention are phenyl, p-tolyl, p-methoxyphenyl, p-chlorophenyl, m-hydroxy phenyl, m-methylthiophenyl, 2-methyl-5-nitrophenyl, 2,6-dichlorophenyl, 1-naphthyl and the like.

The term "arylalkyl" means a lower alkyl group as hereinbefore defined in which one or more hydrogen atoms is/are replaced by an aryl or heteroaryl group as herein defined. Any conventional aralkyl may be used in accordance with this invention, such as benzyl and the like.

The term "heteroaryl" means an unsubstituted or substituted 5- or 6-membered monocyclic heteroaromatic ring or a 9- or 10-membered bicyclic heteroaromatic ring containing 1, 2, 3 or 4 heteroatoms which are independently N, S or O. Examples of heteroaryl rings are pyridine, benzimidazole, indole, imidazole, thiophene, isoquinoline, quinoline and the like. Substituents as defined above for "aryl" are included in the definition of heteroaryl.

The term "lower alkoxycarbonyl" means a lower alkoxy group bonded via a carbonyl group. Examples of alkoxycarbonyl groups are ethoxycarbonyl and the like.

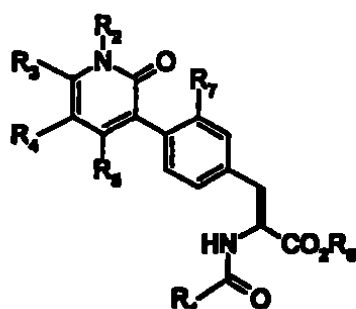
The term "lower alkylcarbonyloxy" means lower alkylcarbonyloxy groups bonded via an oxygen atom, for example an acetoxy group.

The term "lower alkanoyl" means lower alkyl groups bonded via a carbonyl group and embraces in the sense of the foregoing definition groups such as acetyl, propionyl and the like.

The term "lower alkylcarbonylamino" means lower alkylcarbonyl groups bonded via a nitrogen atom, such as acetylamino.

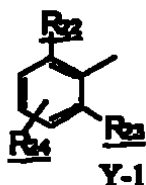
The term "aroyl" means a mono- or bicyclic aryl or heteroaryl group bonded via a carbonyl group. Examples of aroyl groups are benzoyl, 3-cyanobenzoyl, 2-naphthyl and the like.

The present invention comprises a compound of the formula:



and the pharmaceutically acceptable salts and esters thereof.

In accordance with the invention, R₁ is a group Y-1, Y-2 or Y-3 as described below:



Y-1 is a group of the formula:

wherein:

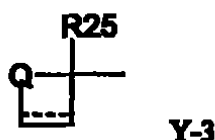
R₂₂ and R₂₃ are independently hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, lower cycloalkyl, aryl, arylalkyl, nitro, cyano, lower alkylthio, lower alkylsulfinyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkanoyl, halogen, or perfluorolower alkyl and at least one of R₂₂ and R₂₃ is other than hydrogen, and

R₂₄ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, aryl, nitro, cyano, lower alkyl sulfonyl, or halogen

Y-2 is a five or six membered heteroaromatic ring bonded via a carbon atom to the amide carbonyl wherein said ring contains one, two or three heteroatoms selected

from the group consisting of N, O and S and one or two atoms of said ring are independently substituted by lower alkyl, cycloalkyl, halogen, cyano, perfluoroalkyl, or aryl and at least one of said substituted atoms is adjacent to the carbon atom bonded to the amide carbonyl.

Y-3 is a 3-7 membered ring of the formula:



wherein:

R₂₅ is lower alkyl, unsubstituted or fluorine substituted lower alkenyl, or a group of formula R₂₈-(CH₂)_e,

R₂₆ is aryl, heteroaryl, azido, cyano, hydroxy, lower alkoxy, lower alkoxy carbonyl, lower alkanoyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfonyl, lower alkyl sulfinyl, perfluoro lower alkanoyl, nitro, or R₂₆ is a group of formula -NR₂₈R₂₉.

Wherein

R₂₈ is hydrogen or lower alkyl,

R₂₉ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy carbonyl, lower alkanoyl, aroyl, perfluoro lower alkanoyl amino, lower alkyl sulfonyl, lower alkyl aminocarbonyl, aryl aminocarbonyl,

or

R₂₈ and R₂₉, taken together with the attached nitrogen atom, form a 4, 5 or 6-membered saturated heterocyclic ring optionally containing one additional heteroatom selected from O, S, and N-R₄₀.

Q is -(CH₂)_fO-, -(CH₂)_fS-, -(CH₂)_fN(R₂₇)-, -(CH₂)_f,

R₂₇ is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxy carbonyl,

R₄₀ is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxy carbonyl,

the carbon atoms in the ring are unsubstituted or substituted by lower alkyl or halogen, e is an integer from 0 to 4, and

f is an integer from 0 to 3;

R₂ is hydrogen, lower alkyl, substituted lower alkyl, aryl, or aryl lower alkyl

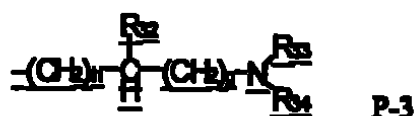
R₃ is hydrogen, halogen, lower alkyl, or aryl

R₄ is hydrogen, halogen, lower alkyl, or aryl

R₅ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, trifluoromethyl, or OH

R₆ is hydrogen, lower alkyl, acyloxy lower alkyl,

or R₆ is a group of formula P-3:



Wherein:

R₃₂ is hydrogen or lower alkyl

R₃₃ is hydrogen, lower alkyl, aryl

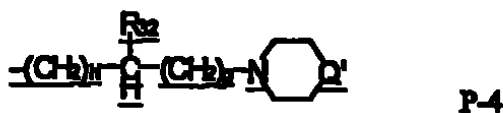
R₃₄ is hydrogen or lower alkyl

h is an integer from 0 to 2

g is an integer from 0 to 2

the sum of h and g is 1 to 3;

or R₆ is a group of formula P-4:



Wherein: R₃₂, g, and h are as previously defined,

Q' is O, S, -(CH₂)_j-, or a group of the formula N-R₃₅

R₃₅ is hydrogen, lower alkyl, lower alkanoyl, lower alkoxy carbonyl,

j is 0, 1 or 2

R₇ is hydrogen, chloro, lower alkoxy, or lower alkyl

The compounds of the invention can exist as stereoisomers and diastereomers, all of which are encompassed within the scope of the present invention.

The compounds of the invention inhibit the binding of VCAM-1 and fibronectin to VLA-4 on circulating lymphocytes, eosinophils, basophils, and monocytes ("VLA-4-expressing cells"). The binding of VCAM-1 and fibronectin to VLA-4 on such cells is known to be implicated in certain disease states, such as rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, inflammatory bowel disease, and particularly in the binding of eosinophils to airway endothelium which contributes to the cause of the lung inflammation which occurs in asthma. Thus, the compounds of the present invention would be useful for the treatment of asthma.

On the basis of their capability of inhibiting binding of VCAM-1 and fibronectin to VLA-4 on circulating lymphocytes, eosinophils, basophils, and monocytes, the compounds of the invention can be used as medicament for the treatment of disorders which are known to be associated with such binding. Examples of such disorders are rheumatoid arthritis, multiple sclerosis, asthma, and inflammatory bowel disease. The compounds of the invention are preferably used in the treatment of diseases which involve pulmonary inflammation, such as asthma. The pulmonary inflammation which occurs in asthma is related to the activation and lung infiltration of eosinophils, monocytes and lymphocytes which have been activated by some asthma-triggering event or substance.

Furthermore, compounds of the invention also inhibit the binding of VCAM-1 and MadCAM to the cellular receptor alpha4-beta7, also known as LPAM, which is expressed on lymphocytes, eosinophils and T-cells. While the precise role of alpha4-beta7 interaction with various ligands in inflammatory conditions such as asthma is not completely understood, compounds of the invention which inhibit both alpha4-beta1 and alpha4-beta7 receptor binding are particularly effective in animal models of asthma. Furthermore work with monoclonal antibodies to alpha4-beta7 indicate that compounds which inhibit alpha4-beta7 binding to MadCAM or VCAM are useful for the treatment of inflammatory bowel disease. They would also be useful in the treatment of other diseases in which such binding is implicated as a cause of disease damage or symptoms.

The compounds of the invention can be administered orally, rectally, or parentally, e.g., intravenously, intramuscularly, subcutaneously, intrathecally or transdermally; or sublingually, or as ophthalmological preparations, or as an aerosol in the case of pulmonary inflammation. Capsules, tablets, suspensions or solutions for oral administration, suppositories, injection solutions, eye drops, salves or spray solutions are examples of administration forms.

Intravenous, intramuscular, oral or inhalation administration is a preferred form of use. The dosages in which the compounds of the invention are administered in effective amounts depending on the nature of the specific active ingredient, the age and the requirements of the patient and the mode of administration. Dosages may be determined by any conventional means, e.g., by dose-limiting clinical trials. Thus, the invention further comprises a method of treating a host suffering from a disease in which VCAM-1 or fibronectin binding to VLA-4-expressing cells is a causative factor in the disease symptoms or damage by administering an amount of a compound of the invention sufficient to inhibit VCAM-1 or fibronectin binding to VLA-4-expressing cells so that said symptoms or said damage is reduced. In general, dosages of about 0.1-100 mg/kg body weight per day are preferred, with dosages of 1-25 mg/kg per day being particularly preferred, and dosages of 1-10 mg/kg body weight per day being especially preferred.

The invention further comprises pharmaceutical compositions which contain a pharmaceutically effective amount of a compound of the invention and a pharmaceutically acceptable carrier. Such compositions may be formulated by any conventional means. Tablets or granulates can contain a series of binders, fillers, carriers or diluents. Liquid compositions can be, for example, in the form of a sterile water-miscible solution. Capsules can contain a filler or thickener in addition to the active ingredient. Furthermore, flavour-improving additives as well as substances usually used as preserving, stabilizing, moisture-retaining and emulsifying agents as well as salts for varying the osmotic pressure, buffers and other additives can also be present.

The previously mentioned carrier materials and diluents can comprise any conventional pharmaceutically acceptable organic or inorganic substances, e.g., water, gelatine, lactose, starch, magnesium stearate, talc, gum arabic, polyalkylene glycols and the like.

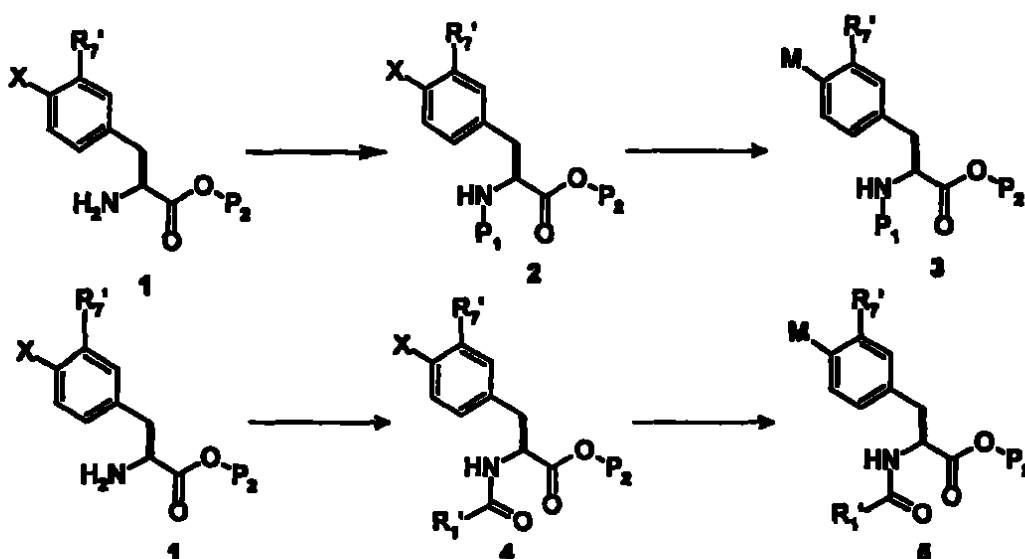
Oral unit dosage forms, such as tablets and capsules, preferably contain from 25 mg to 1000 mg of a compound of the invention.

Generally the compounds of the present invention can be prepared from suitable phenylalanine derivatives via a palladium catalyzed reaction with a 3-halo-2-pyridone.

As shown in Reaction Scheme 1, a 4-iodo- or 4-bromophenylalanine derivative such as 1, is converted into a protected phenylalanine derivative 2 in which R₁' is hydrogen, chloro, lower alkyl or lower alkoxy, P₁ is a standard nitrogen protecting group such as a Boc, or carbobenzyloxy group and P₂ is lower alkyl or substituted lower alkyl selected appropriately to serve as a protecting group or an element of a prodrug. The group P₂ can be introduced by conventional means familiar to those who practice peptide chemistry. The order of the addition of P₁ and P₂ is not critical and will depend on the particular choice of reagents. A discussion of the use and introduction of protecting groups is provided in Theodora W. Greene and Peter G. M. Wuts., *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Wiley Interscience, New York, 1991. Alternatively, a compound of formula 1 may be converted to a compound of formula 4, in which R₁' represents a component of an acyl group of the invention. A convenient method is to introduce the ester group P₂ first, followed by a coupling reaction of the free amine using conventional peptide coupling reagents, for example HBTU in the presence of a tertiary amine base such as diethylisopropylamine. Again, the particular choice of reagents may dictate altering the sequence of the introduction of R₁' and P₂. Conversion of compounds of formula 2 or 4 to derivatives 3 or 5, in which M represents a substituted tin or boron atom, can be effected by treatment with a suitable species, for example hexamethylditin, hexabutyliditin or a tetraalkoxydiboron in the presence of a source of palladium zero. The

methodology is outlined and referenced in F. Diederich and P. J. Stang, ed, *Metal Catalyzed Cross Coupling Reactions*, Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 1998.

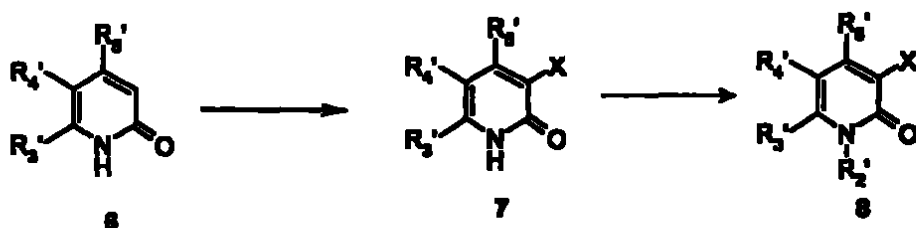
Reaction Scheme 1.



As shown in Reaction Scheme 2, 2-Hydroxypyridines 6, in which R_3' is hydrogen, lower alkyl or aryl; R_4' is hydrogen, halogen, lower alkyl, substituted lower alkyl or aryl; and R_5' is hydrogen, lower alkyl, substituted lower alkyl, lower alkoxy, trifluoromethyl, or aryl; may be halogenated in the 3-position by treatment with conventional halogenating reagents such as bromine, N-iodosuccinimide or N-bromosuccinimide in a suitable solvent such as glacial acetic acid or aqueous acetic acid to give halopyridones of formula 7, $X = Br$ or I . In the case where R_4' is hydrogen, halogenation at the 5-position may accompany formation of the desired 3-halo compound necessitating separation of the products. In some cases, it may be desirable to use a blocking group at the 5-position and remove it subsequent to the introduction of the halogen at the 3-position. Such a blocking group could be a reactive halogen, a silyl group or other suitable blocking

group. The resulting 3-halo compounds may be alkylated on nitrogen by treatment with alkylating agents such as iodomethane, benzylbromide, allyl bromide in the presence of a base such as potassium carbonate and optionally, a phase transfer catalyst. For less reactive alkylating agents, it may be necessary to use a stronger base such as an alkali metal hydroxide and to heat the reaction mixture. The product of the alkylation is a compound of formula 8, in which R_2' is lower alkyl or aryl lower alkyl; X is iodo or bromo; and R_3', R_4', R_5' are as described above.

Reaction Scheme 2.



As shown in Reaction Scheme 3, the compound of formula 8 can be used in a palladium catalyzed coupling reaction with a phenylalanine derivative of formula 3 or 5. For example, when M is a substituted tin, treatment of a mixture of 8 and the phenylalanine of formula 3 or 5 with a source of palladium zero such as tetraakis(triphenylphosphine)palladium or bis(triphenylphosphine)palladium dichloride in the presence of an inert solvent such as DMF at a temperature of between room temperature and 100 °C gives a compound of formula 9 or 10. Compounds of structure 9 may be converted into compounds of structure 10 by removal of the protecting group P_1 , which may be accomplished by conventional means depending on the selection of P_1 . For example, if P_1 is a Boc group, it may be removed by treatment with a strong acid, such as trifluoroacetic acid, optionally in the presence of a solvent such as methylene chloride and a scavenging agent. The resulting free amine may then be acylated with an acid of the formula $R_1'CO_2H$ using convention peptide coupling techniques. For example, by treatment with HBTU in the presence of a tertiary amine base such as

148
194

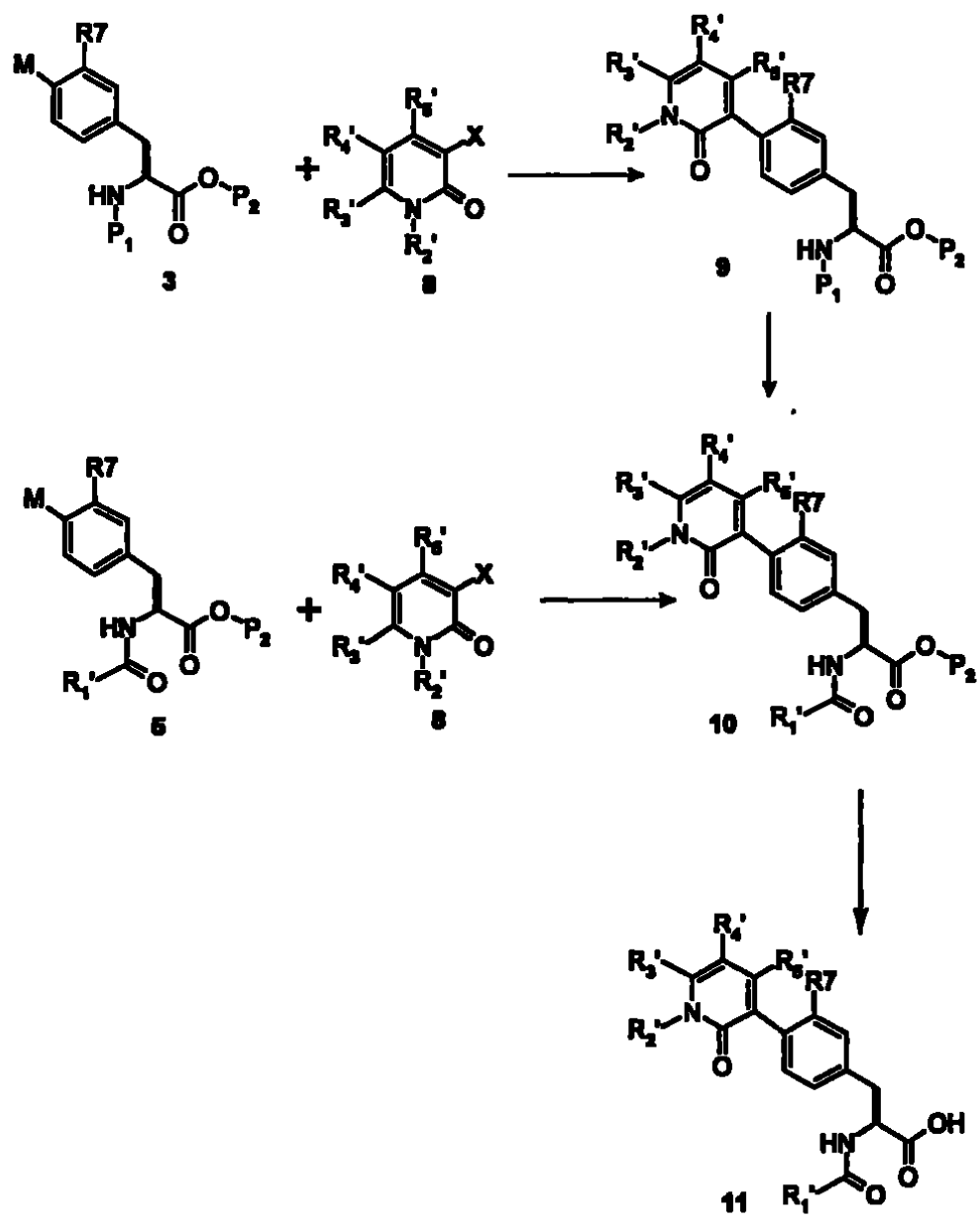
diethylisopropylamine in the presence of an aprotic solvent such as DMF to give the compound of structure 10.

If the free acid 11 is the desired end product, the ester group, P_2 may be removed by conventional means. For example, in the case that P_2 is lower alkyl, for example methyl, it may be removed by treatment with an alkali metal hydroxide, for example lithium hydroxide, in a suitable solvent, for example aqueous THF optionally containing methanol to assist with solubility. If P_2 were a benzyl or substituted benzyl group, it could also be removed by catalytic hydrogenation over a noble metal catalyst, for example palladium on carbon.

60137000-120607

147
195

Reaction Scheme 3.



