



REPÚBLICA DE COLOMBIA



SUPERINTENDENCIA
DE INDUSTRIA
Y COMERCIO



00 67158

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación 00067158 00000000

Folios 05

Fecha (MM) 2000-09-06 15 57 59

Trámite 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

1 +

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social

SMITHKLINE BEECHAM CORPORATION

No de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica) GERMAN CASTILLO GRAU

País de Domicilio

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

Departamento o Estado

PENSILVANIA

Dirección

FILADELFIA

Ciudad

Teléfono

(74) DATOS DEL APODERADO PODER No 15 479

Nombre

GERMAN CASTILLO GRAU

Dirección y Domicilio

Carrera 13 No 37-43, Piso 12

Ciudad

Santafe de Bogota

Teléfono 2857460

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor(es)

Peter J MANLEY

William H MILLER

Irene N UZINSKAS

Identificación

Dirección

Harleysville, Pennsylvania Estados Unidos de America

Collegsville Pennsylvania PA-Villanova Pennsylvania E U A

Ciudad

Teléfono

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(4) Título de la Invención ANTAGONISTAS DE LOS RECEPTORES DE VITRONECTINA

PRIORIDAD REIVINDICADA SI ☒ NO ☐ TIPO DE PRIORIDAD ANDINA ☐ UNIONISTA ☐

(33) País E U A

(32) Fecha Septiembre 7, 1999

(31) No Solicitud 60/152 780 ✓

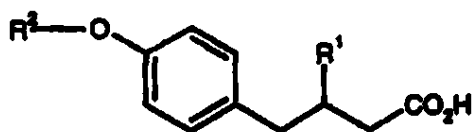
Para Publicar a los ☐ 6 meses ☐ 12 meses ☐ 18 meses a partir de la fecha de la presente solicitud

1) CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K 31/295, 31/295

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

Se describen compuestos de formula (I) que son antagonistas de los receptores de vitronectina y son utiles en el tratamiento de osteoporosis



(I)

en los que

R¹ es Het o A

R² es

ANEXOS DE LA SOLICITUD

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

Los poderes debidamente otorgados o mención de su protocolización ante la SIC ☒

Recibo de la tasa respectiva ☒

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

Si se reivindica prioridad Andina

Copias de la primera solicitud ☐

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 ☒

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 ☐

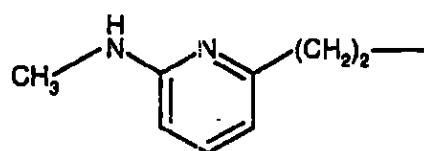
SOLICITO LA CONCESION DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA

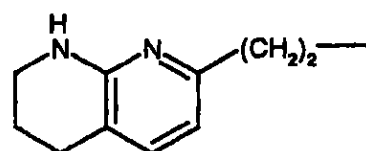
NOMBRE GERMAN CASTILLO GRAU

GC 17'017 671 Bta

TP No 2978



o



;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.



28

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion : 00067156 00000000 Folios: 85
Fecha (AMD): 2000-09-06 15:57:59
Tramite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC I
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : B00176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 54,982
FECHA : SEPTIEMBRE 5 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

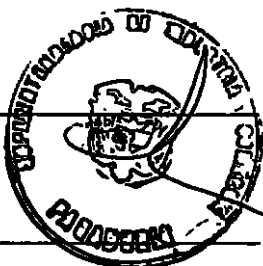
DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	No. PAGO	Gr. PAGO
CASTILLO GRAU Y ASOCIADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00110-6	2883184	1,824,000.00

***** 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.:

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5 y 10
Conmutador: 334 12 21
Fax: 281 31 25
Santa Fe de Bogotá, D.C., Colombia

TÍTULO

Antagonistas de los receptores de vitronectina

5

CAMPO DE LA INVENCION

Esta invención se refiere a compuestos farmacéuticamente activos que inhiben el receptor de vitronectina y son útiles para el tratamiento de inflamación, cáncer y trastornos cardiovasculares, tales como aterosclerosis y restenosis, y de enfermedades uno de cuyos factores es la resorción ósea, tales como osteoporosis.

10

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

Las integrinas son una superfamilia de receptores de adhesión celular, que son glicoproteínas transmembranales expresadas sobre una gama de células. Estos receptores de adhesión de superficie celular incluyen gpIIb/IIIa (el receptor de fibrinógeno) y $\alpha_v\beta_3$ (el receptor de vitronectina). El receptor de fibrinógeno gpIIb/IIIa se expresa sobre la superficie de las plaquetas, y media en la agregación plaquetaria y en la formación de un coágulo hemostático en el sitio de una herida sangrante. Philips y col., *Blood*, 1988, 71, 831. El receptor de vitronectina, $\alpha_v\beta_3$, se expresa sobre cierto número de células, entre ellas las células endoteliales, de los músculos lisos, osteoclastos y tumorales, así que tiene diversas funciones. El receptor $\alpha_v\beta_3$ expresado en la membrana de los osteoclastos media en la adhesión de los osteoclastos a la matriz ósea, una etapa fundamental en el proceso de resorción ósea. Ross y col., *J. Biol. Chem.*, 1987, 262, 7703. Una enfermedad caracterizada por una resorción ósea excesiva es la osteoporosis. El receptor $\alpha_v\beta_3$ expresado sobre células del músculo liso aórtico humano media en su migración a la neoíntima, un proceso que puede causar restenosis después de una angioplastia coronaria percutánea. Brown y col., *Cardiovascular Res.*, 1994, 28, 1815. Adicionalmente, Brooks y col., *Cell*, 1994, 79, 1157, ha indicado que un antagonista de $\alpha_v\beta_3$ tiene capacidad para estimular la regresión de un tumor al inducir apoptosis de los vasos sanguíneos angiogénicos. Así, los agentes que bloqueen el receptor de vitronectina serían útiles para tratar enfermedades, tales como osteoporosis, restenosis y cáncer.

Ahora se sabe que el receptor de vitronectina alude a tres integrinas diferentes, designadas $\alpha_v\beta_1$, $\alpha_v\beta_3$ y $\alpha_v\beta_5$. Horton y col., *Int. J. Exp. Pathol.*, 1990, 71, 741. $\alpha_v\beta_1$

fija fibronectina y vitronectina. $\alpha_v\beta_3$ fija una gran variedad de ligandos, entre ellos fibrina, fibrinógeno, laminina, trombospondina, vitronectina, factor de von Willebrand, osteopontina y sialoproteína ósea I. $\alpha_v\beta_5$ fija vitronectina. Se ha indicado que el receptor $\alpha_v\beta_5$ de vitronectina está involucrado en la adhesión celular de diversos tipos de células, entre ellas
5 las células endoteliales microvasculares, (Davis y col., *J. Cell. Biol.*, 1993, 51, 206), y se ha confirmado su papel en la angiogénesis. Brooks y col., *Science*, 1994, 264, 569. Esta integrina se expresa sobre los vasos sanguíneos en tejido de granulación de heridas humanas, pero no en piel sana.

Se sabe que el receptor de vitronectina se fija a proteínas de la matriz ósea que
10 contienen la secuencia tripeptídica Arg-Gly-Asp (o RGD). Así, Horton y col., *Exp. Cell Res.* 1991, 195, 368, describen que los péptidos que contienen RGD y un anticuerpo anti-receptor de vitronectina (23C6) inhiben la resorción de dentina y la diseminación celular por los osteoclastos. Además, Sato y col. *J. Cell Biol.* 1990, 11, 1713, describen que la equistatina, un péptido del veneno de serpiente que contiene la secuencia RGD, es un
15 potente inhibidor de la resorción ósea en histocultivos, e inhibe la unión de osteoclastos al hueso.

Ahora se ha descubierto que ciertos compuestos son potentes inhibidores de los receptores $\alpha_v\beta_3$ y $\alpha_v\beta_5$. En particular, se ha descubierto que tales compuestos son inhibidores más potentes del receptor de vitronectina que del receptor de fibrinógeno.

20

COMPENDIO DE LA INVENCION

Esta invención comprende compuestos de fórmula (I), según se describe aquí más adelante, que tienen actividad farmacológica para la inhibición del receptor de vitronectina y son útiles en el tratamiento de inflamación, cáncer y enfermedades cardiovasculares, tales
25 como aterosclerosis y restenosis, y de enfermedades uno de cuyos factores es la resorción ósea, tales como osteoporosis.

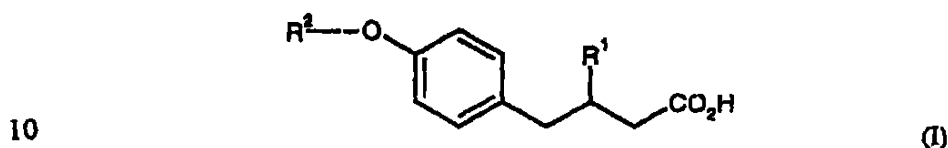
Esta invención es también una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la fórmula (I) y un vehículo farmacéutico.

Esta invención es también un método de tratamiento de enfermedades que están
30 mediadas por el receptor de vitronectina. En un aspecto particular, los compuestos de esta invención son útiles para tratar aterosclerosis, restenosis, inflamación, cáncer y enfermeda-

des uno de cuyos factores es la resorción ósea, tal como la osteoporosis.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Esta invención comprende nuevos compuestos que son inhibidores más potentes
5 del receptor de vitronectina que del receptor de fibrinógeno. Esta invención comprende
compuestos de fórmula (I):

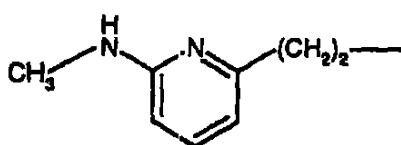


en los que:

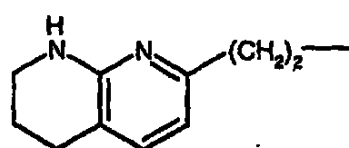
R^1 es Het- o Ar;

R^2 es

15



o



;

20

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

También se incluyen en esta invención las sales de adición y los complejos
farmacéuticamente aceptables de esta invención. En los casos en que los compuestos de esta
invención pueden tener uno o más centros quirales, salvo especificación en contrario esta
25 invención incluye cada compuesto no racémico único que pueda sintetizarse y resolverse por
técnicas convencionales. De acuerdo con la presente invención, se prefiere la configuración
(S) de los compuestos de fórmula (I).

En los casos en que los compuestos tienen dobles enlaces carbono-carbono
insaturados, ambos isómeros cis (Z) y trans (E) están dentro del alcance de esta invención.
30 En los casos en que los compuestos pueden existir en formas tautómeras, tales como los

tautómeros cetoenólicos, como  y , cada forma tautómera está

contemplada como incluida dentro de esta invención, ya sea existiendo en equilibrio o anclada en una forma por sustitución apropiada con R'.

Los compuestos de fórmula (I) inhiben la fijación de vitronectina y otros péptidos que contienen RGD al receptor de vitronectina. La inhibición del receptor de vitronectina sobre los osteoclastos inhibe la resorción ósea osteoclástica y es útil en el tratamiento de enfermedades en que la resorción ósea está asociada con la patología, tales como osteoporosis y osteoartritis.

En otro aspecto, esta invención es un método para estimular la formación de hueso, que comprende administrar un compuesto que causa un incremento en la liberación de osteocalcina. El incremento en la producción de hueso es un beneficio evidente en estados de enfermedad en que hay una deficiencia de masa ósea mineralizada o en que se desea una remodelación del hueso, tal como la curación de una fractura y la prevención de fracturas de huesos. Las enfermedades y los trastornos metabólicos que dan como resultado la pérdida de estructura ósea también se beneficiarían de este tratamiento. Por ejemplo, el hiperparatiroidismo, la enfermedad de Paget, la hipercalcemia maligna, las lesiones osteolíticas producidas por metástasis ósea, la pérdida de masa ósea causada por inmovilización o deficiencia de hormonas sexuales, la enfermedad de Behçet, la osteomalacia, la hiperostosis y la osteopetrosis podrían resultar beneficiadas por la administración de un compuesto de esta invención.

Adicionalmente, ya que los compuestos de la presente invención inhiben los receptores de vitronectina en cierto número de diferentes tipos de células, dichos compuestos serían útiles en el tratamiento de trastornos inflamatorios tales como artritis reumatoide y psoriasis, y enfermedades cardiovasculares tales como aterosclerosis y restenosis. Los compuestos de Fórmula (I) de la presente invención pueden ser útiles para el tratamiento o la prevención de otras enfermedades, entre ellas pero sin limitación a las mismas, trastornos tromboembólicos, asma, alergias, síndrome disneico del adulto, rechazo inverso de injertos, rechazo de trasplante de órganos, choque séptico, eczema, dermatitis de contacto, enfermedad intestinal inflamatoria y otras enfermedades autoinmunitarias. Los compuestos de la presente invención también pueden ser útiles para curar heridas.

Los compuestos de la presente invención son también útiles para el tratamiento, incluyéndose la prevención, de trastornos angiogénicos. La expresión trastornos angiogénicos, según se utiliza aquí, incluye condiciones que implican una neovascularización anormal.

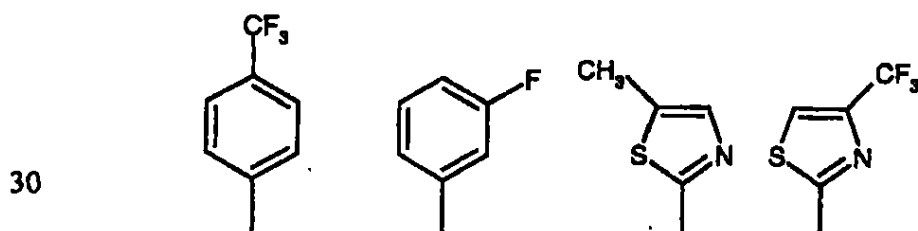
Cuando el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos es la causa de la patología asociada con una enfermedad, o contribuye a ella, la inhibición de angiogénesis reducirá los efectos deletéreos de la enfermedad. Un ejemplo de dicho objetivo de enfermedad es la retinopatía diabética. Cuando se requiere el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos para sustentar el crecimiento de un tejido deletéreo, la inhibición de angiogénesis reducirá el aporte de sangre al tejido y contribuirá por ello a disminuir la masa de tejido, basándose en la necesidad de aporte de sangre. Ciertos ejemplos incluyen el crecimiento de tumores en que la neovascularización es una necesidad continua para el crecimiento del tumor y para el establecimiento de metástasis de tumores sólidos. Así, los compuestos de la presente invención inhiben la angiogénesis de tejido tumoral, previniendo por ello la metástasis de un tumor y el crecimiento de un tumor.

De este modo, de acuerdo con los métodos de la presente invención, la inhibición de angiogénesis utilizando los compuestos de la presente invención puede aliviar los síntomas de la enfermedad y, en algunos casos, puede curar la enfermedad.

Otro objetivo terapéutico para los compuestos de la presente invención son las enfermedades oculares caracterizadas por neovascularización. Tales enfermedades oculares incluyen los trastornos neovasculares corneales, como el trasplante de córnea, la queratitis herpética, la queratitis sifilítica, el terigión y la queratitis vascular asociada con el uso de lentes de contacto. Otras enfermedades oculares incluyen también la degeneración macular asociada con la edad, la histoplasmosis ocular presunta, retinopatía de premadurez y glaucoma neovascular.

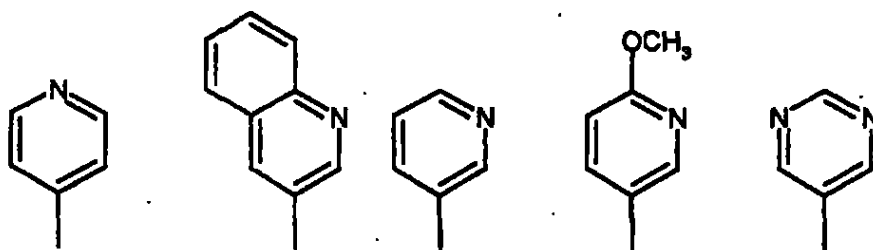
Esta invención proporciona además un método para inhibir crecimiento tumoral, que comprende administrar de modo sucesivo o en combinación física un compuesto de fórmula (I) y un agente antineoplásico, tal como topotecán y cisplatino.

Con respecto a la fórmula (I), adecuadamente R^1 es

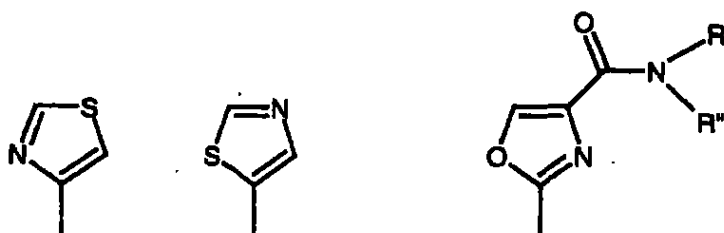


70

5



10

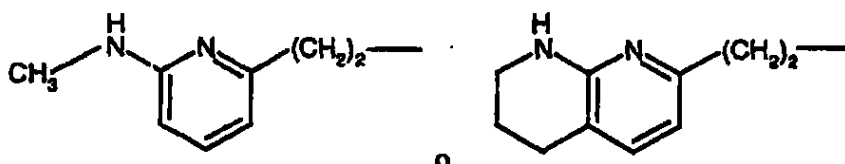


en que R' es alquilo C₁₋₄ y R'' es fenilo, bencilo o -CH₂CF₃; o R' y R'' están unidos para formar un anillo de morfolinilo.

15

Adecuadamente, R² es:

20



Ejemplos representativos de los nuevos compuestos de esta invención son los siguientes:

ácido (±)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-(trifluorometil)-fenil]butanoico;

25

ácido (±)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-[(N-metil-N-fenilamino)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]butanoico;

ácido (±)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-[(morfolin-4-il)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]butanoico;

30

ácido (±)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-[[N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)amino]carbonil]-1,3-oxazol-2-il]butanoico;

ácido (±)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-(trifluorometil)tiazol-2-il]butanoico;

ácido ($\pm$)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-(3-metiltiazol-2-il)butanoico;

ácido (S)-3-(3-fluorofenil)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]-fenil]butanoico;

5 ácido ($\pm$)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-etoxi]-fenil]-3-(piridin-3-il)-butanoico;

 ácido (S)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-etoxi]-fenil]-3-(piridin-3-il)-butanoico; y

 ácido (S)-3-(piridin-3-il)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]-
10 butanoico;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

En los casos en que los compuestos de esta invención pueden tener uno o más centros quirales, salvo especificación en contrario, esta invención incluye cada compuesto no racémico único, que puede sintetizarse y resolverse por técnicas convencionales.

15 En los casos en que los compuestos tienen dobles enlaces carbono-carbono insaturados, tanto los isómeros cis (Z) como trans (E) están dentro del alcance de esta invención. El significado de cualquier sustituyente en cualquier ocasión en que aparezca es independiente de su significado, o del significado de cualquier otro sustituyente, en cualquier otra ocasión.

20 También se incluyen en esta invención los profármacos de los compuestos de esta invención. Los profármacos son considerados como los vehículos unidos covalentemente que liberan *in vivo* el fármaco activo original de fórmula (I). Así, en otro aspecto de esta invención se incluyen nuevos profármacos de fórmula (II), que son también intermedios en la preparación de compuestos de fórmula (Ia).

25 En este documento se utilizan las abreviaturas y los símbolos utilizados corrientemente en el campo de los péptidos y los compuestos químicos para describir los compuestos de esta invención. En general, las abreviaturas de los aminoácidos siguen las normas de la IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature, descritas en *Eur. J. Biochem.*, 158, 9 (1984).

30 La expresión alquilo C₁₋₄ como se aplica aquí representa un grupo alquilo de 1 a 4 átomos de carbono, opcionalmente sustituido, e incluye metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo y t-butilo. Cualquier alquilo C₁₋₄ puede estar opcionalmente

sustituido con el grupo R^X , que puede estar en cualquier átomo de carbono que de como resultado una estructura estable y sea obtenible por técnicas convencionales de síntesis. Los grupos adecuados para R^X son alquilo C_{1-4} , OR^* , SR^* , alquil C_{1-4} -sulfonilo, alquil C_{1-4} -sulfoxilo, $-CN$, $N(R^*)_2$, $CH_2N(R^*)_2$, $-NO_2$, $-CF_3$, $-CON_2R^*$, $-CON(R^*)_2$, $-COR^*$,
5 $-SO_2N(R^*)_2$, $-NR^*C(O)R^*$, F , Cl , Br , I o $CF_3S(O)_r$, donde r es 0, 1 ó 2, y R^* es H , alquilo C_{1-4} , fenilo o bencilo.

Halógeno o halo representa F , Cl , Br y I .

Ar , o arilo, como se aplica en este documento, representa fenilo o naftilo, o fenilo o naftilo sustituido con uno a tres sustituyentes, tales como los definidos anteriormente para
10 alquilo, especialmente alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} , alquiltio C_{1-4} , CF_3 , NH_2 , OH , F , Cl , Br o I .

Het , o heterociclo, indica un anillo monocíclico de cinco o seis miembros opcionalmente sustituido, o un anillo bicíclico de nueve o diez miembros que contiene uno a tres heteroátomos elegidos del grupo formado por nitrógeno, oxígeno y azufre, que son
15 estables y obtenibles por síntesis químicas convencionales. Ejemplos de heterociclos son benzofurano, bencimidazol, benzopirano, benzotiofeno, benzotiazol, furano, imidazol, indolina, morfolina, piperidina, piperazina, pirrol, pirrolidina, tetrahidropiridina, piridina, tiazol, oxazol, tiofeno, quinolina, isoquinolina, y tetra- y perhidro-quinolina e isoquinolina. Dentro del alcance de esta invención está cualquier combinación asequible de hasta tres
20 sustituyentes en el anillo Het , tal como las que se han definido anteriormente para alquilo, que son obtenibles por síntesis química y son estables.

Ciertos grupos radicales se dan aquí en forma abreviada. $t-Bu$ se refiere al radical butilo terciario, Boc se refiere al radical t -butiloxicarbonilo, $Fmoc$ se refiere al radical fluorenilmetoxicarbonilo, Ph se refiere al radical fenilo, Cbz se refiere al radical benciloxicar-
25 bonilo, Bn se refiere al radical bencilo, Me se refiere a metilo, Et se refiere a etilo, Ac se refiere a acetilo, Alk se refiere a alquilo C_{1-4} , Nph se refiere a 1- ó 2-naftilo y $cHex$ se refiere a ciclohexilo. Tet se refiere a 5-tetrazolilo.

Ciertos reactivos se dan aquí en forma abreviada. DCC se refiere a diciclohexilcarbodiimida, $DMAP$ se refiere a dimetilaminopiridina, $DIEA$ se refiere a diisopropiletilamina,
30 EDC se refiere a hidrocloreuro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, $HOBT$ se refiere a 1-hidroxibenzotriazol, THF se refiere a tetrahidrofurano, $DIEA$ se refiere a diisopropiletilamina, $DEAD$ se refiere a azodicarboxilato de dietilo, PPh_3 se refiere a

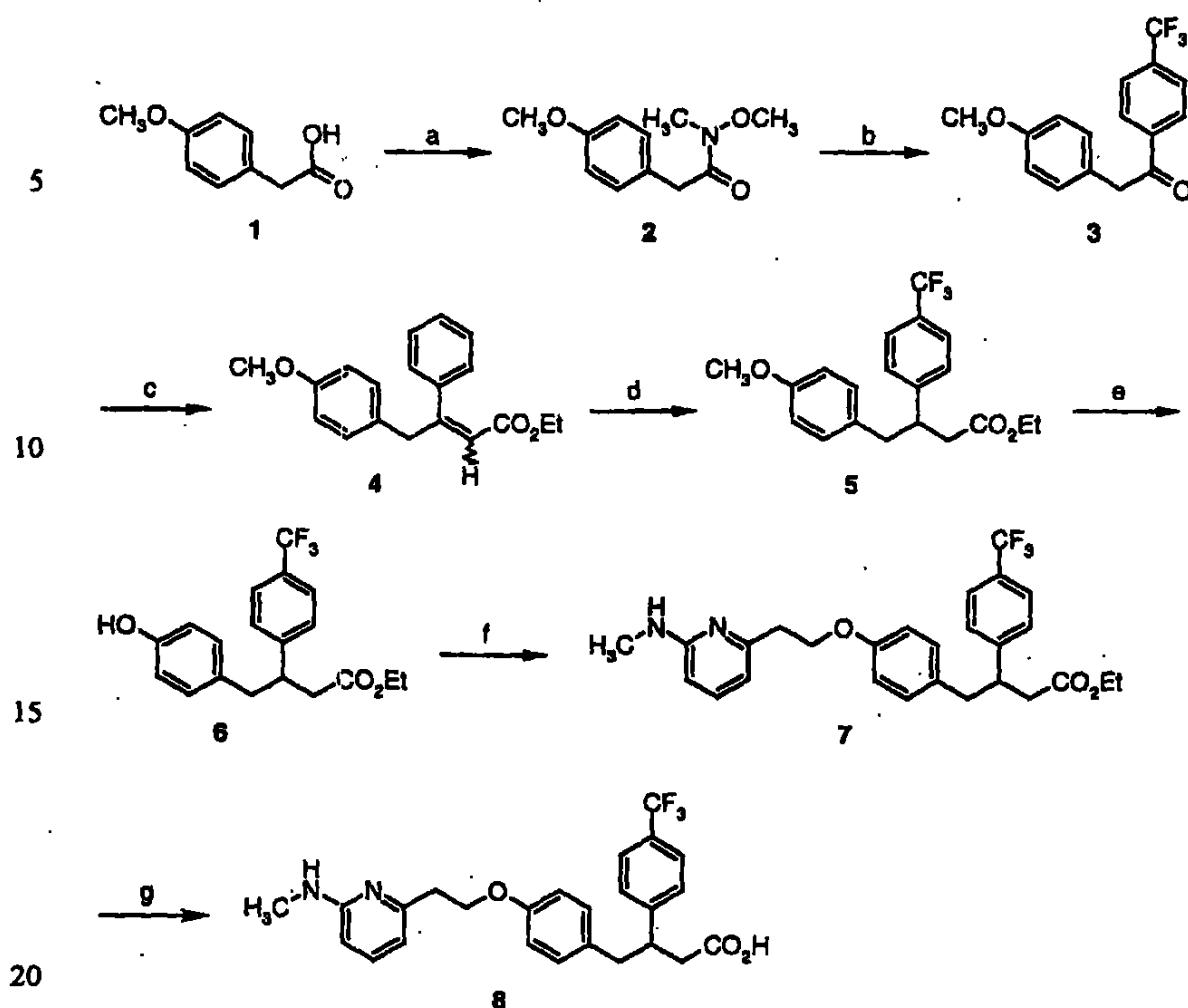
37

trifenilfosfina, DIAD se refiere a azodicarboxilato de diisopropilo, DME se refiere a dimetoxietano, DMF se refiere a dimetilformamida, NBS se refiere a N-bromosuccinimida, Pd/C se refiere a un catalizador de paladio sobre carbono, PPA se refiere a ácido polifosfórico, DPPA se refiere a difenilfosforilazida, BOP se refiere a hexafluorofosfato de
5 benzotriazol-1-iloxi-tris(dimetil-amino)forsonio, HF se refiere a ácido fluorhídrico, TEA se refiere a trietilamina, TFA se refiere a ácido trifluoroacético, PCC se refiere a clorocromato de piridinio.