Alternatively, as shown in Reaction Scheme 4, a compound of structure 8, wherein X is bromide or iodide, may be converted to a species of formula 12, in which M' represents a substituted tin, boron or zinc atom. In the case of the tin or boron derivatives, in which

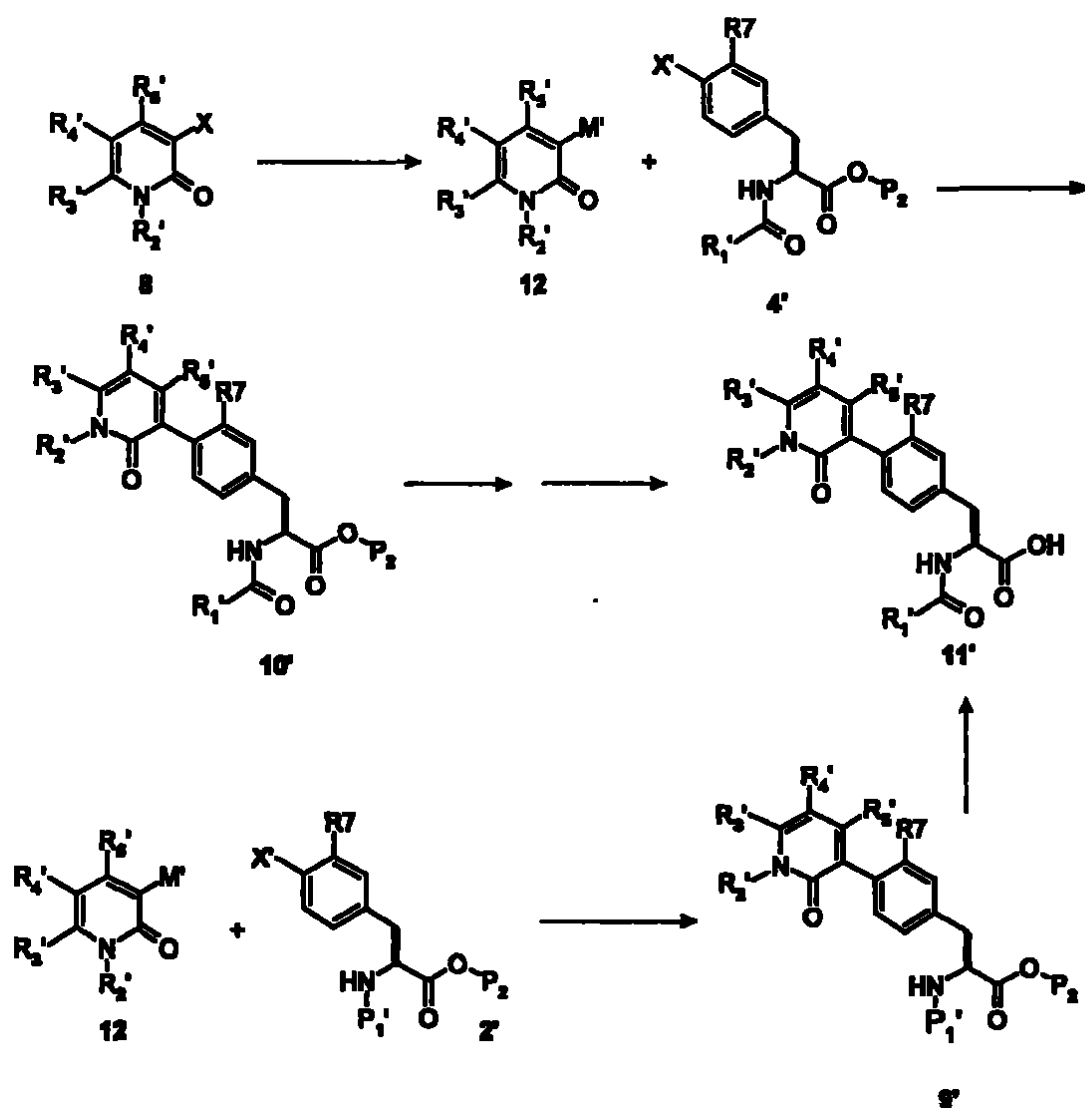
200
196

M' represents a substituted tin or boron atom, the conversion can be effected by treatment with a suitable species, for

668027-120679

201
197

Reaction Scheme 4.



example hexamethylditin, hexabutylditin or a tetraalkoxydiboron in the presence of a source of palladium zero. For the formation of the zinc derivative, 12, $M' = \text{Zn}(\text{halogen})$, conversion may be effected by treatment of the compound of formula 8, $X = \text{I}$ with a source of activated zinc metal in a suitable inert solvent, for example dimethylacetamide at a temperature of from room temperature to 100°C until conversion is complete to give a compound of formula 12, $M' = \text{Zn}(\text{halogen})$. These compounds of formula 12 can be reacted with a 4-substituted phenylalanine derivative of formula 4' in which X' is iodo, bromo, or trifluoromethylsulfonyloxy in the presence of a source of palladium zero to

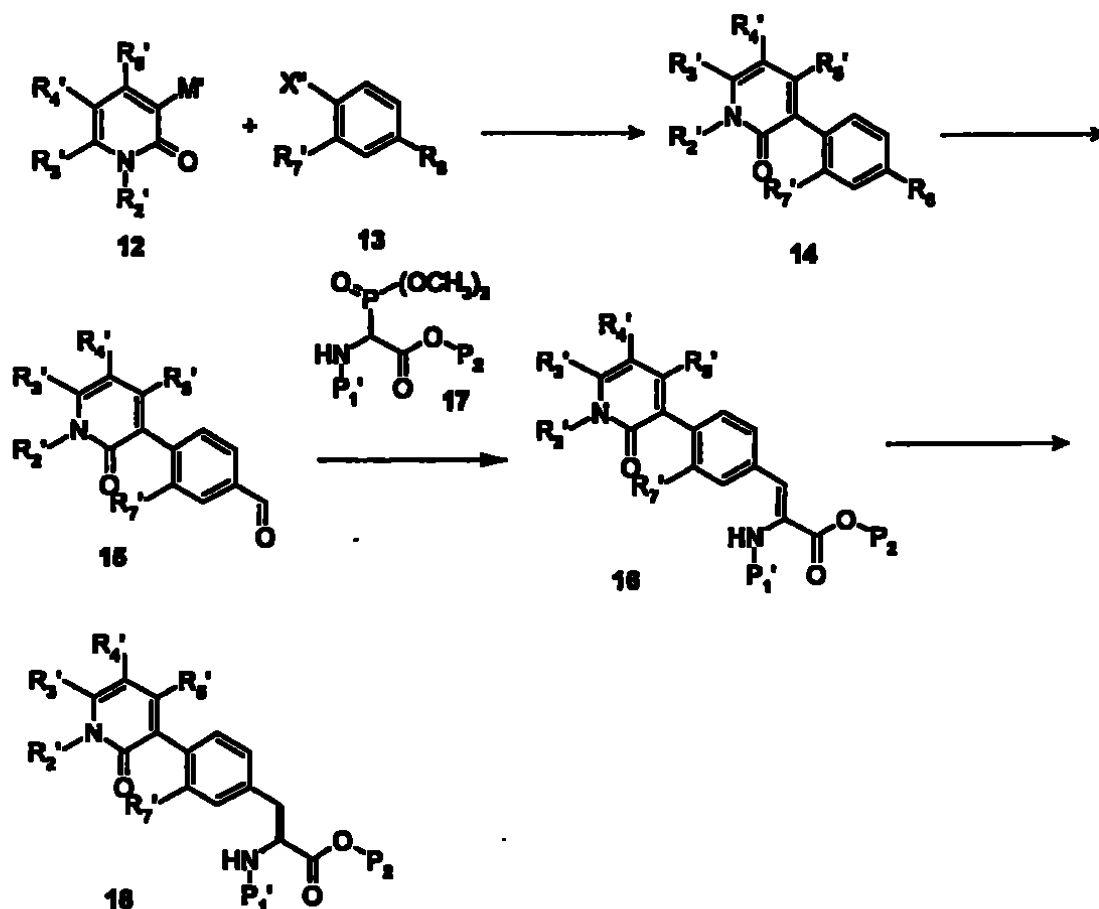
give a compound of formula 10'. In the case where the ester group represented by P₂ is not part of the targeted compound, it can be removed using ester hydrolysis procedures appropriate to the particular P₂. For example, where P₂ is lower alkyl, for example methyl, it can be removed by standard base hydrolysis using an alkali metal hydroxide, for example, lithium hydroxide. In a variation on this procedure, it may be desirable to carry a protecting group through the coupling reaction and substitute it at a later time. In this case, a compound of formula 2', in which P₁' is lower alkoxy carbonyl or benzyloxycarbonyl and X' is as defined above, may be coupled with a pyridone of structure 12 to give a compound of structure 9' which in turn may be converted to a compound of the invention using the general procedures noted above in reaction scheme 3.

An alternative route to compounds of this invention, as shown in Reaction Scheme 5, which is particularly applicable to compounds in which R₇' is other than hydrogen, is to build an aldehyde of formula 14. This can be accomplished by reacting a compound of formula 12 with a compound of formula 13, in which R₇' represents lower alkyl or lower alkoxy, and X'' represents an iodide, bromide, or trifluoromethylsulfonyloxy moiety and R₈ represents a protected alcohol or an aldehyde. For alcohols, suitable protecting groups include silyl ethers, benzyl ethers. If necessary, aldehydes, may be protected as their acetal derivatives. The compound of formula 12 can be converted to an aldehyde of formula 15 by conventional steps which, when R₈ is an alcohol, would involve protecting group removal, if necessary, followed by oxidation. Any of the common reagents for the selective oxidation of primary benzyl alcohols to aldehydes may be employed, for example, treatment with activated manganese dioxide in an inert solvent. In the case where R₈ represents a protected aldehyde, conversion to an aldehyde of formula 15 can be carried out by a suitable protecting group removal, for example hydrolysis of an acetal with dilute acid. Reaction of 15 to give a dehydroamino acid of formula 16 can be effected by treatment with a Wittig reagent of formula 17 in which P₁' is lower alkoxy carbonyl or benzyloxycarbonyl and P₂ is as defined above. For example treatment of 15 with (±)-N-(benzyloxycarbonyl)-α-phosphonoglycine trimethyl ester in the presence of a suitable base for example tetramethylguanidine leads directly to a

dehydroamino acid of formula 16, P_2 = methyl and P_1 = benzyloxycarbonyl.

Enantioselective reduction of 16 to the L-amino acid 18 can be effected by use of a number of reducing agents suitable for the purpose, for example, the recently described ethyl-DuPHOS rhodium reagent (Burk, M. J., Feaster, J. E.; Nugent, W. A.; Harlow, R. L. *J. Am. Chem. Soc.* 1993, 115, 10125) using essentially the literature procedure. Further conversion of 18 to the compounds of the invention can be carried out using the general procedures discussed above.

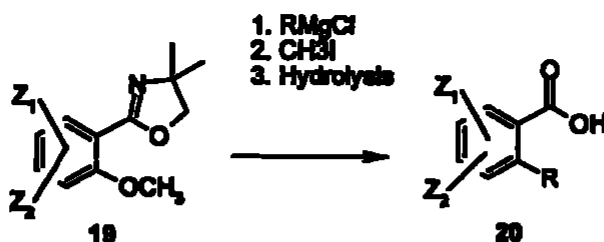
Reaction Scheme 5.



In one embodiment, the N-acyl group, R_1' of structure 11, is derived from a 2-substituted benzoic acid. Appropriate 2-substituted benzoic acids are either commercially available or can be prepared by conventional means. For example ortho-substituted aryl

iodides or triflates may be carbonylated in the presence of carbon monoxide and a suitable palladium catalyst. The preparation of such iodide or triflate intermediates is dependent on the particular substitution pattern desired and they may be obtained by direct iodination or diazotization of an aniline followed by treatment with a source of iodide for example, potassium iodide. Triflates may be derived from the corresponding phenols by conventional means such as by treatment with trifluoromethane sulfonic anhydride in the presence of a base such as triethylamine or diisopropylethylamine in an inert solvent. As shown in Reaction Scheme 6, one other means of obtaining ortho-substituted benzoic acids involves treatment of an 2-methoxyphenyloxazoline derivative such as compound 19, Z_1 and Z_2 = hydrogen, alkyl, chloro, perfluoroalkyl, lower alkoxy with an alkyl Grignard reagent followed by hydrolysis of the oxazoline ring following the general procedure described by Meyer, A. L, Gabel, R., Mihelick, E. D, *J. Org. Chem.* 1978, 43, 1372-1379, to give an acid of formula 20. 2- or 2,6-Disubstituted benzonitriles also serve as convenient precursors to the corresponding benzoic acids. In the case of highly hindered nitriles, for example 2-chloro-6-methylbenzonitrile, conventional hydrolysis under acidic or basic conditions is difficult and better results are obtained by DIBAL reduction to the corresponding benzaldehyde followed by oxidation using a chromium based oxidizing reagent.

Reaction Scheme 6

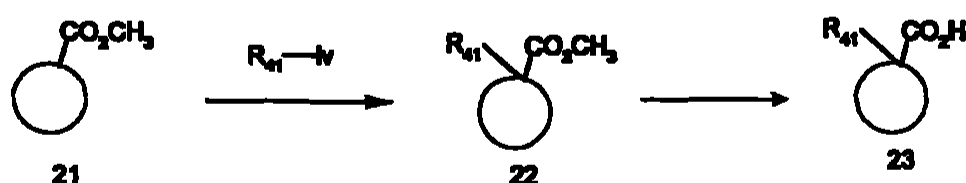


Referring now to Reaction Scheme 7, cyclic acids of formula 23 are known compounds or can be prepared using standard methodologies. For the preparation of substituted alkyl- or cycloalkylcarboxylic acids, alkylation reactions can be employed

200-
201

using an alkali metal dianion of the acid or monoanion of the corresponding ester. For example, a cycloalkyl carboxylic acid ester of formula 21 can be treated with a strong base, for example, lithium diisopropylamide in an inert solvent, for example THF followed by addition of group R_{41} -Lv wherein R_{41} represents a desired side chain, such as a substituted benzyl, lower alkyl, lower alkoxy alkyl, azidolower alkyl and the like and Lv represents a leaving group such as a bromide, iodide, mesylate or similar group known to participate in ester enolate alkylation reactions. The product ester 22 may be hydrolyzed to the acid 23 using alkali metal hydroxide in a suitable solvent, for example aqueous alcohol. Depending on the nature of R_{41} and the eventual target, the compound 23 may be coupled to an amine such as compound 1 and converted to the target directly or R_{41} may be subject to further manipulation at a suitable point in the synthesis. For example, if R_{41} is an azido lower alkyl moiety, the azide may be reduced using for example a trialkyl phosphine reagent followed by functionalization of the product amine by alkylation, acylation, sulfonylation and related procedures well known to those skilled in the art. If R_{41} incorporates a leaving group, for example, a terminal bromine atom, this group may be displaced by an appropriate nucleophile, for example, sodium methyl mercaptide to give in this case, a thioether which may be the desired product or can be itself further manipulated, for example by oxidation to a sulfoxide or sulfone using standard reaction conditions. Other nucleophiles which may be employed to produce intermediates leading to compounds of this invention include: sodium cyanide, sodium methoxide, sodium azide, morpholine and others. When R_{41} incorporates a ketal group, this group may be hydrolyzed at a convenient point in the synthesis to provide a keto group. This group in turn may be further manipulated, for example by reduction to an alcohol or conversion to derivative such as an oxime.

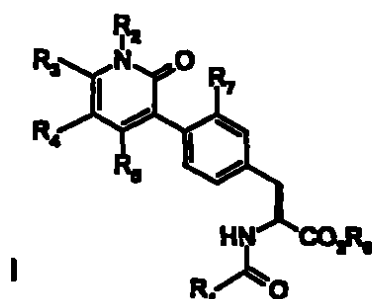
Reaction Scheme 7.



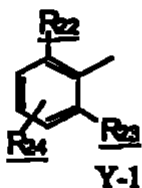
206
202

It may be desirable to prepare prodrug esters of the compounds of this invention for which it would be more convenient to introduce the ester moiety at the end of the synthesis. For this purpose, a variety of common techniques for the formation of esters from carboxylic acids may be employed. Typical methods which may be useful would include, coupling of an alcohol to the carboxylic acid in the presence of acid, for example hydrochloric acid, a procedure commonly known as a Fisher esterification. Alternatively, a diimide mediated coupling between the carboxylic acid and an alcohol may be employed with the optional use of a promoter such as 4,4-dimethylaminopyridine. A typical diimide is dicyclohexylcarbodiimide. Another alternative is to treat the carboxylic acid with a reactive alkyl halide, for example, an alkyl iodide or an acyloxymethyl chloride in the presence of a base, for example sodium bicarbonate and an inert solvent, for example DMF. The particular choice of method will be determined by the nature of the particular combination of carboxylic acid and desired ester moiety and will be apparent to one skilled in the art. Ester groups which may constitute prodrugs may be introduced at any convenient point in the synthesis. For example the group P₂ in formula 1 may represent a desirable prodrug ester and be retained in the final product.

A preferred embodiment of the present invention is a compound of the formula I:



wherein R₁ is a group Y-1



wherein R22 and R23 are independently hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, lower cycloalkyl, aryl, arylalkyl, nitro, cyano, lower alkylthio, lower alkylsulfinyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkanoyl, halogen, or perfluorolower alkyl and at least one of R22 and R23 is other than hydrogen, and R24 is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, aryl, nitro, cyano, lower alkyl sulfonyl, or halogen;

R2 is hydrogen, lower alkyl or aryl lower alkyl;

R3 is hydrogen or lower alkyl;

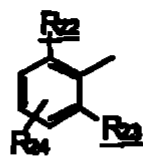
R4 is hydrogen, halogen or lower alkyl;

R5 is hydrogen, lower alkyl, trifluoromethyl, or lower alkoxy;

R6 is hydrogen or lower alkyl; and

R7 is hydrogen, chloro, lower alkoxy, or lower alkyl.

A more preferred embodiment of the present invention is a compound of the formula I above wherein R1 is a group Y-1



Y-1

wherein R22 and R23 are independently hydrogen, lower alkyl or halogen;

R24 is hydrogen, lower alkyl or lower alkoxy;

R2 is hydrogen, lower alkyl or aryl lower alkyl;

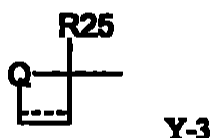
R3 is hydrogen;

- R₄ is hydrogen or halogen
- R₅ is hydrogen, or lower alkyl
- R₆ is hydrogen or lower alkyl; and
- R₇ is hydrogen, chloro, lower alkoxy, or lower alkyl.

Another preferred embodiment of the present invention is a compound of the formula I above wherein R₁ is a five or six membered heteroaromatic ring bonded via a carbon atom to the amide carbonyl wherein said ring contains one, two or three heteroatoms selected from the group consisting of N, O and S and one or two atoms of said ring are independently substituted by lower alkyl, cycloalkyl, halogen, cyano, perfluoroalkyl, or aryl and at least one of said substituted atoms is adjacent to the carbon atom bonded to the amide carbonyl;

- R₂ is hydrogen, lower alkyl or aryl lower alkyl;
- R₃ is hydrogen;
- R₄ is hydrogen or halogen;
- R₅ is hydrogen or lower alkyl;
- R₆ is hydrogen or lower alkyl; and
- R₇ is hydrogen, chloro, lower alkoxy, or lower alkyl.

Another preferred embodiment of the present invention is a compound of the formula I above wherein R₁ is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:



wherein R₂₅ is lower alkyl, unsubstituted or fluorine substituted lower alkenyl, or a group of formula R₂₈-(CH₂)_n, R₂₆ is aryl, heteroaryl, azido, cyano, hydroxy, lower alkoxy, lower alkoxy carbonyl, lower alkanoyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfonyl, lower alkyl sulfinyl, perfluoro lower alkanoyl, nitro, or R₂₆ is a group of formula -NR₂₈R₂₉, wherein R₂₈ is hydrogen or lower alkyl, R₂₉ is hydrogen, lower alkyl, lower

204
205

alkoxycarbonyl, lower alkanoyl, aroyl, perfluoro lower alkanoylamino, lower alkyl sulfonyl, lower alkylaminocarbonyl, arylaminocarbonyl; or
R₂₈ and R₂₉, taken together with the attached nitrogen atom, form a 4, 5 or 6-membered saturated heterocyclic ring optionally containing one additional heteroatom selected from O, S, and N-R₄₀.

Q is -(CH₂)_eO-, -(CH₂)_eS-, -(CH₂)_eN(R₂₇)-, -(CH₂)_e,

R₂₇ is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxycarbonyl,

R₄₀ is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxycarbonyl, the carbon atoms in the ring are unsubstituted or substituted by lower alkyl or halogen,

e is an integer from 0 to 4, and f is an integer from 0 to 3;

R₂ is hydrogen, lower alkyl or aryl lower alkyl;

R₃ is hydrogen;

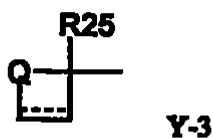
R₄ is hydrogen or halogen;

R₅ is hydrogen or lower alkyl;

R₆ is hydrogen or lower alkyl; and

R₇ is hydrogen, chloro, lower alkoxy, or lower alkyl.

A more preferred embodiment of the present invention is a compound of formula I above wherein R₁ is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:



wherein R₂₅ a group of formula R₂₆-(CH₂)_e-, wherein R₂₆ is lower alkoxy,

Q is -(CH₂)_e, e is an integer from 0 to 4 and f is an integer from 0 to 3;

R₂ is lower alkyl or aryl lower alkyl;

R₃ is hydrogen;

R₄ is hydrogen or halogen;

R₅ is hydrogen;

R₆ is hydrogen or lower alkyl; and

R₇ is hydrogen, chloro, lower alkoxy, or lower alkyl.

A particularly preferred embodiment of the present invention is a compound selected from the group consisting of:

- N-[(2-chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine;
- 4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine;
- 4-(1-Benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(2-chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-L-phenylalanine;
- 4-(1-Benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine;
- N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine; and
- N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine.

General Methods: Melting points were taken on a Thomas-Hoover apparatus and are uncorrected. Optical rotations were determined with a Perkin-Elmer model 241 polarimeter. ¹H-NMR spectra were recorded with Varian XL-200, Mercury 300 and Unityplus 400 MHz spectrometers, using tetramethylsilane (TMS) as internal standard. Electron impact (EI, 70 ev) and fast atom bombardment (FAB) mass spectra were taken on VG Autospec or VG 70B-HF mass spectrometers. Silica gel used for column chromatography was Mallinkrodt SiliCar 230-400 mesh silica gel for flash chromatography; columns were run under a 0-5 psi head of nitrogen to assist flow. Thin layer chromatograms were run on glass thin layer plates coated with silica gel as supplied by E. Merck (E. Merck # 1.05719) and were visualized by viewing under 254 nm UV light in a view box, by exposure to I₂ vapor, or by spraying with either phosphomolybdic acid (PMA) in aqueous ethanol, or after exposure to Cl₂, with a 4,4'-tetramethyldiaminodiphenylmethane reagent prepared according to E. Von Arx, M. Faupel and M. Brugger, *J. Chromatography*, 1976, 120, 224-228.

24
207

Reversed phase high pressure liquid chromatography (RP-HPLC) was carried out using a Rainin HPLC employing a 41.4 x 300 mm, 8 μ M, Dynamax™ C-18 column at a flow of 49 mL/min employing a gradient of acetonitrile:water (each containing 0.75% TFA) typically from 5 to 95% acetonitrile over 35-40 min. HPLC conditions are typically described in the format (5-95-35-214); this refers to a linear gradient of from 5% to 95% acetonitrile in water over 35 min while monitoring the effluent with a UV detector at a wavelength of 214 nm.

Methylene chloride (dichloromethane), 2-propanol, DMF, THF, toluene, hexane, ether, and methanol, were Fisher reagent grade and were used without additional purification except as noted, acetonitrile was Fisher or Baker hplc grade and was used as is.

Definitions as used herein:

THF is tetrahydrofuran,

DMF is N,N-dimethylformamide,

DMA is N,N-dimethylacetamide

HOBT is 1-hydroxybenzotriazole,

BOP is [(benzotriazole-1-yl)oxy]tris-(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate,

HATU is O-(7-azabenzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium hexafluorophosphate

HBTU is O-benzotriazole-N,N',N'',-tetramethyluronium hexafluorophosphate,

DIPEA is diisopropylethylamine,

DMAP is 4-(N,N-dimethylamino)pyridine

DPPA is diphenylphosphoryl azide

DPPP is 1,3-bis(diphenylphosphino)propane

DBU is 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-ene

NaH is sodium hydride

brine is saturated aqueous sodium chloride solution

TLC is thin layer chromatography

LDA is lithium diisopropylamide

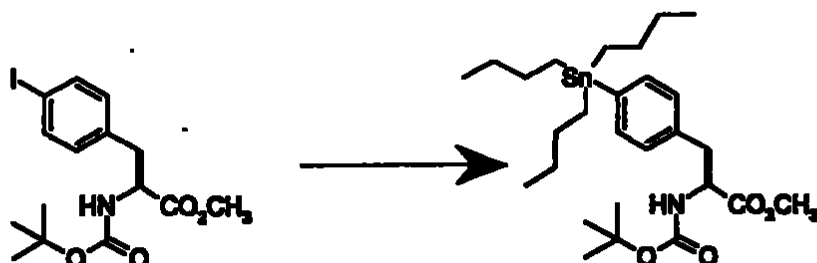
BOP-Cl is bis(2-oxo-3-oxazolidinyl)phosphinic chloride

NMP is N-methyl pyrrolidinone

Lawesson's reagent is [2,4-bis(4-methoxyphenyl)-1,3-dithia-2,4-diphosphetane-2,4-disulfide]

EXAMPLES

Example 1.

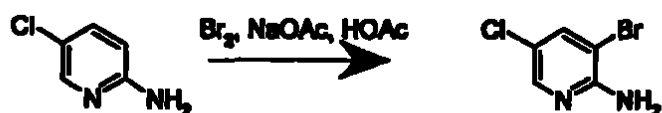


N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-4-[(tributyl)stannyl]-L-phenylalanine methyl ester.

A solution of N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-4-iodo-L-phenylalanine methyl ester (5.3 g, 13 mmol) and hexabutyliditin (27.5 mL, 54 mmol) in toluene (50 mL) was deoxygenated by alternately freezing the mixture in a liquid nitrogen bath under vacuum and thawing under argon (3 x). Tetrakis(triphenylphosphine)palladium was added (280 mg, 0.22 mmol) and the reaction mixture was heated to reflux for 45 min as the color changed from yellow to black. TLC (1:6 ethyl acetate:hexane) indicated the presence of some starting iodide and an additional portion (140 mg, 0.11 mmol) of the catalyst was added. Reflux was continued for 1 hr. The mixture was allowed to cool and was concentrated. The residue was taken up in hexane (200 mL) and triethylamine (30 mL), stirred for 30 min and was filtered. The filtrate was concentrated and was chromatographed over a dry silica gel column containing 150 g of silica gel and eluting with hexane followed by 1:6 ethyl acetate:hexanes to give N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-4-[(tributyl)stannyl]-L-phenylalanine methyl ester (5.7 g, 77%) as a clear oil. LR(+)-LSIMS (C₂₇H₄₇NO₄Sn): m/z 1081 (2M-C₄H₉) 570 (M+H).

Example 2.

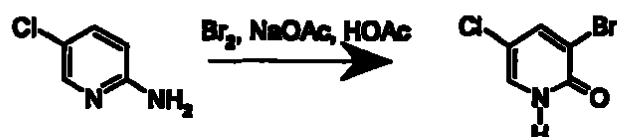
2-Amino-3-bromo-5-chloropyridine



A suspension of 2-amino-5-chloropyridine (5.14 g, 40 mmol) and anhydrous sodium acetate (3.29 g, 40 mmol) in acetic acid (25 mL) was mechanically stirred and warmed to a bath temperature of 45 °C. A solution of bromine (2.1 mL, 40 mmol) in acetic acid (2 mL) was added over 1 hour. The resulting orange mixture was cooled to 15 °C and filtered. The solids were taken up in 400 mL of water, the suspension made basic by addition of 1 N NaOH and the suspension extracted with ethyl acetate (5 x 100 mL). The combined extracts were washed with 10 % NaHSO₃ (1 x 100 mL) and were dried over MgSO₄. Concentration afforded 2-amino-3-bromo-5-chloropyridine (4 g, 48%), mp 82-84 °C.

Example 3.

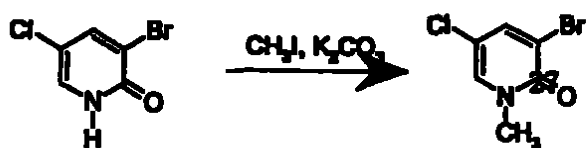
3-Bromo-5-chloro-1H-2-pyridone



A solution of 2-amino-3-bromo-5-chloropyridine (4.0 g, 19.3 mmol) in water (30 mL) and conc. HCl (5.2 mL) was cooled with an ice bath to 0 °C and was treated with a solution of sodium nitrite (1.33 g, 19.3 mmol) in water (12 mL) over 10 min. The mixture was stirred for an additional 10 min and allowed to warm to room temperature over 48 hr. The mixture was filtered. The solids were washed with water, then with CCl₄ and were dried under vacuum at 50 °C for 3 hr to give 3-bromo-5-chloro-1H-2-pyridone (2.77 g, 69%), mp 173.5-175 °C.

Example 4.

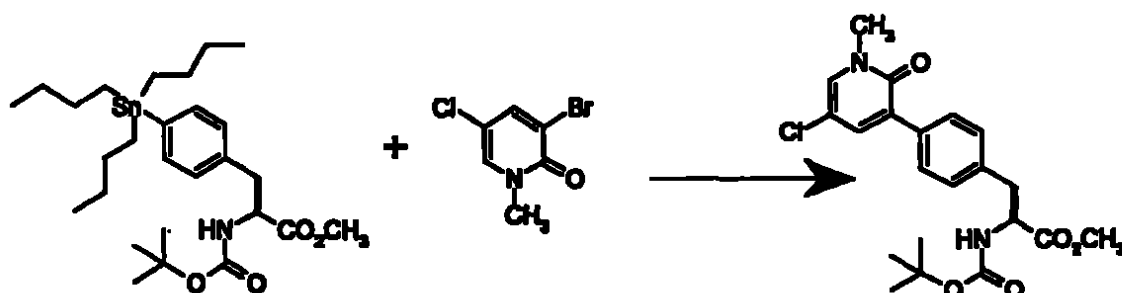
3-Bromo-5-chloro-1-methyl-2-pyridone



A mixture of 3-bromo-5-chloro-1H-2-pyridone (930 mg, 4.46 mmol), potassium carbonate (1.25 g, 9.1 mmol) and iodomethane (2.8 mL, 45 mmol) in 10 mL of DME was heated to reflux for 18 hr. The mixture was filtered hot and concentrated. The residue was recrystallized from ethyl acetate to give 3-bromo-5-chloro-1-methyl-2-pyridone (740 mg, 74%), mp 162-163 °C. HRMS (C₆H₅BrClNO): Obs. Mass 220.9249. Calcd. Mass 220.9243 (M+H).

Example 5.

4-(5-Chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester



A solution of 3-bromo-5-chloro-1-methyl-2-pyridone (660 mg, 2.97 mmol) and N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-4-[(tributyl)stannyl]-L-phenylalanine methyl ester (1.7 g, 2.99 mmol) in DMF (30 mL) was deoxygenated by alternately freezing the mixture in a liquid nitrogen bath under vacuum and thawing under argon (3 X).

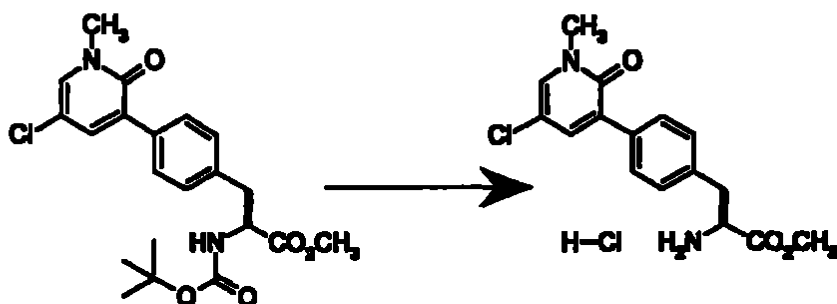
Tetrakis(triphenylphosphine)palladium (140 mg, 0.20 mmol) was added and the mixture was heated to 90 °C for 3 hr as the mixture turned dark. TLC indicated that the reaction was not complete and an additional 140 mg portion of the catalyst was added and heating continued for 4 hr. The mixture was allowed to cool and was diluted with dichloromethane and was filtered through a pad of celite. The filtrate was evaporated to dryness and the residue was dissolved in 1:1 ether:ethyl acetate (60 mL). The solution was washed with water (3 x 10 mL) and brine (1 x 10 mL) and was dried (MgSO₄). The residue obtained upon concentration was chromatographed over 150 g of silica gel eluting with 7:3 ethyl acetate:hexane to give 4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-

211

[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester (670 mg, 54%). LRMS-Electrospray : m/z 863 (2M+Na), 858 (2M+NH₄), 443 (M+Na), 438 (M+NH₄), 421(M+H).

Example 6.

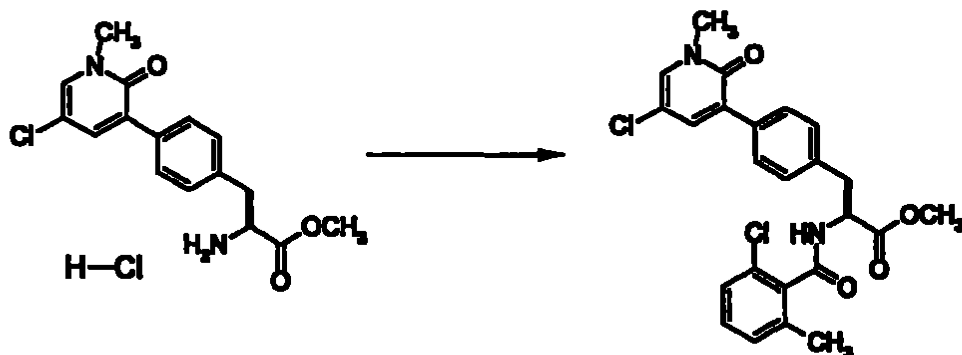
4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride



A solution of 4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester (210 mg, 0.50 mmol) in 4 N HCl in dioxane (10 mL) was stirred for 1 hr and was concentrated to give 4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (140 mg) as a white powder. LR(+)-LSIMS : m/z 641 (2M+H), 321 (M+H).

Example 7.

N-[(2-Chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester

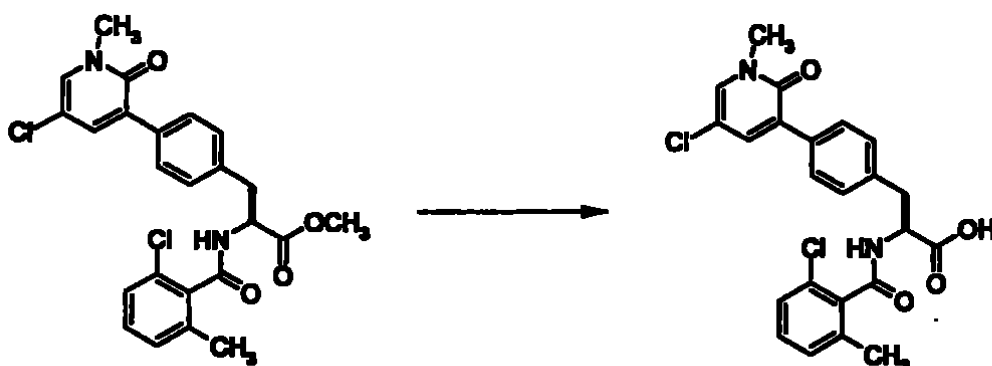


216
212

A solution of 4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride (89.5 mg, 0.25 mmol), 2-chloro-6-methylbenzoic acid (47 mg, 0.28 mmol), DIEA (175 μ L, 1.0 mmol) and HBTU (133 mg, 0.35 mmol) in DMF (3 mL) was stirred at room temperature for 4 hr. The mixture was concentrated, the residue was dissolved in ethyl acetate (15 mL), was washed with 0.5 N HCl (1 x 5 mL), sat. NaHCO₃ (1 x 5 mL), brine (1 x 5 mL) and was dried (MgSO₄). The residue obtained upon evaporation was chromatographed on 25 g of silica gel, eluting with 3:1 ethyl acetate:hexane to give N-[(2-chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (54 mg). LR(+)-SIMS : m/z 962 (2M+NH₄), 945 (2M+H), 490 (M+NH₄), 473 (M+H (2 Cl)).

Example 8.

N-[(2-chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine.



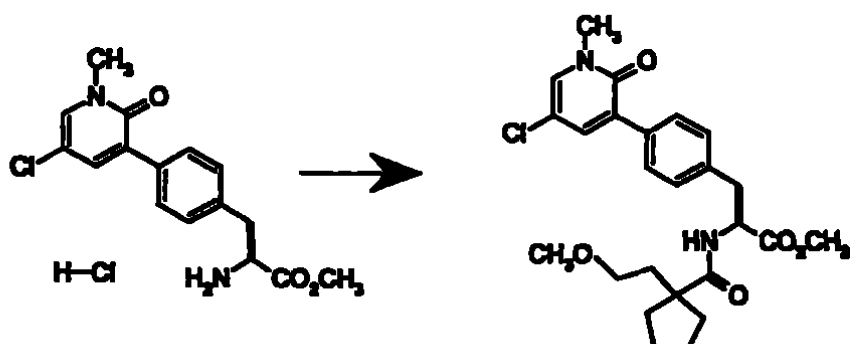
A solution of N-[(2-chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (51 mg, 0.108 mmol) in THF (3 mL) was treated with a solution of lithium hydroxide monohydrate (18 mg, 0.43 mmol) in water (1.0 mL). Additional THF was added to effect a clear solution and the reaction mixture was stirred 1 hr. TLC (ethyl acetate) indicated starting material was consumed. A few drops of acetic were added and the entire reaction mixture was applied to a 4 x 30 cm, C-18 reversed phase HPLC column and eluted with a linear gradient of acetonitrile in water of 5 to 95% over 35 min. The product containing fraction was lyophilized to give N-[(2-chloro-6-

217
213

methylphenyl)carbonyl]-4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine (40 mg, 82%) as a white solid. LR-Electrospray : m/z positive ion, 481(M+Na), 459(M+H (2 Cl)); negative ion, 457 (M-H (2 Cl)).

Example 9.

4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester

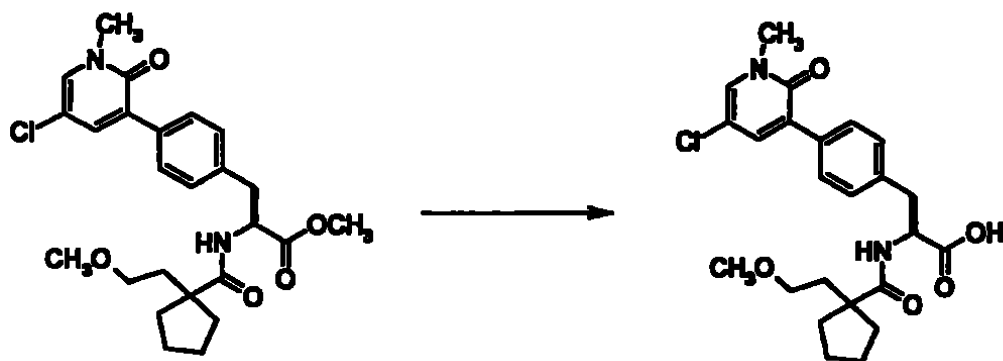


A solution of 4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride (47.4 mg, 0.25 mmol), 1-(2-methoxyethyl)cyclopentane carboxylic acid (47 mg, 0.28 mmol), DIEA (175 μ L, 1.0 mmol) and HBTU (133 mg, 0.35 mmol) in DMF (3 mL) was stirred at room temperature for 4 hr. The mixture was concentrated, the residue was dissolved in ethyl acetate (15 mL), was washed with 0.5 N HCl (1 x 5 mL), sat. NaHCO₃ (1 x 5 mL), brine (1 x 5 mL) and was dried (MgSO₄). The residue obtained upon evaporation was chromatographed on 25 g of silica gel, eluting with ethyl acetate to give 4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester (70.5 mg, 59%). LR-Electrospray : m/z positive ion, 943 (2M+Na), 483 (M+Na), 478, (M+NH₄), 461 (M+H); negative ion 919 (2M-H), 521, 459 (M-H).

Example 10.

248
214

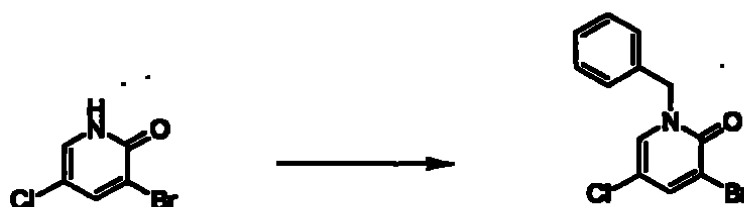
4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine



A solution of 4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester (69 mg, 0.145 mmol) in THF (3 mL) was treated with a solution of lithium hydroxide monohydrate (24.3 mg, 0.58 mmol) in water (1.0 mL). Sufficient THF was added to the mixture to effect solution. The mixture was stirred 1 hr and a few drops of acetic acid were added. The entire reaction mixture was applied to a 4 x 30 cm, C-18 reversed phase HPLC column and eluted with a linear gradient of acetonitrile in water of 5 to 95% over 35 min. The product containing fraction was lyophilized to give 4-(5-chloro-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine (48 mg, 72%) as a white solid. LR-Electrospray : m/z positive ion 943 (2M+Na), 483 (M+Na), 478, (M+NH₄), 461 (M+H); negative ion 919 (2M-H), 521, 459 (M-H).

Example 11.