Los compuestos de esta invención se preparan por los métodos generales descritos en los Esquemas I-VI.

14

Esquema I

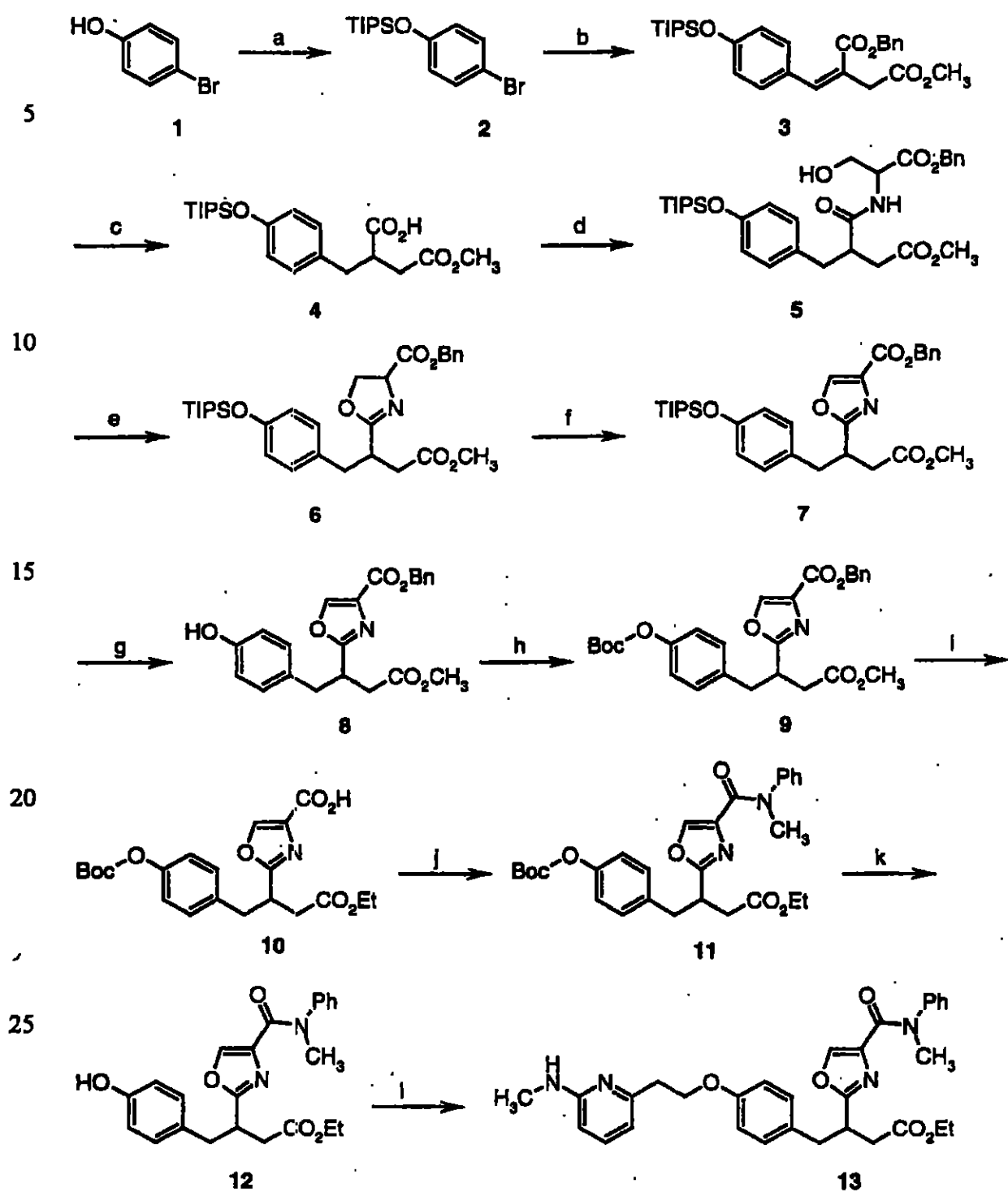


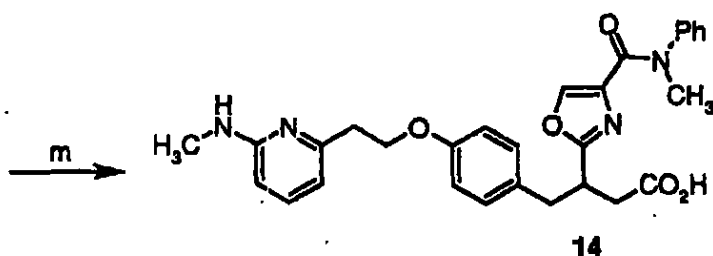
(a) $\text{CH}_3\text{NH}(\text{OCH}_3) \cdot \text{HCl}$, EDC, $\text{HOBt} \cdot \text{H}_2\text{O}$, Et_3N , DMF; (b) 4-bromobenzotrifluoruro, sec-BuLi , THF; (c) $(\text{EtO})_2\text{P}(\text{O})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, NaH, tolueno; (d) H_2 ; 10% de Pd/C, EtOH; (e) BBr_3 , CH_2Cl_2 ; (f) 6-(metilamino)-2-piridiletanol, DIAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, THF; (g) NaOH 1,0 N, MeOH, después acidulación.

Un ácido alcoxifenilacético apropiado, por ejemplo ácido 4-metoxifenilacético (**I-1**), se convierte en el derivado de desoxibenzoína **I-3** por reacción de la correspondiente N-metoxi-N-metilamida (**I-2**) con un derivado aromático metalado, de acuerdo con el método general de Weinreb (*Tetrahedron Lett.* 1981, 22, 3815). El compuesto **I-3** se convierte en

el éster α,β -insaturado I-4 a través de la conocidísima reacción de Wittig. Con la mayor preferencia, la reacción se efectúa utilizando fosfonoacetato de trietilo en presencia de una base adecuada, generalmente hidruro de sodio o bis(trimetilsilil)amiduro de litio, en un disolvente aprótico, tal como tolueno, THF o mezclas de los mismos. La reducción del grupo olefinico de I-4 se lleva a cabo con la mayor preferencia por hidrogenación en presencia de un catalizador de paladio, por ejemplo paladio sobre carbón vegetal activo, en un disolvente adecuado, tal como EtOAc, MeOH, EtOH, i-PrOH, o mezclas de los mismos. El éter metílico de I-5 se puede escindir con tribromuro de boro (BBr_3), en un disolvente inerte, preferiblemente CH_2Cl_2 , o con etanotiol (EtSH) y tricloruro de aluminio (AlCl_3) en un disolvente inerte, tal como CH_2Cl_2 . Otros métodos útiles para separar los grupos protectores de éter metílico están descritos en Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis" (editado por Wiley-Interscience). El fenol I-6 resultante se hace reaccionar con 6-(metilamino)-2-piridiletanol en una reacción de acoplamiento de tipo Mitsunobu (*Organic Reactions* 1992, 42, 335-656; *Synthesis* 1981, 1-28) para dar I-7. La reacción está mediada por el complejo formado entre el diéster de azodicarboxilato, tal como azodicarboxilato de dietilo o azodicarboxilato de diisopropilo, y trifenilfosfina, y se efectúa en un disolvente aprótico, por ejemplo THF, CH_2Cl_2 o DMF. El éster etílico de I-7 se hidroliza utilizando una base acuosa, por ejemplo, LiOH en THF acuoso o NaOH en metanol o etanol acuoso, y la sal de carboxilato intermedia se acidula con un ácido adecuado, por ejemplo TFA o HCl, para dar el ácido carboxílico I-8. Alternativamente, si se desea se puede aislar la sal de carboxilato intermedia, o se puede preparar una sal de carboxilato del ácido carboxílico libre por métodos bien conocidos por los expertos en la técnica.

Esquema II



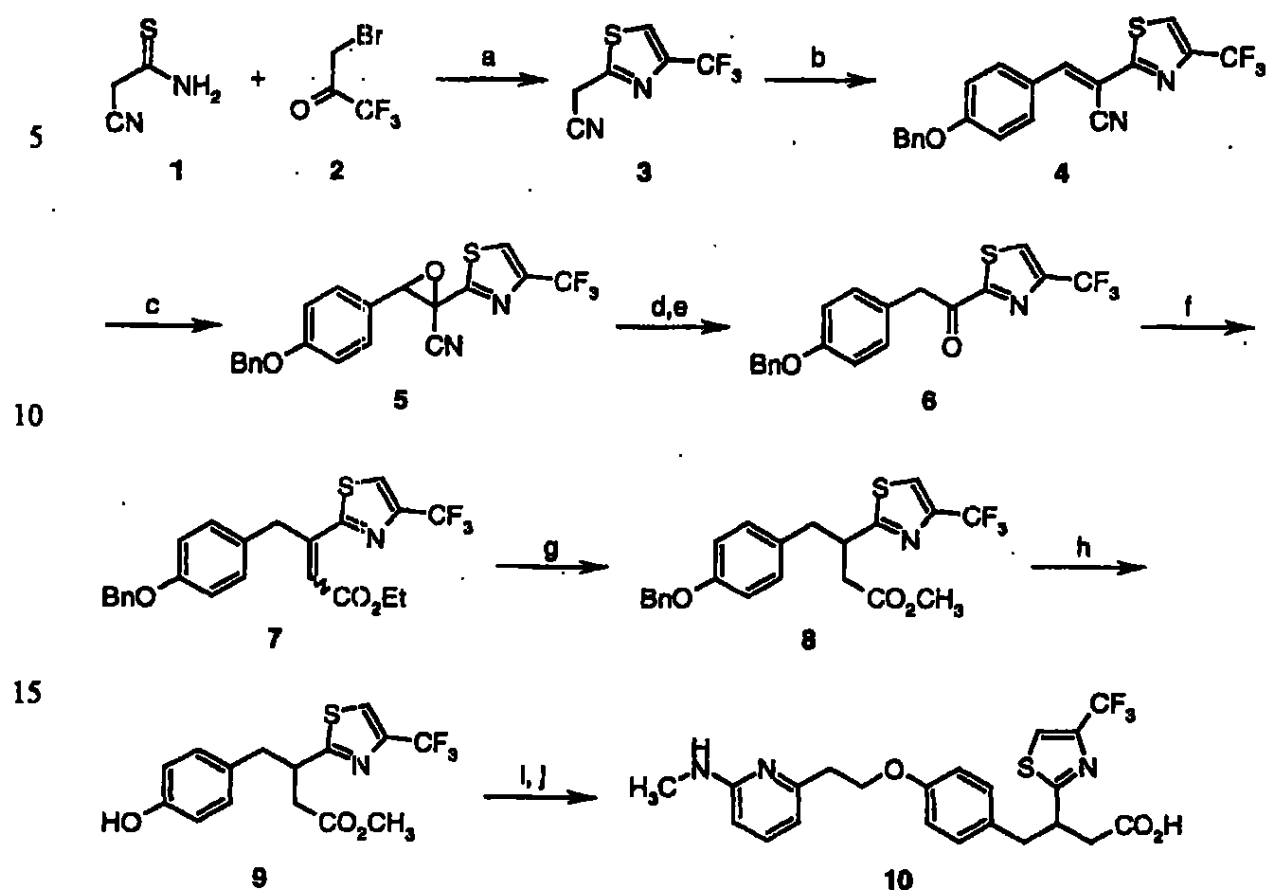


(a) Cloruro de triisopropilsililo, imidazol, DMF; (b) 3-(benciloxycarbonil)-3-butenato de metilo, $\text{Pd}(\text{OAc})_2$, $\text{P}(\text{tol})_3$, $(i\text{-Pr})_2\text{NEt}$, propionitrilo; (c) H_2 , 10% de Pd/C , EtOAc ; (d) hidrocloreuro de éster bencilico de serina, EDC, $\text{HOBt} \cdot \text{H}_2\text{O}$, Et_3N , DMF; (e) reactivo de Burgess, THF; (f) Cl_3CBr , DBU, CH_2Cl_2 ; (g) TBAF, THF; (h) $(\text{Boc})_2\text{O}$, piridina, THF; (i) H_2 , 10% de Pd/C , EtOH ; (j) N-metilanilina; EDC, BPFFH, $(i\text{-Pr})_2\text{NEt}$, piridina, DMF; (k) HCl /dioxano 4 N; (l) 6-(metilamino)-2-piridiletanol, DIAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, THF; (m) LiOH , THF, H_2O , luego acidulación.

15 Un derivado de halofenol, por ejemplo 4-bromofenol (II-1), se convierte en un derivado adecuadamente protegido, por ejemplo 4-bromo-1-(triisopropilsililoxi)benceno (II-2). El grupo protector para el fenol debe ser compatible con la química subsiguiente, y también debe poder eliminarse selectivamente cuando se desee. Los métodos para la protección de fenoles están descritos en libros de referencia clásicos, tales como Greene, 20 "Protective Groups in Organic Synthesis" (editado por Wiley-Interscience). El compuesto II-2 reacciona con 3-(benciloxycarbonil)-3-butenato de metilo en una reacción de tipo Heck (véase Heck, *Org., Reactions* 1982, 27, 345) para dar II-3. La reacción está mediada por una especie de paladio (0), y generalmente se efectúa en un disolvente inerte, tal como CH_3CN , propionitrilo o tolueno, en presencia de un captador apropiado de ácido tal como 25 trietilamina (Et_3N) o diisopropiletilamina $((i\text{-Pr})_2\text{NEt})$. Las fuentes típicas de la especie de paladio (0) incluyen acetato de paladio (II) ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$) y cloruro de paladio (II) (PdCl_2), y muchas veces se incluyen ligandos de fosfina, por ejemplo trifenilfosfina (PPh_3) o tri-orto-tolilfosfina ($\text{P}(\text{tol})_3$). El éster α,β -insaturado II-3 se reduce al compuesto II-4 por reacción con hidrógeno gaseoso en presencia de un catalizador adecuado, preferiblemente paladio 30 elemental sobre carbono activado (Pd/C), en un disolvente inerte, generalmente MeOH , EtOH , EtOAc , o mezclas de ellos. El ácido carboxílico de II-4 se convierte en una forma

activada utilizando, por ejemplo, EDC y HOBt, SOCl_2 , o 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI), y la forma activada se hace reaccionar subsiguientemente con una amina apropiada, por ejemplo éter bencílico de serina, en un disolvente adecuado, tal como DMF, para dar II-5. Dependiendo de si se requiere neutralización del ácido, se puede añadir una base tal como trietilamina (Et_3N), diisopropiletilamina ($(i\text{-Pr})_2\text{NEt}$), o piridina. Se conocen muchos métodos adicionales para convertir un ácido carboxílico en una amida, y se pueden encontrar en la bibliografía científica clásica, tal como "Compendium of Organic Synthetic Methods", Vol. I-VI (editado por Wiley-Interscience), o Bodansky, "The Practice of Peptide Synthesis" (editado por Springer-Verlag). Después se convierte II-5 en el derivado de oxazol II-7. Se conocen varios métodos para la conversión de amidoalcoholes en oxazoles (Meyers, *Tetrahedron* 1994, 50, 2297-2360; Wipf, *J. Org. Chem.* 1993, 58, 3604-3606. Por ejemplo, el amidoalcohol II-5 se puede convertir primero en la oxazolina II-6. Generalmente, la transformación se lleva a cabo en condiciones deshidratantes, tales como la reacción con reactivo de Burgess en THF. Después se oxida la oxazolina II-6 para dar el oxazol II-7 utilizando, por ejemplo, bromotriclorometano y DBU en CH_2Cl_2 (Williams, *Tetrahedron Letters* 1997, 38, 331-334,) o CuBr_2 y DBU en un disolvente apropiado, tal como $\text{EtOAc}/\text{CHCl}_3$ o CH_2Cl_2 (Barrish, *J. Org. Chem.*, 1993, 58, 4494-4496). La eliminación del grupo protector sililo en condiciones clásicas con un fluoruro (véase Greene, anteriormente) produce el fenol II-8, que se convierte en el derivado de terc-butiloxicarbonyl II-9 utilizando dicarbonato de di-terc-butilo en presencia de una base, generalmente piridina, en un disolvente neutro polar, tal como THF. Este nuevo grupo protector se selecciona como se ha descrito anteriormente. El compuesto II-9 se convierte en el derivado de ácido carboxílico II-10 por hidrogenación como se ha descrito anteriormente, y II-10 se convierte en la amida II-11 de acuerdo con el procedimiento general de Carpino y Ayman (*J. Am. Chem. Soc.* 1995, 117, 5401-5402). En estas condiciones, el ácido carboxílico II-10 se hace reaccionar con una amina adecuada, por ejemplo, N-metilnilina, en presencia de hexafluorofosfato de bis(tetrametilen)-fluoroformamidinio (BPFH) y una base apropiada, generalmente Et_3N , $(i\text{-Pr})_2\text{NEt}$, piridina, o mezclas de ellos, en un disolvente neutro polar, tal como DMF. El grupo terc-butiloxicarbamato se separa en condiciones ácidas clásicas (véase Greene anteriormente) y el fenol resultante II-12 se convierte en II-14 por los métodos descritos en el Esquema I.

Esquema III



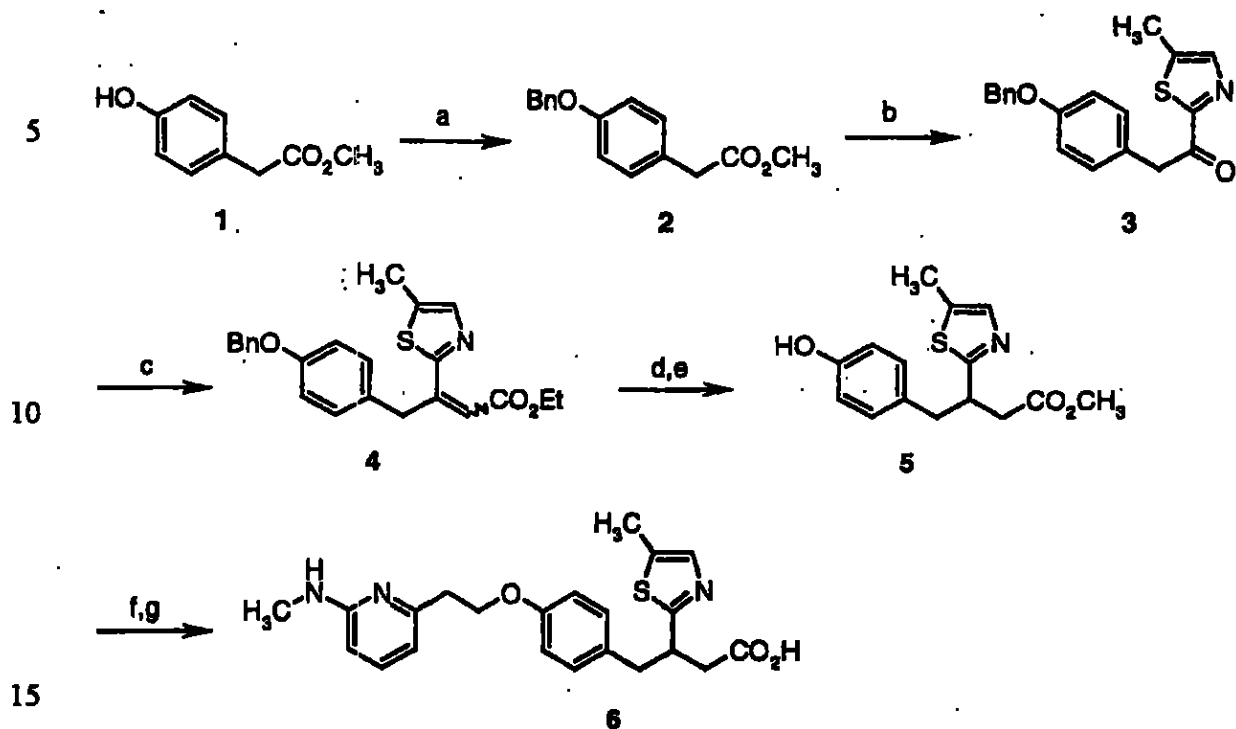
(a) EtOH, reflujo; (b) 4-(benciloxi)benzaldehído, NaOEt, EtOH; (c) Al_2O_3 , NaOCl, CH_3CN ; (d) Et_3SiH , $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, CH_2Cl_2 ; (e) $n\text{-Bu}_4\text{NF}$, THF; (f) $(\text{EtO})_2\text{P}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, NaH, THF, reflujo; (g) Mg, MeOH; (h) $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, EtSH; (i) 6-(metilamino)-2-piridiletanol, DIAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, THF; (j) LiOH, THF, H_2O , después acidulación.

El derivado de tiazol III-3 se prepara por condensación de 2-cianoacetamida (III-1) y 3-bromo-1,1,1-trifluoroacetona (III-2) en etanol a reflujo, por una modificación apropiada del procedimiento de Schaefer y Gewald (*J. Prakt. Chem.* 1974, 316, 684-692) para la preparación de 4-fenil-2-(cianometil)tiazol. La condensación aldólica de III-3 con un derivado de benzaldehído apropiadamente sustituido, por ejemplo 4-(benciloxi)-benzaldehído, da III-4. La reacción se cataliza con una base adecuada, preferiblemente

20

etóxido de sodio, y se lleva a cabo en un disolvente polar, generalmente etanol. La epoxidación de **III-4** para producir **III-5** se lleva a cabo con hipoclorito de sodio en presencia de alúmina neutra de acuerdo con el método general de Foucaud (*Synthesis* 1987, 9, 854-856). También podrían utilizarse otras condiciones de epoxidación bien conocidas, tales como mCPBA, peróxido de hidrógeno básico o hidroperóxido de terc-butilo, con tal que las condiciones sean compatibles con la funcionalidad en el sustrato. Al exponerse a trietilsilano en presencia de un ácido de Lewis apropiado, tal como BF_3 , OEt_2 , o un ácido prótico adecuado, por ejemplo TFA o HCl, el anillo de epóxido de **III-5** se abre reductivamente de una manera sumamente regioselectiva para dar la cetona **III-6**, junto con la correspondiente trimetilsililcianhidrina de **III-6**. Esta cianhidrina se convierte convenientemente en la cetona **III-6** al exponerse a fluoruro de tetrabutilamonio en un disolvente apropiado, generalmente THF. Esta cetona reacciona en una reacción de tipo Wittig con fosfonoacetato de trietilo en presencia de una base adecuada, por ejemplo $\text{LiN}(\text{TMS})_2$ o NaH , en un disolvente polar aprótico, preferiblemente THF, para producir el éster α,β -insaturado **III-7** como una mezcla de isómeros olefinicos. Al reaccionar con magnesio elemental en MeOH, la olefina de **III-7** se reduce selectivamente para producir el derivado saturado **III-8**. El éster etílico se convierte en un éster metílico en estas condiciones. La separación del grupo bencilo se efectúa con etanotiol y $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, para producir el fenol **III-9**, que se convierte en **III-10**, de acuerdo con los métodos descritos en el Esquema I.

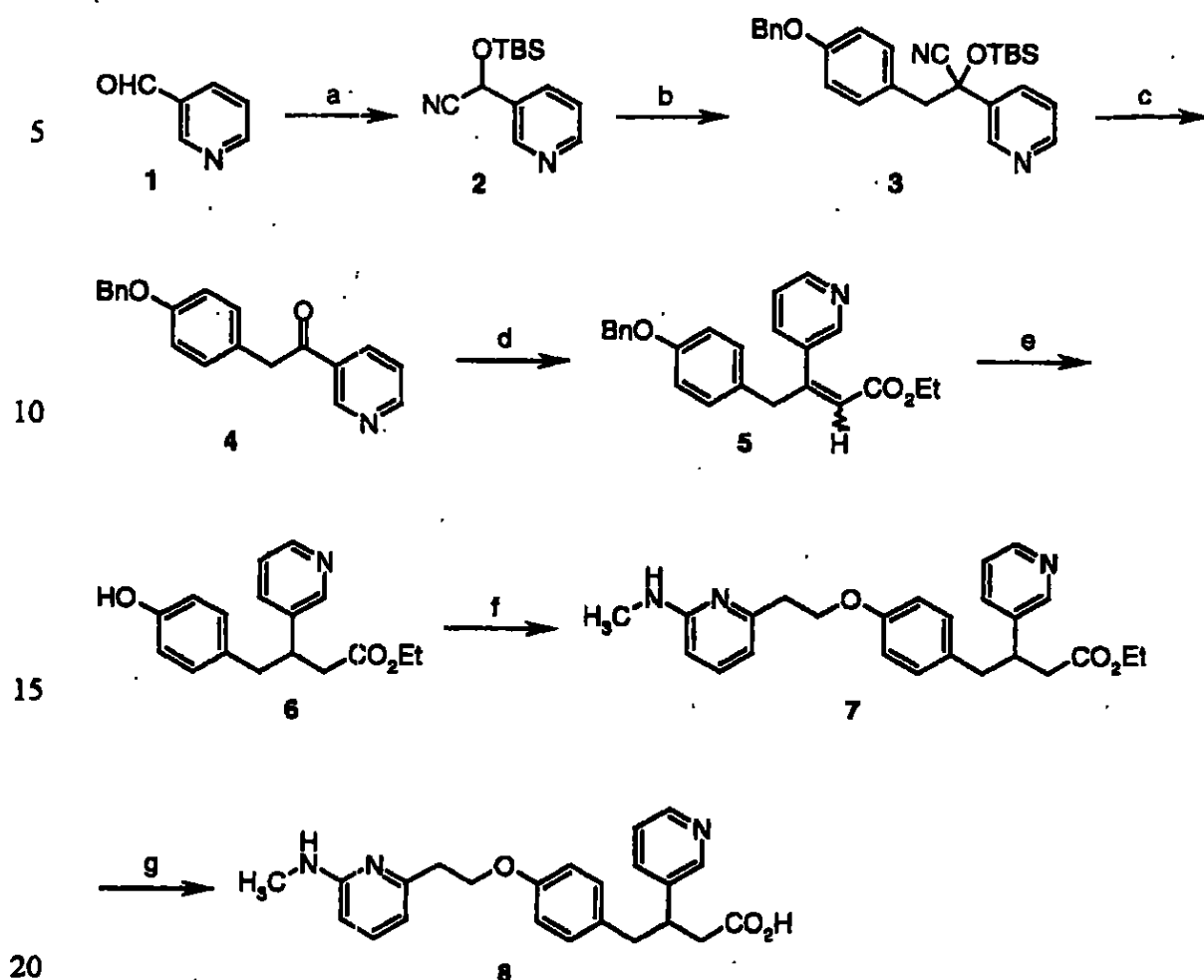
Esquema IV



(a) BnCl , K_2CO_3 , acetona; (b) 5-metiltiazol, $n\text{-BuLi}$, THF; (c) $(\text{EtO})_2\text{P}(=\text{O})\text{CH}_2\text{CO}_2\text{Et}$, NaH , THF; (d) Mg , MeOH ; (e) BF_3OEt_2 , EtSH ; (f) 6-(metilamino)-2-piridiletanol, DIAD, $(\text{Ph})_3\text{P}$, THF; (g) LiOH , THF, H_2O , después acidulación.