1-Benzyl-3-bromo-5-chloro-2-pyridone

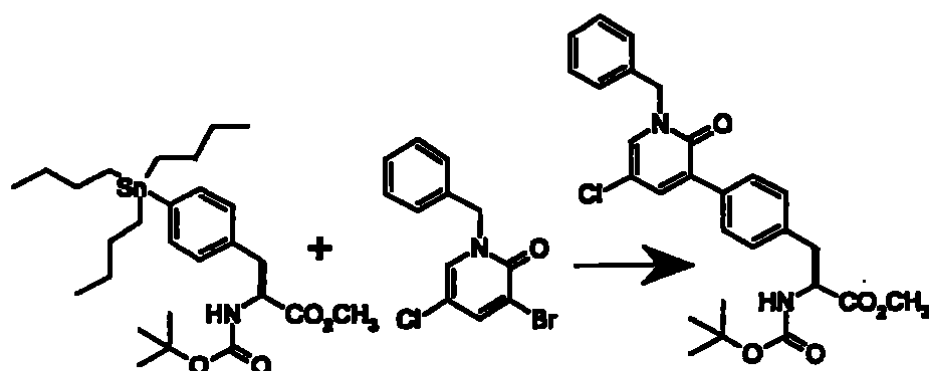


214
215

A mixture of 3-bromo-5-chloro-1H-2-pyridone (950 mg, 4.56 mmol), freshly ground potassium carbonate (1.26 g, 9.1 mmol) and tetrabutyl ammonium chloride (100 mg) in was stirred mechanically without solvent for 30 min and benzyl bromide (0.56 mL, 4.7 mmol) was added. The mixture was stirred at room temperature for 72 hr. The mixture was diluted with ethyl acetate and filtered, washing the solids with ethyl acetate. The filtrate was evaporated to dryness and the residue was triturated with several portions of hexane. The residue was chromatographed over 90 g of silica gel eluting with 3:1 hexane:ethyl acetate followed by 100% ethyl acetate to give 1-benzyl-3-bromo-5-chloro-2-pyridone (423 mg, 31%), mp 108-110 °C. LR(+)-SIMS: m/z 595 (2M+H, 2 Cl, 2 Br), 298 (M+H, 1 Cl, 1 Br).

Example 12.

4-(1-Benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester



A solution of 1-benzyl-3-bromo-5-chloro-2-pyridone (296 mg, 0.98 mmol) and N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-4-[(tributylstannyl)-L-phenylalanine methyl ester (560 mg, 0.99 mmol) in DMF (15 mL) was deoxygenated by alternately freezing the mixture in a liquid nitrogen bath under vacuum and thawing under argon (3 x).

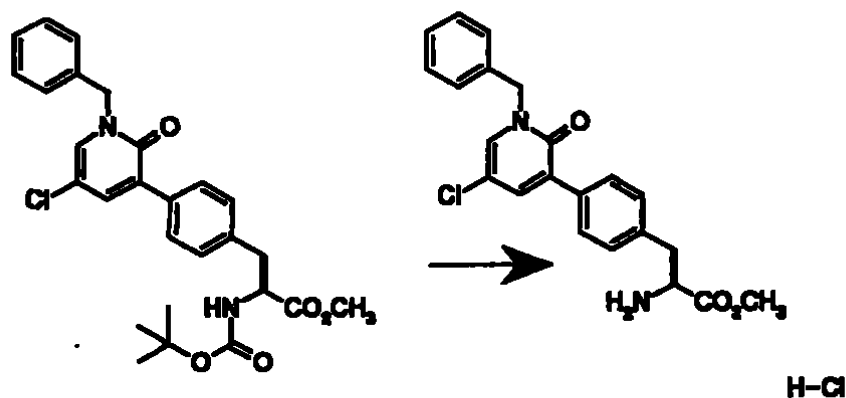
Bis(triphenylphosphine)palladium dichloride (80 mg, 0.11 mmol) was added and the mixture was heated to 90 °C for 4 hr as the mixture turned dark. An additional 60 mg of the catalyst was added and heating continued for 2 hr. The mixture was allowed to cool, was diluted with dichloromethane, and was filtered through a pad of celite. The filtrate

220
216

was evaporated to dryness and the residue was chromatographed over 150 g of silica gel eluting with 1:2 ethyl acetate:hexane to give 4-(1-benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester (255 mg, 52%). LMS-Electrospray: m/z 1015 (2M+Na) (4 Cl) 519 (M+Na) 514 (M+NH₄) 497 (M+H).

Example 13.

4-(1-Benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride

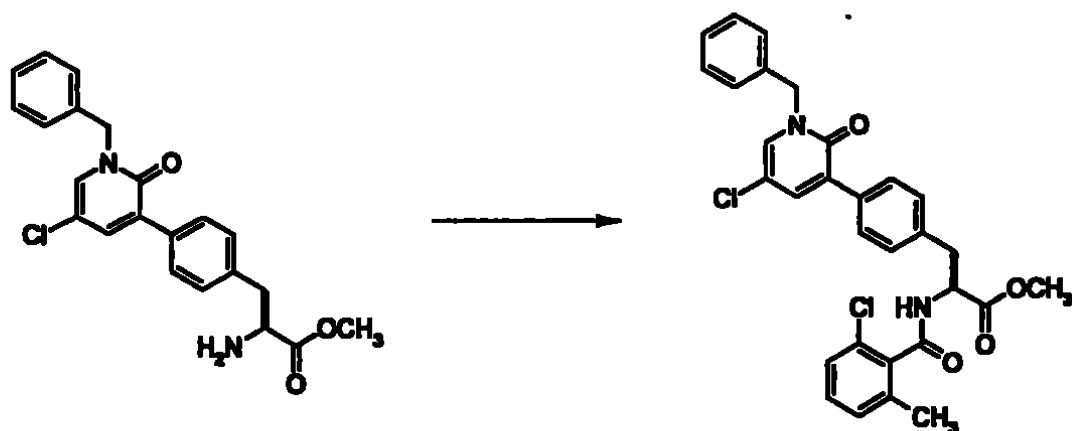


A solution of 1-benzyl-4-(5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester (248 mg, 0.50 mmol) in 4 N HCl in dioxane (10 mL) was stirred for 1 hr and was concentrated. The residue was triturated with ether (15 mL) and was filtered to give 4-(1-benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (202 mg, 94%) as a white powder. LR-Electrospray : m/z 1015 (2M+Na, 4 Cl), 519 (M+Na) 514 (M+NH₄), 497 (M+H). HRMS: Obs. Mass 496.1774. Calcd. Mass 496.1765 (M+H).

Example 14.

4-(1-Benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(2-chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester

221
217

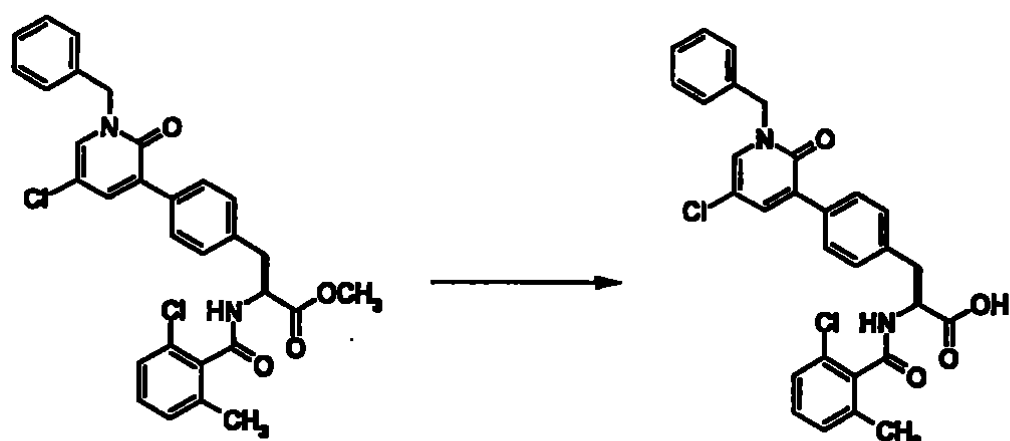


A solution of 4-(1-benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride (100 mg, 0.23 mmol), 2-chloro-6-methylbenzoic acid (47 mg, 0.28 mmol), DIEA (200 μ L, 1.2 mmol) and HBTU (133 mg, 0.35 mmol) in DMF (2 mL) was stirred at room temperature for 18 hr. The mixture was concentrated, the residue was dissolved in ethyl acetate (15 mL), was washed with 0.5 N HCl (1 x 5 mL), sat. NaHCO₃ (1 x 5 mL), brine (1 x 5 mL) and was dried (MgSO₄). The residue obtained upon evaporation was chromatographed on 25 g of silica gel, eluting with 45:55 ethyl acetate:hexane to give 4-(1-benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(2-chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester (74 mg, 58%). Obs. Mass 397.1313. Calcd. Mass 397.1320 (M+H)

Example 15.

4-(1-Benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(2-chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-L-phenylalanine

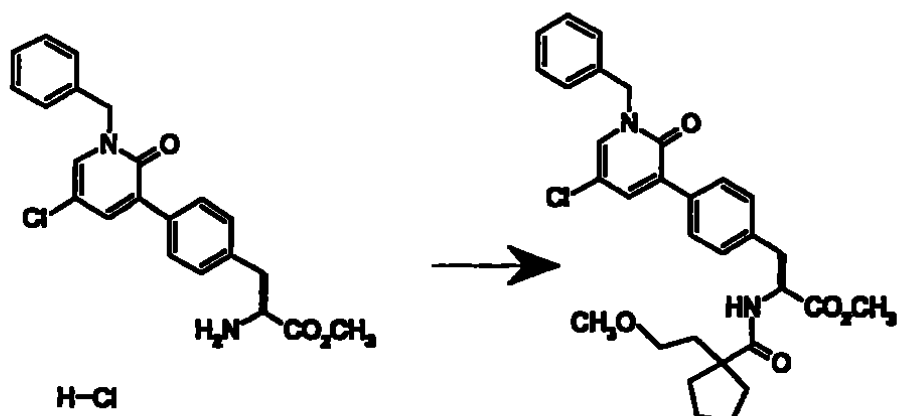
222
218



A solution of N-[(2-chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-4-(1-benzyl-5-chloro-2-oxo-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (72 mg, 0.13 mmol) in THF (3 mL) was treated with a solution of lithium hydroxide monohydrate (22 mg, 0.52 mmol) in water (1.0 mL). Additional THF was added to effect a clear solution and the reaction mixture was stirred 1.5 hr at which time, TLC (ethyl acetate) indicated starting material was consumed. A few drops of acetic were added and the entire reaction mixture was applied to a 4 x 30 cm, C-18 reversed phase HPLC column and eluted with a linear gradient of acetonitrile in water of 5 to 95% over 35 min. The product containing fraction was lyophilized to give 4-(1-benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(2-chloro-6-methylphenyl)carbonyl]-L-phenylalanine (50 mg, 71%) as a white solid. LR-Electrospray : m/z negative ion 533 (M-H (2 Cl)); positive ion 557(M+Na), 552 (M+NH₄), 535 (M+H (2 Cl)). HRMS: Obs. Mass 535.1190. Calcd. Mass 535.1191 (M+H).

Example 16.

4-(1-Benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl)carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester.

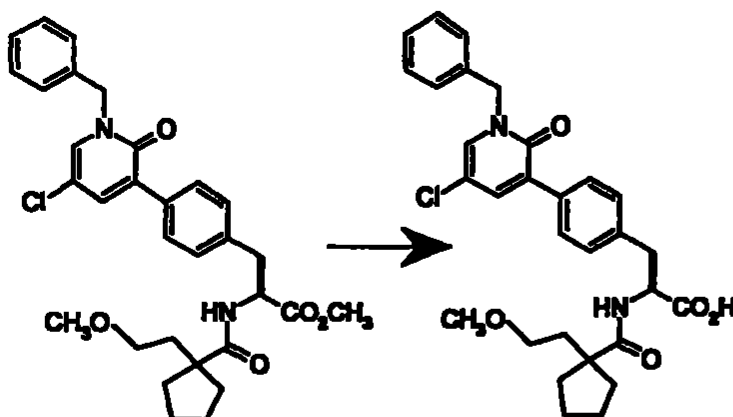


A solution of 4-(1-benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride (100 mg, 0.25 mmol), 1-(2-methoxyethyl)cyclopentane carboxylic acid (47 mg, 0.28 mmol), DIEA (200 μ L, 1.2 mmol) and HBTU (133 mg, 0.35 mmol) in DMF (2 mL) was stirred at room temperature for 18 hr. The mixture was concentrated, the residue was dissolved in ethyl acetate (15 mL), was washed with 0.5 N HCl (1 x 5 mL), sat. NaHCO_3 (1 x 5 mL), brine (1 x 5 mL) and was dried (MgSO_4). The residue obtained upon evaporation was chromatographed on 25 g of silica gel, eluting with 60:40 ethyl acetate:hexane to give 4-(1-benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester (80 mg, 63%). LR-Electrospray : m/z 1123 ($2M+\text{Na}$), 1118 ($2M+\text{NH}_4$), 573 ($M+\text{Na}$), 568 ($M+\text{NH}_4$), 551 ($M+\text{H}$ (1 Cl)). HRMS: Obs. Mass 551.2297. Calcd. Mass 551.2313 ($M+\text{H}$).

Example 17.

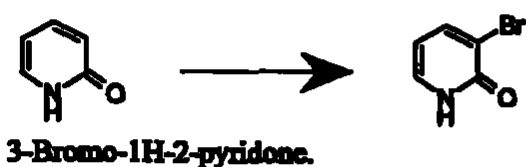
4-(1-Benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)- N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine

204
220



A solution of 4-(1-benzyl-5-chloro-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester (78 mg, 0.142 mmol) in THF (3 mL) was treated with a solution of lithium hydroxide monohydrate (24 mg, 0.57 mmol) in water (1.0 mL). Sufficient THF was added to the mixture to effect solution. The mixture was stirred 1 hr and a few drops of acetic acid were added. The entire reaction mixture was applied to a 4 x 30 cm, C-18 reversed phase HPLC column and eluted with a gradient of acetonitrile in water of 5- to 95% over 35 min. The product containing fraction was lyophilized to give 4-(5-chloro-1-benzyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[[1-(2-methoxyethyl)cyclopentyl]carbonyl]-L-phenylalanine (45 mg, 60%) as a white solid. LRMS-Electrospray: m/z positive ion 559 (M+Na), 554 (M+NH₄), 537 (M+H (1 Cl)); negative ion 535 (M-H (1 Cl)). HRMS: obs. mass 537.2151. calcd. mass 537.2156 (M+H).

Example 18.

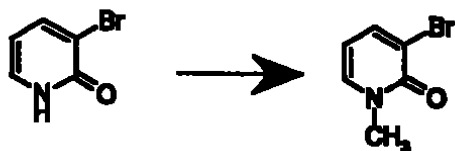


221

To a solution of 1H-2-pyridone (1.9 g, 20 mmol) in 1M aqueous potassium bromide (20 mL) was added a solution of bromine (3.2 g, 20 mmol) in 1 M aqueous potassium bromide (40 mL) over 5 min. The reaction was allowed to proceed overnight and the resulting precipitate was collected to give 1.4 g. Recrystallization from acetonitrile afforded 0.78 g of 3-bromo-1H-2-pyridone.

Example 19.

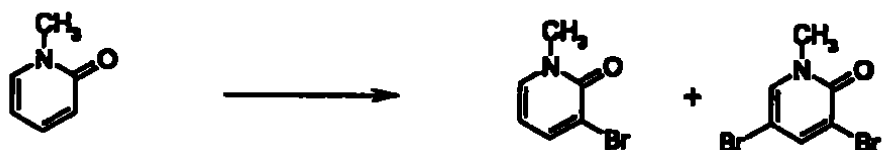
3-Bromo-1-methyl-2-pyridone.



A mixture of 3-bromo-1H-2-pyridone (740 mg, 4.25 mmol), potassium carbonate (1.18g, 8.5 mmol) and iodomethane (2.65 mL, 42.5 mmol) in DME (10 mL) was heated to reflux overnight. The mixture was filtered, washing with ethyl acetate and the filtrate was evaporated to dryness. The residue was purified by dry column chromatography over 27 g of silica gel, eluting with ethyl acetate to give 3-bromo-1-methyl-2-pyridone (0.63 g, 79%). LRMS (electrospray), positive ion, 188 (M+H).

Example 20.

3-bromo-1-methyl-2-pyridone and 3,5-dibromo-1-methyl-2-pyridone



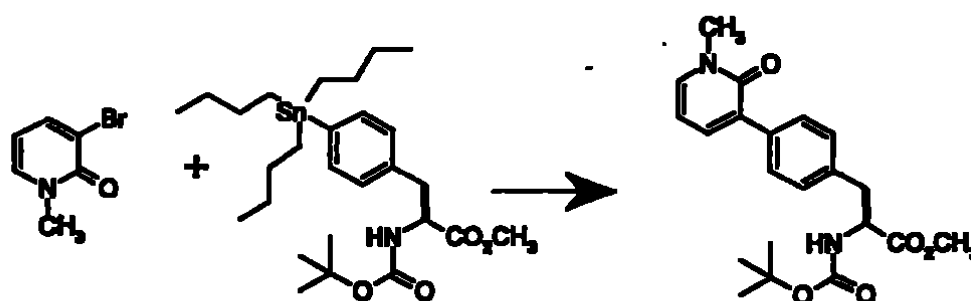
A solution of 1-methyl-2-pyridone (2.73 g, 25 mmol) and bromine (1.4 mL, 27 mmol) in glacial acetic acid (150 mL) was stirred 48 hr at room temperature. The mixture was concentrated. The residue was taken up in water (100 mL), made basic to litmus paper with 10 N sodium hydroxide and was extracted with dichloromethane (3 x 50 mL). The

226
222

combined extracts were washed with brine (30 mL) and dried (MgSO_4). Filtration and evaporation of the solvent gave 4.7 g, which was purified by dry chromatography over 150 g of silica gel, eluting with 1:6 ethyl acetate:hexane followed by 1:1 ethyl acetate:hexane. The first compound to elute was 3,5-dibromo-1-methyl-2-pyridone (2.0 g, 30%), LR-Electrospray : m/z 266 ($M+H$ (2 Br)). NMR(CDCl_3) δ 3.597 (s, 3H), 7.426 (d, $j = 2.7$, 1H), 7.791 (d, $j = 2.7$, 1H). The second compound to elute was 3-bromo-1-methyl-2-pyridone (1.39 g, 30%), LR-Electrospray : m/z positive ion 251 ($M+Na+CH_3CN$), 188 ($M+H$).

Example 21.

N-[(1,1-Dimethylethoxy)carbonyl]-4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester.



A solution of 3-bromo-1-methyl-2-pyridone (94 mg, 0.50 mmol) and N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-4-[(tributylstannyl)]-L-phenylalanine methyl ester (284 mg, 0.50 mmol) in DMF (3 mL) was deoxygenated by alternately freezing the mixture in a liquid nitrogen bath under vacuum and thawing under argon (3 X).

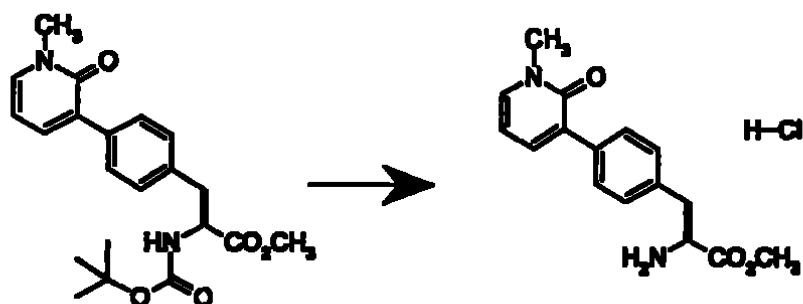
bis(triphenylphosphine)palladium dichloride (40 mg, 0.057 mmol) was added and the mixture was heated to 90 °C for 3 hr as the mixture turned dark. TLC indicated that the reaction was not complete and an additional 20 mg portion of the catalyst was added and heating continued for 4 hr. The mixture was allowed to cool and was diluted with dichloromethane (20 mL) and was filtered through a pad of celite. The filtrate was evaporated to dryness and the residue was dissolved in 1:1 ether:ethyl acetate (20 mL). The solution was washed with water (1 x 10 mL), 5% potassium fluoride (2 x 5 mL) and

224
223

water (1 x 10 mL) and was dried (MgSO₄). The residue obtained upon concentration was chromatographed over 25 g of silica gel eluting with 4:6 ethyl acetate:hexane to give N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (64 mg, 33%). LRMS-Electrospray : m/z positive ion, 795 (2M+Na) 409 (M+Na) 387 (M+H). HRMS: Obs. Mass 387.1935. Calcd. Mass 387.1920 (M+H).

Example 22.

4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride

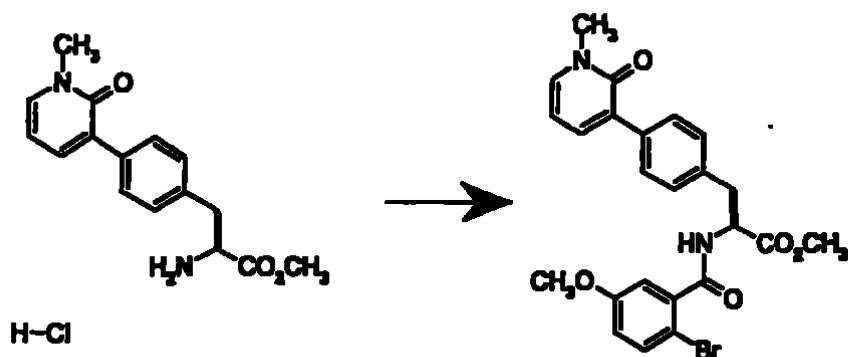


A solution of N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (60 mg, 0.155 mmol) in 4 N HCl in dioxane (4 mL) was stirred for 2 hr and was concentrated. The residue was triturated with several portions of ether to give 4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride (55 mg, quant) as a white powder. LRMS-Electrospray : m/z positive ion 573 (2M+H) 328 (M+H+CH₃CN) 319 (M+H+CH₃OH) 287 (M+H). HRMS: Obs. Mass 287.1396. Calcd. Mass 287.1396 (M+H)

Example 23.

N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester.

228
224

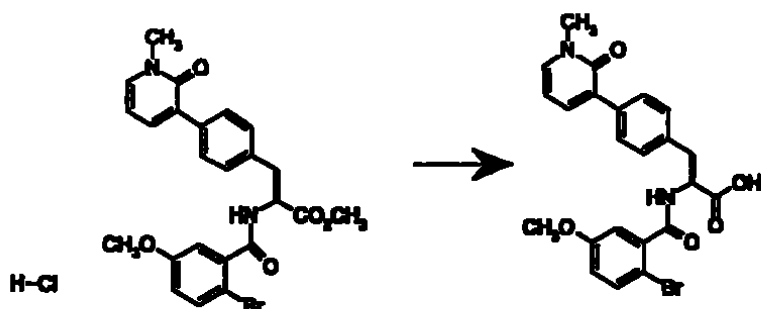


A solution of 4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride (52 mg, 0.16 mmol), 2-bromo-5-methoxybenzoic acid (45 mg, 0.19 mmol), DIEA (140 μ L, 0.80 mmol) and HBTU (85 mg, 0.22 mmol) in DMF (3 mL) was stirred at room temperature for 18 hr. The mixture was concentrated, the residue was dissolved in ethyl acetate (15 mL), was washed with 0.5 N HCl (1 x 5 mL), sat. NaHCO₃ (1 x 5 mL), brine (1 x 5 mL) and was dried (MgSO₄). The residue obtained upon evaporation (85 mg) was chromatographed on 25 g of silica gel, eluting with ethyl acetate to give N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (54 mg, 68%). HRMS: Obs. Mass 499.0872. Calcd. Mass 499.0869 (M+H)

Example 24.

N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine

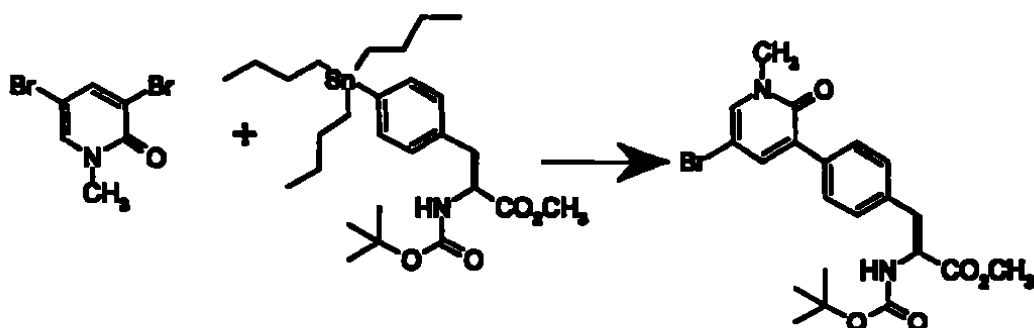
229
225



A solution of N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (52 mg, 0.104 mmol) in THF (3 mL) was treated with a solution of lithium hydroxide monohydrate (20 mg, 0.47 mmol) in water (1.0 mL). Methanol (0.5 mL) was added to effect a clear solution and the reaction mixture was stirred 18 hr. Acetic acid (0.5 mL) was added, the entire reaction mixture was applied to a 4 x 30 cm, C-18 reversed phase HPLC column and eluted with a gradient of acetonitrile in water of 5 to 95% over 35 min. The product containing fraction was lyophilized to give N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine (39 mg, 78%) as a white solid. HRMS: Obs. Mass 485.0703 Calcd. Mass 485.0712 (M+H).

Example 25.

4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-L-



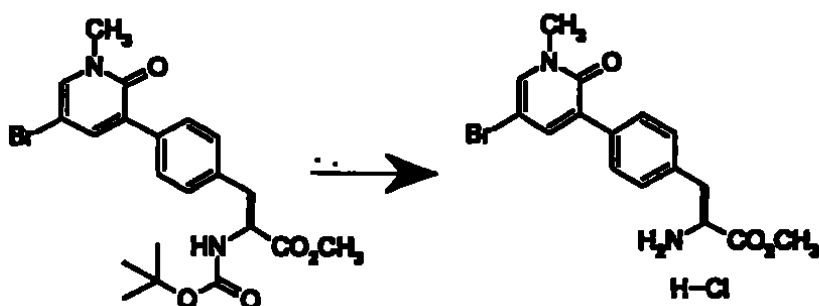
phenylalanine methyl ester.

230
226

A solution of 3,5-dibromo-1-methyl-2-pyridone (267 mg, 1.0 mmol) and N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-4-[(tributylstannyl)-L-phenylalanine methyl ester (568 mg, 1.0 mmol) in DMF (7 mL) was deoxygenated by alternately freezing the mixture in a liquid nitrogen bath under vacuum and thawing under argon (3 X).

bis(triphenylphosphine)palladium dichloride (80 mg, 0.11 mmol) was added and the mixture was heated to 90 °C for 3 hr as the mixture turned dark. TLC indicated that the reaction was not complete and an additional 40 mg portion of the catalyst was added and heating continued for 4 hr. The mixture was allowed to cool and was diluted with dichloromethane (40 mL) and was filtered through a pad of celite. The filtrate was evaporated to dryness and the residue was dissolved in ethyl acetate (30 mL). The solution was washed with water (1 x 10 mL), 5% potassium fluoride (2 x 10 mL) and brine (1 x 5 mL) and was dried (MgSO₄). The residue obtained upon concentration was chromatographed over 45 g of silica gel eluting with 3:7 ethyl acetate:hexane to give 4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-L-phenylalanine methyl ester (140 mg, 30%). FAB MS: 465 (M+H (1 Br)).

Example 26.



4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride

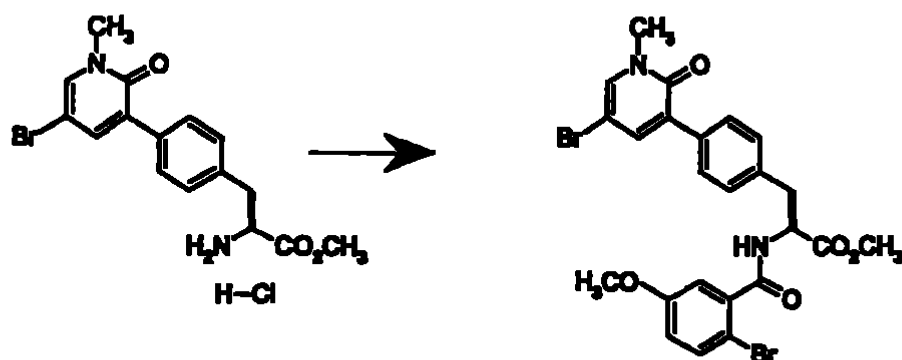
A solution of N-[(1,1-dimethylethoxy)carbonyl]-4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (135 mg, 0.29 mmol) in 4 N HCl in dioxane (5 mL) was stirred for 2 hr and was concentrated. The residue was triturated with several portions of ether to give 4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine

331
227

methyl ester hydrochloride (120 mg, quant) as a white powder. LRMS-Electrospray : m/z positive ion 729, $2M+H$ (2 Br), 406 ($M+H+CH_3CN$), 397 ($M+H+CH_3CN$ (1 Br)), 365 ($M+H$ (1 Br)). HRMS: Obs. Mass 365.0504. Calcd. Mass 365.0501 ($M+H$).

Example 27.

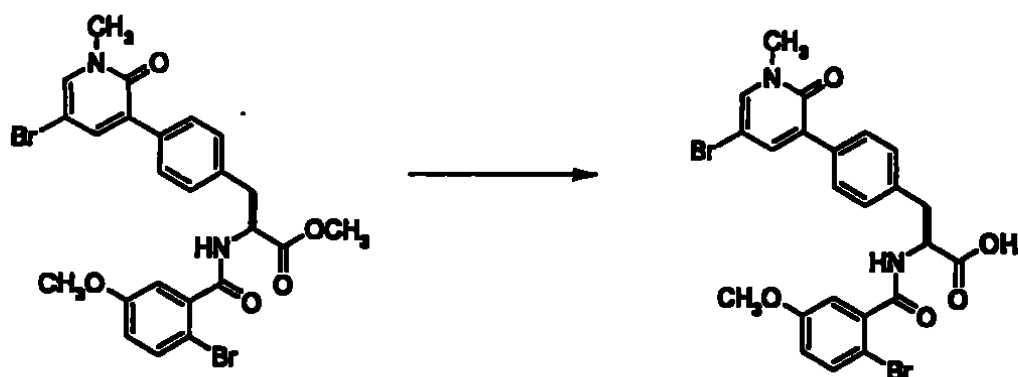
N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester



A solution of 4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester hydrochloride (120 mg, 0.30 mmol), 2-bromo-5-methoxybenzoic acid (82 mg, 0.36 mmol), DIEA (260 μ L, 1.5 mmol) and HBTU (157 mg, 0.41 mmol) in DMF (4 mL) was stirred at room temperature for 18 hr. The mixture was concentrated, the residue was dissolved in ethyl acetate (15 mL), was washed with 0.5 N HCl (1 x 5 mL), sat. $NaHCO_3$ (1 x 5 mL), brine (1 x 5 mL) and was dried ($MgSO_4$). The residue obtained upon evaporation (180 mg) was chromatographed on 25 g of silica gel, eluting with 3:1 ethyl acetate:hexane to give N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (130 mg, 76%). HRMS: Obs. Mass 576.9959. Calcd. Mass 576.9973 ($M+H$)

Example 28.

N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine



A solution of N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine methyl ester (29 mg, 0.05 mmol) in THF (3 mL) was treated with a solution of lithium hydroxide monohydrate (20 mg, 0.47 mmol) in water (1.0 mL). Methanol (0.5 mL) was added to effect a clear solution and the reaction mixture was stirred 18 hr. Acetic acid (0.5 mL) was added, the entire reaction mixture was applied to a 4 x 30 cm, C-18 reversed phase HPLC column and eluted with a gradient of acetonitrile in water of 5 to 95% over 35 min. The product containing fraction was lyophilized to give N-[(2-bromo-5-methoxyphenyl)carbonyl]-4-(5-bromo-1-methyl-2-oxo-3-pyridinyl)-L-phenylalanine (22 mg, 79%) as a white solid. HRMS: Obs. Mass 562.9814. Calcd. Mass 562.9817 (M+H).

Example 29.

VLA-4 / VCAM-1 Screening Assay

VLA-4 antagonist activity, defined as ability to compete for binding to immobilized VCAM-1, was quantitated using a solid-phase, dual antibody ELISA. VLA-4 ($\alpha 4 \beta 1$ integrin) bound to VCAM-1 was detected by a complex of anti-integrin $\beta 1$ antibody: HRP-conjugated anti-mouse IgG: chromogenic substrate (K-Blue). Initially, this entailed coating 96 well plates (Nunc Maxisorp) with recombinant human VCAM-1 (0.4 μ g in 100 μ l PBS), sealing each plate and then allowing the plates to stand at 4°C for ~18 hr. The VCAM-coated plates were subsequently blocked with 250 μ l of 1% BSA/0.02% NaN₃ to reduce non-specific binding. On the day of assay, all plates were washed twice with VCAM Assay Buffer (200 μ l/well of 50 mM Tris-HCl, 100 mM NaCl, 1 mM MnCl₂, 0.05% Tween 20; pH 7.4). Test compounds were dissolved in 100% DMSO and

233
229

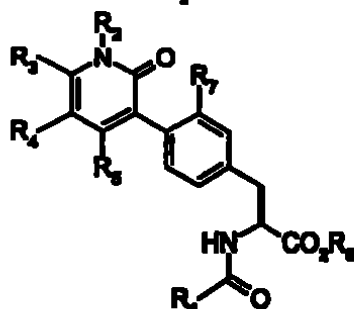
then diluted 1:20 in VCAM Assay Buffer supplemented with 1 mg/mL BSA (i.e., final DMSO = 5%). A series of 1:4 dilutions were performed to achieve a concentration range of 0.005 nM - 1.563 μ M for each test compound. 100 μ l per well of each dilution was added to the VCAM-coated plates, followed by 10 μ l of Ramos cell-derived VLA-4. These plates were sequentially mixed on a platform shaker for 1 min, incubated for 2 hr at 37°C, and then washed four times with 200 μ l/well VCAM Assay Buffer. 100 μ l of mouse anti-human integrin β 1 antibody was added to each well (0.6 μ g/mL in VCAM Assay Buffer + 1 mg/mL BSA) and allowed to incubate for 1 hr at 37°C. At the conclusion of this incubation period, all plates were washed four times with VCAM Assay Buffer (200 μ l/well). A corresponding second antibody, HRP-conjugated goat anti-mouse IgG (100 μ l per well @ 1:800 dilution in VCAM Assay Buffer + 1 mg/mL BSA), was then added to each well, followed by a 1 hr incubation at room temperature and concluded by three washes (200 μ l/well) with VCAM Assay Buffer. Color development was initiated by addition of 100 μ l K-Blue per well (15 min incubation, room temp) and terminated by addition of 100 μ l Red Stop Buffer per well. All plates were then read in a UV/Vis spectrophotometer at 650 nM. Results were calculated as % inhibition of total binding (i.e., VLA-4 + VCAM-1 in the absence of test compound). The results are provided in the following Table I (A = IC₅₀ < 1 nM, B = IC₅₀ <10 nM):

Compound of Example	Activity in VCAM/VLA-4 ELISA Assay
8	A
10	B
15	B
17	B
24	A
28	A

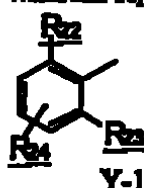
Table I

Claims:

1. A compound of the formula:



wherein R₁ is a group Y-1



wherein R₂₂ and R₂₃ are independently hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, lower cycloalkyl, aryl, arylalkyl, nitro, cyano, lower alkylthio, lower alkylsulfinyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkanoyl, halogen, or perfluorolower alkyl and at least one of R₂₂ and R₂₃ is other than hydrogen, and R₂₄ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, aryl, nitro, cyano, lower alkyl sulfonyl, or halogen; or

R₁ is a five or six membered heteroaromatic ring bonded via a carbon atom to the amide carbonyl wherein said ring contains one, two or three heteroatoms selected from the group consisting of N, O and S and one or two atoms of said ring are independently substituted by lower alkyl, cycloalkyl, halogen, cyano, perfluoroalkyl, or aryl and at least one of said substituted atoms is adjacent to the carbon atom bonded to the amide carbonyl; or

R₁ is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:



wherein R₂₅ is lower alkyl, unsubstituted or fluorine substituted lower alkenyl, or a group of formula R₂₆-(CH₂)_n, R₂₆ is aryl, heteroaryl, azido, cyano, hydroxy, lower alkoxy, lower alkoxycarbonyl, lower alkanoyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfonyl, lower alkyl sulfinyl, perfluoro lower alkanoyl, nitro, or R₂₆ is a group of formula -NR₂₈R₂₉, wherein R₂₈ is hydrogen or lower alkyl, R₂₉ is hydrogen, lower alkyl, lower

~~225~~
231

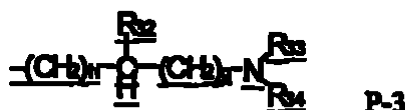
הת
כז
הז
הז
הז
הז
הז
הז
הז
הז
הז

R_{40} is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxycarbonyl, the carbon atoms in the ring are unsubstituted or substituted by lower alkyl or halogen, e is an integer from 0 to 4, and f is an integer from 0 to 3;

R₃ is hydrogen, halogen, lower alkyl, or aryl;

R₅ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, trifluoromethyl, or OH;

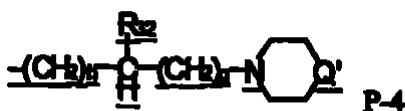
or R_6 is a group of formula P-3:



wherein:

R₃₂ is hydrogen or lower alkyl; R₃₃ is hydrogen, lower alkyl, aryl; R₃₄ is hydrogen or lower alkyl; h is an integer from 0 to 2; g is an integer from 0 to 2; the sum of h and g is 1 to 3; or

R₆ is a group of formula P-4:

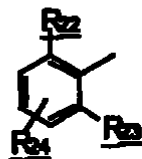


wherein: R_{32} , g, and h are as previously defined; Q' is O, S, $-(CH_2)_j-$, or a group of the formula $N-R_{35}$; wherein R_{35} is hydrogen, lower alkyl, lower alkanoyl, lower alkoxycarbonyl; j is 0, 1 or 2; and

236
232

R₇ is hydrogen, chloro, lower alkoxy, or lower alkyl.

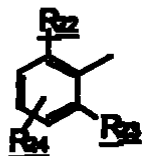
2. A compound of claim 1 wherein R₁ is a group Y-1



Y-1

wherein R₂₂ and R₂₃ are independently hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, lower cycloalkyl, aryl, arylalkyl, nitro, cyano, lower alkylthio, lower alkylsulfinyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkanoyl, halogen, or perfluorolower alkyl and at least one of R₂₂ and R₂₃ is other than hydrogen, and R₂₄ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, aryl, nitro, cyano, lower alkyl sulfonyl, or halogen.

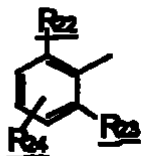
3. A compound of claim 2 wherein R₁ is a group Y-1



Y-1

wherein R₂₂ and R₂₃ are independently lower alkyl or halogen and R₂₄ is hydrogen.

4. A compound of claim 2 wherein R₁ is a group Y-1



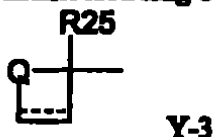
Y-1

wherein R₂₂ and R₂₃ are independently hydrogen, lower alkyl or halogen and R₂₄ is hydrogen, lower alkyl or lower alkoxy.

20160000.120677

5. A compound of claim 1 wherein R_1 is a five or six membered heteroaromatic ring bonded via a carbon atom to the amide carbonyl wherein said ring contains one, two or three heteroatoms selected from the group consisting of N, O and S and one or two atoms of said ring are independently substituted by lower alkyl, cycloalkyl, halogen, cyano, perfluoroalkyl, or aryl and at least one of said substituted atoms is adjacent to the carbon atom bonded to the amide carbonyl.

6. A compound of claim 1 wherein R_1 is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:



wherein R_{25} is lower alkyl, unsubstituted or fluorine substituted lower alkanyl, or a group of formula $R_{26}-(CH_2)_e$, R_{26} is aryl, heteroaryl, azido, cyano, hydroxy, lower alkoxy, lower alkoxy carbonyl, lower alkanoyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfonyl, lower alkyl sulfinyl, perfluoro lower alkanoyl, nitro, or R_{26} is a group of formula - $NR_{28}R_{29}$, wherein R_{28} is hydrogen or lower alkyl, R_{29} is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy carbonyl, lower alkanoyl, aroyl, perfluoro lower alkanoylamino, lower alkyl sulfonyl, lower alkylaminocarbonyl, arylaminocarbonyl; or R_{28} and R_{29} , taken together with the attached nitrogen atom, form a 4, 5 or 6-membered saturated heterocyclic ring optionally containing one additional heteroatom selected from O, S, and N- R_{40} .

Q is $-(CH_2)_fO-$, $-(CH_2)_fS-$, $-(CH_2)_fN(R_{27})-$, $-(CH_2)_f-$,

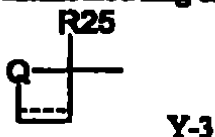
R_{27} is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxy carbonyl,

R_{40} is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxy carbonyl, the carbon atoms in the ring are unsubstituted or substituted by lower alkyl or halogen,

e is an integer from 0 to 4, and

f is an integer from 0 to 3.

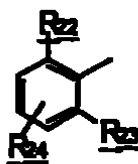
7. A compound of claim 6 wherein R_1 is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:



wherein R₂₅ a group of formula R₂₆-(CH₂)_e-, wherein R₂₆ is lower alkoxy,

Q is -(CH₂)_f, e is an integer from 0 to 4 and f is an integer from 0 to 3.

8. A compound of claim 1 wherein R₁ is a group Y-1



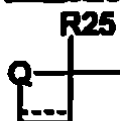
Y-1

wherein R₂₂ and R₂₃ are independently hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, lower cycloalkyl, aryl, arylalkyl, nitro, cyano, lower alkylthio, lower alkylsulfinyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkanoyl, halogen, or perfluorolower alkyl and at least one of R₂₂ and R₂₃ is other than hydrogen, and R₂₄ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, aryl, nitro, cyano, lower alkyl sulfonyl, or halogen; and

R₂ is hydrogen or lower alkyl, substituted lower alkyl, aryl or aryl lower alkyl.

9. A compound of claim 8 wherein R₂₂ and R₂₃ are independently hydrogen, lower alkyl or halogen, R₂₄ is hydrogen or lower alkoxy and R₂ is aryl lower alkyl.