El grupo fenol de 4-hidroxifenilacetato de metilo (V-1), disponible en el mercado, se protege con un grupo protector adecuado, por ejemplo un éter metílico, un éter bencílico, o un éter triisopropilsilílico. La protección de fenoles es bien conocida por los expertos en la técnica y los grupos protectores representativos se describen en la bibliografía científica clásica, tal como Greene "Protective Groups in Organic Synthesis" (editado por Wiley Interscience). El compuesto (IV-2) resultante reacciona con reactivos de Grignard u organolitio adecuados para producir cetonas. Por ejemplo, 2-litio-5-metiltiazol, preparado a partir de 5-metiltiazol y n -butil-litio, reacciona con IV-2 en un disolvente etéreo, tal como THF o DME, para producir el derivado de cetona IV-3. Después se convierte esta cetona en IV-6 de acuerdo con los métodos descritos en el Esquema III.

Esquema V



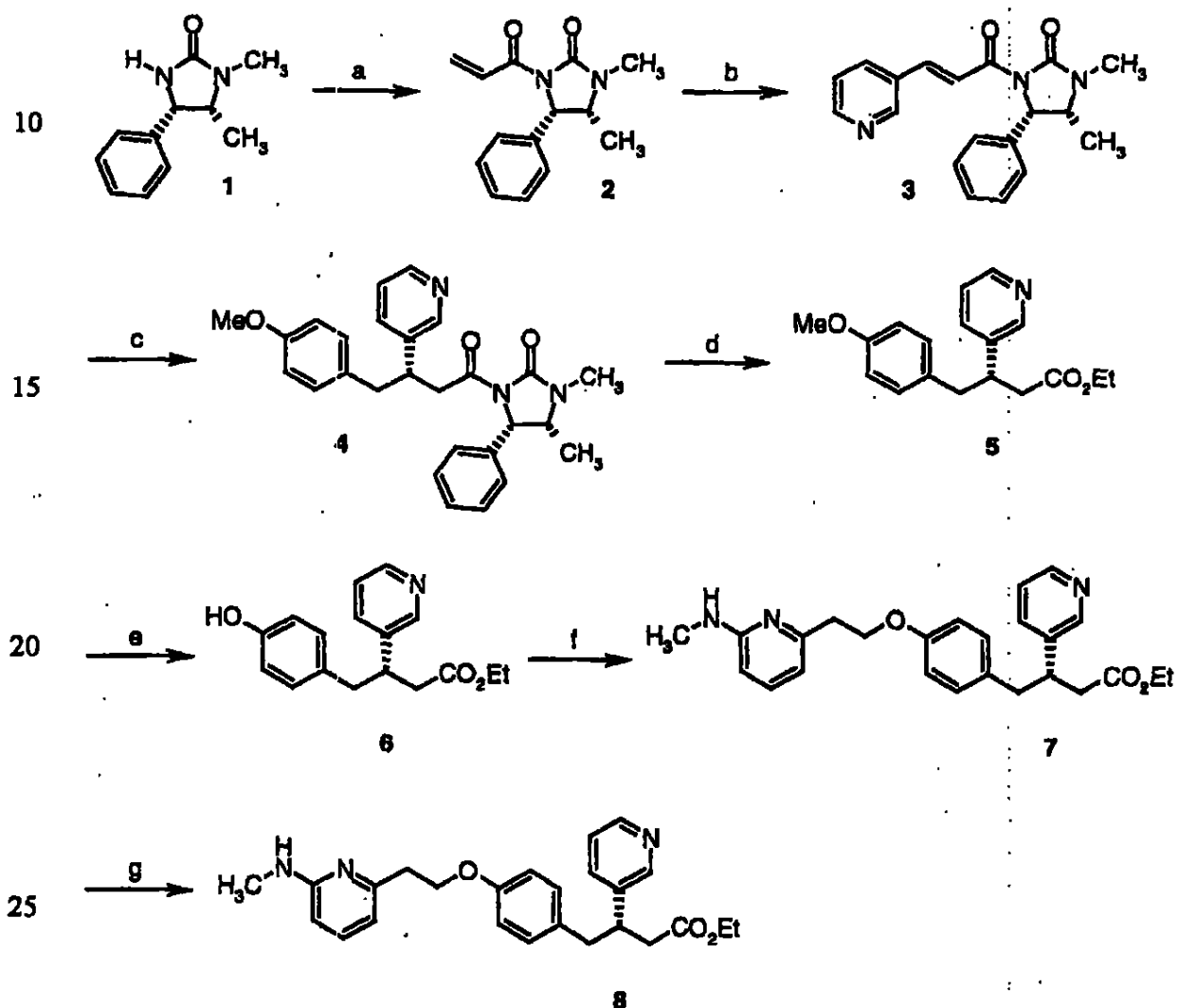
(a) TBDMSCl, KCN, ZnI₂, CH₃CN; (b) LDA, THF, después cloruro de 4-benciloxibencilo;
 (c) TBAF, THF; (d) (EtO)₂P(=O)CH₂CO₂Et, NaH, THF; (e) H₂, Pd/C, EtOH; (f) 6-
 (metilamino)-2-piridiletanol, DIAD, (Ph)₃P, THF; (g) LiOH, THF, H₂O, después
 acidulación.

Un aldehído aromático seleccionado, por ejemplo 3-piridinacarboxaldehído (V-1),
 se convierte en una cianhidrina protegida con sililo tal como V-2 por reacción con ion
 cianuro en presencia de un haluro de sililo adecuado, por ejemplo cloruro de trimetilsililo
 (TMSCl), cloruro de triisopropilsililo (TIPSCl), o cloruro de *terc*-butildimetilsililo
 (TBDMSCl o TBSCl). Las fuentes típicas de ion cianuro incluyen cianuro de potasio
 (KCN), cianuro de sodio (NaCN) y cianuro de tetrabutilamonio (Bu₄N⁺CN⁻). La reacción se

efectúa frecuentemente en presencia de una cantidad catalítica de un ácido de Lewis, generalmente ZnI_2 , y se prefiere un disolvente aprótico polar, tal como acetonitrilo (CH_3CN). Se pueden utilizar otras cianhidrinas protegidas, por ejemplo una cianhidrina protegida con etoxietilo, con tal que el grupo protector sea compatible con las reacciones químicas subsiguientes y pueda separarse selectivamente cuando así se desee. Se puede encontrar una discusión de grupos protectores en la bibliografía científica clásica, tal como Green "Protective Grupos in Organic Synthesis" (editado por Wiley-Interscience). El compuesto V-2 se somete a C-alquilación con un haluro de bencilo apropiado, por ejemplo, cloruro de 4-benciloxibencilo, para producir V-3. La reacción implica una desprotonación inicial para producir un anión intermedio, que no se aísla sino que se hace reaccionar in situ con un agente alquilante. Las bases típicas para este tipo de reacción incluyen diisopropilamido de litio (LDA) y hexametildisilazida de litio ($LiN(TMS)_2$), y se prefieren los disolventes apróticos polares tales como THF o DME. La TBS-cianhidrina de V-3 se convierte convenientemente en la cetona V-4 por reacción con fluoruro de tetrabutilamonio (TBAF). También podría utilizarse un procedimiento en dos etapas para efectuar esta transformación. Por ejemplo, puede separarse el grupo protector de sílilo de V-3 en condiciones ácidas, tal como por reacción con HF, para producir una cianhidrina que se puede convertir en la cetona V-4 por reacción con una base adecuada. El compuesto V-4 se convierte en el éster α,β -insaturado V-5 a través de la bien conocida reacción de Wittig. Típicamente, la reacción se efectúa utilizando fosfonoacetato de trietilo en presencia de una base adecuada, generalmente hidruro de sodio (NaH) o $LiN(TMS)_2$, en un disolvente aprótico, tal como tolueno, THF, o mezclas de ellos. La reducción del grupo olefínico de V-5 se lleva a cabo óptimamente por hidrogenación en presencia de un catalizador de paladio, por ejemplo paladio sobre carbón vegetal activo, en un disolvente adecuado, tal como EtOAc, MeOH, EtOH, i-PrOH, o mezclas de ellos. En estas condiciones, también se separa el grupo protector bencilo del fenol. El fenol resultante V-6 se hace reaccionar con 6-(metilamino)-2-piridiletanol en una reacción de acoplamiento de tipo Mitsunobu (*Organic Reactions* 1992, 42, 335-656; *Synthesis* 1981, 1-28) para producir V-7. La reacción es mediada por el complejo formado entre un diéster de azodicarboxilato, tal como azodicarboxilato de dietilo o azodicarboxilato de diisopropilo, y trifenilfosfina, y se efectúa típicamente en un disolvente aprótico, por ejemplo THF, CH_2Cl_2 , o DMF. El éster etílico

de V-7 se hidroliza utilizando base acuosa, por ejemplo, LiOH o NaOH en dioxano acuoso, THF, metanol o etanol, y la sal de carboxilato intermedia se acidula con un ácido adecuado, por ejemplo TFA o HCl, para producir el ácido carboxílico V-8. Si se desea, puede aislarse la sal de carboxilato intermedia. Además, pueden prepararse sales apropiadas del ácido carboxílico o la amina por métodos bien conocidos por los expertos en la técnica.

Esquema VI



(a) cloruro de acrililoilo, (i-Pr)₂NEt, CuCl, CH₂Cl₂ (b) 3-bromopiridina, Pd(OAc)₂, P(tol)₃, (i-Pr)₂NEt, DMF; (c) cloruro de 4-metoxibencilmagnesio, ZnI₂, CuBr.DMS, THF, tolueno; (d) NaOEt, THF; (e) AlCl₃, EtSH, CH₂Cl₂; (f) 6-(metilamino)-2-piridiletanol, DIAD, (Ph)₃P, THF; (g) NaOH, dioxano, H₂O, después acidulación.

Se hace reaccionar (4S,5R)-1,5-dimetil-4-fenil-2-imidazolidinona (VI-1), disponible en el mercado, con un cloruro de ácido α,β -insaturado apropiado, por ejemplo, cloruro de acrililo, para dar la imida VI-2. La reacción es mediada por una base adecuada, típicamente trietilamina (Et_3N) o diisopropiletilamina ($(i\text{-Pr})_2\text{NEt}$), y se efectúa en presencia de una cantidad catalítica de un haluro cuproso, por ejemplo cloruro de cobre (I). Se prefiere un disolvente neutro tal como CH_2Cl_2 . El compuesto VI-2 reacciona con un haluro de arilo adecuado, tal como 3-bromopiridina, en una reacción de tipo Heck (véase Heck, *Org. Reactions* 1982, 27, 345) para dar VI-3. La reacción es mediada por una especie de paladio (0) y, generalmente, se efectúa en un disolvente inerte, tal como CH_3CN , propionitrilo, tolueno o DMF, en presencia de un captador apropiado de ácido, tal como trietilamina (Et_3N) o diisopropiletilamina ($(i\text{-Pr})_2\text{NEt}$). Las fuentes típicas de la especie de paladio (0) incluyen acetato de paladio (II) ($\text{Pd}(\text{OAc})_2$) y cloruro de paladio (II) (PdCl_2), y muchas veces se incluyen ligandos de fosfina, por ejemplo trifenilfosfina (PPh_3) o tri-orto-tolilfosfina ($\text{P}(\text{tol})_3$). El compuesto VI-3 reacciona con una especie de organocobre en una reacción de adición 1,4 para dar el producto de adición conjugado VI-4 (véase Melnyk, O.; Stephan, E.; Pourcelot, G.; Cresson, P. *Tetrahedron* 1992, 48, 841-850; Bongini, A.; Cardillo, G.; Mingardi, A.; Tomasini, C. *Tetrahedron Asymmetry* 1996, 7, 1457-1466; van Heerden, P.S.; Bezuidenhout, B.C.B.; Ferreira, D. *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 1821-1824. Para repasar las reacciones de organocobre, véase Posner, G. *Organic Reactions* 1972, 19, 1-113; Lipshutz, B. *Organic Reactions* 1992, 41, 135-631). La generación de la especie de organocobre puede efectuarse por adición de un reactivo de organolitio u organomagnesio, por ejemplo cloruro de 4-metoxibencilmagnesio, a una fuente de cobre (I), por ejemplo CuCl , CuBr , DMS, o CuI , en un disolvente inerte, tal como Et_2O , THF, DME, tolueno, o mezclas de ellos. La diastereoselectividad de la reacción puede ser intensificada por ciertos ácidos de Lewis, por ejemplo, MgBr_2 , Bu_2BOTf , o ZnI_2 . La auxiliaridad quiral de VI-4 se elimina convenientemente por etanolisis en condiciones básicas. Por ejemplo, el tratamiento de VI-4 con etóxido de sodio en THF produce VI-5. El éter metílico de VI-5 puede escindirse con tribromuro de boro (BBr_3), en un disolvente inerte, preferiblemente CH_2Cl_2 , o con etanotiol (EtSH) y tricloruro de aluminio (AlCl_3) en un disolvente inerte, tal como CH_2Cl_2 , para producir el fenol VI-6. Otros métodos útiles para separar grupos protectores del tipo éter metílico están descritos en la bibliografía científica clásica (véase el Esquema

V). El fenol VI-6 se convierte en VI-8 como se describe en el Esquema V.

Los reactivos de acoplamiento de amidas, como se denominan en este documento, denotan reactivos que se pueden utilizar para formar enlaces peptídicos. Los métodos típicos de acoplamiento emplean carbodiimidas, anhídridos activados y ésteres y haluros de acilo.

5 Son típicos reactivos tales como EDC, DCC, DPPA, reactivo BOP, HOBT, N-hidroxisuccinimida y cloruro de oxalilo.

Los métodos de acoplamiento para formar enlaces peptídicos son generalmente bien conocidos en la técnica. Los métodos de síntesis de péptidos descritos de modo general por Bodansky y col., *THE PRACTICE OF PEPTIDE SYNTHESIS*, Springer-Verlag, 10 Berlín, 1984, Ali y col., en *J. Med. Chem.*, 29, 984 (1986) y *J. Med. Chem.*, 30, 2291 (1987) son en general ilustrativos de la técnica y se incorporan aquí como referencia.

Típicamente, la amina o anilina se acopla a través de su grupo amino libre a un sustrato de ácido carboxílico apropiado utilizando un agente de acoplamiento de carbodiimida apropiado, tal como N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC), opcionalmente en 15 presencia de catalizadores tales como 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) y dimetilaminopiridina (DMAP). También son adecuados otros métodos, tales como la formación de ésteres, anhídridos o haluros de ácido activados, del carboxilo libre de un sustrato ácido adecuadamente protegido, y la subsiguiente reacción con la amina libre de una amina adecuadamente protegida, opcionalmente en presencia de una base. Por ejemplo, se trata un aminoácido 20 protegido con Boc o ácido amidinobenzoico protegido con Cbz en un disolvente anhidro, tal como cloruro de metileno o tetrahidrofurano (THF), en presencia de una base, tal como N-metilmorfolina, DMAP o trietilamina, con cloroformiato de isobutilo para formar el "anhídrido activado", que subsiguientemente se hace reaccionar con la amina libre de un segundo aminoácido protegido o anilina.

25 Los intermedios útiles para preparar compuestos de fórmula (I) en los que R^2 es un bencimidazol están descritos en Nestor y col., *J. Med. Chem.* 1984, 27, 320. Los métodos representativos para preparar los compuestos de bencimidazol útiles como intermedios en la presente invención también son comunes en la técnica y se pueden encontrar, por ejemplo, en EP-A-0381033.

30 Las sales de adición de ácido de los compuestos se preparan de manera clásica en un disolvente adecuado a partir del compuesto original y un exceso de un ácido, tal como ácido clorhídrico, bromhídrico, fluorhídrico, sulfúrico, fosfórico, acético, trifluoroacético,

maleico, succínico o metanosulfónico. Algunos de los compuestos forman sales internas o iones híbridos que pueden ser aceptables. Las sales catiónicas se preparan por tratamiento del compuesto original con un exceso de un reactivo alcalino, tal como un hidróxido, carbonato alcóxido, que contenga el catión apropiado; o con una amina orgánica apropiada.

- 5 Los cationes tales como Li^+ , Na^+ , K^+ , Ca^{++} , Mg^{++} y NH_4^+ son ejemplos específicos de cationes presentes en las sales farmacéuticamente aceptables.

Esta invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la fórmula (I) y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Consecuentemente, los compuestos de fórmula (I) se pueden usar en la elaboración de un medicamento. Las composiciones farmacéuticas de los compuestos de fórmula (I) preparadas como se describe en lo que antecede se pueden formular como soluciones o polvos liofilizados para una administración parenteral. Los polvos se pueden reconstituir mediante la adición de un diluyente adecuado u otro vehículo farmacéuticamente aceptable antes de ser usados. La formulación líquida puede ser una solución acuosa isotónica tamponada. Ejemplos de diluyentes adecuados son solución salina isotónica normal, dextrosa al 5% estándar en agua o solución tamponada de acetato de sodio o amonio. Tal formulación es especialmente adecuada para una administración parenteral, pero se puede usar también para una administración oral o contenida en un inhalador o nebulizador de dosis medidas para ser insuflada. Puede ser deseable añadir excipientes tales como polivinilpirrolidona, gelatina, hidroxí-celulosa, goma arábica, polietilenglicol, manitol, cloruro de sodio o citrato de sodio.

Alternativamente, estos compuestos pueden ser encapsulados, comprimidos o preparados en una emulsión o jarabe para una administración oral. Se pueden añadir vehículos sólidos o líquidos farmacéuticamente aceptables para mejorar o estabilizar la composición, o para facilitar la preparación de la composición. Los vehículos sólidos incluyen almidón, lactosa, sulfato de calcio dihidratado, alabastro, estearato de magnesio o ácido esteárico, talco, pectina, goma arábica, agar o gelatina. Los vehículos líquidos incluyen jarabe, aceite de cacahuete, aceite de oliva, solución salina y agua. El vehículo puede incluir también un material de liberación sostenida tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o con una cera. La cantidad de vehículo sólido varía pero, preferentemente, estará entre aproximadamente 20 mg y aproximadamente 1 g por unidad de dosificación. Las preparaciones farmacéuticas se preparan siguiendo las técnicas convencionales de la farmacia que incluyen trituración, mezcladura, granulación y

determinan fácilmente por un experto ordinario en la técnica, comparando el nivel en sangre del agente con la concentración requerida para tener un efecto terapéutico.

Esta invención proporciona adicionalmente un método para tratar la osteoporosis o inhibir la pérdida de masa ósea, que comprende administrar secuencialmente o en una combinación física un compuesto de fórmula (I) y otros inhibidores de la resorción ósea, tal como bisfosfonatos (es decir, alendronato), una terapia de sustitución de hormonas, anti-estrógenos o calcitonina. Además, esta invención proporciona un método de tratamiento usando un compuesto de esta invención y un agente anabólico tal como la proteína morfogénica ósea, iproflavona, útil en la prevención de pérdida de masa ósea y/o para aumentar la masa ósea.

Adicionalmente, esta invención proporciona un método para inhibir el crecimiento tumoral, que comprende administrar secuencialmente o en combinación física un compuesto de fórmula (I) y un agente antineoplásico. Los compuestos de la clase análoga de camptotecina, tal como topotecán, irinotecán y 9-aminocamptotecina, y complejos de coordinación de platino tales como cisplatino, ormaplatino y tetraplatino, son grupos bien conocidos de agentes antineoplásicos. Los compuestos de la clase de análogos de la camptotecina se describen en las patentes de EE.UU. n° 5.004.758, 4.604.463, 4.473.692, 4.545.880, 4.342.776, 4.513.138, 4.399.276, publicaciones de solicitudes de patentes europeas n° 0.418.099 y 0.088.642, por Wani et al., *J. Med. Chem.*, 1986, 29, 2358, Wani et al., *J. Med. Chem.*, 1980, 23, 554, Wani et al., *J. Med. Chem.*, 1987, 30, 1774, y Nitta, et al., *Proc. 14th International Congr. Chemotherapy*, 1985, *Anticancer Section I*, 28, cuya descripción completa se incorpora como referencia en la presente memoria descriptiva. El complejo de coordinación de platino, cisplatino, está disponible bajo la denominación Platinol® en la empresa Bristol Myers-Squibb Corporation. Las formulaciones útiles para el cisplatino se describen en las patentes de EE.UU. 5.562.925 y 4.310.515, cuya descripción completa se incorpora como referencia a la presente memoria descriptiva.

En el método para inhibir el crecimiento tumoral que comprende administrar secuencialmente, o en combinación física, un compuesto de fórmula (I) y un agente antineoplásico, el compuesto de coordinación de platino, por ejemplo cisplatino, se puede administrar usando una infusión intravenosa lenta. El vehículo preferido es una solución de dextrosa/solución salina que contiene manitol. El esquema de dosificación del compuesto de coordinación de platino puede ser del orden de aproximadamente 1 a aproximadamente

27

500 mg por metro cuadrado (mg/m^2) de superficie corporal por curso de tratamiento. Las infusiones del compuesto de coordinación de platino se pueden proporcionar una a dos veces a la semana, y los tratamientos semanales se pueden repetir varias veces. Usando un compuesto de la clase de análogos de la camptotecina en una administración parenteral, el curso de la terapia generalmente empleada es de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 300,0 mg/m^2 de superficie corporal por día durante aproximadamente cinco días consecutivos. Lo más preferentemente, el curso de la terapia empleada para topotecán es de aproximadamente 1,0 a aproximadamente 2,0 mg/m^2 de superficie corporal por día durante aproximadamente cinco días consecutivos. Preferentemente, el curso de la terapia se repite al menos una vez en un intervalo de aproximadamente siete días a aproximadamente veintiocho días.

La composición farmacéutica se puede formular tanto con el compuesto de fórmula (I) como con el agente antineoplásico en el mismo envase, pero se prefiere la formulación en envases diferentes. Cuando los dos agentes se proporcionan en forma de solución, pueden estar contenidos en un sistema de infusión/inyección para una administración simultánea o en una disposición en tándem.

Para una administración conveniente del compuesto de fórmula (I) y el agente antineoplásico a la vez o en momentos diferentes, se prepara un estuche de ensayo que comprende, en un único envase, tal como una caja, cartón u otro envase, botes individuales, bolsas, viales u otros envases que tengan cada uno una cantidad eficaz del compuesto de fórmula (I) para una administración parenteral, como se describió anteriormente, y una cantidad eficaz del agente antineoplásico para una administración parenteral, como se describió anteriormente. Tal estuche de ensayo puede comprender, por ejemplo, los dos agentes farmacéuticos en envases separados o en el mismo envase, opcionalmente en forma de polvos liofilizados y envases de soluciones para ser reconstituidas. Una variación de esto es incluir la solución para ser reconstituida y el polvo liofilizado en dos cámaras de un único envase, que se puede causar que se mezclen antes de ser usados. Con tal disposición, el agente antineoplásico y el compuesto de esta invención pueden ser envasados separadamente, como en dos envases, o liofilizados conjuntamente en forma de un polvo y proporcionados en un único envase.

Cuando los agentes se proporcionan en forma de solución, pueden estar contenidos en un sistema de infusión/inyección para una administración simultánea o en una disposición

en tándem. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (I) puede estar en una forma inyectable intravenosa, o de bolsa de infusión conectada en serie, a través de tubos, al agente antineoplásico en una segunda bolsa de infusión. Usando tal sistema, un paciente puede recibir una inyección inicial de tipo bolo o una infusión del compuesto de fórmula (I) seguida de una infusión del agente antineoplásico.

Los compuestos pueden ser ensayados en uno de varios ensayos biológicos para determinar la concentración de compuesto que se requiere para tener un efecto farmacológico dado.

10 Inhibición de la unión de vitronectina

Unión de [H^3]-SK&F-107260 en fase sólida al $\alpha_v\beta_3$. Se diluyó placenta humana o plaquetas humanas $\alpha_v\beta_3$ (0,1-0,3 mg/ml) en tampón T (que contenía $CaCl_2$ 2 mM y 1% de octilglucósido) con tampón T que contenía $CaCl_2$ 1 mM, $MnCl_2$ 1 mM, $MgCl_2$ 1 mM (tampón A) y 0,05% de NaN_3 , y seguidamente se añadió inmediatamente a placas ELISA de 96 pocillos (Corning, Nueva York, NY) a 0,1 ml por pocillo. Se añadieron 0,1-0,2 μg de $\alpha_v\beta_3$ por pocillo. Las placas se incubaron durante una noche a 4°C. En el momento del experimento, los pocillos se lavaron una vez con tampón A y se incubaron con 0,1 ml de albúmina de suero bovino al 3,5% en el mismo tampón durante 1 h a TA (temperatura ambiente). Después de la incubación, los pocillos se aspiraron completamente y se lavaron dos veces con 0,2 ml de tampón A.

Los compuestos se disolvieron en DMSO al 100% para proporcionar una solución madre 2 mM, que se diluyó con tampón de unión (Tris-HCl 15 mM (pH 7,4), NaCl 100 mM, $CaCl_2$ 1 mM, $MnCl_2$ 1 mM y $MgCl_2$ 1 mM) hasta una concentración final del compuesto de 100 μM . Esta solución se diluye hasta la concentración final requerida de compuesto. Se añadieron diversas concentraciones de antagonistas no marcados (0,001-100 μM) a los pocillos por triplicado, seguidos de la adición de una concentración 5,0 nM de [H^3]-SK&F-107260 (65-86 Ci/mmol).

Las placas se incubaron durante 1 h a TA. A continuación de la incubación, los pocillos se aspiraron completamente y se lavaron una vez con 0,2 ml de tampón A enfriado con hielo en una forma de pocillo a pocillo. Los receptores se solubilizaron con 0,1 ml de SDS al 1% y el [H^3]-SK&F-107260 se determinó por recuento del centelleo del líquido con la adición de 0,3 ml de "Ready Safe" en un contador de centelleo líquida Beckman LS, con

91

un 40% de eficacia. La unión no específica de $[H^3]$ -SK&F-107260 se determinó en presencia de SK&F-107260 2 μM y era consistentemente menor que un 1% del aporte total de radioligando. La IC_{50} (concentración del antagonista para inhibir un 50% de unión de $[H^3]$ -SK&F-107260) se determinó mediante una rutina de ajuste de la curva por mínimos cuadrados, no lineal, que se modificó a partir del programa LUNDON-2. La K_i (constante de disociación del antagonista) se calculó según la ecuación $K_i = IC_{50}/(1+L/K_d)$, en la que L y K_d era la concentración y la constante de disociación de $[H^3]$ -SK&F-107260, respectivamente.