10. A compound of claim 1 wherein R₁ is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:



Y-3

wherein R₂₅ is lower alkyl, unsubstituted or fluorine substituted lower alkenyl, or a group of formula R₂₆-(CH₂)_e-, R₂₆ is aryl, heteroaryl, azido, cyano, hydroxy, lower alkoxy, lower alkoxycarbonyl, lower alkanoyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfonyl, lower alkyl sulfinyl, perfluoro lower alkanoyl, nitro, or R₂₆ is a group of formula -NR₂₈R₂₉, wherein R₂₈ is hydrogen or lower alkyl, R₂₉ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxycarbonyl, lower alkanoyl, aryl, perfluoro lower alkanoylamino, lower alkyl sulfonyl, lower alkylaminocarbonyl, arylaminocarbonyl; or R₂₈ and R₂₉, taken together with the attached nitrogen atom, form a 4, 5 or 6-membered saturated heterocyclic ring optionally containing one additional heteroatom selected from O, S, and N-R₄₀.

239
235

Q is $-(CH_2)_fO-$, $-(CH_2)_fS-$, $-(CH_2)_fN(R_{27})-$, $-(CH_2)_f-$,

R_{27} is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxy carbonyl,

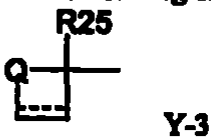
R_{40} is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxy carbonyl, the carbon atoms in the ring are unsubstituted or substituted by lower alkyl or halogen,

e is an integer from 0 to 4,

f is an integer from 0 to 3, and

R_2 is hydrogen or lower alkyl, substituted lower alkyl or aryl lower alkyl.

11. A compound of claim 10 wherein R_1 is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:

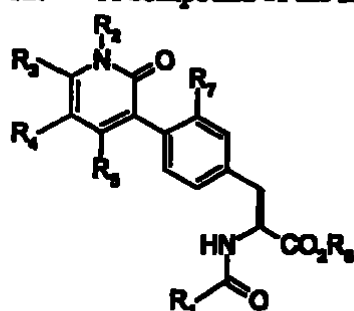


wherein R_{25} a group of formula $R_{26}-(CH_2)_e-$, wherein R_{26} is lower alkoxy,

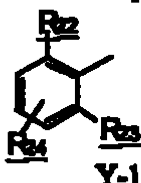
Q is $-(CH_2)_f-$, e is an integer from 0 to 4, f is an integer from 0 to 3, and R_2 is aryl lower alkyl.

SECRET 01070-12007

12. A compound of the formula:



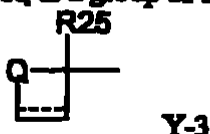
wherein R₁ is a group Y-1



wherein R₂₂ and R₂₃ are independently hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, lower cycloalkyl, aryl, arylalkyl, nitro, cyano, lower alkylthio, lower alkylsulfinyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkanoyl, halogen, or perfluorolower alkyl and at least one of R₂₂ and R₂₃ is other than hydrogen, and R₂₄ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, aryl, nitro, cyano, lower alkyl sulfonyl, or halogen; or

R₁ is a five or six membered heteroaromatic ring bonded via a carbon atom to the amide carbonyl wherein said ring contains one, two or three heteroatoms selected from the group consisting of N, O and S and one or two atoms of said ring are independently substituted by lower alkyl, cycloalkyl, halogen, cyano, perfluoroalkyl, or aryl and at least one of said substituted atoms is adjacent to the carbon atom bonded to the amide carbonyl; or

R₁ is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:



wherein R₂₅ is lower alkyl, unsubstituted or fluorine substituted lower alkenyl, or a group of formula R₂₆-(CH₂)_n, R₂₆ is aryl, heteroaryl, azido, cyano, hydroxy, lower alkoxy, lower alkoxycarbonyl, lower alkanoyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfonyl, lower alkyl sulfinyl, perfluoro lower alkanoyl, nitro, or R₂₅ is a group of formula -NR₂₈R₂₉, wherein R₂₈ is hydrogen or lower alkyl, R₂₉ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxycarbonyl, lower alkanoyl, aroyl, perfluoro lower alkanoylamino, lower alkyl sulfonyl, lower alkylaminocarbonyl, arylaminocarbonyl; or

291
237

R₂₈ and R₂₉, taken together with the attached nitrogen atom, form a 4, 5 or 6-membered saturated heterocyclic ring optionally containing one additional heteroatom selected from O, S, and N-R₄₀.

Q is -(CH₂)_fO-, -(CH₂)_fS-, -(CH₂)_fN(R₂₇)-, -(CH₂)_f-,

R₂₇ is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxy carbonyl,

R₄₀ is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxy carbonyl, the carbon atoms in the ring are unsubstituted or substituted by lower alkyl or halogen, e is an integer from 0 to 4, and f is an integer from 0 to 3;

R₂ is hydrogen, lower alkyl or aryl lower alkyl;

R₃ is hydrogen;

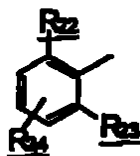
R₄ is hydrogen or halogen;

R₅ is hydrogen, lower alkyl, trifluoromethyl, or lower alkoxy;

R₆ is hydrogen or lower alkyl; and

R₇ is hydrogen, chloro, lower alkoxy, or lower alkyl.

13. A compound of claim 12 wherein R₁ is a group Y-1



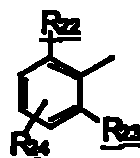
6 i - 2

Y-1

wherein R₂₂ and R₂₃ are independently hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, lower cycloalkyl, aryl, arylalkyl, nitro, cyano, lower alkylthio, lower alkylsulfinyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkanoyl, halogen, or perfluorolower alkyl and at least one of R₂₂ and R₂₃ is other than hydrogen, and R₂₄ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, aryl, nitro, cyano, lower alkyl sulfonyl, or halogen.

242
238

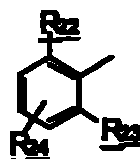
14. A compound of claim 13 wherein R_1 is a group Y-1



Y-1

wherein R_{22} and R_{23} are independently lower alkyl or halogen and R_{24} is hydrogen or lower alkoxy.

15. A compound of claim 13 wherein R_1 is a group Y-1

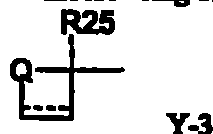


Y-1

wherein R_{22} and R_{23} are independently hydrogen, lower alkyl or halogen and R_{24} is hydrogen, lower alkyl or lower alkoxy.

16. A compound of claim 12 wherein R_1 is a five or six membered heteroaromatic ring bonded via a carbon atom to the amide carbonyl wherein said ring contains one, two or three heteroatoms selected from the group consisting of N, O and S and one or two atoms of said ring are independently substituted by lower alkyl, cycloalkyl, halogen, cyano, perfluoroalkyl, or aryl and at least one of said substituted atoms is adjacent to the carbon atom bonded to the amide carbonyl.

- 6 17. A compound of claim 12 wherein R_1 is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:



Y-3

wherein R_{25} is lower alkyl, unsubstituted or fluorine substituted lower alkanyl, or a group of formula $R_{26}-(CH_2)_n-$, R_{26} is aryl, heteroaryl, azido, cyano, hydroxy, lower alkoxy, lower alkoxy carbonyl, lower alkanoyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfonyl, lower alkyl sulfinyl, perfluoro lower alkanoyl, nitro, or R_{26} is a group of formula - $NR_{28}R_{29}$, wherein R_{28} is hydrogen or lower alkyl, R_{29} is hydrogen, lower alkyl, lower

2A3
239

alkoxycarbonyl, lower alkanoyl, aroyl, perfluoro lower alkanoylamino, lower alkyl sulfonyl, lower alkylaminocarbonyl, arylaminocarbonyl; or R₂₈ and R₂₉, taken together with the attached nitrogen atom, form a 4, 5 or 6-membered saturated heterocyclic ring optionally containing one additional heteroatom selected from O, S, and N-R₄₀.

Q is -(CH₂)_fO-, -(CH₂)_fS-, -(CH₂)_fN(R₂₇)-, -(CH₂)_f,

R₂₇ is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxycarbonyl,

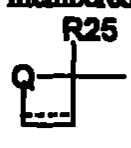
R₄₀ is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxycarbonyl, the carbon atoms in the ring are unsubstituted or substituted by lower alkyl or halogen,

e is an integer from 0 to 4, and

f is an integer from 0 to 3.

COPIES OF THIS DOCUMENT

- 7 18. A compound of claim 17 wherein R₁ is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:

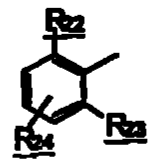


Y-3

wherein R₂₅ a group of formula R₂₆-(CH₂)_e-, wherein R₂₆ is lower alkoxy,

Q is -(CH₂)_f-, e is an integer from 0 to 4 and f is an integer from 0 to 3.

- 8 19. A compound of claim 12 wherein R₁ is a group Y-1

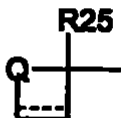


Y-1

wherein R₂₂ and R₂₃ are independently hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, lower cycloalkyl, aryl, arylalkyl, nitro, cyano, lower alkylthio, lower alkylsulfinyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkanoyl, halogen, or perfluorolower alkyl and at least one of R₂₂ and R₂₃ is other than hydrogen, and R₂₄ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, aryl, nitro, cyano, lower alkyl sulfonyl, or halogen.

20. A compound of claim 19 wherein R₂₂ and R₂₃ are independently hydrogen, lower alkyl or halogen, R₂₄ is hydrogen and R₁ is aryl lower alkyl.

21. A compound of claim 12 wherein R₁ is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:



wherein R₂₅ is lower alkyl, unsubstituted or fluorine substituted lower alkenyl, or a group of formula R₂₆-(CH₂)_e, R₂₆ is aryl, heteroaryl, azido, cyano, hydroxy, lower alkoxy, lower alkoxycarbonyl, lower alkanoyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfonyl, lower alkyl sulfinyl, perfluoro lower alkanoyl, nitro, or R₂₆ is a group of formula -NR₂₈R₂₉, wherein R₂₈ is hydrogen or lower alkyl, R₂₉ is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxycarbonyl, lower alkanoyl, aroyl, perfluoro lower alkanoylamino, lower alkyl sulfonyl, lower alkylaminocarbonyl, arylaminocarbonyl; or R₂₈ and R₂₉, taken together with the attached nitrogen atom, form a 4, 5 or 6-membered saturated heterocyclic ring optionally containing one additional heteroatom selected from O, S, and N-R₄₀.

Q is -(CH₂)_fO-, -(CH₂)_fS-, -(CH₂)_fN(R₂₇)-, -(CH₂)_f.

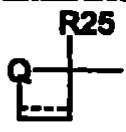
R₂₇ is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxycarbonyl,

R₄₀ is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxycarbonyl, the carbon atoms in the ring are unsubstituted or substituted by lower alkyl or halogen,

e is an integer from 0 to 4, and

f is an integer from 0 to 3.

22. A compound of claim 21 wherein R₁ is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:

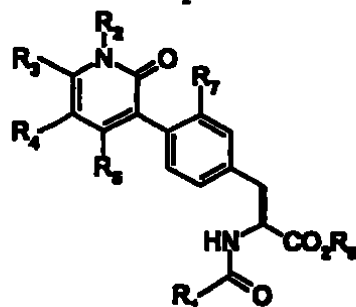


wherein R₂₅ a group of formula R₂₆-(CH₂)_e, wherein R₂₆ is lower alkoxy,

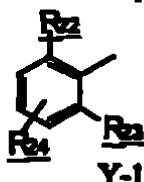
241

Q is $-(CH_2)_f$, e is an integer from 0 to 4, f is an integer from 0 to 3, and R_2 aryl lower alkyl.

23. A compound of the formula:



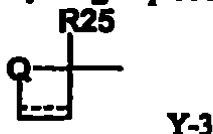
wherein R_1 is a group Y-1



wherein R_{22} and R_{23} are independently hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, lower cycloalkyl, aryl, arylalkyl, nitro, cyano, lower alkylthio, lower alkylsulfinyl, lower alkyl sulfonyl, lower alkanoyl, halogen, or perfluorolower alkyl and at least one of R_{22} and R_{23} is other than hydrogen, and R_{24} is hydrogen, lower alkyl, lower alkoxy, aryl, nitro, cyano, lower alkyl sulfonyl, or halogen; or

R_1 is a five or six membered heteroaromatic ring bonded via a carbon atom to the amide carbonyl wherein said ring contains one, two or three heteroatoms selected from the group consisting of N, O and S and one or two atoms of said ring are independently substituted by lower alkyl, cycloalkyl, halogen, cyano, perfluoroalkyl, or aryl and at least one of said substituted atoms is adjacent to the carbon atom bonded to the amide carbonyl; or

R_1 is a group of the formula Y-3 which is a 3-7 membered ring of the formula:



wherein R_{25} is lower alkyl, unsubstituted or fluorine substituted lower alkenyl, or a group of formula $R_{26}-(CH_2)_e$, R_{26} is aryl, heteroaryl, azido, cyano, hydroxy, lower alkoxy, lower alkoxy carbonyl, lower alkanoyl, lower alkylthio, lower alkyl sulfonyl,

246
242

lower alkyl sulfinyl, perfluoro lower alkanoyl, nitro, or R_{28} is a group of formula -
 $NR_{28}R_{29}$, wherein R_{28} is hydrogen or lower alkyl, R_{29} is hydrogen, lower alkyl, lower
 alkoxy, lower alkanoyl, aroyl, perfluoro lower alkanoylamino, lower alkyl
 sulfonyl, lower alkylaminocarbonyl, arylaminocarbonyl; or
 R_{28} and R_{29} , taken together with the attached nitrogen atom, form a 4, 5 or 6-membered
 saturated heterocyclic ring optionally containing one additional heteroatom selected from
 O, S, and N- R_{40} .

Q is $-(CH_2)_fO-$, $-(CH_2)_fS-$, $-(CH_2)_fN(R_{27})-$, $-(CH_2)_f-$.

R_{27} is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxy, lower alkanoyl,

R_{40} is H, lower alkyl, aryl, lower alkanoyl, aroyl or lower alkoxy, lower alkanoyl, the carbon
 atoms in the ring are unsubstituted or substituted by lower alkyl or halogen,
 e is an integer from 0 to 4, and f is an integer from 0 to 3;

R_2 is hydrogen, lower alkyl or aryl lower alkyl;

R_3 is hydrogen;

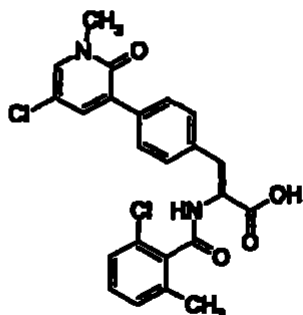
R_4 is halogen;

R_5 is hydrogen;

R_6 is hydrogen or lower alkyl; and

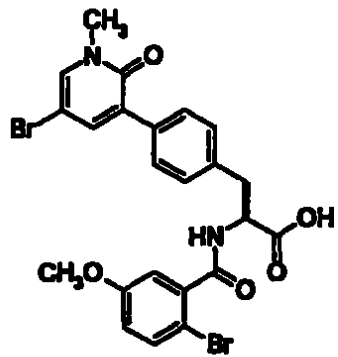
R_7 is hydrogen, chloro, lower alkoxy, or lower alkyl.

24. A compound of the formula

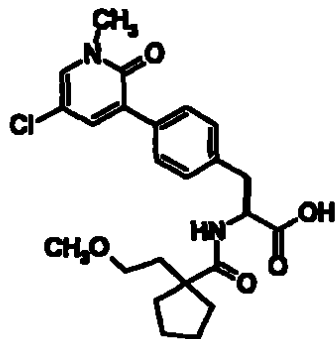


247
243

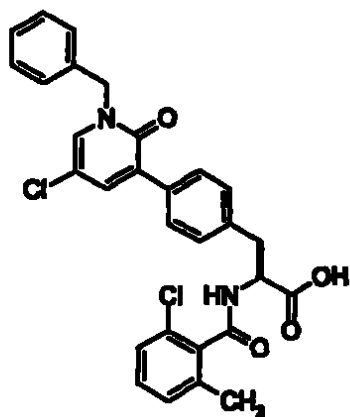
25. A compound of the formula



26. A compound of the formula

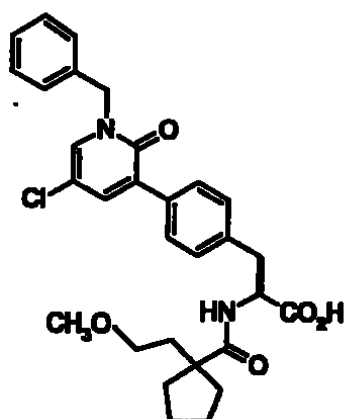


27. A compound of the formula

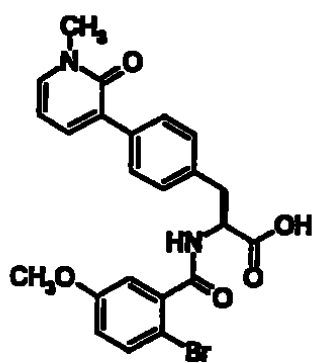


~~243~~
244

28. A compound of the formula



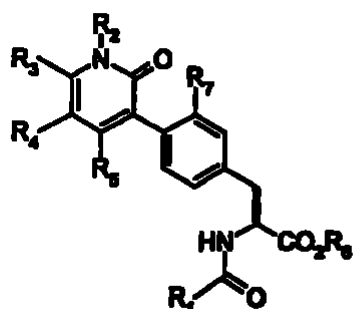
29. A compound of the formula



249
245

ABSTRACT

Compounds of Formula I are disclosed.



These compounds have activity as inhibitors of binding between VCAM-1 and cells expressing VLA-4. Such compounds are useful for treating disease whose symptoms and or damage are related to the binding of VCAM-1 to cells expressing VLA-4.

SECRET-120375

246
246

Declaration and Power of Attorney for Patent Application

As a below named inventor, I hereby declare that:

My residence, post office address and citizenship are as stated below next to my name,

I believe I am the original, first and sole inventor (if only one name is listed below) or an original, first and joint inventor (if plural names are listed below) of the subject matter which is claimed and for which a patent is sought on the invention entitled

4-PYRIDINYL-N-ACYL-L-PHENYLALANINES

the specification of which

(check one)

☒ is attached hereto.

☐ was filed on _____ as

☐ Application Serial No. _____

☐ and was amended on _____
(if applicable)

I hereby state that I have reviewed and understand the contents of the above identified specification, including the claims, as amended by any amendment referred to above.

I acknowledge the duty to disclose information which is material to patentability as defined in 37 CFR § 1.56.

I hereby claim for sign priority benefits under 35 U.S.C. § 119(a)-(d) or § 365(b) of any foreign application(s) for patent or inventor's certificate, or § 365(a) of any PCT International application which designated at least one country other than the United States, listed below and have also identified below, by checking the box, any foreign application for patent or inventor's certificate, or PCT International application having a filing date before that of the application on which priority is claimed.

Prior Foreign Application(s)			Priority Claimed	
_____ (Number)	_____ (Country)	_____ (Day/Month/Year Filed)	☐ Yes	☐ No
_____ (Number)	_____ (Country)	_____ (Day/Month/Year Filed)	☐ Yes	☐ No

I hereby claim the benefit under 35 U.S.C. § 119(e) of any United States provisional application(s) listed below.

_____ (Application No.)	_____ (Filing Date)	_____ (Application No.)	_____ (Filing Date)
----------------------------	------------------------	----------------------------	------------------------

247

I hereby claim the benefit under Title 35, United States Code, § 120 of any United States application(s), or § 365(c) of any PCT International application designating the United States, listed below and, insofar as the subject matter of each of the claims of this application is not disclosed in the prior United States application in the manner provided by the first paragraph of Title 35, United States Code, § 112, I acknowledge the duty to disclose information which is material to patentability as defined in 37 CFR § 1.56 which became available between the filing date of the prior application and the national or PCT international filing date of this application:

(Application Serial No.)

(Filing Date)

(Status) (patented, pending, abandoned)

(Application Serial No.)

(Filing Date)

(Status) (patented, pending, abandoned)

I hereby declare that all statements made herein of my own knowledge are true and that all statements made on information and belief are believed to be true; and further that these statements were made with the knowledge that willful false statements and the like so made are punishable by fine or imprisonment, or both, under Section 1001 of Title 18 of the United States Code and that such willful false statements may jeopardize the validity of the application or any patent issued thereon.

POWER OF ATTORNEY: As a named inventor, I hereby appoint the following attorney(s) and/or agent(s) to prosecute this application and transact all business in the Patent and Trademark Office connected therewith. (list name and registration number)

George W. Johnston (Reg. No. 28,090)
William H. Epstein (Reg. No. 20,008)
Joseph P. Kirk, Jr. (Reg. No. 36,844)

Dennis P. Tramaloni (Reg. No. 28,542)
Patricia S. Rocha-Tramaloni (Reg. No. 31,054)

Send Correspondence to:

George W. Johnston, Esq., Hoffmann-La Roche Inc., 340 Kingsland Street, Nutley, New Jersey 07110-1199

Direct Telephone Calls to: (name and telephone number)

Joseph P. Kirk, Jr. (973) 235-4393

Full name of sole or first inventor

Gerald Lewis Kaplan

Inventor's signature

Date

Residence

New York, New York 10025

Citizenship

United States

Post Office Address

317 West 93rd Street, New York, New York 10025

252
248

Full name of second joint inventor, if any

Achyutharao Sidduri

Second Inventor's signature

Achyutharao Sidduri

Date

12/6/1999

Residence

Livingston, Essex County, New Jersey

Citizenship

India

Post Office Address

22 Washington Court, Livingston, New Jersey 07039

Full name of third joint inventor, if any

Jefferson Wright Tilley

Third Inventor's signature

Date

Jeff - Wright Tilley

12/6/99

Residence

North Caldwell, Essex County, New Jersey

Citizenship

United States

Post Office Address

18 Evergreen Drive, North Caldwell, New Jersey 07006

Title 37, Code of Federal Regulations, §1.56, duty to disclose information material to patentability provides, in part, that each individual associated with the filing and prosecution of a patent application has a duty of candor and good faith in dealing with the Office, which includes a duty to disclose to the Office all information known to that individual to be material to patentability as defined in this section. The duty to disclose information exists with respect to each pending claim until the claim is canceled or withdrawn from consideration, or the application becomes abandoned.

Under this section, information is material to patentability when it is not cumulative to information already of record or being made of record in the application, and

(1) It establishes, by itself or in combination with other information, a prima facie case of unpatentability of a claim; or

(2) It refutes, or is inconsistent with, a position the applicant takes in:

(i) Opposing an argument of unpatentability relied on by the Office, or

(ii) Asserting an argument of patentability.

F-Hoffm.
20515
249

TRADUCCION OFICIAL NO. 8155
DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES.

=====

00043094-7.

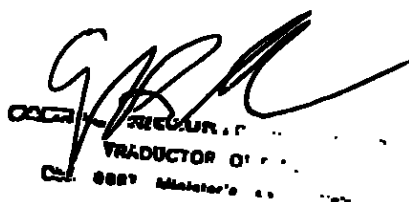
ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

DEPARTAMENTO DE ESTADO

A TODOS LOS QUE LLEGUEN LOS PRESENTES DOCUMENTOS, SALUD

**Certifico que el documento adjunto tiene el sello de la Oficina de Patentes y
Marcas, Departamento de Comercio de los Estados Unidos de América, y
que dicho sello merece plena fé y crédito.***

**En testimonio de ello, yo, Madeleine K. Albright, Secretario de Estado, he
ordenado que se estampe el sello del Departamento de Estado y que el
Oficial de Autenticaciones de dicho Departamento suscriba mi nombre en el
presente documento, en la ciudad de Washington, en el Distrito de Columbia,
el día cuatro de agosto de 2000**


OCCASIONAL SECRETARY OF STATE
TRANSLATOR OF
Ch. 8887 Secretary's

Por Madeleine K. Albright

Secretario de Estado

Firmado: Jacqueline Pridgen

255
250

Oficial de Autenticaciones Asistente

Departamento de Estado.

Sello en relieve: Departamento de Estado, Estados Unidos de América - con el escudo de los Estados Unidos en el centro.

* El Departamento no asume ninguna responsabilidad por el contenido del documento adjunto.

Este certificado no es válido si se retira o modifica en cualquier forma.

=====

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

A TODOS LOS QUE LLEGUEN LOS PRESENTES:

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

Oficina de Patentes y Marcas de Fábrica

Agosto 01 de 2000

POR EL PRESENTE SE CERTIFICA QUE LO ADJUNTO ES UNA COPIA FIEL DE LOS REGISTROS DE ESTA OFICINA DE UN DOCUMENTO REGISTRADO EN diciembre 20 de 1999.

Por Autorización del

COMISIONADO DE PATENTES Y MARCAS DE FABRICA

286
251

Firmado: P. R. Grant

P.R. GRANT

OFICIAL DE CERTIFICACIONES

Sello en relieve, estampado sobre lámina de papel metalizado precintado:
OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE FABRICA - ESTADOS UNIDOS
DE AMERICA - con escudo en el centro

=====

Formulario PTO-1595

DEPARTAMENTO DE COMERCIO

Página 1 de 2

Oficina de Marcas

RECIBIDO 1999 DIC. 20 AM 10:41

OPERACIONES/FINANZAS

Escrito a mano: 12.20.9

01-14-2000

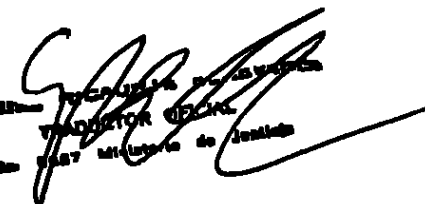
Código de barras

101244502

HOJA DE CUBIERTA DE FORMULARIO DE REGISTRO

ÚNICAMENTE PATENTES

Caso Minuta No. 1102P


OFICINA DE PATENTES Y MARCAS
TRADUCTOR OFICIAL
Caso 1102 Minuta No. 1102P

257
252

Al Honorable Comisionado de Patentes y Marcas de Fábrica: Por favor registre los documentos originales adjuntos o su copia.

1.Nombre de las partes cedentes: | 2 Nombre y Dirección de la(s) parte(s) que reciben.

1) GERALD LEWIS KAPLAN |Nombre: HOFFMANN-LA ROCHE INC.

2) ACHYUTHARAO SIDDURI |Dirección Interna:

3) JEFFERSON WRIGHT TILLEY

Hay nombres de cedentes adicionales adjuntos? ____ Sí X ____ No

3. Naturaleza del traspaso:-

☒ Cesión ____ Fusión Dirección Postal: 340 KINGSLAND STREET

____ Convenio de Seguridad Cambio de Nombre ____

____ Otro Ciudad: NUTLEY Estado N.J Zona Postal: 07110

Fecha de Otorgamiento del Traspaso: Diciembre 6 de 1999

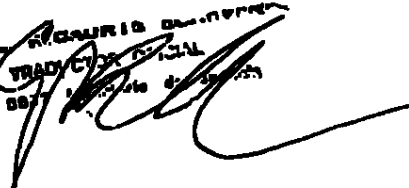
Hay nombres y direcciones de cedentes adicionales adjuntos __ Sí X No

4. Número(s) solicitud(es) o patente(s):

Si este documento se presenta junto con una nueva solicitud; la fecha de ejecución de la solicitud es:

A. Solicitud(es) de patente No.(s)

B. Patente(s) No.(s)

COPIA RECIBIDA DEL COMISIONADO DE PATENTES Y MARCAS DE FÁBRICA
TRADUCCIÓN FIDEL
El 08/12/99


258
253

SOLICITUD PROVISIONAL E.U. SER. NO.: 60/169.090

PRESENTADA: DICIEMBRE 6 DE 1999

Hay números adicionales adjuntos? ☐ Si ☒ No

01/13/2000 JSHABAZZ 00000158 082525 60169090

01 FC:581

40.00 CH

PATENTE

CARRETEL: 010482 CUADRO: 0824

Página 2 de 2

5. Nombre y dirección de la parte a la cual debe remitirse la correspondencia relativa al documento:

Nombre: GEORGE W. JOHNSTON

Dirección Interna: HOFFMANN-LA ROCHE INC.

PATENT LAW DEPARTMENT

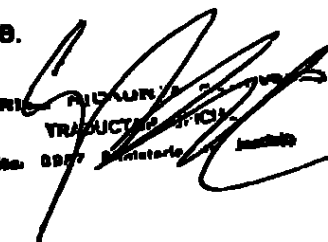
Dirección Postal: 340 KINGSLAND STREET

Ciudad: NUTLEY Estado: N.J. Zip (Zona Postal) 07110

6. Número total de solicitudes implicadas: UNA

7. Valor total derechos (37 CFR 3.41): US\$40.00

[x] Se autoriza cargarlos a la Cuenta Corriente.


GEORGE W. JOHNSTON
TRANSLATED FROM
Doc. 0824 Secretario de Estado

254

8. Cuenta Corriente Número 08-2525

NO USE ESTE ESPACIO

9. **Declaración y firma:**

Según mi leal saber y entender, la información anterior es verdadera y correcta y lo adjunto es una copia fiel del documento original.

JOSEPH P. KIRK, JR. (Firma ilegible) DICIEMBRE 16 DE 1999

Nombre de la persona que firma	Firma	Fecha
--------------------------------	-------	-------

CONTACTO: Lou Ann Donatoni

Telefono: (073) 235.4380

Telefono: (070) 200-4000

Fax: (973) 235-2363

Número total de páginas incluyendo la hoja de cubierta, anexos y documento:[4]

CARRETEL: 010482 CUADRO: 0825

Caso Minuta No. 1102P

POR CUANTO NOSOTROS.

(Cedentas), hemos inventado algunas mejoras nuevas y útiles que están descritas y reivindicadas en solicitud de Patente de los Estados Unidos e identificadas como Caso Minuta No. 1102P, denominada

POR CUANTO, HOFFMANN-LA ROCHE INC., una sociedad organizada y existente bajo y en virtud de las leyes del Estado de Nueva Jersey, que tiene su domicilio principal en Nutley, Nueva Jersey, desea adquirir el interés total en y por dicho invento y por la solicitud mencionada y la Patente que se obtenga por ello;

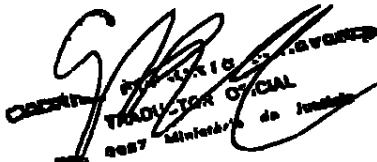
AHORA, EN CONSECUENCIA, por la suma de Un Dólar y otra remuneración buena y valiosa que nos ha sido pagada, que por el presente declaramos recibida y suficiente, hemos vendido, traspasado y cedido a la mencionada HOFFMANN-LA ROCHE INC. (Cesionario) y a los representantes legales, y sucesores de dicho Cesionario la totalidad del derecho, título y participación, para todo el mundo, en y por dicho invento y

COUNTY CLERK'S OFFICE
JANUARY 1, 1964
OFFICIAL
Clerk

261
256

solicitud, así como también cualquier solicitud posterior que reclame prioridad basada en la fecha de presentación citada identificada como Caso Minuta No. 1102P y las patentes que se obtengan o puedan lograrse tanto dentro como fuera del país por ello, incluyendo el derecho a reivindicación en cualesquier solicitudes o patentes posteriores en los Estados Unidos y en el extranjero, la fecha de prioridad de dicha solicitud según cualquier estatuto de los Estados Unidos y convención o tratado internacional, y por el presente autorizamos y solicitamos la expedición de dichas patentes, nacionales o extranjeras, de conformidad en los términos de este Convenio.

TENIENDO EN CUENTA LO ANTERIOR, por el presente convenimos y acordamos con dicho Cesionario que no otorgaremos ninguna escritura o efectuaremos ninguna clase de acción que interfiera con este documento, y que cuando se nos solicite en cualquier momento, sin ninguna remuneración adicional, pero a expensas del Cesionario citado, otorgaremos los traspasos, escrituras y otras actuaciones adicionales que el Cesionario considere necesarias o convenientes para perfeccionar el usufructo del Cesionario de este otorgamiento, y daremos toda la colaboración que sea necesaria para solicitar y obtener Patentes provisionales, originales, renovaciones, prórogas parciales, divisiones, reexpediciones, reconsideraciones o ampliaciones de ellas en los Estados Unidos o en cualquier país extranjero sobre dicho invento, y en hacer cumplir los derechos o derechos de acción que se surjan


SECRETARY OF STATE
TRANSLATOR OFFICIAL
U.S. DEPARTMENT OF STATE

252
257

como consecuencia de dichas solicitudes o patentes, incluyendo pero sin limitarse a dar testimonio en procesos o transacciones relacionadas con tales solicitudes o patentes, y efectuando declaraciones preliminares y otros testimonios, siendo entendido que el convenio y contrato anterior será de obligatorio cumplimiento y tendrá efecto en beneficio de los cesionarios y representantes legales de todas las partes que intervienen en el presente.

PATENTE

CARRETEL: 010482 CUADRO: 0826

EN TESTIMONIO DE ELLO, hemos puesto nuestras firmas y sellos en este documento a los 6 días de diciembre de 1999.

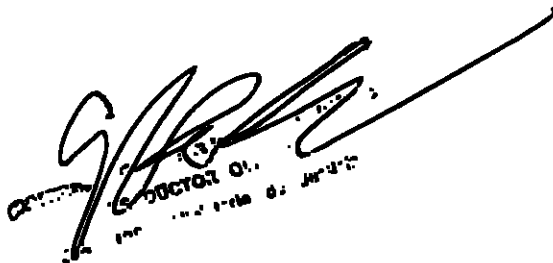
Nutley, Nueva Jersey, E.U.A.

Firmado: Gerald Lewis Kaplan

Firmado: Achyutharao Sidduri

Firmado: Jefferson Wright Tilley

=====



A handwritten signature, likely of Gerald Lewis Kaplan, is written over a circular notary seal. The seal contains the text "NOTARY PUBLIC" and "STATE OF NEW JERSEY".

263
258

RECONOCIMIENTO

Estados Unidos de América)

Estado de Nueva Jersey)

Condado de Essex)

En diciembre 6 de 1999, comparecieron personalmente ante mí

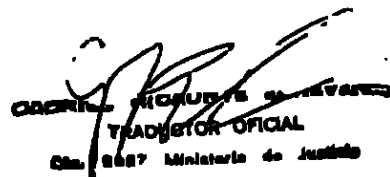
Gerald Lewis Kaplan, Achyutharao Sidduri y Jefferson Wright Ttilley

A quienes conozco y me consta que son las personas descritas en el Traspaso anterior, los cuales declararon que otorgaron el Traspaso anterior libre y voluntariamente para los objetivos allí especificados.

Firmado: Nellie A. Danzi

Sello de caucho: NELLIE A. DANZI –Notario Público de Nueva Jersey – Mi Comisión Expira en Julio 22 de 2000.

91615


NOTARIO PÚBLICO DE NUEVA JERSEY
TRADUCTOR OFICIAL
Cm. 2687 Ministerio de Justicia

REGISTRADO: 12/20/1999

PATENTE

CARRETEL: 010482 CUADRO: 08027

=====

264
259

Es traducción fiel y completa, de la cual queda copia en el archivo de esta
Oficina de Traducciones para su confrontación, a la cual me remito.

El documento fue legalizado en la oficina de Legalizaciones del Ministerio de
Relaciones Exteriores bajo el número 472011 de noviembre 16 de 2000.

Derechos de Traducción: \$82.000

Bogotá, D.C., 17 de noviembre de 2000

G. Kicanto
COSEMI NIGUIN E. S. A.
TRADUCTOR OFICIAL
8887 Ministerio de Justicia

=====

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES
14904
G. Kicanto
ESTA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS.

COLEGIO DE ABOGADOS
RESPONSABLE DEL TEXTO
16 NOV 21 1999
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTÁ D.C.



**CONSULADO DE COLOMBIA
WASHINGTON, D.C.**



265
260

No. 2011

**EL CONSULADO DE COLOMBIA
CERTIFICA:**

Que es auténtica la firma de JACQUELINE PRIDGEN.
quien el día 4 DE AGOSTO DEL 2000
desempeñaba las funciones de OFICIAL DE AUTENTICACIONES DEPARTAMENTO DE ESTADO.
la cual aparece al pie de los documentos anexos relacionados con CERTIFICADO.

Dado en Washington, D.C. a los OCHO (8) días del mes de AGOSTO. del año dos mil (2000)

Pagado Impuesto de Timbre 7 =
Pagado Derecho Consular 15 =
Total 22 =

(El Consulado no asume ninguna
responsabilidad por el contenido de los
documentos anexos)

[Handwritten Signature]
JAQUELINE ESPITIA ARIAS
Vicecónsul

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

472011
Jorge Elmer Espinoza
Cuya firma aparece en el
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

INDICASE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2009 NOV 16 A 10:10

M. P. 49
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTÁ D.C.



DEPARTMENT OF STATE

To all to whom these presents shall come



I Certify That the document hereunto annexed is under the Seal of the Patent and Trademark Office, Department of Commerce, United States of America, and that such Seal is entitled to full faith and credit.*

In testimony whereof, I, Madeleine K. Albright, Secretary of State, have hereunto caused the seal of the Department of State to be affixed and my name subscribed by the Assistant Authentication Officer, of the said Department, at the city of Washington, in the District of Columbia, this fourth day of August, 2000.

Madeleine K. Albright
Secretary of State
By *Magdalena Rinder*
Assistant Authentication Officer,
Department of State

Issued pursuant to CDDTV, State of
Sept. 15, 1789, 1 Stat. 68-69; 22
USC 2657; 22 USC 2651a; 5 USC
301; 28 USC 1733 et. seq.; 8 USC
1443(f); RULE 44 Federal Rules of
Civil Procedure.

*For the contents of the annexed document, the Department assumes no responsibility.
This certificate is not valid if it is removed or altered in any way whatsoever

~~267~~
262



TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

August 01, 2000


P. R. GRANT
Certifying Officer

01-14-2000

12.20.9



101244502

RECORDATION FORM COVER SHEET

PATENTS ONLY

DEPARTMENT OF COMMERCE
Trademark Office

RECEIVED
DEC 20 10 41
SPR/FINANCE

Case Docket No. 1102P

To the Honorable Commissioner of Patents and Trademarks: Please record the attached original documents or copy thereof.

1. Name of conveying party(ies):

- 1) GERALD LEWIS KAPLAN
- 2) ACHYUTHARAO SIDDURI
- 3) JEFFERSON WRIGHT TILLEY

2. Name and address of receiving party(ies):

Name: HOFFMANN-LA ROCHE INC.

Internal Address: _____

Additional name(s) of conveying

party(ies) attached? ☐ Yes ☒ No

3. Nature of conveyance:

- ☒ Assignment ☐ Merger
- ☐ Security Agreement ☐ Change of Name
- ☐ Other _____

Street Address: 340 KINGSLAND STREET

City: MURLEY State: NJ Zip: 07110

Execution Date: DECEMBER 6, 1999

Additional name(s) & address(es) attached:
☐ Yes ☒ No

4. Application number(s) or patent number(s):

If this document is being filed together with a new application, the execution date of the application is:

A. Patent Application No. (s)

B. Patent No. (s)

U.S. PROVISIONAL APPL. SER. NO.: 60/169,090, FILED: DECEMBER 6, 1999

Additional numbers attached? ☐ Yes ☒ No

01/11/2000 15:00:00 000015 000000 60169090

01 FC:381

40.00 CH

PATENT
REEL: 010482 FRAME: 0824

264
264

Page 2 of 2

5. Name and address of party to whom correspondence concerning document should be mailed:

Name: GEORGE W. JOHNSTON

Internal Address:

ROFFMAN-LA ROCHE INC.

PATENT LAW DEPARTMENT

Street address: 340 KINGSLAND STREET

City: NOTLEY State: NJ Zip: 07110

6. Total number of applications and patents involved: ONE

7. Total fee (37 CFR 3.41).....\$ 40.00

☒ Authorized to be charged to deposit account

☒ Authorized any deficiencies to be charged to deposit account

8. Deposit account number:

08-2525

DO NOT USE THIS SPACE

9. Statement and signature.

To the best of my knowledge and belief, the foregoing information is true and correct and any attached copy is a true copy of the original document.

JOSEPH P. KIRK, JR.
Name of Person Signing

[Signature]
Signature

DECEMBER 16, 1999
Date

CONTACT: Lou Ann Donatoni
TELEPHONE: (973) 235-4389
FAX: (973) 235-2363

Total number of pages including cover sheet, attachments and document: 4

64789

PATENT
REEL: 010482 FRAME: 0825

JOINT INVENTION

Case Docket No. 1102P

ASSIGNMENT

WHEREAS, WE,

Gerald Lewis Kaplan, Achyutharao Sidduri and Jefferson Wright Tilley

(Assignors) have invented certain new and useful improvements which are described and claimed in application for United States Patent and identified as Case Docket No. 1102P, entitled

4-PYRIDINYL-N-ACYL-L-PHENYLALANINES

WHEREAS, HOFFMANN-LA ROCHE INC., a corporation organized and existing under and by virtue of the laws of the State of New Jersey, and having its principal place of business at Nutley, New Jersey, is desirous of acquiring the entire interest in and to said invention, said application and the Patent to be obtained therefor,

NOW, THEREFORE, for and in consideration of One Dollar (\$1.00) and other good and valuable consideration to us in hand paid, the receipt and sufficiency whereof are hereby acknowledged, we have sold, assigned, and set over, and by these presents do hereby sell, assign, and set over unto the said HOFFMANN-LA ROCHE INC. (Assignee), and said Assignee's legal representatives, successors, the entire right, title and interest, for the whole world, in and to said invention and said application, as well as any subsequent application which claims priority based upon the filing date of said application identified as Case Docket No. 1102P and the patents, both domestic and foreign, that may or shall result therefrom including the right to claim in respect of any subsequent United States and foreign patent applications and patents, the priority date of said application under any United States statute and international convention or treaty; and we do hereby authorize and request the issuance of said patents, domestic and foreign, conformably to the terms of this Agreement.

UPON SAID CONSIDERATION, we do hereby covenant and agree with the said Assignee that we will not execute any writing or do any act whatsoever conflicting with these presents, and that we will at any time upon request, without further or additional consideration, but at the expense of the said Assignee, execute such additional assignments and other writings and do such additional acts as said Assignee may deem necessary or desirable to perfect the Assignee's enjoyment of this grant, and render all necessary assistance in making application for and obtaining provisional, original, continuation, continuation-in-part, divisional, reissued, re-examined or extended Patent of the United States or of any and all foreign countries on said invention, and in enforcing any rights or choses in action accruing as a result of such applications or patents, including but not limited to, giving testimony in any proceedings or transactions involving such applications or patents, and executing preliminary statements and other affidavits, it being understood that the foregoing covenant and agreement shall bind and inure to the benefit of the assigns and legal representatives of all parties hereto.