Los compuestos de la presente invención inhiben la unión de vitronectina a SK&F 107260 en el intervalo de concentración de aproximadamente 0,060 a aproximadamente 0,0005 micromolar.

Los compuestos de esta invención se ensayan también en cuanto a la resorción ósea in vitro e in vivo en ensayos clásicos de la técnica para evaluar la inhibición de la formación ósea, tal como el ensayo de formación de una fosita descrito en el documento EP 528.587, que se puede realizar también usando osteoclastos humanos en lugar de osteoclastos de rata, y el modelo de rata ovariectomizada, descrito por Weonski et al., *Cells and Materials* 1991, Sup. 1, 69-74.

Ensayo de migración de células de músculos lisos vasculares

Se usaron células de músculos lisos aórticos de rata o humanos. La migración celular se vigiló en una cámara de cultivo celular Transwell usando una membrana de policarbonato con poros de 8 μm (Costar). La superficie inferior del filtro se revistió con vitronectina. Las células se pusieron en suspensión en DMEM complementado con 0,2% de albúmina de suero bovino a una concentración de $2,5-5,0 \times 10^6$ células/ml, y fueron previamente tratadas con el compuesto del ensayo a diversas concentraciones durante 20 minutos a 20°C. Se usó el disolvente a solas como testigo. Se colocaron 0,2 ml de la suspensión celular en el compartimento superior de la cámara. El compartimento inferior contenía 0,6 ml de DMEM complementado con 0,2% de albúmina de suero bovino. La incubación se llevó a cabo a 37°C en una atmósfera de 95% aire/5% CO_2 durante 24 h. Después de la incubación, las células que no migraron en la superficie superior del filtro se separaron por raspadura suave. El filtro se fijó seguidamente en metanol y se tiñó con tinte Giemsa al 10%. La migración se midió, o bien a) contando el número de células que habían

migrado a la superficie inferior del filtro, o b) extrayendo las células teñidas con ácido acético al 10% y determinando seguidamente la absorbancia a 600 nM.

Modelo de rata tiroparatiroidectomizada

- 5 Cada grupo experimental consiste en 5-6 ratas Sprague-Dawley machos adultos (250-400 g de peso corporal). Las ratas son tiroparatiroidectomizadas (por el proveedor, Taconic Farms) 7 días antes de ser usadas. Todas las ratas reciben una dosis sustitutiva de tiroxina cada 3 días. A la recepción de las ratas, se miden los niveles de calcio ionizado en circulación en sangre completa inmediatamente después de haber sido extraída por punción
- 10 en la vena de la cola en tubos heparinizados. Las ratas son incluidas si el nivel de Ca ionizado (medido con un analizador del pH de calcio Ciba-Corning modelo 634) es $< 1,2$ mM/l. Cada rata se provee con un catéter venoso y arterial de alojamiento interno para el suministro de material del ensayo y para la toma de muestras de sangre, respectivamente. Las ratas se ponen seguidamente bajo una dieta de pienso sin calcio y agua desionizada. Se
- 15 miden los niveles de Ca de basales y a cada rata se le administra vehículo testigo o bien péptido 1-34 de hormona paratiroidea humana (hPTH1-34, dosis de $1,25 \mu\text{g/kg/h}$ en solución salina/0,1% de albúmina de suero bovino, Bachem, Ca) o una mezcla de hPTH1-34 y material del ensayo, por medio de infusión intravenosa continua a través del catéter venoso usando un dispositivo de bombeo de jeringa externa. La respuesta calcémica de cada rata
- 20 se mide a intervalos de dos horas durante el período de infusión de 6-8 horas.

Ensayos de resorción y adhesión de osteoclastos humanos

- Los ensayos de resorción y adhesión de las fositas se desarrollaron y normalizaron usando osteoclastos humanos normales derivados de tejido de osteoclastoma. El Ensayo 1
- 25 se desarrolló para la medición de los volúmenes de las fositas de osteoclastos por microscopia confocal láser. El ensayo 2 se desarrolló como una valoración de rendimiento superior en la que se miden fragmentos de colágeno (liberado durante la resorción) mediante un ensayo ELISA competitivo.

30 Ensayo 1 (usando microscopia confocal láser)

- Se sacan partes alícuotas de suspensiones celulares derivadas de osteoclastomas humanos de su almacenamiento en nitrógeno líquido, se calientan rápidamente a 37°C y se

Am

lavan una vez en medio RPMI-1640 por centrifugación (1.000 rpm, 5 minutos a 4°C).

- El medio es aspirado y sustituido con anticuerpo anti-HLA-DR murino y seguidamente se diluye 1:3 en medio RPMI-1640. La suspensión se incuba durante 30 minutos sobre hielo y se mezcla frecuentemente.
- 5 ● Las células se lavan 2 veces con RPMI-1640 frío y seguidamente se centrifugan (1.000 rpm, 5 minutos a 4°C) y las células se transfieren seguidamente a un tubo de centrifugadora estéril de 15 ml. Se cuenta el número de células mononucleares en una cámara de recuento Neubauer mejorada.
- Se separan suficientes gránulos magnéticos (5/célula mononuclear), revestidos con
- 10 IgG anti-ratón de cabra (Dynal, Great Neck, NY) de su bote de almacenamiento y se colocan en 5 ml de medio de nueva aportación (esto retira por lavado el conservante tóxico de azida). El medio se retira inmovilizando los gránulos en un imán y se sustituye con medio de nueva aportación.
- Los gránulos se mezclan con las células y la suspensión se incuba durante 30
- 15 minutos sobre hielo. La suspensión se mezcla frecuentemente.
- Las células aplicadas como revestimiento sobre gránulos se inmovilizan sobre un imán y las células restantes (fracción rica en osteoclastos) se sedimentan en un tubo de centrifugadora estéril de 50 ml.
- Se añade medio de nueva aportación a las células revestidas sobre gránulos para
- 20 desalojar cualesquier osteoclastos atrapados. Este procedimiento de lavado se repite 10 veces. Las células revestidas sobre gránulos se desecha.
- Los osteoclastos viables se cuentan en una cámara de recuento, usando diacetato de fluoresceína para marcar las células vivas. Se usa una pipeta Pasteur de plástico desechable de orificio grande para añadir la muestra a la cámara.
- 25 ● Los osteoclastos se sedimentan por centrifugación y la densidad se ajusta al número apropiado en medio EMEM (el número de osteoclastos es variable de un tumor a otro), complementado con suero de ternera fetal al 10% y 1,7 g/litro de bicarbonato de sodio.
- Se sedimentan 3 ml de partes alícuotas de la suspensión celular (por tratamiento
- 30 de compuesto) en tubos de centrifugadora de 15 ml. Las células se sedimentan por centrifugación.
- A cada tubo se añaden 3 ml del tratamiento con el compuesto apropiado (diluido

27

a 50 μ M en el medio EMEM). También están incluidos testigos de vehículos apropiados, un testigo positivo (anticuerpo monoclonal murino anti-receptor de vitronectina[87MEM1] diluido hasta 100 μ g/ml) y un testigo de isotipo (IgG_{2a} diluido a 100 μ g/ml). Las muestras se incuban a 37°C durante 30 minutos.

- 5 ● Se siembran partes alícuotas de 0,5 ml de las células en cortes de dentina estéril en una placa de 48 pocillos y se incuban a 37°C durante 2 horas. Cada tratamiento se valora por cuadruplicado.

- Los cortes se lavan en seis cambios de PBS caliente (10 ml/pocillo en una placa de 6 pocillos) y seguidamente se colocan en medio de nueva aportación que contiene el
10 tratamiento de compuesto o muestras testigos. Las muestras se incuban a 37°C durante 48 horas.

Procedimiento de fosfato ácido resistente a tartrato (TRAP) (tinción selectiva para células del linaje de osteoclastos)

- 15 ● Los cortes de huesos que contenían los osteoclastos unidos se lavan en solución salina tamponada con fosfato y se fijan en glutaraldehído al 2% (en cacodilato de sodio 0,2 M) durante 5 minutos.

- Seguidamente se lavan en agua y se incuban durante 4 minutos en tampón TRAP a 37°C (0,5 mg/ml de naftol-fosfato AS-BI disueltos en N,N-dimetilformamida) y se mezclan
20 con tampón de citrato 0,25 M (pH 4,5) que contiene tartrato de sodio 10 mM.

- A continuación de un lavado en agua fría, los cortes se sumergen en tampón de acetato frío (0,1 M, pH 6,2) que contiene 1 mg/ml de granate rojo fijo y se incuban a 4°C durante 4 minutos.

- El tampón en exceso es aspirado y los cortes se secan a continuación de un lavado
25 en agua.

- Los osteoclastos positivos a TRAP (precipitado color rojo ladrillo/púrpura) se cuentan por microcopia de campo óptica y seguidamente se separan de la superficie de la dentina por sonicación.

- Los volúmenes de las fositas se determinan usando el microscopio confocal
30 Nikon/Lasertec ILM21W.

Ensayo 2 (usando una lectura de ELISA)

67

Los osteoclastos humanos son enriquecidos y preparados para una valoración de compuestos como se describe en las 9 etapas iniciales del Ensayo 1. Para mayor claridad, estas etapas se repiten a continuación.

- Se sacan partes alicuotas de suspensiones celulares derivadas de osteoclastomas humanos de su almacenamiento en nitrógeno líquido, se calientan rápidamente a 37°C y se lavan una vez en medio RPMI-1640 por centrifugación (1.000 rpm, 5 minutos a 4°C). El medio es aspirado y sustituido con anticuerpo anti-HLA-DR murino y seguidamente se diluye 1:3 en medio RPMI-1640. La suspensión se incuba durante 30 minutos sobre hielo y se mezcla frecuentemente.
- 10 ● Las células se lavan 2 veces con RPMI-1640 frío y seguidamente se centrifugan (1.000 rpm, 5 minutos a 4°C) y las células se transfieren seguidamente a un tubo de centrifugadora estéril de 15 ml. Se cuenta el número de células mononucleares en una cámara de recuento Neubauner mejorada.
- Se sacan suficientes gránulos magnéticos (5/célula mononuclear), revestidos con 15 IgG anti-ratón de cabra (Dynal, Great Neck, NY) de su bote de almacenamiento y se colocan en 5 ml de medio de reciente aportación (esto retira por lavado el conservante tóxico de azida). El medio se retira inmovilizando los gránulos en un imán y se sustituye con medio de nueva aportación.
- Los gránulos se mezclan con las células y la suspensión se incuba durante 30 20 minutos sobre hielo. La suspensión se mezcla frecuentemente.
- Las células aplicadas como revestimiento sobre gránulos se inmovilizan sobre un imán y las células restantes (fracción rica en osteoclastos) se decantan en un tubo de centrifugadora estéril de 50 ml.
- Se añade medio de nueva aportación a las células revestidas sobre gránulos para 25 desalojar cualesquier osteoclastos atrapados. Este procedimiento de lavado se repite 10 veces. Las células revestidas sobre gránulos se desecha.
- Los osteoclastos viables se cuentan en una cámara de recuento, usando diacetato de fluoresceína para marcar las células vivas. Se usa una pipeta Pasteur de plástico desechable de orificio grande para añadir la muestra a la cámara.
- 30 ● Los osteoclastos se sedimentan por centrifugación y la densidad se ajusta al número apropiado en medio EMEM (el número de osteoclastos es variable de un tumor a otro), complementado con suero de ternera fetal al 10% y 1,7 g/litro de bicarbonato de

36

sodio.

En contraste con el método anteriormente descrito en el Ensayo 1, los compuestos son valorados a 4 dosis para obtener una IC_{50} como se indica a continuación:

- Las preparaciones de osteoclastos se preincuban durante 30 minutos a 37°C con compuestos del ensayo (4 dosis) o testigos.
- Seguidamente se siembran sobre cortes de hueso cortical bovino en pocillos de una placa de cultivo de tejidos de 48 pocillos y se incuban durante 2 horas adicionales a 37°C.
- Los trozos de huesos se lavan en seis cambios de solución salina tamponada con fosfato (PBS), templada, para separar las células no adherentes, y seguidamente se hacen volver a los pocillos de la placa de 48 pocillos que contienen compuesto de nueva aportación o testigos.
- La placa de cultivo de tejidos se incuba seguidamente durante 48 horas a 37°C.
- Las materias sobrenadantes de cada pocillo se aspiran en tubos individuales y se valoran en un ensayo ELISA competitivo que detecta el c-telopéptido de colágeno de tipo I que es liberado durante el procedimiento de resorción. Esto es un ensayo ELISA disponible en el comercio (Osteometer, Dinamarca) que contiene un anticuerpo de conejo que reacciona específicamente con una secuencia de 8 aminoácidos (Glu-Lys-Ala-His-Asp-Gly-Gly-Arg) que está presente en el telopéptido carboxi-terminal de la cadena α -1 del colágeno de tipo I. Los resultados se expresan como % de inhibición de la resorción comparado con un testigo de vehículo.

Ensayo de adhesión de osteoclastos humanos

Los osteoclastos humanos son enriquecidos y preparados para una valoración de los compuestos como se describió anteriormente en las 9 etapas iniciales del Ensayo 1. Para mayor claridad, estas etapas se repiten a continuación.

- Se sacan partes alicuotas de suspensiones celulares derivadas de osteoclastomas humanos de su almacenamiento en nitrógeno líquido, se calientan rápidamente a 37°C y se lavan una vez en medio RPMI-1640 por centrifugación (1.000 rpm, 5 minutos a 4°C).
- El medio es aspirado y sustituido con anticuerpo anti-HLA-DR murino y seguidamente se diluye 1:3 en medio RPMI-1640. La suspensión se incuba durante 30 minutos sobre hielo y se mezcla frecuentemente.
- Las células se lavan 2 veces con RPMI-1640 frío y seguidamente se centrifugan

(1.000 rpm, 5 minutos a 4°C) y las células se transfieren seguidamente a un tubo de centrifugadora estéril de 15 ml. Se cuenta el número de células mononucleares en una cámara de recuento Neubauer mejorada.

- Se sacan suficientes gránulos magnéticos (5/célula mononuclear), revestidos con
5 IgG anti-ratón de cabra (Dynal, Great Neck, NY) de su bote de almacenamiento y se colocan en 5 ml de medio de reciente aportación (esto retira por lavado el conservante tóxico de azida). El medio se retira inmovilizando los gránulos en un imán y se sustituye con medio de nueva aportación.
- Los gránulos se mezclan con las células y la suspensión se incuba durante 30
10 minutos sobre hielo. La suspensión se mezcla frecuentemente.
- Las células aplicadas como revestimiento sobre gránulos se inmovilizan sobre un imán y las células restantes (fracción rica en osteoclastos) se decantan en un tubo de centrifugadora estéril de 50 ml.
- Se añade medio de nueva aportación a las células revestidas sobre gránulos para
15 desalojar cualesquier osteoclastos atrapados. Este procedimiento de lavado se repite 10 veces. Las células revestidas sobre gránulos se desechan.
- Los osteoclastos viables se cuentan en una cámara de recuento, usando diacetato de fluoresceína para marcar las células vivas. Se usa una pipeta Pasteur de plástico desechable de orificio grande para añadir la muestra a la cámara.
- 20 ● Los osteoclastos se sedimentan por centrifugación y la densidad se ajusta al número apropiado en medio EMEM (el número de osteoclastos es variable de un tumor a otro), complementado con suero de ternera fetal al 10% y 1,7 g/litro de bicarbonato de sodio.
- Los osteoclastos derivados de osteoclastomas se preincuban con compuesto (4
25 dosis) o testigos a 37°C durante 30 minutos.
- Las células se siembran seguidamente en cortes revestidos con osteopontina (osteopontina humana o de rata, 2,5 µg/ml) y se incuban durante 2 horas a 37°C.
- Se retiran células no adherentes lavando los cortes vigorosamente en solución salina tamponada con fosfato y las células que permanecían en los cortes se fijan en acetona.
- 30 ● Los osteoclastos se tiñen para fosfatasa ácida resistente a tartrato (TRAP), un marcador selectivo para células de este fenotipo (véanse las etapas 15-17, y se cuentan por microcopia óptica. Los resultados se expresan como % de la adhesión comparado con un

46

testigo de vehículo.

Ensayo de adhesión a células

5 Células y cultivos celulares

Se obtuvieron células de riñón embrionario humano (células HEK293) a partir de la ATCC (catálogo n° CRL 1573). Las células se hicieron crecer en medio esencial mínimo de Earl (EMEM) que contenía sales de Earl, 10% de suero bovino fetal, 1% de glutamina y 1% de penicilina-estreptomicina.

10

Construcciones y transfecciones

Un fragmento de EcoRI-KpnI de 3,2 kb de la subunidad α_v y un fragmento de XbaI-XhoI de 2,4 kb de la subunidad β_3 se insertaron en los sitios de clonación EcoRI-EcoRV del vector pCDN (Aiyar et al., 1994) que contiene un promotor CMV y un
15 marcador seleccionable G418 por ligadura a extremos romos. Para una expresión estable, se electrotransformaron 8×10^6 células HEK 293 con construcciones $\alpha_v + \beta_3$ (20 μ g de DNA de cada subunidad) usando un dispositivo Gene Pulser (Hensley et al., 1994) y se dispusieron sobre placas en placas de 100 mm (5×10^5 células/placa). Después de 48 horas, el medio de crecimiento se complementó con 450 μ g/ml de Geneticina (G418 sulfato,
20 GIBCO-BRL, Bethesda, MD). Las células se mantuvieron en el medio de selección hasta que las colonias eran suficientemente grandes para ser sometidas a ensayo.

Análisis inmunocitoquímico de células transfectadas

Para determinar si los transfectantes de HEK 293 expresaban el receptor de
25 vitronectina, las células se inmovilizaron en placas inclinadas de vidrio para microscopio por centrifugación, se fijaron en acetona durante 2 minutos a TA y se secaron con aire. La reactividad específica con 23C6, un anticuerpo monoclonal específico para el complejo $\alpha_v\beta_3$, se determinó usando un método de inmunofluorescencia indirecta clásica.

30 Estudios de adhesión celular

Placas ELISA de 96 pocillos de Corning fueron pre-revestidas durante una noche a 4°C con 0,1 ml de vitronectina humana (0,2 μ g/ml en medio RPMI). En el momento del

27

experimento, las placas se lavaron una vez con medio RPMI y se bloquearon con 3,5% de BSA en medio RPMI durante 1 h a TA. Se volvieron a poner en suspensión 293 células transfectadas en medio RPMI, complementado con Hepes 20 mM, pH 7,4, y BSA al 0,1% a una densidad de $0,5 \times 10^6$ células/ml. Se añadió 0,1 ml de suspensión celular a cada pocillo y se incubó durante 1 h a 37°C en presencia o ausencia de diversos antagonistas de $\alpha_v\beta_3$. A continuación de la incubación, se añadieron 0,025 ml de una solución de formaldehído al 10%, pH 7,4, y las células se fijaron a TA durante 10 minutos. Las placas se lavaron 3 veces con 0,2 ml de medio RPMI y las células adherentes se tiñeron con 0,1 ml de azul de toluidina al 0,5% durante 20 minutos a TA. El tinte en exceso se separó mediante lavado intensivo con agua desionizada. El azul de toluidina incorporado en las células se eluyó mediante la adición de 0,1 ml de etanol al 50% que contenía HCl 50 mM. La adhesión celular se cuantificó a una densidad óptica de 600 nm en un lector de placas de microtitulación (Titertek Multiskan MC, Sterling, VA).

15 Ensayo de unión de $\alpha_v\beta_5$ en fase sólida:

El receptor de vitronectina $\alpha_v\beta_5$ se purificó a partir de placenta humana. La preparación del receptor se diluyó con Tris-HCl 50 mM, pH 7,5, NaCl 100 mM, CaCl_2 1 mM, MnCl_2 1 mM, MgCl_2 1 mM (tampón A) y se añadió inmediatamente a placas ELISA de 96 pocillos a 0,1 ml por pocillo. Se añadieron 0,1-0,2 μg de $\alpha_v\beta_3$ por pocillo. Las placas se incubaron durante una noche a 4°C. En el momento del experimento, los pocillos se lavaron una vez con tampón A y se incubaron con 0,1 ml de albúmina de suero bovino al 3,5% en el mismo tampón durante 1 h a TA. A continuación de la incubación, los pocillos se aspiraron completamente y se lavaron dos veces con 0,2 ml de tampón A.

En un ensayo de competición de $[\text{H}^3]$ -SK&F-107260, se añadieron diversas concentraciones de antagonistas sin marcar (0,001-100 μM) a los pocillos, y seguidamente se añadió $[\text{H}^3]$ -SK&F-107260 5,0 nM. Las placas se incubaron durante 1 h a TA. A continuación de la incubación, los pocillos se aspiraron completamente y se lavaron una vez con 0,2 ml de tampón A enfriado en hielo en una manera de pocillo a pocillo. Los receptores se solubilizaron con 0,1 ml de SDS al 1% y el $[\text{H}^3]$ -SK&F-107260 unido se determinó por recuento del centelleo del líquido con la adición de 3 ml de "Ready Safe" en un contador de centelleo del líquido Beckman LS 6800, con un 40% de eficacia. La unión no específica de $[\text{H}^3]$ -SK&F-107260 se determinó en presencia de SK&F-107260 2 μM y era consistente-

- mente menor que 1% del aporte total del radioligando. La IC_{50} (concentración del antagonista para inhibir un 50% de la unión de $[H^3]$ -SK&F-107260) se determinó mediante una rutina de ajuste de la curva por mínimos cuadrados, no lineal, que se modificó a partir del programa LUNDON-2. La K_i (constante de disociación del antagonista) se calculó según la ecuación de Cheng y Prusoff: $K_i = IC_{50}/(1 + L/K_d)$, en la que L y K_d eran la concentración y la constante de disociación de $[H^3]$ -SK&F-107260, respectivamente.

Inhibición de unión de GPIIb-IIIa mediada por RGD

10 Purificación de GPIIb-IIIa

- Se lisaron diez unidades de plaquetas humanas lavadas y caducadas (obtenidas de la Cruz Roja) mediante agitación suave en octilglucósido al 3%, Tris-HCl 20 mM, pH 7,4, NaCl 140 mM, $CaCl_2$ 2 mM a 4°C durante 2 h. El lisado se centrifugó a 100.000 g durante 1 h. La materia sobrenadante obtenida se aplicó a una columna 4B de lentil-lectina-sefarosa de 5 ml (Laboratorios E. Y.) previamente equilibrada con Tris 20 mM-HCl, pH 7,4, NaCl 100 mM, $CaCl_2$ 2 mM y octilglucósido al 1% (tampón A). Después de 2 h de incubación, la columna se lavó con 50 ml de tampón A frío. El GPIIb-IIIa retenido en lectina se eluyó con tampón A que contenía dextrosa al 10%. Todos los procedimientos se realizaron a 4°C. El GPIIb-IIIa obtenido era >95% puro según se mostró mediante electroforesis de gel de poliacrilamida SDS.

Incorporación de GPIIb-IIIa en liposomas

- Una mezcla de fosfatidilserina (70%) y fosfatidilcolina (30%) (Avanti Polar-Lipids) se secó en las paredes de un tubo de vidrio bajo una corriente de nitrógeno. El GPIIb-IIIa purificado se diluyó hasta una concentración final de 0,5 mg/ml y se mezcló con los fosfolípidos en una relación proteínas:fosfolípidos de 1:3 (p:p). La mezcla se volvió a poner en suspensión y se sonicó en un baño sonicador durante 5 minutos. La mezcla se dializó seguidamente durante una noche usando tubos de diálisis de cortes de peso molecular de 12.000-14.000 frente a un exceso de 1.000 veces de Tris 50 mM-HCl, pH 7,4, NaCl 100 mM, $CaCl_2$ 2 mM (con dos cambios). Los liposomas que contenían GPIIb-IIIa se centrifugaron a 12.000 g durante 15 minutos y se volvieron a poner en suspensión en el tampón de diálisis a una concentración final de proteínas de aproximadamente 1 mg/ml. Los

liposomas se almacenaron a -70°C hasta que se necesitaron.

Unión competitiva a GPIIb-IIIa

La unión del receptor de fibrinógeno (GPIIb-IIIa) se ensayó mediante un método de unión competitiva indirecta usando $[\text{H}^3]$ -SK&F-107260 como un ligando de tipo RGD. El ensayo de unión se realizó en un conjunto de placas de filtración de 96 pocillos (Millipore Corporation, Bedford, MA) usando membranas de durapore hidráulicas de $0,22\ \mu\text{m}$. Los pocillos se revistieron previamente con $0,2\ \text{ml}$ de polilisina de $10\ \mu\text{g/ml}$ (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) a TA durante $1\ \text{h}$ para bloquear la unión no específica. Se añadieron diversas concentraciones de benzazepinas sin marcar a los pocillos por cuadruplicado. Se aplicó $[\text{H}^3]$ -SK&F-107260 a cada pocillo a una concentración final de $4,5\ \text{nM}$, y seguidamente se añadió $1\ \mu\text{g}$ de los liposomas que contenían GPIIb-IIIa de plaquetas purificadas. Las mezclas se incubaron durante $1\ \text{h}$ a TA. El $[\text{H}^3]$ -SK&F-107260 unido a GPIIb-IIIa se separó del no unido por filtración usando un distribuidor de filtración Millipore, y lavando seguidamente con tampón enfriado en hielo (2 veces, cada una de $0,2\ \text{ml}$). La radioactividad de unión restante sobre los filtros se contó en $1,5\ \text{ml}$ de "Ready Solve" (Beckman Instruments, Fullerton, CA) en un contador de centelleo del líquido Beckman (modelo LS6800) con un 40% de eficacia. La unión no específica se determinó en presencia de SK&F-107260 sin marcar $2\ \mu\text{M}$ y era consistentemente menor que $0,14\%$ de la radioactividad total añadida a las muestras. Todos los puntos de datos son la media de determinaciones por cuadruplicado.

Se analizaron los datos de unión de competición mediante un procedimiento de ajuste de la curva por mínimos cuadrados, no lineal. Este método proporciona la IC_{50} de los antagonistas (concentración del antagonista que inhibe la unión específica de $[\text{H}^3]$ -SK&F-107260 en 50% en el equilibrio). La IC_{50} está relacionada con la constante de disociación de equilibrio (K_i) del antagonista basada en la ecuación de Cheng y Prusoff: $K_i = \text{IC}_{50} / (1 + \text{L}/K_d)$, en la que L es la concentración de $[\text{H}^3]$ -SK&F-107260 usada en el ensayo de unión competitiva ($4,5\ \text{nM}$) y K_d es la constante de disociación de $[\text{H}^3]$ -SK&F-107260 que es $4,5\ \text{nM}$ según se determina mediante un análisis de Scatchard.

Los compuestos preferidos de esta invención tienen una afinidad por el receptor de vitronectina con relación al receptor de fibrinógeno mayor que 10:1. Los compuestos más

preferidos tienen una relación de actividad mayor que 100:1.

La eficacia de los compuestos de fórmula (I) solos o en combinación con un agente antineoplástico se puede determinar usando diversos modelos de tumores de ratón trasplantables. Véanse las patentes de EE.UU. n° 5.004.758 y 5.633.016 para detalles de
5 estos modelos.

Los ejemplos que siguen no están destinados en modo alguno a limitar el alcance de esta invención, sino que se proporcionan para ilustrar el modo de preparar y usar los compuestos de esta invención. Muchas otras realizaciones serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica.

10

General

Los espectros de resonancia magnética nuclear (H^1 RMN) se registraron a 250, 300 ó 400 MHz. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (ppm) campo abajo del patrón interno de tetrametilsilano (TMS). Las abreviaturas para los datos de RMN
15 son como sigue: s=singlete, d=doblete, t=triplete, q=cuartete, m=multiplete, dd=doblete de dobletes, dt=doblete de tripletes, app=aparente, br=ancho. J indica la constante de acoplamiento de RMN medida en hertzios. $CDCl_3$ es deuterocloroformo, $DMSO-d_6$ es hexadeuterodimetilsulfóxido y CD_3OD es tetradeuterometanol. Los espectros infrarrojos (IR) se registraron en el modo de transmisión, y las posiciones de la banda se expresan en
20 longitudes de onda inversas (cm^{-1}). Los espectros de masas se obtuvieron usando técnicas de ionización por electropulverización (ES) o FAB (bombardeo con átomos rápidos). Los análisis elementales se realizaron en el mismo lugar o por Quantitative Technologies Inc., Whitehouse, NJ. Los puntos de fusión se tomaron en un aparato de puntos de fusión Thomas-Hoover y están sin corregir. Todas las temperaturas se expresan en grados Celsius.

25 Se usaron placas de capa fina Analtech Silical Gel GF y E. Merck Silical Gel 60 F-254 para la cromatografía de capa fina. Se llevaron a cabo cromatografías tanto rápida como de gravedad en gel de sílice E. Merck Kieselgel 60 (malla 230-400). La HPLC analítica y preparativa se llevaron a cabo en cromatógrafos Rainin o Beckman. ODS se refiere a un soporte cromatográfico de gel de sílice derivado de octadecilsililo. Apex-ODS de 5 μ indica
30 un soporte cromatográfico de gel de sílice derivado de octadecilsililo que tiene un tamaño de partículas nominal de 5 μ , fabricado por Jones Chromatography, Littleton, Colorado. YMC ODS-AQ® es un soporte cromatográfico de ODS y es una marca registrada de la

empresa YMC Co. Ltd., Kyoto, Japón. PRP-1® es un soporte cromatográfico polímero (estireno-divinilbenceno), y es una marca registrada de la empresa Hamilton Co., Reno, Nevada. Celite® es un adyuvante de filtración compuesto de sílice de diatomeas lavada con ácido, y es una marca registrada de Manville Corp., Denver, Colorado.

5

Preparación 1

Preparación de 6-(metilamino)-2-piridiletanol

10 a) 2-(terc-Butoxicarbonilamino)-6-picolina.

Una solución de 2-amino-6-picolina (21,63 g, 200 mmoles) y bicarbonato de di-
terc-butilo (52,38 g, 240 mmoles) en CH_2Cl_2 (200 ml) se concentró en el evaporador
rotatorio a 50°C, y el residuo resultante se dejó rotar en el evaporador rotatorio a 50°C bajo
vacío. Después de 21,5 h, la reacción se diluyó con hexano (400 ml) y se filtró a través de
15 gel de sílice (hexano seguido de 20% de EtOAc/hexano). Una concentración dejó el
compuesto del título (41,84 g, cuantitativo) en forma de un aceite amarillo claro que
solidificó gradualmente en reposo: ^1H -RMN (250 MHz, CDCl_3) δ 7,71 (d, $J=8,3$ Hz, 1H),
7,40-7,65 (m, 2H), 6,80 (d, $J=7,5$ Hz, 1H), 2,43 (s, 3H), 1,50 (s, 9H); MS (ES) m/e 153 (M
+ H - C_4H_9)⁺.

20

b) 2-[(terc-Butoxicarbonil)metilamino]-6-picolina

Se añadió NaH (60% en aceite mineral, 3,60 g, 90 mmoles) en partes durante
varios minutos a una solución de 2-(terc-butoxicarbonilamino)-6-picolina (15,62 g, 75
mmoles) y yodometano (9,3 ml, 150 mmoles) en DMSO anhidro (75 ml) a 15°C (baño de
25 agua fría). La temperatura interna se elevó a 35°C. Cuando cesó el desprendimiento
gaseoso, el baño de agua fría se retiró y la reacción se dejó agitar a TA. Después de 0,5 h,
la mezcla amarilla oscura se vertió en hielo/ H_2O (300 ml) y se extrajo con Et_2O (3 x 300 ml).
Las capas orgánicas combinadas se lavaron secuencialmente con H_2O (2 x 75 ml) y salmuera
(75 ml). El secado (MgSO_4) y la concentración dejaron un aceite amarillo que se
30 cromatografió sobre gel de sílice (7% EtOAc/hexano). El compuesto del título (13,01 g,
78%) se obtuvo en forma de un aceite débilmente amarillo: ^1H -RMN (250 MHz, CDCl_3) δ
7,51 (app t, 1H), 7,37 (d, $J=8,2$ Hz, 1H), 6,86 (d, $J=7,2$ Hz, 1H), 3,38 (s, 3H), 2,49 (s, 3H),

1,50 (s, 9H); MS (ES) m/e 223 (M+H)⁺.

c) 6-[(terc-Butoxicarbonil)metilamino]-2-piridilacetato de etilo

Se preparó LDA a 0°C bajo argón a partir de diisopropilamina (19,5 ml, 139,14
5 mmoles) y n-BuLi 2,5 M en hexano (46,4 ml, 115,95 mmoles) en THF seco (350 ml). Esta
solución se enfrió a -78°C y se añadió gota a gota una solución de 2-[(terc-
butoxicarbonil)metilamino]-6-picolina (10,31 g, 46,38 mmoles) en THF seco (46 ml)
durante 10 minutos. Se usó THF seco adicional (2 ml) en la transferencia. La solución color
naranja se agitó a -78°C durante 15 minutos y seguidamente se añadió rápidamente
10 carbonato de dietilo (6,2 ml, 51,02 mmoles). La solución roja se agitó a -78°C durante 15
minutos, seguidamente se inactivó con NH₄Cl semisaturado (175 ml). La mezcla se calentó
a +5°C y se extrajo con EtOAc (175 ml) y seguidamente con CH₂Cl₂ (2 x 100 ml). Las fases
orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 ml), se secaron (MgSO₄) y se
concentraron. El aceite amarillo nebuloso se cromatografió sobre gel de sílice (15%
15 EtOAc/hexano) para proporcionar el compuesto del título (10,72 g, 79%) en forma de un
aceite amarillo luminoso: H¹-RMN (250 MHz, CDCl₃) δ 7,51-7,63 (m, 2H), 6,91-7,03 (m,
1H), 4,19 (q, J=7,1 Hz, 2H), 3,77 (s, 2H), 3,38 (s, 3H), 1,27 (t, J=7,1 Hz, 3H), 1,51 (s, 9H);
MS (ES) m/e 295 (M+H)⁺.

20 d) 6-[(terc-butoxicarbonil)metilamino]-2-piridiletanol

Una solución de LiBH₄ 2 N en THF (7 ml, 14 mmoles) se añadió por medio de una
jeringa a una solución agitada de 6-[(terc-butoxicarbonil)metilamino]-2-piridilacetato de
etilo (6,97 g, 23,7 mmoles) en THF anhidro (30 ml) bajo argón. La reacción se calentó
seguidamente de forma lenta hasta reflujo (exotermia inicial). Después de 16 h a reflujo, la
25 reacción se enfrió a 0°C y se inactivó cuidadosamente con agua (50 ml). La mezcla se
extrajo con EtOAc (150 ml), y la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (Na₂SO₄) y
se concentró. Una purificación por cromatografía rápida sobre gel de sílice (35%
EtOAc/hexano) proporcionó el compuesto del título (5,26 g, 88%) en forma de un aceite
transparente: H¹-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,57 (m, 2H), 6,88 (d, J=7,2 Hz, 1H), 4,01 (t,
30 2H), 3,39 (s, 3H), 3,00 (t, 2H), 1,53 (s, 9H); MS (ES) m/e 253,2 (M+H)⁺.

e) 6-(Metilamino)-2-piridiletanol

A 6-[(*tert*-butoxicarbonil)metilamino]-2-piridiletanol (17,9 g, 71 mmoles) se añadió una solución de HCl 4 N en dioxano (200 ml). La reacción se agitó a TA durante 1 h (se observó un suave desprendimiento gaseoso) y seguidamente se concentró hasta sequedad. El producto como la sal de hidrocloreuro solidificó bajo vacío. El sólido se disolvió en NaCl-solución saturada de NaOH 1,0 N (75 ml) y la solución se extrajo con Et₂O (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron para proporcionar el compuesto del título (9,12 g, 85%) en forma de un sólido céreo: ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,37 (t, 1H), 6,42 (d, J=7,3 Hz, 1H), 6,27 (d, J=8,3 Hz, 1H), 4,62 (br, s, 1H), 3,96 (t, 2H), 2,90 (d, J=5,2 Hz, 3H), 2,84 (t, 2H); MS (ES) m/e 153 (M+H)⁺.

Preparación 2

Preparación de 2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)-1-etanol

15

a) 2-(Pivaloilamino)piridina

A una solución de 2-aminopiridina (94,12 g, 1 mol) y Et₃N (167,3 ml, 1,2 moles) en CH₂Cl₂ (1 litro) se añadió cloruro de pivaloilo (135,5 ml, 1,1 mol) gota a gota a 0°C. La mezcla se dejó calentar a TA a medida que se calentaba el baño. Después de 18 h, la mezcla se filtró. El filtrado se lavó secuencialmente con H₂O (1,5 litros) y NaHCO₃ saturado (2 x 1,5 litros), después se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (183 g, 103%) como un sólido blanquecino: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,28 (m, 2 H), 8,00 (s ancho, 1 H), 7,70 (m, 1 H), 7,03 (m, 1 H), 1,31 (s, 9 H); MS (ES) m/e 179 (M + H)⁺.

25

Nota: ¹H NMR indicó la presencia de una pequeña cantidad de impurezas que contenían *tert*-butilo, pero el material es lo suficientemente puro para usarlo en la etapa siguiente.

b) 2-(Pivaloilamino)-3-piridinacarboxaldehído

30

A una solución de 2-(pivaloilamino)piridina (17,8 g, 100 mmol) en THF seco (250 ml) a -20°C se añadió n-BuLi (solución 25 M en hexano, 100 ml, 250 mmol) gota a gota a lo largo de 30 min. Después de 2 h, se añadió gota a gota DMF (21 ml, 275 mmol) a lo

119

largo de 30 min. La mezcla se dejó calentar a TA mientras se calentaba el baño. Después de 18 h, se extinguió la reacción por adición de NH_4Cl saturado (300 ml), y la mezcla resultante se extrajo con EtOAc (3 x 400 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4) y concentraron para dar el compuesto del título como una mezcla 2:1 con 2-
5 (pivaloilamino)piridina (22 g). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 10,95 (s ancho, 1 H), 9,95 (s, 1 H), 8,69 (m, 1 H), 8,02 (m, 2 H), 7,20 (m, 1 H), 1,38 (s, 9 H); MS (ES) m/e 207 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$.

Nota: El procedimiento anterior se repitió utilizando 1-formilpiperidina (30,5 ml, 275 mmol)
10 en lugar de DMF para dar el compuesto del título como una mezcla 4:1 con 2-(pivaloilamino)piridina (21 g).

c) 2-Amino-3-piridinacarboxaldehído

Se disolvió 2-pivaloilamino)-3-piridinacarboxaldehído (procedente de la etapa b,
15 43 g) en HCl 3 M (500 ml), y la solución se calentó a reflujo. Después de 18 h, la mezcla se enfrió a TA y el pH se ajustó cuidadosamente a 7 utilizando K_2CO_3 sólido. La solución acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 500 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4) y concentraron para dar el compuesto del título (24,57 g, 101%) como un sólido pardo rojizo: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,85 (s, 1 H), 8,24 (m, 1 H), 7,80 (m, 1 H),
20 6,90 (s ancho, 2 H), 6,74 (m, 2 H); MS (ES) m/e 123 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$.

d) 2-Metil-1,8-naftiridina

A una solución de 2-amino-3-piridinacarboxaldehído (procedente de la etapa c, 24,57 g) en acetona (750 ml) se añadió prolina (2,3 g, 20 mmol), y después la mezcla se
25 calentó a reflujo. Después de 48 h, la mezcla se enfrió a TA, se filtró y se concentró. La cromatografía instantánea en columna sobre gel de sílice (35% de acetona/hexano) dio el compuesto del título (18,5 g, 64% a lo largo de 3 etapas) como un sólido amarillo anaranjado: ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 9,07 (m, 1 H), 8,10 (m, 2 H), 7,40 (m, 2 H), 2,80 (s, 3 H); MS (ES) m/e 145 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$.

30

e) 2-Metil-5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridina

Una mezcla de 2-metil-1,8-naftiridina (18,5 g, 128 mmol), 10% de Pd/C (5 g) y

EtOH absoluto (150 ml) se agitó por balanceo en hidrógeno (1,05 kg/cm²) en un aparato Parr. Después de 24 h, la mezcla se filtró a través de celite®, y el lecho del filtro se lavó secuencialmente con EtOH absoluto y EtOAc. El filtrado se concentró a sequedad para dar el compuesto del título (18,85 g, 99%) como un sólido blanquecino: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,02 (d, J = 7,5 Hz, 1 H), 6,34 (d, J = 7,5 Hz, 1 H), 4,80 (s ancho, 1 H), 3,38 (m, 2 H), 2,74 (m, 2 H), 2,30 (s, 3 H), 1,88 (m, 2 H); MS (ES) m/e 149 (M + H)⁺.

f) 2-Metil-8-(*terc*-butoxicarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridina

A una solución de 2-metil-5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridina (23,32 g, 157 mmol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (44,74 g, 205 mmol) en THF seco (750 ml) a 0°C se añadió LiHMDS (solución 1,0 M en THF, 205 ml, 205 mmol) gota a gota. Treinta minutos después de completarse la adición, se extinguió la reacción por adición de NH₄Cl saturado (500 ml) y se extrajo la mezcla con EtOAc (3 x 500 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y concentraron a presión reducida. La cromatografía instantánea en columna sobre gel de sílice (40% de EtOAc/hexano) dio el compuesto del título (32,3 g, 83%) como un aceite amarillo claro: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,27 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 6,81 (d, J = 7,6 Hz, 1 H), 3,69 - 3,79 (m, 2 H), 2,65 - 2,75 (m, 2 H), 2,48 (s, 3 H), 1,83 - 1,98 (m, 2 H), 1,52 (s, 9 H); MS (ES) m/e 249 (M + H)⁺.

g) [8-(*terc*-butoxicarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il]acetato de etilo

A una solución de diisopropilamina (47,7 ml, 364 mmol) en THF seco (250 ml) a 0°C se añadió n-BuLi (2,5 M en hexano, 145,6 ml, 364 mmol) gota a gota. Después de 15 min, se añadió gota a gota esta solución a una solución de 2-metil-8-(*terc*-butoxicarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridina (32,3 g, 130 mmol) y carbonato de dietilo (56,8 ml, 481 mmol) en THF seco (400 ml) a -78°C. Después de 30 min, se extinguió la reacción por adición de NH₄Cl saturado (500 ml), y la mezcla se calentó a la TA y se extrajo con EtOAc (3 x 500 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron a presión reducida. El secado a alto vacío durante una noche dio el compuesto del título 42,52 g, 102%) como un aceite amarillo claro: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,35 (d, J = 7,5 Hz, 1 H), 6,96 (d, J = 7,5 Hz, 1 H), 4,18 (t, 2 H), 3,75 (m, 4 H), 2,72 (t, 2 H), 1,91 (m, 2 H), 1,52 (s, 9 H), 1,24 (m, 3 H) MS (ES) m/e 321 (M + H)⁺.

Nota: $^1\text{H-NMR}$ indicó una pequeña cantidad de carbonato de dietilo presente en el producto, pero el material se suficientemente puro para uso en la siguiente etapa.

h) 2-(5,6,7,8-Tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)-1-etanol

5 A una solución de [8-(*tert*-butoxicarbonil)-5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il]acetato de etilo (42,52 g, 130 mmol) en THF seco (650 ml) a TA se añadió LiBH_4 (2,0 M en THF, 65 ml, 130 mmol) y la mezcla resultante se calentó a reflujo. Después de 18 h, la mezcla se enfrió a 0°C y la reacción se extinguió cuidadosamente con H_2O (300 ml). Después de 10 min, la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 500 ml). Los extractos orgánicos
10 combinados se secaron (MgSO_4), se filtraron y concentraron a presión reducida.

El residuo anterior se disolvió en CH_2Cl_2 (3 x 300 ml). A esta solución se añadió HCl 4 N en dioxano (300 ml) lentamente a TA. Después de 4 h, la mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se recogió en una mezcla 1:1 de NaOH 1,0 N y NaCl saturado (300 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se
15 secaron (MgSO_4), se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se recogió en Et_2O (250 ml) y se añadió gota a gota ácido fórmico al 96% (130 mmol). El sólido resultante se recogió por filtración y se lavó con Et_2O (2 x 50 ml). El sólido se disolvió en una mezcla 1:1 de NaOH 1,0 N y NaCl (300 ml) y la solución se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO_4), se filtraron y se
20 concentraron a presión reducida para dar el compuesto del título (11,1 g, 48% a lo largo de 4 etapas) como un sólido amarillo. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7,05 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 6,33 (d, $J = 7,6$ Hz, 1 H), 3,90 (t, 2 H), 3,39 (m, 2 H), 2,75 (t, 2 H), 2,70 (t, 2 H), 1,90 (m, 2 H); MS (ES) m/e 179 ($\text{M} + \text{H}$) $^+$.

25

Preparación 3

Preparación de ($\pm$)-4-(4-hidroxifenil)-3-[4-(trifluorometil)fenil]butanoato de etilo

a) N-Metoxi-N-metil-2-(4-metoxifenil)acetamida

30 A una solución de ácido 4-metoxifenilacético (3,3 g, 20 mmol) en DMF seca (75 ml) se añadió hidrocloreuro de N-metoxi-N-metilamina (1,95 g, 20 mmol), Et_3N (3,1 ml, 22 mmol), HOBt. H_2O (1,95 g, 22 mmol), y EDC (2,7 g, 22 mmol). La solución se agitó a TA

durante una noche, y después se concentró a vacío. El residuo se recogió en una solución de Na_2CO_3 al 5% (10 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y concentraron. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (3% de $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ para dar el compuesto del título (1,54 g, 37%) como un sólido blanco: MS (ES) m/e 210 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

b) 2-(4-(Metoxifenil)-1-[4-(trifluorometil)fenil]etanona

A una solución de *sec*-BuLi (1,3 M en THF, 22,6 ml, 29,5 mmol) en THF seco (50 ml) se añadió 4-bromobenzotrifluoruro (3,3 g, 14,7 mmol) en THF seco (20 ml) gota a gota a -78°C. Después de 20 min, se añadió gota a gota *N*-metoxi-*N*-metil-2-(4-metoxifenil)acetamida (1,5 g, 7,4 mmol) en THF seco (20 ml). Después de 1 h, se extinguió la reacción con NH_4Cl saturado (10 ml), se calentó a la TA y se extrajo con Et_2O (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y concentraron. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (15% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (2,2 g, 100%) como un sólido amarillento: TLC (1,5% de EtOAc/hexano) R_f 0,81; ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (d, $J = 8,2$ Hz, 2 H), 7,72 (d, $J = 8,2$ Hz, 2 H), 7,18 (d, $J = 8,7$ Hz, 2 H), 6,88 (d, $J = 8,7$ Hz, 2 H), 4,25 (s, 2 H), 3,79 (s, 3 H).

c) ($\pm$)-4-(4-metoxifenil)-3-[4-(trifluorometil)fenil]crotonato de etilo

A una suspensión de NaH al 60% (350 mg, 8,84 mmol) en tolueno anhidro (30 ml) se añadió gota a gota fosfonoacetato de trietilo (2,0 g, 8,84 mmol) en tolueno seco (20 ml) a TA. Después de 15 min, se añadió una solución de 2-(4-metoxifenil)-1-[4-(trifluorometil)fenil]etanona (1,3 g, 4,42 mmoles) en tolueno seco (15 ml), y la solución se calentó a reflujo. Después de 16 h, la reacción se extinguió por adición de NH_4Cl saturado (10 ml) y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron. Se obtuvo el compuesto del título (2,2 g, 56%, una mezcla de dos componentes) como un aceite amarillo claro: TLC (5% de EtOAc/hexano) R_f 0,42, 0,44. Este material se utilizó sin más purificación.

d) ($\pm$)-4-(4-Metoxifenil)-3-[4-(trifluorometilfenil)]butanoato de etilo

A una suspensión de 10% de Pd/C (600 mg) en EtOH absoluto (50 ml) se añadió ($\pm$)-4-(4-metoxifenil)-3-[4-(trifluorometil)fenil]crotonato de etilo (2,2 g, 6 mmol), y la

mezcla se agitó con movimiento oscilatorio en un aparato Parr a TA en H₂ (3,5 kg/cm²). Después de 4 h, la mezcla se filtró a través de un lecho de celite® y el filtrado se concentró. Esta secuencia de reacción se repitió tres veces. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (35% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (900 mg, 56%) como un
 5 aceite: TLC (5% de EtOAc/hexano) R_f 0,46; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,51 (d, J = 8,2 Hz, 2 H), 7,24 (d, J = 8,2 Hz, 2 H), 6,94 (d, J = 8,7 Hz, 2 H), 6,76 (d, J = 8,7 Hz, 2 H), 3,99 (q, J = 7,1 Hz, 2 H), 3,76 (s, 3 H), 3,35 - 3,50 (m, 1 H), 2,75 - 2,93 (m, 2 H), 2,69 (dd, J = 15,6, 6,4 Hz, 1 H), 2,60 (dd, J = 15,6, 8,9 Hz, 1 H), 1,11 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

10 e) (±)-4-(4-hidroxifenil)-3-[4-(trifluorometil)fenil]butanoato de etilo

A una solución de (±)-4-(4-metoxifenil)-3-[4-(trifluorometil)fenil]butanoato de etilo (450 mg, 1,23 mmol) en CH₂Cl₂ (5 ml) se añadió BBr₃ (1,5 ml, 1,48 mmol) a -10°C. Después de 3 h, la reacción se extinguió cuidadosamente con EtOH (10 ml) y la solución se dejó calentar a TA. La mezcla se concentró y el residuo se cromatografió sobre gel de
 15 sílice (20% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (270 mg, 63%) como un aceite amarillo: TLC (20% de EtOAc/hexano) R_f 0,22.

Preparación 4

20 **Preparación de (±)-3-[4-carboxi-1,3-oxazol-2-il]-4-[4-[(*tert*-butiloxicarbonil)oxi]-fenil]butanoato de metilo**

a) 4-Bromo-1-(triisopropilsililo)benzeno

A una solución de 4-bromofenol (17,3 g, 100 mmol) en DMF seca (100 ml) a TA se añadió imidazol (13,62 g, 200 mmol), seguido por cloruro de triisopropilsililo (22,5 ml,
 25 105 mmol). Después de 4 h, la mezcla se diluyó con H₂O (50 ml) y se extrajo con hexano (3 x 75 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para dar el compuesto del título (32,23 g, 100%) como un aceite claro que se utilizó sin purificación: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,29 (d, J = 6 Hz, 2 H), 6,71 (d, J = 6 Hz, 2 H), 1,22 (m, 3 H), 1,09 (m, 18 H).

30

b) 3-(Benciloxicarbonil)-3-butenato de metilo

Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (32,8 ml, 166 mmol) a una solución de

3-carboxi-3-butenato de metilo (20 g, 139 mmol), alcohol bencílico (17,2 mg, 166 mmol), y trifenilfosfina (43,7 g, 166 mmol) en THF anhidro (500 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a medida que se calentaba el baño a la TA. Después de 3 h la mezcla se concentró y el residuo se cromatografió sobre gel de sílice (10% de EtOAc/hexano). El compuesto del
5 título (29,46 g, 91%) se obtuvo como un aceite incoloro: $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7,35 (m, 5 H), 6,48 (s, 1 H), 5,20 (s, 2 H), 3,63 (s, 3 H), 3,37 (s, 2 H).

c) ($\pm$)-4-(4-triisopropilsililoxifenil)-3-carboxibutanoato de metilo

Se desoxigenó (3 x ciclos de evacuación/purga con N_2) una solución de 4-bromo-
10 1-(triisopropilsililoxi)benceno (33,23 g, 100 mmol), 3-(benciloxicarbonil)-3-butenato de metilo (28,11 g, 120 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (2,24 g, 10 mmol), $\text{P}(\text{o-tolil})_3$ (6,09 g, 20 mmol) y $(\text{i-Pr})_2\text{NEt}$ (34,8 ml, 200 mmol) en propionitrilo (350 ml). Después de 18 h, la mezcla se concentró y el residuo se cromatografió sobre gel de sílice (10% de EtOAc/hexano) para dar un aceite amarillo. El aceite se recogió en 5% de EtOAc/hexano (100 ml) y la solución se
15 dejó estar a TA. Después de 72 h, la mezcla se filtró y el filtrado se concentró para dar ($\pm$)-4-(4-triisopropilsililoxifenil)-3-(benciloxicarbonil)-3-butenato de metilo como una mezcla de isómeros olefinicos. Esto se utilizó inmediatamente en la etapa siguiente.

La mezcla anterior de olefinas se dividió en dos partes. Cada parte se hizo reaccionar de la siguiente manera y luego se combinaron después de la filtración: A una
20 suspensión de 10% de Pd/C (7,4 g) en EtOAc (100 ml) se añadió la mezcla anterior de olefinas. La mezcla se desoxigenó (3 x ciclos de evacuación/purga con N_2) y después se cargó con H_2 (3,5 kg/cm^2). Después de 4 h, el H_2 se separó y la mezcla se filtró a través de un lecho de celite®. El filtrado se concentró para dar el compuesto del título (24,64 g, 89% de 4-bromo-1-(triisopropilsililoxi)benceno) como un aceite claro: $^1\text{H NMR}$ (300 MHz,
25 CDCl_3) δ 7,01 (d, $J = 6$ Hz, 2 H), 6,80 (d, $J = 6$ Hz, 2 H), 3,62 (s, 3 H), 3,05 (m, 2 H), 2,65 (m, 1 H), 2,40 (m, 2 H), 1,21 (m, 3 H), 1,09 (m, 18 H).

d) Éster bencílico de ($\pm$)-N-[2-[4-(triisopropilsililoxi)-bencil]-3-(carbometoxi)-propionil]serina

30 A una solución de ($\pm$)-3-carboxi-4-[4-(triisopropilsililoxi)fenil]butanoato de metilo (5,00 g, 12,67 mmol) en DMF seca (60 ml) a TA se añadió hidrocloreto de éster bencílico de serina (3,52 g, 15,21 mmol), HOBt (2,06 g, 15,21 mmol), Et_3N (5,3 ml, 38,01 mmol)

52

y EDC (2,92 g, 15,21 mmol). Después de 18 h, la mezcla se concentró. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (EtOAc al 80%/hexano) para dar el compuesto del título (5,76 mg, 79%) como un aceite amarillo pálido: MS (ES) m/e 572 (M+H)⁺.

5 e) **(±)-3-[4-(benciloxycarbonil)-1,3-oxazolin-2-il]-4-[4-(tri-isopropilsililoxi)fenil]-butanoato de metilo**

A una solución de éster bencilico de (±)-N-[2-[4-(triisopropilsililoxi)bencil]-3-(carbometoxi)propionil]serina (5,76 g, 10,07 mmol) en THF seco (50 ml) se añadió reactivo de Burgess (2,88 g, 12,08 mmol) y después se calentó la mezcla a reflujo. Después de 2 h la mezcla se enfrió a TA y se concentró. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (35% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (4,45 g, 80%) como un aceite claro: MS (ES) m/e 554 (M+H)⁺.

15 f) **(±)-3-[4-(benciloxycarbonil)-1,3-oxazol-2-il]-4-[4-(triisopropilsililoxi)fenil]butanoato de metilo**

A una solución de (±)-3-[4-(benciloxycarbonil)-1,3-oxazolin-2-il]-4-[4-(triisopropilsililoxi)fenil]butanoato de metilo (4,45 g, 8,03 mmol) en CH₂Cl₂ (40 ml) a 0°C se añadió DBU (1,4 ml, 9,64 mmol), seguido por bromotriclorometano (0,95 ml, 9,64 mmol). La mezcla se dejó calentar a TA a medida que se calentaba el baño. Después de 18 horas, la mezcla se concentró. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (20% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (2,23 g, 50%) como un aceite claro: MS (ES) m/e 552 (M+H)⁺.

25 g) **(±)-3-[4-(benciloxycarbonil)-1,3-oxazol-2-il]-4-(4-hidro-xifenil)butanoato de metilo**

A una solución de (±)-3-[4-(benciloxycarbonil)-1,3-oxazol-2-il]-4-[4-(triisopropilsililoxi)fenil]butanoato de metilo (2,23 g, 4,04 mmol) en THF seco (20 ml) a 0°C se añadió una solución de TBAF en THF (1,0 M, 6,06 ml, 6,06 mmol). Después de 2 h la mezcla se diluyó con NH₄Cl saturado (10 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 15 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (40% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (1,4 g, 88%) como una espuma blanquecina: MS (ES) m/e 396 (M+H)⁺.

37

h) ($\pm$)-3-[4-(benciloxicarbonil)-1,3-oxazol-2-il]-4-[4-(*tert*-butiloxicarbonil)oxi]fenil]butanoato de metilo

A una solución de ($\pm$)-3-[4-(benciloxicarbonil)-1,3-oxazol-2-il]-4-(4-hidroxifenil)butanoato de metilo (700 mg, 1,77 mmol) y dicarbonato de di-*tert*-butilo (463 mg, 2,12 mmol) en THF seco (10 ml) se añadió piridina (0,17 ml, 2,12 mmol) a TA. Después de 18 h, la mezcla se concentró. El residuo se trituró con hexano, se filtró y se secó a vacío para dar el compuesto del título (765 mg, 87%) como un sólido blanco: MS (ES) *m/e* 496 ($M+H$)⁺.

10 i) ($\pm$)-3-[4-carboxi-1,3-oxazol-2-il]-4-[4-(*tert*-butiloxicarbonil)oxi]fenil]butenoato de metilo

Una mezcla de ($\pm$)-3-[4-(benciloxicarbonil)-1,3-oxazol-2-il]-4-[4-(*tert*-butiloxicarbonil)oxi]fenil]butanoato de metilo (765 mg, 1,54 mmol) y 10% de Pd/C (164 mg) en EtOH (20 ml) se desoxigenó (3 x ciclos de evacuación/purga con N₂) y luego se cargó con H₂ (3,5 kg/cm²). Después de 4 h se separó el H₂ y la mezcla se filtró a través de un lecho de celite®. El filtrado se concentró para dar el compuesto del título (659 mg, 100%) como un sólido blanco: MS (ES) *m/e* 811 (2M+H)⁺.

Preparación 5

20

Preparación de ($\pm$)-3-[4-(trifluorometil)tiazol-2-il]-4-(4-hidroxifenil)butanoato de metilo

a) 2-Cianometil-4-(trifluorometil)tiazol

25 Se combinaron 2-cianotioacetamida (1,00 g, 9,99 mmol) y 3-bromo-1-trifluoropropan-2-ona (1,04 ml, 9,99 mmol) en EtOH absoluto (50 ml) y se calentó a reflujo. Después de 18 h la mezcla se enfrió a TA y se concentró. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (15% de EtOAc/ hexano) para dar el compuesto del título (1,24 g) como una mezcla 2:1 con 2-cianoacetato de etilo: MS (ES) *m/e* 385 (2M+H)⁺.

30

b) 3-(4-Benciloxifenil)-2-[(4-trifluorometil)tiazol-2-il]acrilonitrilo

Se hizo reaccionar NaH (516 mg, dispersión al 60% en aceite mineral, 12,9 mmol)

con EtOH absoluto (10 ml) a 0°C. Después de cesar el desprendimiento de gas la mezcla se calentó a TA. Se añadió 4-benciloxibenzaldehído (2,05 g, 9,68 mmol), todo de una vez y en forma sólida. A esta mezcla, se añadió gota a gota una solución de 2-cianometil-4-(trifluorometil)tiazol (1,24 g) en EtOH absoluto (20 ml). La reacción se agitó durante 4 h, después el sólido se recogió por filtración y se lavó con hexano para dar el compuesto del título (1,64 g, 42% en 2 etapas) como un sólido amarillo: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,25 (s, 1 H), 8,00 (d, J = 6 Hz, 2 H), 7,79 (s, 1 H), 7,40 (m, 5 H), 7,10 (d, J = 6 Hz, 2 H), 5,18 (s, 2 H).

10 c) 3-(4-Benciloxifenil)-2-ciano-2-[(4-trifluorometil)tiazol-2-il]oxirano

A una solución de 3-(4-benciloxifenil)-2-[(4-trifluorometil)tiazol-2-il]acrilonitrilo (500 mg, 1,29 mmol) en CH₃CN (5 ml) se añadió alúmina neutra (1,3 g). Se añadió gota a gota clorox, un agente de blanqueo, (5 ml) a TA. Después de 1 h, la mezcla se filtró. El filtrado se diluyó con H₂O (20 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para dar el compuesto del título (425 mg, 82%) como un aceite amarillo, que era lo suficientemente puro como para utilizarlo en la siguiente etapa. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,90 (s, 1 H), 7,40 (m, 7 H), 7,06 (d, J = 6 Hz, 2 H), 5,10 (s, 2 H), 4,59 (s, 1 H).

20 d) 2-(4-Benciloxifenil)-1-[4-(trifluorometil)tiazol-2-il]etanona

A una solución de 3-(4-benciloxifenil)-2-ciano-2-[(4-trifluorometil)tiazol-2-il]oxirano (425 mg, 1,06 mmol) en CH₂Cl₂ (7 ml) se añadió Et₃SiH (0,85 ml, 5,3 mmol) y después BF₃.OEt₂ (0,39 ml, 3,17 mmol) gota a gota a 0°C. Después de 2 h la mezcla se vertió en H₂O (20 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y concentraron.

Al residuo anterior en THF seco (7 ml) se añadió una solución de TBAF en THF (1,0 M, 1,6 ml, 1,6 mmol) a 0°C. Después de 1 h, la mezcla se vertió en NH₄Cl saturado (20 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (5% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (167 mg, 40%) como un sólido blanco: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,05 (s, 1 H), 7,35 (m, 7 H), 6,92 (d, J = 6 Hz, 2 H), 5,05 (s, 2 H), 4,40 (s, 1 H).

e) (±)-3-[4-(trifluorometil)thiazol-2-il]-4-(4-hidroxifenil)butanoato de metilo

A una suspensión de NaH (35 mg, 0,88 mmol) en THF seco (2 ml) se añadió fosfonoacetato de trietilo (0,17 ml, 0,88 mmol) gota a gota a TA. Después de 15 minutos, se añadió gota a gota una solución de 2-(4-benciloxifenil)-1-[4-(trifluorometil)thiazol-2-il]etanona (167 mg, 0,44 mmol) en THF seco (2 ml) y la mezcla se calentó a reflujo. Después de 18 h la mezcla se enfrió a TA, la reacción se extinguió con NH_4Cl (10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron para dar (±)-3-[4-(trifluorometil)thiazol-2-il]-4-(4-benciloxifenil)crotonato de etilo como un aceite. Éste se utilizó sin purificación.

El (±)-3-[4-(trifluorometil)thiazol-2-il]-4-(4-benciloxifenil)crotonato de etilo (0,44 mmol, bruto) se disolvió en MeOH (4 ml) y se añadieron limaduras de magnesio (53 mg, 2,20 mmol) a TA. Después de 72 h la mezcla se vertió en HCl al 10% (75 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron para dar (±)-3-[4-(trifluorometil)thiazol-2-il]-4-(4-benciloxifenil)butanoato de metilo. Éste se utilizó sin purificación.

A una solución de (±)-3-[4-(trifluorometil)thiazol-2-il]-4-(4-benciloxifenil)butanoato de metilo (0,44 mmol, bruto) en EtSH (5 ml) a TA se añadió $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0,3 ml). Después de 18 h, se añadió otra porción de $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ (0,3 ml). Después de otras 18 h, la mezcla se enfrió a 0°C y la reacción se extinguió cuidadosamente con NaHCO_3 saturado. La mezcla resultante se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 25 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y concentraron. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (30% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (123 mg, 81% en 3 etapas) como un aceite amarillo: MS (ES) 346 ($\text{M}+\text{H}$)⁺.

25

Preparación 6

Preparación de (±)-3-(5-metiltiazol-2-il)-4-(4-hidroxifenil)butanoato de metilo

a) 4-(Benciloxi)fenilacetato de metilo

A una suspensión de K_2CO_3 (20,7 g, 150 mmol) en acetona (50 ml) se añadió 4-hidroxifenilacetato de metilo (5,0 g, 30 mmol) y cloruro de bencilo (10,4 ml, 90 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo. Después de 24 h la mezcla se enfrió a TA, se filtró y se

30

concentró. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (10% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (7,7 g, 100%) como un sólido blanco: $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7,40 (m, 5 H), 7,21 (d, $J = 6,6$ Hz, 2 H), 6,95 (d, $J = 6,6$ Hz, 2 H), 5,05 (s, 2 H), 3,70 (s, 3 H), 3,59 (s, 2 H).

5

b) 2-(4-Benciloxifenil)-1-(5-metiltiazol-2-il)etanona

A una solución de 5-metiltiazol (0,21 ml, 2,34 mmol) en THF seco (10 ml) se añadió gota a gota $n\text{-BuLi}$ (0,94 ml, solución 2,5 M en hexano, 2,34 mmol) a -78°C . Después de 15 min se añadió gota a gota 4-benciloxifenilacetato de metilo (0,5 g, 1,95 mmol) en THF seco (5 ml). Después de 30 min, la reacción se extinguió con NH_4Cl saturado (10 ml), la mezcla se calentó a TA y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (15% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título como un sólido blanco (532 mg, 51%): MS (ES) m/e 324 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

15

c) ($\pm$)-4-(4-benciloxifenil)-3-(5-metiltiazol-2-il)crotonato de etilo

A una suspensión de NaH (79 mg, 1,98 mmoles) en THF seco (2 ml) se añadió fosfonoacetato de trietilo (0,39 ml, 1,98 mmol) gota a gota a TA. Después de 15 min, se añadió gota a gota una solución de 2-(4-benciloxifenil)-1-(5-metiltiazol-2-il)etanona (320 mg, 0,99 mmol) en THF seco (3 ml), y la mezcla se calentó a reflujo. Después de 18 h, la mezcla se enfrió a TA, la reacción se extinguió con NH_4Cl saturado (10 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron. El aceite amarillo resultante se utilizó en la siguiente etapa sin purificación: MS (ES) m/e 394 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

25

d) ($\pm$)-3-(5-metiltiazol-2-il)-4-(4-benciloxifenil)butanoato de metilo

Se disolvió ($\pm$)-3-(5-metiltiazol-2-il)-4-(4-benciloxifenil)crotonato de etilo (0,99 mmol, bruto) en MeOH (5 ml) y se añadieron limaduras de magnesio (120 mg, 4,95 mmol) a TA. Después de 72 h, la mezcla se vertió en HCl al 10% (75 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 . Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron para dar el compuesto del título bruto. Éste se utilizó sin purificación: MS (ES) m/e 382 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

30

5

e) (±)-3-(5-Metiltiazol-2-il)-4-(4-hidroxifenil)butanoato de metilo

A una solución de (±)-3-(5-metiltiazol-2-il)-4-(4-benciloxifenil)butanoato de metilo (0,99 mmol, bruto) en EtSH (5 ml) a TA se añadió BF₃.OEt₂ (0,6 ml). Después de 18 h, se añadió más BF₃.OEt₂ (0,6 ml). Después de otras 18 h, la mezcla se enfrió a 0°C y la
5 reacción se extinguió cuidadosamente con NaHCO₃ saturado. La mezcla resultante se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 25 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (50% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (249 mg, 86% en 3 etapas) como un sólido amarillo: MS (ES) m/e 292 (M+H)⁺.

10

Preparación 7

Preparación de (4R,5S)-1-acriloil-3,4-dimetil-5-fenilimidazolidin-2-ona

A una solución de (4S,5R)-1,5-dimetil-4-fenil-2-imidazolidinona (45,0 g, 237 mmol)
15 y (i-Pr)₂NEt (62 ml, 355 mmol) en CH₂Cl₂ (1200 ml), se añadió CuCl (50 mg, 0,51 mmol) y después cloruro de acrililoilo (29 ml, 355 mmol), y la mezcla se calentó a reflujo. Después de 2 h, la mezcla se enfrió a TA, se lavó con H₂O (3 x 400 ml), se secó sobre MgSO₄, y se concentró. El sólido resultante se trituró con Et₂O (300 ml) y se recogió por filtración para dar el compuesto del título (45,15 g, 78%): ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,72 (dd, J =
20 17,0, 10,5 Hz, 1 H), 7,20 - 7,38 (m, 3 H), 7,10 - 7,20 (m, 2 H), 6,40 (dd, J = 17,0, 2,1 Hz, 1 H), 5,77 (dd, J = 10,4, 2,0 Hz, 1 H), 5,36 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 3,85 - 4,00 (m, 1 H), 2,85 (s, 3 H), 0,82 (d, J = 6,6 Hz, 3 H); MS (ES) m/e 245 (M + H)⁺.

Preparación 8

25

Preparación de bromuro de 4-metoxifenilmagnesio

Se añadió una solución de cloruro de 4-metoxibencilo (120 g, 766 mmol) en THF seco (1,0 litro) gota a gota a lo largo de 1,5 h a una mezcla de limaduras de magnesio (74 g, 3,04 mol) y I₂ (50 mg, 0,20 mmol) en THF seco (0,5 litros) a TA. Durante los 10
30 minutos iniciales de adición, se disipó el color pardo y la reacción se calentó. Una hora después de finalizar la adición, la reacción volvió a la TA. Una valoración volumétrica utilizando 1,10-fenantrolina indicó que la solución era reactivo de Grignard 0,36 M en THF.

Preparación 9

Preparación de (S)-3-(3-fluorofenil)-4-(4-hidroxifenil)butanoato de etilo

5 (a) (4R,5S)-3,4-Dimetil-1-[(E)-3-(3-fluorofenil)prop-2-enoil]-5-fenilimidazolidin-2-ona

Se desgasificó (3 x vacío/purga con N₂) una solución de 1-bromo-3-fluorobenceno (525 mg, 3 mmol), (4R,5S)-1-acrilol-3,4-dimetil-5-fenilimidazolidin-2-ona (500 mg, 2 mmol), Pd(OAc)₂ (22 mg, 0,10 mmol), P(o-tolil)₃ (61 mg, 0,20 mmol), y (i-Pr)₂NEt (0,73 ml, 4,2 mmol) en DMF seca (10 ml) y después se calentó a 110°C. Después de 2 h, la
10 mezcla se enfrió y se vertió en EtOAc. La mezcla resultante se lavó con H₂O (3x), y las capas acuosas combinadas se retroextrajeron con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron a través de un lecho de gel de sílice y se concentraron. El residuo se recogió en Et₂O/hexano 1:1 (10 ml) y se enfrió a -20°C durante una noche. El sólido se recogió y secó a vacío para dar el compuesto del título (514 mg, 76%): ¹H
15 NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,18 (d, J = 15,9 Hz, 1 H), 7,64 (d, J = 15,9 Hz, 1 H), 7,15 - 7,45 (m, 8 H), 6,98 - 7,10 (m, 1 H), 5,42 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 3,88 - 4,03 (m, 1 H), 2,88 (s, 3 H), 0,85 (d, J = 6,6 Hz, 3 H); MS (ES) m/e 339 (M + H)⁺.

20 (b) (4R,5S)-3,4-Dimetil-1-[(S)-3-(3-fluorofenil)-4-(4-metoxifenil)butanoil]-5-fenilimidazolidin-2-ona

Se añadió gota a gota una solución de bromuro de 4-metoxifenilmagnesio en THF (0,31 M, 14,7 ml, 4,56 mmol) a una suspensión agitada de (4R,5S)-3,4-Dimetil-1-[(E)-3-(3-fluorofenil)prop-2-enoil]-5-fenilimidazolidin-2-ona (514 mg, 1,52 mmol), complejo de CuBr.DMS (229 mg, 1,06 mmoles) y ZnCl₂ (582 mg, 1,82 mmol) en THF/tolueno (10 ml)
25 a -15°C. Después de 1,5 h, la reacción se extinguió con NH₄Cl y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron a sequedad. El residuo se recogió en Et₂O/hexano 1:1 y se enfrió a -20°C durante 18 h. El sólido se recogió, se lavó con Et₂O/hexano 1:1, y se secó a vacío para dar una primera cosecha del compuesto del título. El filtrado se concentró y el residuo se purificó por cromatografía
30 instantánea sobre gel de sílice (30% de EtOAc/hexano) para dar más compuesto del título como un aceite amarillo que solidificó a vacío. El rendimiento total del compuesto del título fue 0,62 g (91%): ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 6,75 - 7,37 (m, 13 H), 5,10 (d, J = 8,5

Hz, 1 H), 3,80 (s, 3 H), 3,65 - 3,85 (m, 1 H), 3,63 (dd, $J = 16,7, 9,6$ Hz, 1 H), 3,36 - 3,41 (m, 1 H), 3,14 (dd, $J = 16,7, 4,9$ Hz, 1 H), 2,72 - 2,88 (m, 2 H), 2,79 (s, 3 H), 0,74 (d, $J = 6,6$ Hz, 3 H).

5 (c) (S)-3-(3-fluorofenil)-4-(4-metoxifenil)butanoato de etilo

Se añadió una solución de NaOEt al 21% en EtOH (0,6 ml, 1,8 mmol) a una solución de (4R,5S)-3,4-dimetil-1-[(S)-3-(3-fluorofenil)-4-(4-metoxifenil)butanoil]-5-fenilimidazolidin-2-ona (620 mg, 1,38 mmol) en THF (10 ml). La reacción se agitó durante 1 h, después la reacción se extinguió con NH_4Cl saturado. La extracción con EtOAc, el
10 secado (MgSO_4) y la concentración dejaron un residuo que se filtró a través de un tapón de gel de sílice (15% de EtOAc/hexano). El filtrado se concentró para dar el compuesto del título (263 mg, 60%, como un aceite claro: $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7,13 - 7,35 (m, 1 H), 6,80 - 7,00 (m, 5 H), 6,70 - 6,80 (m, 2 H), 4,00 (q, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 3,81 (s, 3 H), 3,28 - 3,45 (m, 1 H), 2,83 (d, $J = 7,5$ Hz, 2 H), 2,65 (dd, $J = 15,4, 6,4$ Hz, 1 H), 2,56 (dd,
15 $J = 15,4, 8,7$ Hz, 1 H), 1,12 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H).

(d) (S)-3-(3-fluorofenil)-4-(4-hidroxifenil)butanoato de etilo

A una solución de (S)-3-(3-fluorofenil)-4-(4-metoxifenil)butanoato de etilo (263 mg, 0,83 mmol) en CH_2Cl_2 (5 ml) a -15°C se añadió etanotiol (0,30 ml, 4,16 mmol) seguido por
20 AlCl_3 (555 mg, 4,16 mmol). Después de 30 min, la mezcla se calentó a TA, se agitó durante 30 min más, y después se vertió sobre hielo. El hielo se dejó fundir y la mezcla se extrajo con CH_2Cl_2 (3x). El secado (MgSO_4) y la concentración dejaron un residuo que se filtró a través de un lecho de gel de sílice (30% EtOAc/hexano). La concentración del filtrado dio el compuesto del título (250 mg, cuantitativo): $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 7,10 - 7,35
25 (m, 1 H), 6,78 - 7,00 (m, 5 H), 6,58 - 6,78 (m, 2 H), 5,00 (s, 1 H), 4,00 (q, 2 H), 3,28 - 3,45 (m, 1 H), 2,83 (d, 2 H), 2,50 - 2,75 (m, 2 H), 1,17 (t, 3 H).

Preparación 10

30 Preparación de ($\pm$)-4-(4-hidroxifenil)-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo

(a) 2-(*terc*-Butildimetilsililo)-2-(piridin-3-il)acetonitrilo

A una solución de 3-piridinacarboxaldehído (1,0 g, 9,34 mmol) en CH₃CN (45 ml) se añadió KCN (6,0 g, 93 mmol), TBDMSCl (1,7 g, 11,21 mmol) y ZnI₂ (50 mg, 0,16 mmol). Después de 4 h a TA, la mezcla se filtró a través de celite® y el filtrado se concentró. La cromatografía instantánea sobre gel de sílice (25% de EtOAc/hexano) dio el compuesto del título (2,17 g, 94%) como un aceite claro: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,63 - 8,73 (m, 2 H), 7,80 - 7,87 (m, 1 H), 7,33 - 7,41 (m, 1 H), 5,57 (s, 1 H), 0,97 (s, 9 H), 0,27 (s, 3 H), 0,19 (s, 3 H).

(b) (±)-3-(4-Benciloxifenil)-2-(*tert*-butildimetilsililo)-2-(piridin-3-il)propionitrilo

Se preparó LDA por adición de n-BuLi (2,5 M en hexano, 1,93 ml, 4,83 mmol) a una solución de diisopropilamina (0,63 ml, 4,83 mmol) en THF seco (5 ml) a 0°C. La solución de LDA se añadió gota a gota a una solución de 2-(*tert*-butildimetilsililo)-2-(piridin-3-il)acetonitrilo (1,0 g, 4,03 mmol) en THF seco (15 ml) a -78°C. La solución se agitó durante 15 min, y después se añadió cloruro de 4-benciloxibencilo (1,41 g, 6,05 mmol) en forma de sólido y todo de una vez. La reacción se mantuvo a -78°C durante 15 min, y después se calentó a TA. Después de 30 min a TA, la reacción se extinguió con NH₄Cl acuoso saturado y se agitó durante 20 min. La extracción con EtOAc (3x), el secado (MgSO₄), la concentración y la cromatografía instantánea sobre gel de sílice (20% de EtOAc/hexano) dio el compuesto del título (769 mg, 43%) como un aceite amarillo: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,80 (m estrecho, 1 H), 8,67 - 8,70 (m, 1 H), 7,75 - 7,80 (m, 1 H), 7,33 - 7,53 (m, 6 H), 7,08 (d, 2 H), 6,93 (d, 2 H), 5,10 (s, 2 H), 3,30 (1/2 Abq, 1 H), 3,18 (1/2 Abq, 1 H), 0,99 (s, 9 H), 0,12 (s, 3 H), 0,08 (s, 3 H).

(c) 2-(4-Benciloxifenil)-1-(piridin-3-il)etanona

Se añadió gota a gota una solución de TBAF en THF (1,0 M, 2,2 ml, 2,2 mmol) a una solución de (±)-3-(4-benciloxifenil)-2-(*tert*-butildimetilsililo)-2-(piridin-3-il)propionitrilo (769 mg, 1,73 mmol) en THF seco (10 ml) a -15°C. Después de 30 min, la reacción se repartió entre EtOAc y H₂O. Se separaron las capas y la capa orgánica se lavó con H₂O, se secó (MgSO₄), se filtró a través de un lecho de gel de sílice y se concentró para producir compuesto del título impuro (492 mg, 94%) como un sólido amarillo: MS (ES) *m/e* 304 (M+H)⁺. Este material se utilizó sin purificación adicional.

(d) 4-(4-Benciloxifenil)-3-(piridin-3-il)but-2-enoato de etilo

Se añadió gota a gota fosfonoacetato de trietilo (0,70 ml, 3,46 mmol) a una suspensión de NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 138 mg, 3,46 mmol) en THF seco (5 ml) a TA. Cuando cesó el desprendimiento de gas, se añadió una solución de 2-(4-benciloxifenil)-1-(piridin-3-il)etanona (aproximadamente 1,73 mmol, material impuro de la Preparación 10(c)) en THF seco (5 ml), y la mezcla se calentó a reflujo. Después de 18 h, la mezcla se enfrió a TA, la reacción se extinguió con NH_4Cl acuoso saturado y la mezcla se extrajo con EtOAc (3x). Los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO_4) y se concentraron para dar el compuesto del título bruto: MS (ES) m/e 374 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Este material se utilizó sin más purificación.

(e) (±)-4-(4-Hidroxifenil)-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo

Una mezcla de 4-(4-benciloxifenil)-3-(piridin-3-il)but-2-enoato de etilo (1,73 mmol) y 10% de Pd/C (200 mg) en EtOH (10 ml) se agitó con oscilación en H_2 (3,5 kg/cm²) en un aparato Parr. Después de 4 h, la mezcla se filtró a través de celite® y el filtrado se concentró. La cromatografía instantánea sobre gel de sílice (50% de EtOAc/hexano) dio el compuesto del título impuro (327 mg, 66% en tres etapas) como un aceite amarillo: MS (EM) m/e 286 ($\text{M}+\text{H}$)⁺. Este material se utilizó sin más purificación.

20

Preparación 11

Preparación de (S)-4-(4-hidroxifenil)-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo

(a) (4R,5S)-3,4-Dimetil-1-[(E)-3-(piridin-3-il)prop-2-enil]-5-fenilimidazolidin-2-ona

Una solución de 3-bromopiridina (8,6 ml, 88,5 mmol), (4R,5S)-1-acrilol-3,4-dimetil-5-fenilimidazolidin-2-ona (14,4 g, 59 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (662 mg, 2,95 mmol), $\text{P}(\text{o-tolil})_3$ (1,80 g, 5,9 mmol) y $(i\text{-Pr})_2\text{NEt}$ (22 ml, 124 mmol) en DMF seca (300 ml) se desgasificó (3 x vacío/purga con N_2) y después se calentó a 110°C. Al cabo de 2 h, la mezcla se enfrió y vertió en EtOAc. La mezcla resultante se lavó con H_2O (3x) y las capas acuosas combinadas se secaron sobre $\text{Mg}(\text{SO}_4)$, se filtraron a través de un lecho de gel de sílice y se concentraron. El residuo se recogió en EtOAc/hexano 1:1, y se secó a vacío para dar una primera cosecha del compuesto del título. El filtrado se concentró y el procedimien-

30

to de cristalización se repitió para dar una segunda cosecha. El rendimiento total del compuesto del título fue 17,53 g (92%): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,48 - 8,85 (m, 2 H), 8,25 (d, $J = 15,9$ Hz, 1 H), 7,89 - 7,97 (m, 1 H), 7,68 (d, $J = 15,9$ Hz, 1 H), 7,15 - 7,38 (m, 6 H), 5,43 (d, $J = 8,5$ Hz, 1 H), 3,90 - 4,02 (m, 1 H), 2,88 (s, 3 H), 0,85 (d, $J = 6,6$ Hz, 3 H); MS (ES) m/e 322 ($M + H$) $^+$.

(b) (4R,5S)-3,4-Dimetil-1-[(S)-4-(4-metoxifenil)-3-(piridin-3-il)butanoil]-5-fenilimidazolidin-2-ona

Se añadió gota a gota una solución de bromuro de 4-metoxifenilmagnesio en THF (0,33 M, 495 ml, 163,5 mmol) a una suspensión agitada de (4R,5S)-3,4-dimetil-1-[(E)-3-(piridin-3-il)prop-2-enoil]-5-fenilimidazolidin-2-ona (17,53 g, 54,5 mmol), complejo de CuBr.DMS (14,1 g, 65,4 mmol) y ZnI_2 (20,9 g, 65,4 mmol) en THF/tolueno (270 ml) a -15°C . Después de 1 h, la reacción se extinguió con NH_4Cl saturado/ NH_4OH concentrado 9:1 y la mezcla se agitó expuesta al aire durante 30 min. La mezcla se diluyó con H_2O y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron. El residuo se recogió en metil-*terc*-butil-éter (MTBE, 200 ml) y se guardó a -20°C durante una noche. El sólido se recogió, se lavó con MTBE y se secó a vacío. Este material se recrystalizó en hexano/EtOAc 3:1 para proporcionar el compuesto del título (19,408 g, 80%): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ 8,72 (s ancho, 2 H), 7,50 (m estrecho, 1 H), 7,12 - 7,35 (m, 4 H), 6,97 - 7,03 (m, 2 H), 6,94 (d, $J = 8,6$ Hz, 2 H), 6,72 (d, $J = 8,6$ Hz, 2 H), 5,11 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 3,70 - 3,90 (m, 2 H), 3,70 (s, 3 H), 3,43 - 3,58 (m, 1 H), 3,03 - 3,18 (m, 1 H), 2,75 - 2,95 (m, 2 H), 2,71 (s, 3 H), 0,66 (d, $J = 6,5$ Hz, 3 H); MS (ES) m/e 444 ($M + H$) $^+$.

(c) (S)-4-(4-metoxifenil)-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo

Se añadió una solución de NaOEt al 21% en EtOH (18,4 ml, 56,88 mmol) a una solución de (4R,5S)-3,4-dimetil-1-[(S)-4-(4-metoxifenil)-3-(piridin-3-il)butanoil]-5-fenilimidazolidin-2-ona (19,408 g, 43,8 mmol) en THF (200 ml) a 0°C . La reacción se agitó durante 1 h, y después la reacción se extinguió con NH_4Cl saturado y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4) y se concentraron. El residuo se recogió en EtOAc/hexano 1:1 y se filtró, y el filtrado se filtró a través de un lecho de gel de sílice (EtOAc/hexano 1:1). El filtrado se concentró para dar el compuesto del título (9,25

g, 71%) como un aceite naranja: $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,57 (s ancho, 2 H), 7,44 (m estrecho, 1 H), 7,17 - 7,25 (m, 1 H), 6,95 (d, $J = 8,6$ Hz, 2 H), 6,76 (d, $J = 8,6$ Hz, 2 H), 4,01 (q, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 3,75 (s, 3 H), 3,33 - 3,48 (m, 1 H), 2,91 (dd, $J = 13,7, 7,3$ Hz, 1 H), 2,85 (dd, $J = 13,7, 7,8$ Hz, 1 H), 2,71 (dd, $J = 15,6, 6,5$ Hz, 1 H), 2,61 (dd, $J = 15,6, 8,7$ Hz, 1 H), 1,13 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H); MS (ES) m/e 300 ($M + H$) $^+$.

(d) (S)-4-(4-Hidroxifenil)-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo

Una solución de (S)-4-(4-metoxifenil)-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo (9,25 g, 31 mmol) en CH_2Cl_2 (150 ml) se enfrió a 0°C . Se añadió etanotiol (11,5 ml, 155 mmol) y después se añadió AlCl_3 (20,7 g, 155 mmol) en porciones. Después de 2 horas, la mezcla se vertió sobre hielo, se dejó calentar a TA y se neutralizó con NaHCO_3 . La suspensión resultante se filtró a través de celite® y el lecho del filtro se lavó con CH_2Cl_2 . Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 . Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4) y concentraron. La cromatografía instantánea sobre gel de sílice (EtOAc/hexano 1:1) dio el compuesto del título (6,435 g, 73%): $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ 8,72, 8,41 (dd, $J = 4,9, 1,5$ Hz, 1 H), 8,24 (m estrecho, 1 H), 7,26 (dd, $J = 7,8, 4,9$ Hz, 1 H), 6,78 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 6,64 (d, $J = 8,5$ Hz, 2 H), 4,03 (q, $J = 7,1$ Hz, 2 H), 3,34 - 3,48 (m, 1 H), 2,92 (dd, $J = 13,7, 6,1$ Hz, 1 H), 2,69 - 2,81 (m, 2 H), 2,64 (dd, $J = 15,6, 8,7$ Hz, 1 H), 1,13 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H); MS (ES) m/e 286 ($M + H$) $^+$.

Ejemplo 1

Preparación de ácido ($\pm$)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]fenil]-3-[4-(trifluorometil)fenil]butanoico

a) ($\pm$)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]fenil]-3-[4-(trifluorometil)fenil]butanoato de etilo

Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (0,15 ml, 0,767 mmol) a lo largo de 2 min a una solución de ($\pm$)-4-(4-hidroxifenil)-3-[4-(trifluorometil)fenil]butanoato de etilo (270 mg, 0,767 mmol), 6-(metilamino)-2-piridiletanol (130 mg, 0,92 mmol), y trifenilfosfina (200 mg, 0,767 mmol) en THF anhidro (5 ml) a 0°C en atmósfera de N_2 . La solución amarilla se mantuvo a 0°C durante 10 min, y después se calentó a TA. Después de 24 h, la reacción se

concentró y el residuo se cromatografió sobre gel de sílice (20% de EtOAc/hexano). El compuesto del título (200 mg, 54%) se obtuvo como un aceite incoloro: MS (ES) m/e 487 $(M+H)^+$.

5 b) **Ácido $(\pm)$ -4-[4-[2-[6-(Metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]fenil]-3-[4-(trifluorometil)fenil]butanoico**

Se añadió gota a gota NaOH 1,0 N (8,2 ml, 0,823 mmol) a una solución enfriada (15°C) de $(\pm)$ -4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]fenil]-3-[4-(trifluorometil)fenil]-butanoato de etilo (200 mg, 0,41 mmol) en MeOH (3 ml), y la mezcla se agitó a TA durante 10 24 h. La solución resultante se concentró a vacío y el residuo se disolvió en H_2O (5 ml). El pH se ajustó a 5 con HCl 1,0 N y el precipitado se recogió, se lavó con una pequeña cantidad de agua y se secó a vacío a 60°C. El compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco semejante a una espuma: MS (ES) m/e 459 $(M + H)^+$. Análisis Calculado para $C_{25}H_{25}FN_2O_3 \cdot 0,85 H_2O$; C, 63,38; H, 5,68; N, 5,91. Encontrado: C, 63,23; H, 5,41; N, 15 5,73.

Ejemplo 2

20 **Preparación de ácido $(\pm)$ -4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]fenil]-3-[4-[(N-metil-N-fenilamino)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-butanoico**

a) **$(\pm)$ -3-[4-[(N-metil-N-fenilamino)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-4-(4-hidroxifenil)butanoato de metilo**

A una solución de $(\pm)$ -3-[4-carboxi-1,3-oxazol-2-il]-4-[4-[(*terc*-butiloxicarbonil)oxi]fenil]butanoato de metilo (150 mg, 0,37 mmol), $(i-Pr)_2NEt$ (0,1 ml, 0,56 mmol), piridina (0,09 ml, 1,11 mmol) y N-metilanilina (0,06 ml, 0,56 mmol) en DMF seca (2 ml) se añadió BPFFH (382 mg, 1,11 mmol) a TA. Después de 18 h la mezcla se concentró. El residuo se recogió en HCl al 10% (20 ml) y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron.

30 El residuo anterior se disolvió en HCl 4 N en dioxano (10 ml) a TA. Después de 18 h la mezcla se concentró. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (75% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (146 mg) como una espuma naranja

contaminada con bis(pentametilen)urea: MS (ES) m/e 417 (M+H)⁺.

b) (±)-4-[4-[2-(6-metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-[4-[(N-metil-N-fenilamino)-carbonil]-1,3-oxazol-2-il]]butanoato de metilo

- 5 Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (0,15 ml, 0,74 mmol) a una solución de (±)-3-[4-(N-metil-N-fenil-amino)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-4-(4-hidroxifenil)butanoato de metilo (146 mg, 0,37 mmol), 6-(metilamino)-2-piridiletanol (113 mg, 0,74 mmol) y trifenilfosfina (194 mg, 0,74 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a TA mientras se calentaba el baño. Después de 18 h la mezcla se concentró y el residuo se
- 10 cromatografió sobre gel de sílice (50% de THF/hexano). Las fracciones que contenían el producto se concentraron para dar el compuesto del título (322 mg) contaminado con óxido de trifenilfosfina: MS (ES) m/e 529 (M+H)⁺.

c) Ácido (±)-4-[4-[2-[6-(Metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-[(N-fenil-N-metilamino)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-butanoico

- 15 A una solución de (±)-4-[4-[2-(6-metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-[4-[(N-metil-N-fenilamino)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]]butanoato de metilo (322 mg) en THF/H₂O 1:1 (2 ml) a TA se añadió LiOH 1,0 N (0,35 ml, 0,35 mmol). Después de 18 h, la mezcla se aciduló a pH 6 utilizando HCl al 10%, y después se concentró a sequedad. El residuo se
- 20 purificó por HPLC en fase inversa (gradiente: 10-80% de CH₃CN/H₂O que contenía 0,1% de TFA). Las fracciones que contenían el producto se combinaron y concentraron para separar CH₃CN. La solución acuosa resultante se liofilizó para dar el compuesto del título (33 mg, 29% en 3 etapas) como un sólido blanco: MS (ES) m/e 515 (M + H)⁺. Análisis
- Calculado para C₂₉H₃₀N₄O₅·1,85 TFA: C, 54,13; H, 4,42; N, 7,72. Encontrado: C, 54,17; H, 4,50; N, 7,52.
- 25

Ejemplo 3

Preparación de ácido (±)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]fenil]-3-[4-(morfolin-4-il)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-butanoico

a) (±)-3-[4-(morfolin-4-il)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-4-(4-hidroxifenil)butanoato de

metilo

A una solución de ($\pm$)-3-[4-carboxi-1,3-oxazol-2-il]-4-[4-[(*terc*-butiloxicarbonyl)oxi]fenil]butanoato de metilo (150 mg, 0,37 mmol), (*i*-Pr)₂NEt (0,1 ml, 0,56 mmol),
 5 piridina (0,09 ml, 1,11 mmol), y morfolina (0,05 ml, 0,56 mmol) en DMF seca (2 ml) se añadió BPFFH (382 mg, 1,11 mmol) a TA. Después de 18 h la mezcla se concentró. El residuo se recogió en 10% de HCl (20 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron.

El residuo anterior se disolvió en HCl 4 N en dioxano (10 ml) a TA. Después de 18
 10 h, la mezcla se concentró. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (EtOAc al 100%) para dar el compuesto del título (122 mg, 88%) como un aceite claro: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,05 (s, 1 H), 7,88 (d, J = 6,6 Hz, 2 H), 6,70 (d, J = 6,6 Hz, 2 H), 5,9 (s, 1 H), 3,73 (s ancho, 8 H), 3,62 (s, 3 H), 2,85 (m, 5 H).

15 b) ($\pm$)-4-[4-(6-Metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-[4-(morfolin-4-il)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]]butanoato de metilo

Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (0,13 ml, 0,66 mmol) a una solución de ($\pm$)-3-[4-(morfolin-4-il)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-4-(4-hidroxifenil)butanoato de metilo (122 mg, 0,37 mmol), 6-(metilamino)-2-piridiletanol (100 mg, 0,66 mmol) y trifenilfosfina (173
 20 mg, 0,66 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a TA mientras se calentaba el baño. Después de 18 h la mezcla se concentró y el residuo se cromatografió sobre gel de sílice (EtOAc al 100%). Las fracciones que contenían el producto se concentraron para dar el compuesto del título (94 mg) contaminado con óxido de trifenilfosfina: MS (ES) *m/e* 509 (M+H)⁺.

25

c) Ácido ($\pm$)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]fenil]-3-[4-(morfolin-4-il)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-butanoico

A una solución de ($\pm$)-4-[4-[2-(6-metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-[4-(morfolin-4-il)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]]butanoato de metilo (94 mg, 0,18 mmol) en
 30 THF/H₂O 1:1 (2 ml) a TA se añadió LiOH 1,0 N (0,25 ml, 0,25 mmol). Después de 18 h, la mezcla se aciduló a pH 6 utilizando HCl al 10% y después se concentró a sequedad. El residuo se purificó por HPLC en fase reversa (gradiente 15-35% de CH₃CN/H₂O que

contiene 0,1% de TFA). Las fracciones que contienen el producto se combinaron y concentraron para separar CH₃CN. La solución acuosa resultante se liofilizó para dar el compuesto del título (23 mg, 26% en 2 etapas) como un sólido blanco: MS (ES) *m/e* 495 (M + H)⁺. Análisis Calculado para C₂₆H₃₀N₄O₆·1,75 TFA: C, 49,76; H, 4,78; N, 7,87. Encontrado: C, 49,93; H, 4,97; N, 7,84.

Ejemplo 4

Preparación de ácido (±)-4-[4-[2-[6-(metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-[4-[[N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)amino]carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-butanoico

a) (±)-3-[4-[[N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)amino]carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-4-(4-hidroxifenil)butanoato de metilo

A una solución de (±)-3-[4-carboxi-1,3-oxazol-2-il]-4-[4-[(*tert*-butiloxicarbonil)oxi]fenil]butanoato de metilo (150 mg, 0,37 mmol), (i-Pr)₂NEt (0,1 ml, 0,56 mmol), piridina (0,09 ml, 1,11 mmol) e hidrocloreuro de N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)amina (84 mg, 0,56 mmol) en DMF seca (2 ml) se añadió BPFFH (382 mg, 1,11 mmol) a TA. Después de 18 h la mezcla se concentró. El residuo se recogió en HCl al 10% (20 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron.

El residuo anterior se disolvió en HCl 4 N en dioxano (10 ml) a TA. Después de 18 h la mezcla se concentró. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice (60% de EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título (298 mg) como un aceite claro contaminado con bis(pentametilén)urea. El aceite se utilizó en la siguiente etapa sin más purificación.

b) (±)-4-[4-[2-(6-metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-[4-[[N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)amino]carbonil]-1,3-oxazol-2-il]]butanoato de metilo

Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (0,15 ml, 0,74 mmol) a una solución de (±)-3-[4-[[N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)amino]carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-4-(4-hidroxifenil)butanoato de metilo (298 mg, 0,37 mmol), 6-(metilamino)-2-piridiletanol (113 mg, 0,74 mmol) y trifenilfosfina (194 mg, 0,74 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a TA mientras se calentaba el baño. Después de 18 h, la mezcla se concentró y el

residuo se cromatografió sobre gel de sílice (40% de EtOAc/hexano). Las fracciones que contenían el producto se concentraron para dar el compuesto del título (115 mg) contaminado con óxido de trifenilfosfina: MS (ES) m/e 535 (M+H)⁺.

5 c) **Ácido (±)-4-[4-[2-[6-(Metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]fenil]-3-[4-[[N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)amino]carbonil]-1,3-oxazol-2-il]-butanoico**

A una solución de (±)-4-[4-[2-[6-(metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-[4-[[N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)amino]carbonil]-1,3-oxazol-2-il]]butanoato de metilo (115 mg, 0,22 mmol) en THF/H₂O (2 ml) a TA se añadió LiOH 1,0 N (0,32 ml, 0,32 mmol). Después de 18 h la mezcla se aciduló a pH 6 utilizando HCl al 10% y después se concentró a sequedad. El residuo se purificó por HPLC en fase inversa (gradiente: 10-80% de CH₃CN/H₂O que contenía 0,1% de TFA). Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se concentraron para separar el CH₃CN. La solución acuosa resultante se liofilizó para dar el compuesto del título (42 mg, 37% en 3 etapas) como un sólido blanco:

15 MS (ES) m/e 522 (M+H)⁺. Análisis Calculado para C₂₅H₂₇F₃N₄O₅·1,4 TFA: C, 49,09; H, 4,21; N, 8,24. Encontrado: C, 49,18; H, 4,18; N, 8,22.

Ejemplo 5

20 **Preparación de ácido (±)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]fenil]-3-[4-(trifluorometil)tiazol-2-il]]butanoico**

a) **(±)-4-[4-[2-[6-(metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-[4-(trifluorometil)tiazol-2-il]]butanoato de metilo**

25 Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (0,14 ml, 0,71 mmol) a una solución de (±)-3-[4-(trifluorometil)tiazol-2-il]-4-hidroxifenil]butanoato de metilo (123 mg, 0,37 mmol), 6-(metilamino)-2-piridiletanol (108 mg, 0,71 mmol) y trifenilfosfina (186 mg, 0,71 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a TA mientras se calentaba el baño. Después de 18 h, la mezcla se concentró y el residuo se cromatografió sobre gel de sílice

30 (40% de EtOAc en tolueno/hexano 1:1). Las fracciones que contenían el producto se concentraron para dar el compuesto del título (114 mg, contaminado con DIAD reducida): MS (ES) m/e 480 (M+H)⁺.

b) Ácido (±)-4-[4-[2-[6-(Metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]fenil]-3-[4-(trifluorometil)thiazol-2-il]-butanoico

A una solución de (±)-4-[4-[2-(6-metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-[4-(trifluorometil)thiazol-2-il]butanoato de metilo (114 mg, 0,24 mmoles) en THF/H₂O 1:1 (2 ml) a TA se añadió LiOH 1,0 N (0,36 ml, 0,36 mmol). Después de 18 h, la mezcla se aciduló a pH 6 utilizando HCl al 10%. El sólido resultante se recogió por filtración y se secó a vacío a 50°C para dar el compuesto del título (43 mg, 42%) como un sólido blanco: MS (ES) *m/e* 466 (M + H)⁺. Análisis Calculado para C₂₂H₂₂F₃N₃O₃S·0,2 H₂O: C, 56,33; H, 4,81; N, 8,96. Encontrado: C, 56,34; H, 4,69; N, 8,88.

10

Ejemplo 6

Preparación de ácido (±)-4-[4-[2-(6-metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-(5-metiltiazol-2-il)butanoico

15

a) (±)-4-[4-[2-(6-Metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-(5-metiltiazol-2-il)butanoato de metilo

Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (0,25 ml, 1,28 mmol) a una suspensión de (±)-4-(4-hidroxifenil)-3-(5-metiltiazol-2-il)butanoato de metilo (249 mg, 0,85 mmol), 6-(metilamino)-2-piridiletanol (194 mg, 1,28 mmol) y trifenilfosfina (336 mg, 1,28 mmol) en TBME (5 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a TA a medida que se calentaba el baño. Después de 72 h la mezcla se concentró y el residuo se cromatografió sobre gel de sílice (30% de EtOAc/CHCl₃). Las fracciones que contenían el producto se concentraron para dar el compuesto del título (385 mg, contaminado con óxido de trifenilfosfina): MS (ES) *m/e* 426 (M+H)⁺.

25

b) Ácido (±)-4-[4-[2-(6-metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-(5-metiltiazol-2-il)butanoico

A una solución de (±)-4-[4-[2-(6-metilaminopiridin-2-il)-1-etoxi]fenil]-3-(5-metiltiazol-2-il)butanoato de metilo (0,85 mmol) en THF/H₂O 1:1 (5 ml) se añadió NaOH 1,0 N (1,28 ml, 1,28 mmol). Después de 18 h, la mezcla se aciduló a pH 6 utilizando HCl al 10% y después se concentró a sequedad. El residuo se cromatografió sobre gel de sílice

30

(EtOH) para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (217 mg, 62% a lo largo de 2 etapas). MS (ES) m/e 412 ($M + H$)⁺. Análisis Calculado para $C_{22}H_{25}N_3O_3S \cdot 1,2 H_2O$: C, 61,01; H, 6,38; N, 9,70. Encontrado: C, 61,25; H, 6,06; N, 9,32.

5

Ejemplo 7

Preparación de ácido (S)-3-(3-fluorofenil)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]butanoico

10 (a) (S)-3-(3-fluorofenil)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]-butanoato de etilo

Se añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (0,20 ml, 1,0 mmol) a una solución de (S)-3-(3-fluorofenil)-4-(4-hidroxifenil)butanoato de etilo (250 mg, 0,83 mmol), 2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)-1-etanol (178 mg, 1,0 mmol) y trifenilfosfina (262
15 mg, 1,0 mmol) en THF anhidro (5 ml) a TA. Después de 18 h, la reacción se concentró y el residuo se sometió a cromatografía instantánea sobre gel de sílice (Et_2O /hexano 5:1) para dar el compuesto del título impuro (236 mg, 61%): MS (ES) m/e 463 ($M+H$)⁺. Este compuesto se utilizó sin más purificación.

20 (b) Ácido (S)-3-(3-fluorofenil)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]butanoico

Se añadió LiOH 1,0 N (0,76 ml, 0,76 mmol) a una solución de (S)-3-(3-fluorofenil)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]butanoato de etilo (236 mg, 0,51 mmol) en THF/ H_2O (3 ml) y la mezcla se calentó a 50°C. Después de 18 h, la mezcla se
25 enfrió a TA y se aciduló a pH 6 con HCl acuoso al 10%. Se añadió EtOAc (5 ml) y la mezcla se agitó energicamente. El sólido se recogió filtrando con succión, se lavó con H_2O (2x) y Et_2O (2x) y se secó a vacío a 50°C para dar el compuesto del título: MS (ES) m/e 435 ($M + H$)⁺. Análisis Calculado para $C_{26}H_{27}FN_2O_3 \cdot 2,25 HCl$: C, 60,46; H, 5,71; N, 5,42. Encontrado: C, 60,44; H, 5,34; N, 5,45.

30

Ejemplo 8

Preparación de ácido (±)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]etoxi]fenil]-3-(piridin-3-il)butanoico

5

(a) (±)-4-[4-[2-[6-(Metilamino)piridin-2-il]etoxi]fenil]-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo

De acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 7(a), pero utilizando 4-(4-hidroxifenil)-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo (327 mg impuro, 1,15 mmol) en vez de (S)-3-(3-fluorofenil)-4-(4-hidroxifenil)butanoato de etilo y utilizando 6-(metilamino)-2-
10 piridiletanol (210 mg, 1,38 mmol) en vez de 2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)-1-etanol, se preparó el compuesto del título como un sólido anaranjado claro, impuro, después de la cromatografía instantánea sobre gel de sílice (EtOAc al 100%): MS (ES) *m/e* 420 (M+H)⁺. Este material se utilizó sin más purificación.

15 **(b) Ácido (±)-4-[4-[2-[6-(Metilamino)piridin-2-il]etoxi]-fenil]-3-il)butanoico**

Se añadió LiOH 1,0 N (3,45 ml, 3,45 mmol) a una solución de (±)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]etoxi]fenil]-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo (1,15 mmol) en THF/H₂O (5 ml), y la mezcla se calentó a 50°C. Después de 18 h, la reacción se enfrió a TA y se aciduló a pH 6 con HCl acuoso al 10%. La mezcla se extrajo con CHCl₃ (3x), y las
20 capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y concentraron. El residuo se cromatografió en una columna C-18 Bond-Elute (20% de CH₃CN/H₂O). Las fracciones que contenían el producto se reunieron y se extrajeron con CHCl₃ (3x), y las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y concentraron. El sólido resultante se recogió en NaOH 2N y se lavó con EtOAc (2x). Los extractos en EtOAc se descartaron. La capa acuosa se
25 aciduló a pH 6 y se extrajo con CHCl₃ (3x). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron para dar el compuesto del título (51 mg, 11%) como un sólido blanco: ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 8,32 (m, 2 H), 7,54 (dd, J = 8,7, 7,2 Hz, 1 H), 7,38 - 7,46 (m, 1 H), 7,12 (dd, J = 7,8, 4,9 Hz, 1 H), 6,86 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,68 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,52 (d, J = 7,2 Hz, 1 H), 6,37 (d, J = 8,7 Hz, 1 H), 4,15 - 4,30 (m, 2 H), 3,39 -
30 3,52 (m, 1 H), 2,98 - 3,20 (m, 3 H), 2,85 (s, 3 H), 2,80 (dd, J = 13,7, 8,9 Hz, 1 H), 2,68 (dd, J = 15,1, 8,3 Hz, 1 H), 2,59 (dd, J = 15,1, 6,7 Hz, 1 H); MS (ES) *m/e* 392 (M+H)⁺.
Análisis Calculado para C₂₃H₂₅N₃O₃·1,3 HCl: C, 62,95; H, 6,04; N, 9,57. Encontrado:

C, 62,84; H, 5,87; N, 9,20.

Ejemplo 9

5 Preparación de ácido (S)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]etoxi]fenil]-3-(piridin-3-il)butanoico

(a) (S)-4-[4-[2-[6-(Metilamino)piridin-2-il]etoxi]fenil]-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo

Se añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (7,8 ml, 39,8 mmol) a una
 10 solución de (S)-4-(4-hidroxifenil)-3-piridin-3-il)butanoato de etilo (9,455 g, 33,1 mmol), 6-(metilamino)-2-piridiletanol (6,06 g, 39,8 mmol) y trifenilfosfina (10,44 g, 39,8 mmol) en THF anhidro (150 ml) a 0°C. La mezcla se dejó calentar a TA a medida que se calentaba el baño. Después de 18 h, la reacción se concentró y el residuo se sometió a cromatografía instantánea sobre gel de sílice (3% de MeOH en EtOAc/CHCl₃ 1:1) para dar el compuesto
 15 del título (9,2 g, 66%) como un aceite amarillo viscoso: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,43 (dd, J = 4,8, 1,6 Hz, 1 H), 8,39 (d, J = 1,9 Hz, 1 H), 7,31 - 7,45 (m, 2 H), 7,13 - 7,21 (m, 1 H), 6,91 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,77 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,53 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 6,24 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 4,43 - 4,58 (m, 1 H), 4,26 (t, J = 7,0 Hz, 2 H), 3,92 - 4,05 (m, 2 H), 3,32 - 3,45 (m, 1 H), 3,04 (t, J = 7,0 Hz, 2 H), 2,89 (d, J = 5,3 Hz, 3 H), 2,88 (dd, J = 13,7,
 20 7,2 Hz, 1 H), 2,82 (dd, J = 13,7, 7,8 Hz, 1 H), 2,70 (dd, J = 15,6, 6,3 Hz, 1 H), 2,59 (dd, J = 15,6, 9,0 Hz, 1 H), 1,11 (t, J = 7,1 Hz, 3 H); MS (ES) m/e 420 (M + H)⁺.

(b) Ácido (S)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]etoxi]-fenil]-3-(piridin-3-il)butanoico

Se añadió NaOH 2,0 M (15 ml, 30 mmol) a una solución de (S)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]etoxi]fenil]-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo (9,2 g, 22 mmol) en
 25 dioxano/H₂O (100 ml) y la mezcla se calentó a 50°C. Después de 18 h, la reacción se enfrió a TA, se aciduló con HCl al 10% (25 ml) y se concentró a 1/3 del volumen para precipitar una goma. El sobrenadante se decantó y la goma se repartió entre H₂O y CHCl₃. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con CHCl₃ (3x). Las capas orgánicas combinadas
 30 se secaron (MgSO₄) y se concentraron, y el residuo se recogió en H₂O y NaOH 2M (30 ml). La solución se lavó con Et₂O (3x) y los extractos en Et₂O se descartaron. La solución acuosa se aciduló con HCl al 10% (50 ml) se concentró a 1/3 del volumen y se extrajo con

CHCl₃ (3x). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron (MgSO₄) y se concentraron para dar una espuma. Esta espuma se recogió en CH₂Cl₂, y la solución se diluyó con hexano y se concentró. Esta operación se repitió tres veces. El sólido resultante se secó a vacío a 65°C para dar el compuesto del título (7,96 g, 92%): ¹H NMR (400 MHz, MeOH-d₄) δ 8,28 (m estrecho, 1 H), 8,21 (d, J = 1,7 Hz, 1 H), 7,68 (m estrecho, 1 H), 7,48 (dd, J = 8,5, 7,3 Hz, 1 H), 7,30 (dd, J = 7,9, 4,9 Hz, 1 H), 6,91 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,72 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,56 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 6,44 (d, J = 8,5 Hz, 1 H), 4,20 (t, J = 6,6 Hz, 2 H), 3,31 - 3,42 (m, 1 H), 3,02 (t, J = 6,6 Hz, 2 H), 2,97 (dd, J = 13,6, 6,5 Hz, 1 H), 2,87 (s, 3 H), 2,77 (dd, J = 13,6, 8,9 Hz, 1 H), 2,71 (dd, J = 15,6, 6,4 Hz, 1 H), 2,62 (dd, J = 15,6, 8,9 Hz, 1 H); MS (ES) m/e 392 (M + H)⁺. Análisis Calculado para C₂₃H₂₅N₃O₃·0,1 H₂O: C, 70,25; H, 6,46; N, 10,68. Encontrado: C, 70,32; H, 6,50; N, 10,32.

Ejemplo 10

15 Preparación de ácido (S)-3-(piridin-3-il)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]butanoico

(a) (S)-3-(piridin-3-il)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]-butanoato de etilo

20 Se añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (0,41 ml, 2,1 mmol) a una solución de (S)-4-(4-hidroxifenil)-3-(piridin-3-il)butanoato de etilo (500 mg, 1,75 mmol), 2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)-1-etanol (374 mg, 2,1 mmol), y trifenilfosfina (551 mg, 2,1 mmol) en THF anhidro (8 ml) a TA. Después de 18 h, la reacción se concentró y el residuo se sometió a cromatografía instantánea sobre gel de sílice (90% de EtOAc/hexano y después 5% de EtOH/EtOAc) para dar el compuesto del título (572 mg, 73%) como un aceite: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ 8,43 (dd, J = 4,8, 1,6 Hz, 1 H), 8,39 (d, J = 1,9 Hz, 1 H), 7,41 (m estrecho, 1 H), 7,17 (dd, J = 7,8, 4,8 Hz, 1 H), 7,07 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 6,90 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,76 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,44 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 4,75 (s ancho, 1 H), 4,21 (t, J = 7,0 Hz, 2 H), 3,93 - 4,08 (m, 2 H), 3,31 - 3,45 (m, 3 H), 2,99 (t, J = 7,0 Hz, 2 H), 2,88 (dd, J = 13,7, 7,2 Hz, 1 H), 2,82 (dd, J = 13,7, 7,8 Hz, 1 H), 2,65 - 2,75 (m, 3 H), 2,59 (dd, J = 15,6, 9,0 Hz, 1 H), 1,85 - 1,95 (m, 2 H), 1,12 (t, J = 7,1 Hz, 3 H); MS (ES) m/e 446 (M + H)⁺.

(b) Ácido (S)-3-(piridin-3-il)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]-butanoico

Se añadió LiOH 1,0 M (2,6 ml, 2,6 mmol) a una solución de (S)-3-(piridin-3-il)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]butanoato de etilo (572 mg, 1,28 mmol) en THF/H₂O (8 ml) y la mezcla se calentó a 50°C. Después de 18 h, la reacción se enfrió a TA y se aciduló a pH 6,0 con HCl al 10%. El sólido precipitado se recogió por filtración con succión, se lavó con H₂O y se secó a vacío para dar el compuesto del título (414 mg, 77%): ¹H NMR (400 MHz, MeOH-d₄) δ 8,28 (dd, J = 4,9, 1,4 Hz, 1 H), 8,21 (d, J = 1,8 Hz, 1 H), 7,68 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 7,25 - 7,27 (m, 2 H), 6,91 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,71 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 6,53 (d, J = 7,3 Hz, 1 H), 4,08 - 4,22 (m, 2 H), 3,30 - 3,45 (m, 3 H), 2,90 - 3,05 (m, 3 H), 2,70 - 2,85 (m, 3 H), 2,68 (dd, J = 15,2, 6,7 Hz, 1 H), 2,58 (dd, J = 15,2, 8,5 Hz, 1 H), 1,80 - 1,97 (m, 2 H); MS (ES) m/e 418 (M + H)⁺. Análisis Calculado para C₂₃H₂₅N₃O₃·0,25 H₂O: C, 71,15; H, 6,57; N, 9,96. Encontrado: C, 71,11; H, 6,66; N, 9,82.

15

Ejemplo 11

Composición de unidad de dosificación parenteral

Se prepara como sigue una preparación que contiene 20 mg del compuesto del Ejemplo 1 como polvo seco estéril: se disuelven 20 mg del compuesto en 15 ml de agua destilada. La solución se filtra en condiciones estériles en una ampolla de 25 ml para dosis múltiples y se liofiliza. El polvo se reconstituye por adición de 20 ml de dextrosa al 5% en agua (D5W) para inyección intravenosa o intramuscular. Por tanto, la dosificación se determina por el volumen de inyección. Se puede hacer una dilución subsiguiente por adición de un volumen medido de esta unidad de dosificación a otro volumen de D5W para inyección, o se puede añadir una dosis medida a otro mecanismo para dispensar el fármaco, como en una botella, o una bolsa para infusión gota a gota u otro sistema de infusión por inyección.

30

Ejemplo 12

Composición unitaria para dosificación oral

6
75

Se prepara una cápsula para administración oral mezclando y triturando 50 mg del compuesto del Ejemplo 1 con 75 mg de lactosa y 5 mg de estearato de magnesio. El polvo resultante se tamiza y se introduce en una cápsula de gelatina dura.

5

Ejemplo 13

Composición unitaria para dosificación oral

Se prepara un comprimido para administración oral mezclando y granulando 20 mg de sacarosa, 150 mg de sulfato de calcio dihidratado y 50 mg del compuesto del Ejemplo 1 con una solución de gelatina al 10%. Los gránulos mojados se tamizan, se secan, se mezclan con 10 mg de almidón, 5 mg de talco y 3 mg de ácido esteárico; y se prensan para formar un comprimido.

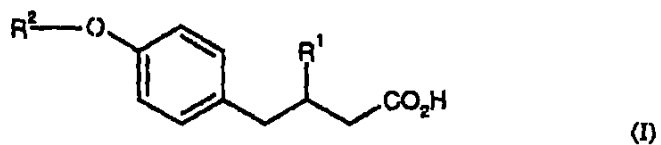
La descripción anterior describe detalladamente cómo hacer y utilizar la presente invención. Sin embargo, la presente invención no se limita a las realizaciones particulares descritas aquí anteriormente, sino que incluye todas sus modificaciones dentro del alcance de las siguientes reivindicaciones. Las diversas referencias a revistas, patentes y otras publicaciones que se citan aquí comprenden el estado de la técnica y se incorporan aquí como referencias, como si se hubieran expuesto íntegramente.

96

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto según la fórmula (I):

5



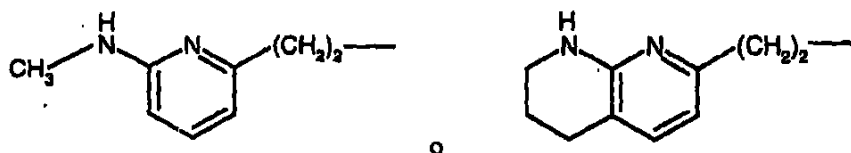
10

en el que:

R^1 es Het- o Ar;

R^2 es

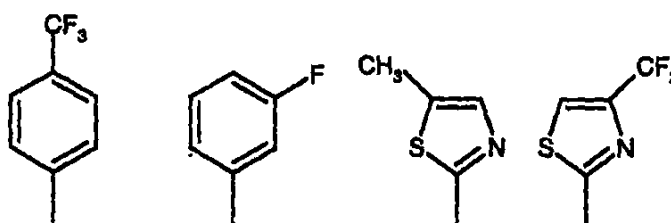
15



20 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R^1 es:

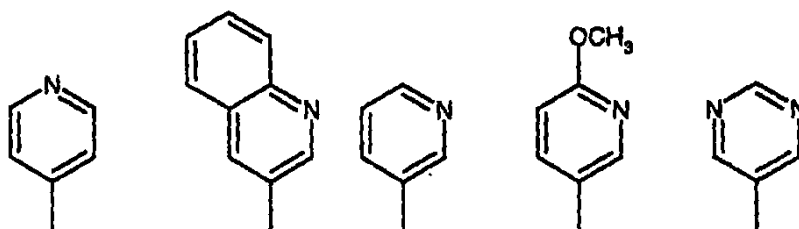
25



30

77

5



10

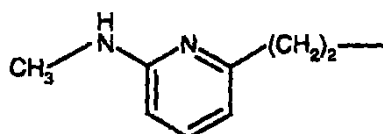


en el que R' es alquilo C₁-C₄ y R'' es fenilo, bencilo o -CH₂CF₃; o R' y R'' están unidos para formar un anillo de morfolinilo.

15

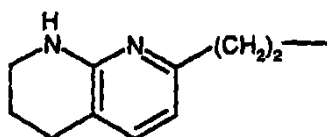
3. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R² es:

20



4. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R² es:

25



30

5.) Un compuesto, que es:

ácido (±)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-(trifluorometil)fenil]butanoico;

28

ácido $(\pm)$ -4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-[(N-metil-N-fenilamino)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]butanoico;

ácido $(\pm)$ -4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-[(morfolin-4-il)carbonil]-1,3-oxazol-2-il]butanoico;

5 ácido $(\pm)$ -4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-[[N-metil-N-(2,2,2-trifluoroetil)amino]carbonil]-1,3-oxazol-2-il]butanoico;

ácido $(\pm)$ -4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-[4-(trifluorometil)tiazol-2-il]butanoico;

10 ácido $(\pm)$ -4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-1-etoxi]-fenil]-3-(3-metiltiazol-2-il)butanoico;

ácido (S)-3-(3-fluorofenil)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]butanoico;

ácido $(\pm)$ -4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-etoxi]-fenil]-3-(piridin-3-il)butanoico;

ácido (S)-4-[4-[2-[6-(metilamino)piridin-2-il]-etoxi]-fenil]-3-(piridin-3-il)butanoico;

15 o

ácido (S)-3-(piridin-3-il)-4-[4-[2-(5,6,7,8-tetrahidro-1,8-naftiridin-2-il)etoxi]fenil]butanoico;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

20 6. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-5 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

C. 7. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto según la reivindicación 1, un agente antineoplásico y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25

8. La composición farmacéutica según la reivindicación 6, en el que el agente antineoplásico es tepotecán o cisplatino.

9. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto según la reivindicación 1, un inhibidor de resorción ósea y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30

10. Un método de tratamiento de una enfermedad en la que está indicado el

antagonismo del receptor $\alpha_v\beta_3$, que comprende administrar un compuesto según la reivindicación 1 a un individuo con necesidad de ello.

- 5 ~~11~~ 11. Un método de tratamiento de una enfermedad en la que está indicado el antagonismo del receptor $\alpha_v\beta_5$, que comprende administrar un compuesto según la reivindicación 1 a un individuo con necesidad de ello.

- 10 ~~12~~ 12. Un método de tratamiento de osteoporosis, que comprende administrar un compuesto según la reivindicación 1 a un individuo con necesidad de ello.

- ~~13~~ 13. Un método para inhibir angiogénesis, crecimiento de un tumor o metástasis de un tumor, que comprende administrar un compuesto según la reivindicación 1 a un individuo con necesidad de ello.

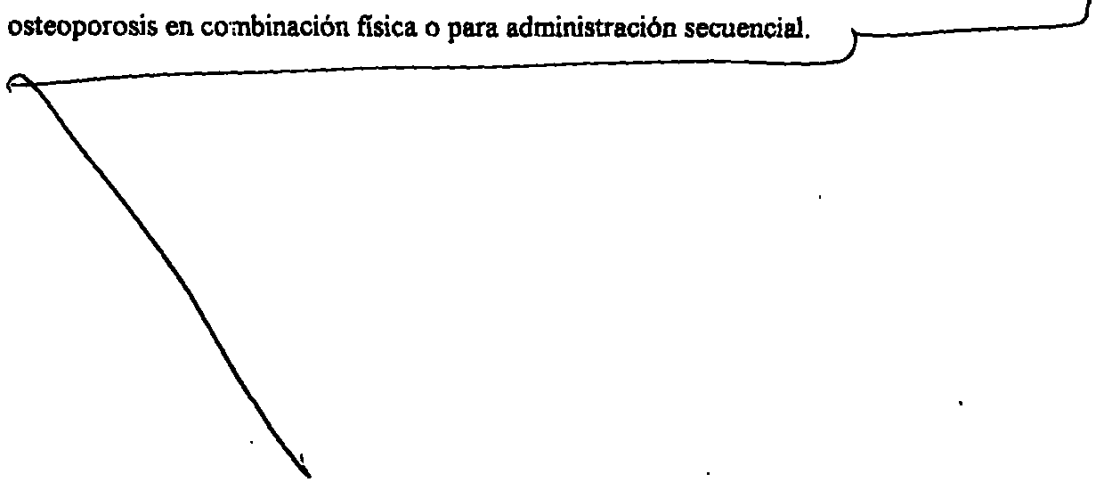
- 15 ~~14~~ 14. Un método de tratamiento de aterosclerosis, restenosis o artritis reumatoide, que comprende administrar un compuesto según la reivindicación 1 a un individuo con necesidad de ello.

- 20 ~~15~~ 15. Un método de inhibición del crecimiento de un tumor, que comprende administrar secuencialmente o en combinación física un compuesto según la reivindicación 1 y un agente antineoplásico.

- ~~16~~ 16. El método según la reivindicación 15, en el que el agente antineoplásico es topotecán o cisplatino.

- 25 ~~17~~ 17. Un método de tratamiento de osteoporosis o inhibición de pérdida de masa ósea, que comprende administrar secuencialmente o en combinación física un compuesto según la reivindicación 1 y un inhibidor de resorción ósea.

- 30 18. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para uso como medicamento.

- 80
19. El uso de un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades en las que está indicado el antagonismo del receptor $\alpha_v\beta_3$. *aplicación para Nec. 47.*
- 5 20. El uso de un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades en las que está indicado el antagonismo del receptor $\alpha_v\beta_5$.
21. El uso de un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 en la
- 10 fabricación de un medicamento para el tratamiento de osteoporosis.
22. El uso de un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento para la inhibición de angiogénesis, crecimiento de un tumor o metástasis de un tumor.
- 15 23. El uso de un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de aterosclerosis, restenosis o artritis reumatoide.
- 20 24. El uso de un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 y un agente antineoplásico en la fabricación de un medicamento para la inhibición de crecimiento de un tumor en combinación física o para administración secuencial.
- 25 25. El uso según la reivindicación 24, en el que el agente antineoplásico es topotecán o cisplatino.
26. El uso de un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 y un inhibidor de resorción ósea en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de osteoporosis en combinación física o para administración secuencial.
- 

81

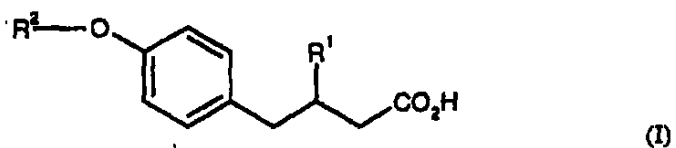
RESUMEN DE LA INVENCION

Antagonistas de los receptores de vitronectina

5

Se describen compuestos de fórmula (I) que son antagonistas de los receptores de vitronectina y son útiles en el tratamiento de osteoporosis:

10

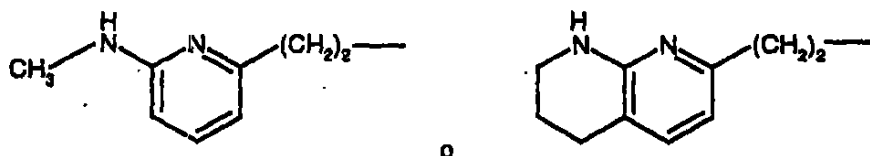


en los que:

15

R^1 es Het- o Ar;
 R^2 es

20



o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

(15) Las folios 82 a 85 son tarjetas y extracto x202012x

NOTA= Se retiraron los folios 84 y 85= Correspondientes a el extracto para publicación.



REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PATENTE DE INVENCION []

MODELO DE UTILIDAD []

- Nombre e identificación del Solicitante []
- Nombre e identificación del Inventor []
- Título o nombre de la Invención []
- Descripción []
- Reivindicaciones []
- Resumen []
- Comprobante de Pago []
- Poder, cuando proceda []
- Copia de la primera solicitud de patente, si reivindica prioridad, señalándola expresamente []
- Firma del solicitante o apoderado []

COMPLETA []

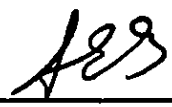
INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- Nombre e identificación del peticionario []
- Nombre e identificación del inventor o diseñador []
- Indicación del género de productos para los cuales debe utilizarse []
- Representación gráfica []
- Comprobante de pago []
- Poder, cuando proceda []
- Firma del solicitante o apoderado []

COMPLETA []

INCOMPLETA []


Firma Responsable

Fecha: _____

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

INFORME DE PROTOCOLO

Expediente 00-67158

Fecha: 7 de septiembre del 2000

Se certifica que:

Desde fecha 13 de octubre de 1994,
del folio 78.086 al folio 78.091 del
libro de Protocolo N° 265, obra el poder
N° 15.479 conferido por SMITHKLINE
BEECHAM CORPORATION

domiciliado(a) en Filadelfia - Pensilvania,
E.U.A.

al doctor GERMAN CASTILLO GRAU y/o ADRIANA
CASTILLO GIBSONE y/o LUIS FELIPE CASTILLO
GIBSONE

Facultad para desistir SI

Revisado 202022

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
PRIMER EXAMEN DE FORMA

EXPEDIENTE: 00-67158

Practicado el examen jurídico de acuerdo con lo establecido en el art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de Patente de Invención:

SI [X] NO [] NO APLICABLE [] Presentó los poderes necesarios en forma correcta (Decisión 344, art. 14-a).

SI [X] NO [] NO APLICABLE [] Acreditó, en forma correcta, la existencia y representación de la persona jurídica solicitante (art. 14-c de la Decisión 344; literal g) del art. 4 del Decreto 117/94).

SI [x] NO [] NO APLICABLE [] Presentó, en forma correcta, el comprobante de pago por la tasa de presentación (art. 13-f de la Decisión 344 y el Decreto 298 del 17 de febrero de 1999)

SI [X] NO [] EXTEMPORANEAMENTE [] Reivindicó prioridad, de acuerdo con lo previsto en el art. 12 de la Decisión 344.

SI [] NO [x] NO APLICABLE [] Indicó fuente normativa de reciprocidad (Decisión 344, art. 12; Decreto 117/94, art. 4 literal f).

SI [] NO [x] NO APLICABLE [] Contiene la copia de la solicitud de la cual reclama prioridad (art. 14-b Decisión 344).

SI [] NO [x] NO APLICABLE [] Contiene la traducción oficial de las reivindicaciones de la primera solicitud de patente, avalada por el Ministerio de Relaciones Exteriores (arts. 14-c Decisión 344, 4-e) Decreto 117/94, Circular externa número 004 de 1997).

SI [] NO [x] CUMPLE LOS REQUISITOS JURIDICOS

OBSERVACIONES Y OTROS:

En consecuencia, se conceptúa que esta solicitud:

SI [] NO [x] Se ajusta a los aspectos **FORMALES** Indicados en la Decisión 344 y por tanto,

SI [] NO [x] Se recomienda **PUBLICAR** el extracto correspondiente.

Bogotá, D.C., 7 de septiembre del 2000

EXAMINADOR JURIDICO.
202022

Carrera 13 N° 27-00 Pisos 5° y 10°
Conmutador 334 1221-2-3-4
Fax 281 3125
Santafé de Bogotá, D.C. - Colombia

1º EXAMEN DE FORMA**Radicación n° 00-67158****CONCEPTO TÉCNICO N° 2030****Clasificación Internacional Patentes:** *A61K³¹/435, ³¹/295.*

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art. 21 de la Decisión 344 se determinó que esta solicitud de **Patente de Invención**:

- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del inventor (Art.8, Art.13-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la identificación correcta del solicitante (Artículo 13-a).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el resumen con el objeto y finalidad de la invención en forma correcta (Art.13-e).
- SI ☒ NO ☐ Contiene el título o nombre de la invención en forma correcta (Art.13-b).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la descripción clara y completa de la invención (Art.13-c).
- SI ☒ NO ☐ Contiene los dibujos correctos (Art.14-c junto con el literal d) del Art. 4 del Dto. 117 del 94).
- SI ☒ NO ☐ Contiene las unidades de medida en el sistema exigido (Art.14-c junto con el Decreto 3464 del 26 de diciembre de 1980).
- SI ☒ NO ☐ Contiene una o más reivindicaciones.
- SI ☒ NO ☐ Contiene el extracto de acuerdo con el literal c) del artículo 4 del Dto. 117 /94.
- SI ☐ NO ☐ Contiene el arte final del dibujo característico de acuerdo con el literal c) del artículo 4 y el artículo 27 del Dto. 117 /94.
- SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo Temático [formato P-104] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
- SI ☒ NO ☐ Contiene la tarjeta del Archivo de Propietarios [formato P-105] en forma correcta (Art.14-c junto con el literal b) del artículo 4 del Dto. 117 /94).
- SI ☒ NO ☐ **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

OBSERVACIONES Y OTROS: SI ☐ NO ☒ ver hoja(s) anexa(s)

Bogotá, D.C., 28 de noviembre de 2000.

202012

DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

EXPEDIENTE 00-67168

AUTO 3209

LA JEFE DE DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES

DISPONE:

ARTICULO PRIMERO: Reconocer personería al doctor GERMAN CASTILLO GRAU como apoderado de la Sociedad solicitante, en los términos y para los efectos del poder conferido.

ARTICULO SEGUNDO: Conforme lo establece el artículo 22 de la Decisión 344 de la Comisión del Acuerdo de Cartagena, requiérese al solicitante, para que dentro del plazo de treinta (30) días hábiles siguientes a la fecha de notificación del auto, presente respuesta a las observaciones o complemente los antecedentes señalados en el examen de forma.

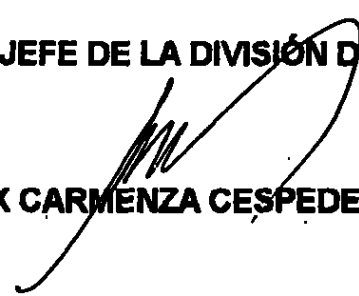
ARTICULO TERCERO: Notificar por estado el presente auto, advirtiéndole que contra el no procede recurso alguno en la vía gubernativa.

NOTIFIQUESE Y CUMPLASE

Dado en Bogotá D.C., a los

28 NOV. 2008

LA JEFE DE LA DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES,


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL

NOTIFICADO POR ESTADO

Bogotá D.C.,

13 0 NOV 2008

notificado por anotación en estado de esta misma fecha.

VENCIMIENTO NOTIFICACION ESTADO

SOLICITO PRORROGA TERMINO SI ____ NO ____

VENCIMIENTO TERMINO PRORROGA