PATENT

(REEL: 010482 FRAME: 0826)

281
266

IN WITNESS WHEREOF, we have hereunto set our hands and affixed our seals this 6th day of December, 1999.

Nutley, New Jersey, U.S.A.


Gerald Lewis Kaplan
Gerald Lewis Kaplan

Achyutharao Sidduri
Achyutharao Sidduri

Jefferson Wright Tilley
Jefferson Wright Tilley

ACKNOWLEDGMENT

United States of America)
State of New Jersey)
County of Essex)

On December 6, 1999, before me personally appeared

Gerald Lewis Kaplan, Achyutharao Sidduri and Jefferson Wright Tilley

to me known to be the persons described in the foregoing Assignment, who acknowledged that they executed the foregoing Assignment of their own free will for the purposes therein set forth.

Nellie A. Danzi

NELLIE A. DANZI
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires July 22, 2000

91615

TRADUCCION OFICIAL NO. 8158

DE UN DOCUMENTO ESCRITO EN INGLES.



COLOMBIA

Caso Minuta No. 1102P

Caso 20515

TRASPASO

HOFFMAN-LA ROCHE INC. ("CEDENTE"), una sociedad constituida en el Estado de Nueva Jersey, Estados Unidos de América, la cual tiene su domicilio principal en Nutley, Nueva Jersey, Estados Unidos de América, traspasa a:

F.HOFFMANN-LA ROCHE AG ("CESIONARIO")

124 Grenzacherstrasse, CH-4070, Basilea, Suiza

todo su derecho, título y participación para todos los países del mundo, excepto los Estados Unidos de América y sus territorios y posesiones, en y por el invento descrito y sobre el cual se hizo solicitud de Patente de los Estados Unidos, Minuta del Caso No. 1102P presentada en Diciembre 6 de 1999 denominado:

4 PIRIDINIL-N-ACIL-L-FELILALANINAS

por Gerald Lewis Kaplan, Achyutharao Sidduri y Jefferson Wright Tilley

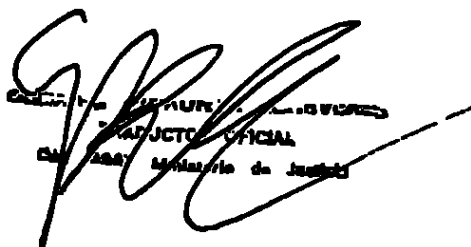
así como también por las solicitudes posteriores en todos los países del mundo, excepto los Estados Unidos de América y sus territorios y posesiones, cuyas solicitudes posteriores reivindica esta solicitud, Caso Minuta No. 1102P, como prioridad; y respecto a este invento y a todas las solicitudes de patente, dentro y

fuera del país, sobre el invento mencionado, Gerald Lewis Kaplan, Achyutharao Sidduri y Jefferson Wright Tilley presentaron un traspaso de todo derecho, título y participación sobre ello, para todo el mundo, a favor del cedente en Diciembre 6 de 1999.

El presente traspaso es para los países que se relacionan a continuación, pero no está limitado a ellos, y se efectúa a cambio de una remuneración buena y valiosa, que por el presente se declara recibida y suficiente.

Argentina, Australia, Austria, Bélgica, Brasil, Canadá, Chile, la República Checa, Dinamarca, Finlandia, Francia, Alemania, Grecia, Hungría, Irlanda, Israel, Italia, Japón, Kazakstán, Corea, Luxemburgo, México, Mónaco, Países Bajos, Nueva Zelanda, Noruega, Paquistán, la República Popular China, Filipinas, Polonia, Portugal, Rusia, Arabia Saudita, Africa del Sur, España, Suecia, Suiza, Taiwán, Reino Unido de la Gran Bretaña e Irlanda del Norte, Ucrania, Uruguay y Venezuela

El Cedente traspasa expresamente al Cesionario el derecho a presentar solicitudes de patente en todos los países del mundo excepto los Estados Unidos de América y a reclamar la fecha de prioridad de acuerdo con los tratados o convenciones internacionales de cualquiera de las solicitudes de patente de los Estados Unidos traspasadas por el Cedente en este Traspaso. El Cedente acuerda otorgar los traspasos y documentos adicionales y efectuar todas las


PRODUCTO OFICIAL
Ministerio de Justicia

279
269

gestiones adicionales que sean necesarias que permitan al Cesionario usufructuar plenamente los derechos otorgados en el presente traspaso.

HOFFMAN-LA-ROCHE INC.

Por (Firmado) George W. Johnston

George W. Johnston

Vicepresidente

Nutley, Nueva Jersey, E.U.A

Fecha: Diciembre 16 de 2000

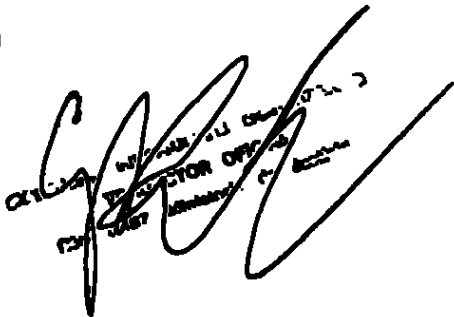
=====

RECONOCIMIENTO

Estados Unidos de América)

Estado de Nueva Jersey)

Condado de Essex)



A handwritten signature, likely of George W. Johnston, is written over a circular notary seal. The seal contains the text "NOTARY PUBLIC" and "STATE OF NEW JERSEY".

En Diciembre 16 de 1999, compareció personalmente ante mí George W. Johnston, a quien conozco personalmente y me consta que es la persona descrita en el traspaso anterior, y declaró que otorgó el Traspaso anterior a favor de Hoffmann-La-Roche Inc. y que está autorizada para firmar el Traspaso anterior y para transferir los derechos otorgados en él.

Firmado: Lou Ann Donatoni

275
270

Sello de caucho: LOU ANN DONATONI - Notario Público de Nueva Jersey - Mi

Comisión Expira en Marzo 28 de 2003

Sello en relieve: LOU ANN DONATONI -Notario Público -Nueva Jersey-

=====

DECLARACION

El CEDENTE arriba mencionado declara que por intermedio de los abogados del Cedente, el Departamento de Patentes y Marcas de Fábrica de los E. U. me ha informado que esa oficina le ha dado el Número de Serie 60/169,090 y que la fecha de presentación de la solicitud de patente de los Estados Unidos, Diciembre 8 de 1999, se menciona como Caso Minuta No 1102P en el Traspaso anterior.

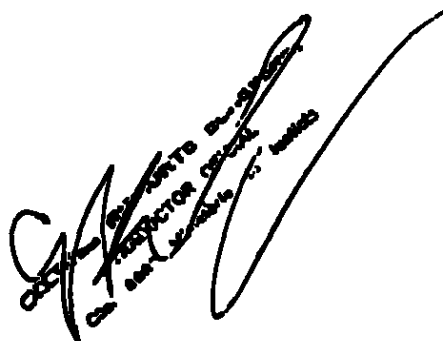
El CEDENTE declara además que en diciembre 16 de 1999 su representante otorgó el traspaso anterior y que en esa fecha el Cedente traspasó a F. Hoffmann-La Roche AG el derecho a reclamar la fecha de prioridad en la arriba mencionada solicitud de patente de los Estados Unidos en lo relativo a las solicitudes y patentes correspondientes que se presenten en el futuro.

HOFFMANN-LA-ROCHE INC.

Por (Firmado) George W. Johnsto

Vicepresidente

Nutley, Nueva Jersey, E.U.A.



Stamp: GEORGE W. JOHNSTO, VICE PRESIDENT, HOFFMANN-LA-ROCHE INC., NUTLEY, N.J. 07110

276
271

Fecha: Diciembre 16 de 1999

RECONOCIMIENTO

Estados Unidos de América)

Estado de Nueva Jersey)

Condado de Essex)

En Diciembre 16 de 1999, ante mí compareció personalmente George W. Johnson, a quien conozco personalmente y me consta que es la persona descrita en el Traspaso anterior, y declaró que otorgó el Traspaso anterior en nombre de Hoffmann-La Roche Inc. y que está autorizado para otorgar el Traspaso anterior y para transferir los derechos otorgados en él.

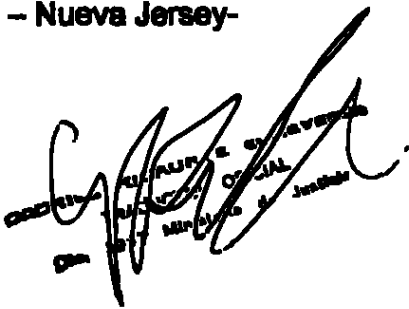
Firmado: Lou Ann Donatoni

Sello de caucho: LOU ANN DONATONI - Notario Público de Nueva Jersey - Mi Comisión Expira en Marzo 26 de 2003

Sello en relieve: LOU ANN DONATONI – Notario Público – Nueva Jersey-

CONDADO DE PASSAIC }

ESTADO DE NUEVA JERSEY }



A handwritten signature in black ink is written over a circular notary seal. The seal contains the text "NOTARY PUBLIC STATE OF NEW JERSEY" and "COMMISSION EXPIRES MARCH 26, 2003".

Yo, Ronni D. Nochimson, Oficial dee Registro, por el presente certifico que

LOU ANN DONATONI

237
272

Ante quien fue tomado el testimonio adjunto, era en el momento de hacerlo

NOTARIO PÚBLICO DE NUEVA JERSEY

en y para el Condado mencionado, residente en dicho Condado, debidamente comisionado y juramentado y autorizado por las leyes del Estado mencionado para tomar reconocimientos y pruebas de escrituras o traspasos de dominio de terrenos, viviendas y lo que pueda heredarse en el mencionado Estado de Nueva Jersey y también autorizado par tomar testimonios y administrar juramentos y que conozco bien la escritura manuscrita de la mencionada LOU ANN DONATONI y verdaderamente creo que la firma puesta en el certificado notarial de dicho testimonio es auténtica. (La ley no exige que la impresión del sello de la persona mencionada que tomó dichos testimonios esté registrada en este despacho.

EN TESTIMONIO DE ELLO, he puesto mi firma y estampado el sello del Tribunal y Condado mencionado, en Paterson, el día 4 de agosto de 2000.

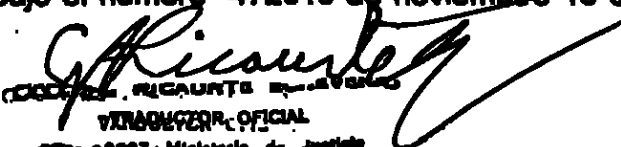
Ronni D. Nochimson Escribano

(Firmado): Ronni D. Nochimson

Es traducción fiel y completa, de la cual queda copia en el archivo de esta Oficina de Traducciones para su confrontación, a la cual me remito.

El documento fue legalizado en la oficina de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores de Colombia bajo el número 472010 de noviembre 16 de 2000.

Derechos de traducción: \$48.000


G. RICAURTE
TRADUCTOR OFICIAL
C.C. 48897 - Ministerio de Justicia
Bogotá, D.C. 17 de noviembre de 2000

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

474905
Edrid Ricarte
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO DESEMPEÑA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE Asume
RESPONSABILIDAD DEL FECHO

2000 NOV 21 *AMS*

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA C



CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

10 EAST 46TH STREET, NUEVA YORK, NY 10017

TEL. (212) 370-0004 FAX (212) 972-1725

f. Hoffmann
caso 20315
278
273

AUG 11 2000

EL SUSCRITO CONSUL DE COLOMBIA

VISTOS LOS DOCUMENTOS PRESENTADOS POR LOS INTERESADOS

CERTIFICA:

Que el (la) Sr.(a) **RONNI D. NOCHIMSON**, Clerk del Condado de **PASSAIC**, Estado de New Jersey, Estados Unidos de América, certifica que **LOU ANN DONATONI**. Es notario público del Estado de New Jersey y que ejercía en la fecha las funciones allí expresadas y que la firma y sellos que en el documento aparecen como suyos son los que usa y acostumbra en sus actos oficiales.

Que el notario citado autenticó el documento adjunto firmado por **GEORGE W. JOHNSTON**, quien actúa en calidad de Vicepresidente de **HOFFMANN-LA ROCHE INC.** Compañías que esta legalmente constituida y existente de acuerdo con las leyes de **ESTADOS UNIDOS DE AMERICA**.

Que ha tenido a la vista los documentos probatorios de los hechos citados y constatados por el notario público y el County Clerk de New Jersey, los cuales forman parte integral del presente documento.

Se expide esta certificación en concordancia con el artículo 259 del Código de Procedimiento Civil y 480 del Código de Comercio a solicitud del interesado a los 11 días del mes de Agosto de 2000

NO SE ASUME RESPONSABILIDAD POR EL CONTENIDO DE LOS DOCUMENTOS ADJUNTOS.

PAGADO IMPUESTO DE TIMBRE Y DERECHOS CONSULARES

VALOR CINCUENTA Y SIETE DOLARES US\$57.00 RECIBO No.

251146/2



Jose David Nunez C.
Cónsul de Colombia

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

472010
Doris Rome
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO QUE SE MUESTRA
LAS FUNCIONES INDICADAS

POSESIONES
CON LA CUAL SE CUMPLE EL TEXTO

2000 NOV 16 14:19:00

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.



ASSIGNMENT

HOFFMANN-LA ROCHE INC. (Assignor), a corporation of the State of New Jersey, United States of America, having its principal place of business at Nutley, New Jersey, United States of America, hereby assigns to

F.HOFFMANN-LA ROCHE AG (Assignee)
124 Grenzacherstrasse, CH-4070 Basle, Switzerland

all of its right, title and interest for all countries of the world except the United States of America and its territories and possessions, in and to the invention described and claimed in an application for United States Patent, Case Docket No.1102P, filed on December 6, 1999, entitled

4-PYRIDINYL-N-ACYL-L-PHENYLALANINES

by Gerald Lewis Kaplan, Achyutharao Sidduri and Jefferson Wright Tilley

as well as in any subsequent application(s) in all countries of the world, except the United States of America and its territories and possessions, which subsequent application(s) claims this application, Case Docket No. 1102P, as priority; and in respect of which invention and all such patent applications, domestic and foreign, on said invention, an assignment of all right, title and interest therein, for the whole world, in favor of Assignor was executed on December 6, 1999 by Gerald Lewis Kaplan, Achyutharao Sidduri and Jefferson Wright Tilley.

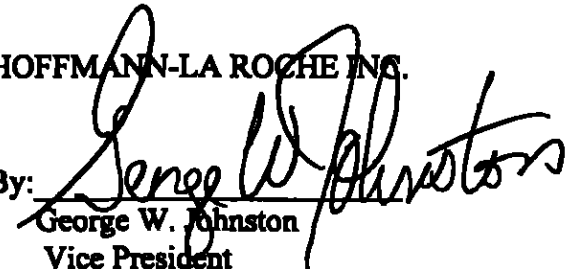
The present assignment is for, but is not limited to, the following countries and is for good and valuable consideration, the receipt and sufficiency of which is hereby acknowledged:

Argentina, Australia, Austria, Belgium, Brazil, Canada, Chile, Czech Republic, Denmark, Finland, France, Germany, Greece, Hungary, Ireland, Israel, Italy, Japan, Kazakhstan, Korea, Luxembourg, Mexico, Monaco, Netherlands, New Zealand, Norway, Pakistan, People's Republic of China, Philippines, Poland, Portugal, Russia, Saudi Arabia, South Africa, Spain, Sweden, Switzerland, Taiwan, United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland, Ukraine, Uruguay, Venezuela.

Assignor expressly assigns to Assignee the right to file corresponding patent applications in all countries of the world except the United States of America and to claim the priority date under any international treaty or convention of any of the above U.S. patent application(s) assigned by Assignor in this present Assignment. Assignor agrees to execute any additional assignments and writings as well as to perform any additional acts necessary to enable Assignee to enjoy the full rights of the present Assignment.

Nutley, New Jersey, U.S.A.
Date: December 16, 1999

HOFFMANN-LA ROCHE INC.

By: 
George W. Johnston
Vice President



275 200

COUNTY OF PASSAIC,
STATE OF NEW JERSEY,

I, Ronni D. Nochinson, County Clerk, do hereby certify that

Ronni D. Nochinson

before whom the annexed affidavit purports to be taken was at the time of taking the same

NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY

in and for said County, dwelling in said County, duly commissioned and sworn and authorized by the laws of said State to take the acknowledgements and proofs of deeds or conveyances for lands, tenements or hereditaments in said State of New Jersey and also authorized to take affidavits and to administer oaths and that I am well acquainted with the handwriting of the said

Ronni D. Nochinson

and verily believe that the signatures to the joint of said affidavit is genuine, (the impression of the seal of said person who took said affidavits, is not required by law to be filed in this office).

IN TESTIMONY WHEREOF, I have hereunto set my hand and affixed the seal of the said Courts and County, at
Paterson, this day of

AUG - 4 2000

Ronni D. Nochinson, CLERK

By

Ronni D. Nochinson

ACKNOWLEDGMENT

224
276

United States of America)
State of New Jersey)
County of Essex)

On December 16, 1999, before me personally appeared George W. Johnston to me known to be the person described in the foregoing Assignment, who acknowledged that (s)he executed the foregoing Assignment on behalf of Hoffmann-La Roche Inc., and that (s)he is empowered to execute the foregoing Assignment and to convey the rights granted thereunder.



Lou Ann Donatoni

LOU ANN DONATONI
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires March 26, 2003

STATEMENT

The aforementioned Assignor states that through Assignor's attorneys, the U.S. Patent and Trademark Office has informed me that that Office has given Serial Number 60/169,090 and filing date of December 6, 1999 to the United States patent application referred to as Case Docket No. 1102P in the foregoing Assignment.

Assignor further states that on December 16, 1999, its representative executed the foregoing Assignment and on that date Assignor did assign to F.Hoffmann-La Roche AG the right to claim the priority date of the above-mentioned U.S. patent application in respect of any subsequent corresponding foreign application and patents.

HOFFMANN-LA ROCHE INC.

By:

George W. Johnston
George W. Johnston
Vice President

Nutley, New Jersey, U.S.A.
Date: December 16, 1999

ACKNOWLEDGMENT

United States of America)
State of New Jersey)
County of Essex)

On December 16, 1999, before me personally appeared George W. Johnston, to me known to be the person described in the foregoing Assignment, who acknowledged that (s)he executed the foregoing Assignment on behalf of Hoffmann-La Roche Inc., and that (s)he is empowered to execute the foregoing Assignment and to convey the rights granted thereunder.

Lou Ann Donatoni

LOU ANN DONATONI
Notary Public of New Jersey
My Commission Expires March 26, 2003

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

297

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente (1) ☒
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud ☒
- Descripción de la invención (2) ☒
- Dibujos de ser estos pertinentes ☒
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas (2) ☒

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☒

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial. ☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. ☐
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño. ☐
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de trazado. ☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. ☐
- Representación gráfica del esquema de trazado ☐
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

Firma Responsable

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO
 Radicación: 20122490
 Fecha (REC): 2012-12-05 16:25:19
 Folios: 201
 Estado: 002 PATENTE 2 : REGISTRADA 411 PATENTE
 Dependencia: 202 DIVISION DE NEGOCIOS COMERCIALES

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
 Conmutador: 334 12 21-2-3-4
 Fax: 281 31 25 e-mail: info@sic.gov.co
 Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia



283

278

INFORME DE PROTOCOLO

Expediente 00-92690

Fecha: 13 de Marzo del 2001.

Se certifica que:

Desde fecha 22 de junio de 1994,
del folio 76.618 al folio 76.623 del
libro de Protocolo N° 259, obra el
documento N° 15.256 conferido por F.
HOFFMANN LA ROCHE A.G.

 domiciliado(a) en Basilea -
Suiza

 al doctor JOSE LLOREDA
CAMACHO y/o ALFONSO LLOREDA CAMACHO y/o JOSE
ANTONIO LLOREDA

 .
Representante en Santafé de Bogotá D.C. Los
mismos

Facultad para desistir SI.

Revisado .

2020
Bogotá DC

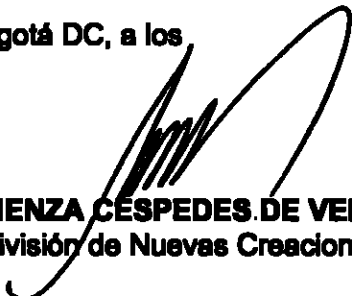
Doctor
JOSE ANTONIO LLOREDA
Representante

REFERENCIA:	Radicación No.	00-92690
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	416
	Oficio No.	0713
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la Oficina de Comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la misma Decisión.

Siendo manifestación expresa del interesado, la solicitud no será publicada antes de los 6 meses contados a partir de la fecha de presentación de la solicitud, esto es a partir del día 5 de Junio del 2001.

 **Cúmplase**
Dado en Bogotá DC, a los


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

Bogotá, DC, El extracto de esta solicitud fue publicado en el número
de la Gaceta de Propiedad Industrial, de fecha . El término hábil señalado por la
ley expiró el y SI ____ NO ____ se presentaron observaciones por parte de terceros.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: info@slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia