



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Organización CSA Ltda

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

PCT

03-77714

21. EXPEDIENTE N°

54. TÍTULO Derivados de imidazolidina, su preparación, su uso y preparaciones farmacéuticas que los contienen.

51. CLASIFICACIÓN INTERNACIONAL AGIK 31/4166; C07D 401/12.

71. SOLICITANTE Arventis Pharma Deutschland GmbH

DOMICILIO Frankfurt, Alemania

74. APODERADO Gustavo Hollmann Restrepo

22. BOGOTÁ, D. C. 5 de Septiembre de 2003

79

QT-

EXAMEN TÉCNICO DE FONDO			
Nº Radicación	03-77714	Fecha de presentación	05-09-2003
Nº Solicitud Internacional	PCT/EP02/01917	Fecha Solicitud Internacional	23/02/2002
Nº Prioridad	DE 101 11 877 5	Fecha de Prioridad	10/03/2001

Palabras clave	SOLICITANTE: AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH	DERIVADOS DE IMIDAZOLIDINA
INVENTOR: VOLKMAR WEHNER, HORST BLUM, HARTMUT RUTTEN, ULRICH STILZ HANS		INHIBIDORES DE LA ADHESION Y MIGRACION DE LEUCOCITOS Y/O ANTAGONISTAS DEL RECEPTOR DE ADHESION VLA-4 (INTEGRINA β 1)
DERIVADOS DE IMIDAZOLIDINA COMO ANTAGONISTAS DEL RECEPTOR DE ADHESION VLA-4		ANTAGONISTAS DEL RECEPTOR DE ADHESION VLA-4

CLASIFICACIONES INTERNACIONALES DE BÚSQUEDA
A61K31/4166, C07D401/12, A61P19/02.

FAMILIA DE PATENTES			
Lista de familia			
Aproximadamente 29 miembros de la familia para: WO02072573 (A1)			
AT293621 (T) — 2005-05-15	DE60203791 (T2) — 2006-01-19	HU0303455 (A2) — 2004-03-01	RU2003129986 (A) — 2005-03-20
AU2002233358 (B2) — 2007-03-22	DK1373249 (T3) — 2005-08-22	HU0303455 (A3) — 2005-06-28	RU2303592 (C2) — 2007-07-27
BG108134 (A) — 2004-09-30	EE200300436 (A) — 2003-12-15	JP2004523574 (T) — 2004-08-05	SI1373249 (T1) — 2005-08-31
BR0207981 (A) — 2004-06-15	EP1373249 (A1) — 2004-01-02	MXPA03007634 (A) — 2003-12-04	SK11262003 (A3) — 2004-01-08
CA2440648 (A1) — 2002-09-19	EP1373249 (B1) — 2005-04-20	NO20033981 (A) — 2003-09-09	US2003073723 (A1) — 2003-04-17
CN1496360 (A) — 2004-05-12	ES2240687 (T3) — 2005-10-16	NO326001 (B1) — 2008-09-01	US6680333 (B2) — 2004-01-20
CN1227248 (C) — 2005-11-16	HK1062173 (A1) — 2006-02-03	NZ528075 (A) — 2005-02-25	WO02072573 (A1) — 2002-09-19
CZ20032429 (A3) — 2003-12-17	HR20030713 (A2) — 2005-02-28	PL362573 (A1) — 2004-11-02	YU70803 (A) — 2006-05-25
DE10111877 (A1) — 2002-09-12	HR20030713 (B1) — 2006-02-28	PT1373249 (T) — 2005-07-29	ZA200306107 (A) — 2004-09-01
BASES DE DATOS CONSULTADAS			
WIPO PATENSCOOP	USPTO	ESPACENET	EPOLINE
INFORMES DE EXÁMENES EN OTRAS OFICINAS			
Oficina		Fecha	Reiv. afectadas
SUECIA		ISR	13-06-2002
SUECIA		IPER	04-03-2002
ANTERIORIDADES ENCONTRADAS			
Documento		Relevancia	Reiv. afectadas
EP0918059 1999-05-26	Substituted imidazoline derivatives, their preparation, their use, and pharmaceutical compositions containing them	Novedad	1-16
CA2254420			
WO0069831 2000-11-23	Spiroimidazolidine derivatives, their preparation, their use and pharmaceutical preparations comprising them	---	---
WO0000477 2000-01-06	Non-peptidyl inhibitors of vla-4 dependent cell binding useful in treating inflammatory, autoimmune, and respiratory diseases	---	---
WO02072573 1999-05-26	Substituted imidazoline derivatives, their preparation, their use, and pharmaceutical compositions containing them	---	---
LITERATURA NO PATENTES			
Documento		Relevancia	Reiv. afectadas
Observaciones			
03-2009 1er Art 45			
Fecha del examen		03-2009	

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA



03 077714 00

Radicación : 03077714 00000000
Fecha (AMD) : 2003-09-05 15:17:38
Trámite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Folios: 153

FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL

① SOLICITUD DE :
☒ Patente de Invención. ☐ Patente de Modelo de Utilidad.
☐ Capítulo I. ☒ Capítulo II.

② SOLICITANTE
(71)

Nombre: **AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GmbH**
Dirección: **Brünigstrasse 50, 65929 Frankfurt, Alemania**
Nacionalidad o Domicilio: **Frankfurt, Alemania**
Lugar de Constitución: **Alemania**
Teléfono: Fax:
E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número _____

③ REPRESENTANTE
O APODERADO

Nombre: **GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO**
Dirección: **Cra. 11A No. 94-76-Of. 308**
Teléfono: **6161948** Fax: **6163976**
E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☒
Cual _____
Número **2.878.023** TP **5903**

④ INVENTOR (ES)
(72)

Nombre: **WEHNER, Volkmar**
Dirección: **Lindenstrasse 1,**
Nacionalidad o Domicilio **97657 Sandberg, Alemania**

⑤ PCT (86)

Solicitud Internacional No. **PCT/EP02/01917** Fecha **Febrero 23 de 2002**
Publicación Internacional No. **WO 02/072573 A1** Fecha **Septiembre 19 de 2002**

⑥ Título (54) **"DERIVADOS DE IMIDAZOLIDINA, SU PREPARACION, SU USO Y PREPARACIONES FARMACEUTICAS QUE LOS CONTIENEN".**

⑦ Clasificación Internacional (51) **C07D 401/12; A61K 31/4166.**

⑧ Prioridad

SI ☒ NO ☐

(33) País de Origen

Alemania

(32) Fecha

Marzo 10, 2001

(31) Número de Solicitud

101 11 877.5

⑨ Comprobante de pago No. **60,660**

Fecha **Marzo 10, 2003**

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

10

ANEXOS

- ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.
- ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- ☒ Poderes, si fuere el caso.
- ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- ☐ Declaraciones
- ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos)
- ☒ Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).
- ☒ Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.
- ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- ☐ Arte final 12x12.
- ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.
- ☐ De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.
- ☒ Otros **Reporte Búsqueda Internacional.**

11

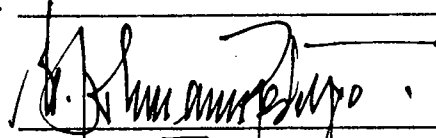
FIGURA CARACTERÍSTICA:

12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO

FIRMA:


C.C. 2.878.023 B/tá. P. 5903

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

Continuación enumeración del nombre de los Inventores, con
Su correspondiente dirección, código postal y domicilio:

<u>Nombre</u>	<u>Dirección</u>	<u>Domicilio</u>
BLUM, Horst	Eckenheimer Landstrasse 118	60138 Frankfurt, Alemania
RÜTTEN, Hartmut	Falkenweg 25,	65510 Idstein, Alemania
STILZ, Hans, Ulrich	Johannesallee 18,	65929 Frankfurt, Alemania

Otros anexos que se acompañan a la solicitud.

Copia del formulario de solicitud PCT (Formulario PCT/RO/101).

Superintendencia de Industria y Comercio
Radicacion : 03077714 00000000 Folios: 153
Fecha (ARD): 2003-09-05 15:17:38
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 03 - 60,660
FECHA : AGOSTO 27 DE 2003

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PGO	Vr. PAGO
GUSTAVO HOLLMAN	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	16345280	27/08/2003	3,585,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01 SOLICITUDES	1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	400,000.00
		TOTAL :	\$ 400,000.00

SON: CUATROCIENTOS MIL PESOS

*Solicitud de patente
pet.
Ref.: 55021*

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

G. HOLLMANN RESTREPO

ABOGADOS LTDA.

PARA PATENTES, MARCAS Y LICENCIAS FARMACEUTICAS

FOR PATENTS, TRADE MARKS AND PHARMACEUTICAL LICENSES

The undersigned

Dr. Markus Jacobi
Dr. Hans-Jürgen Fischer

acting on behalf of and representing

Company's
Name

Aventis Pharma
Deutschland GmbH

Company's
Domicile

domicilled in
D-65926 Frankfurt am Main
Germany

hereby appoint/s

G. Hollmann Restrepo

Leave blank

domicilled in Bogotá, Republic of Colombia.

as our true and legal attorneys with the necessary powers; 1) to apply to the administrative, judicial and police authorities of the Republic of Colombia, in any instance or appeal, for obtaining letter patents, industrial designs and models, trademark registrations, registration of commercial names as well as their assignments, extensions, renewals and changes of name; 2) to prepare, apply for, obtain, execute and register contracts, licenses, authorizations and registrations of any kind; 3) intervene as plaintiffs or defendants, in any instance or appeal, before any judge, court, tribunal, corporation, public offices or authority in any judicial, administrative or police action, such as: actions dealing with commercial names; oppositions against trademark registrations; caducity and nullity actions; recovery actions, actions arising from obtainment and exploitations of licenses; actions dealing with unfair competition; criminal actions; actions claiming indemnity for damages; claims or remarks on patent applications, industrial designs and models; the performance of precautionary measures, and in any other similar action, measures or appeals related to industrial property matters.

To this effect, I (we) hereby authorize him (them) to file applications, make descriptions, amendments, protests, declarations, oppositions, cancellations, appeals and claims; to pay taxes, quotas and liens as provided by law; to waive or abandon granted rights or rights in process of being granted; to receive all kind of documents and securities; to issue the respective releases and, in general, to take, before said authorities, pertinent steps to the above mentioned purposes and take all measures he (they) may deem convenient to protect my (our) interests, with all other necessary 'legal' faculties, and I (we) hereby declare as good and valid whatever the attorneys should do to my (our) benefit.

This power comprises the authority to ratify or confirm on my (our) behalf any actions, as well as the faculty of receiving, desisting, transacting, compromising, substituting and revoking substitutions, taking notifications and appointing judicial or extrajudicial attorneys.

Signed in Frankfurt am Main

On this 11th day of February 2000

(Dr. Markus Jacobi) Signature(s)
- Prokurist - Firma(s)

Yo(nosotros)

Dr. Markus Jacobi y
Dr. Hans-Jürgen Fischer

obrando a nombre y representación de

AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GmbH

con domicilio en

Frankfurt am Main, Alemania

nombro(amos) a

GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO

domiciliado(s) en Bogotá, República de Colombia, en
la Cra. 11A No. 94-76 - Of. 308.

apoderados verdaderos y legales con poder especial amplio y suficiente: 1) Para recabar de las oficinas y autoridades colombianas, administrativas, judiciales y de policía, en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención, de dibujos y modelos industriales, registro de marcas, depósito de nombres comerciales y enseññas, así como sus traspasos, prórrogas, renovaciones y cambios de nombre; 2) elaborar, tramitar, solicitar, obtener, realizar, ejecutar y registrar contratos, licencias, autorizaciones y registros de cualesquiera clases; 3) intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso y ante cualquier juez, entidad, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía, tales como acciones derivadas del nombre comercial, oposición al registro de marcas; acciones de caducidad y nulidad; acciones reivindicatorias; acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias; acciones de competencia desleal; demandas penales y civiles; acciones de indemnización de perjuicios, reclamos u observaciones a solicitudes de patentes, modelos y dibujos industriales; en el ejercicio de medidas cautelares y en otras acciones, medidas o recursos similares relacionados con la propiedad industrial.

A este efecto, lo(s) faculto(amos) para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones, oposiciones, cancelaciones, apelaciones y reclamos; pagar impuestos, cuotas y gravámenes prescritos por la ley; renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión; recibir toda clase de documentos y valores dando el descargo respectivo, y, en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren convenientes para resguardo de mis (nuestros) intereses, con todas las demás facultades necesarias, y por este documento desde ahora delego(amos) válido y bueno todo cuanto los apoderados faculten en este (nuestro) beneficio.

Este poder comprende la facultad de ratificar o confirmar en mi(nuestro) nombre lo actuado, así como la facultad de desistir, transigir, comprometer, sustituir y revocar sustituciones, recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales.

Firmado en Frankfurt am Main

el 11 de Febrero

de 2000

(Dr. Hans-Jürgen Fischer)
- Authorized Signatory -

CONSULAR CERTIFICATION

COMPANIES

The undersigned Consul certifies: that the preceding signature(s) reading

Dr. Markus Jacobi
Dr. Hans-Jürgen Fischer

is (are) authentic; that the signer(s) at present fills (fill) the position of

Prokurist
Authorized Signatory

Corporation

Company's

of Aventis Pharma Deutschland GmbH

that he (they) is (are) empowered to grant this power;

and that said company exists and is organized in

D-65926 Frankfurt am Main
Fed. Rep. of Germany
in accordance with the laws of

Fed. Rep. of Germany

All the foregoing facts are known to the Consul due to his having examined the respective documents to which he, the Consul, attests.

Signed in

Frankfurt am Main

On this day of

CERTIFICACION CONSULAR

SOCIEDADES

El infrascrito Cónsul certifica: que la(s) firma(s) que antecede(n) y dice(n)

es(son) auténtica(s); que el(los) signatario(s) desempeña(n) actualmente el(los) cargo(s) de

de

que tiene(n) facultad para otorgar este poder; y que dicha compañía existe y está organizada en

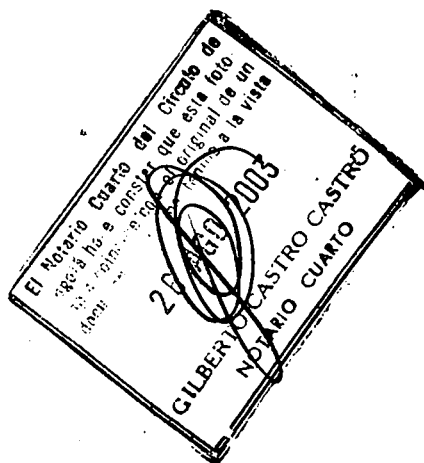
conforme a las leyes de

Todos los hechos anteriores le constan, por haber examinado los documentos respectivos y de todo ello da fe.

Firmado en

El de

de 19



It is officially certified
hereby that

Die umstehenden heute vor
mir anerkannten Unterschrif-
ten der

1. Dr. Markus Jacobi, D-60385 Frankfurt am Main
2. Dr. Hans-Jürgen Fischer, D-64297 Darmstadt

- personally known to me -
have signed this document.

- persönlich bekannt -
werden hiermit beglaubigt.

At the same time it is
confirmed, that the person
mentioned sub 1. according
to the Commercial Register
which has been inspected
by the Notary Public today
as Prokurist is entitled
to jointly with an other
authorized person sign for
and represent in legally
binding manner the

Gleichzeitig wird bestätigt,
daß die zu 1. genannte
Person laut Eintragung im
Handelsregister, das vom
Notar heute eingesehen
wurde, als Prokurist mit
einem anderen Zeichnungsbe-
rechtigten zeichnungs- und
vertretungsberechtigt ist
für die

Aventis Pharma Deutschland GmbH, D-65926 Frankfurt am Main

and the person mentioned
sub 2. is authorized accord-
ing to the Authorization
of June 2, 1997 to act as
proxy and to represent
said company in legally
binding manner together
with an other authorized
person of this company.

und der zu 2. Genannte
aufgrund der vorliegenden
Handlungsvollmacht vom
2. Juni 1997 handlungsbevollmäch-
tigt und zugleich mit einem
anderen Zeichnungsberechtig-
ten der Firma zur Ver-
tretung dieser Firma berech-
tigt ist.

Frankfurt am Main, den 11. Februar 2000

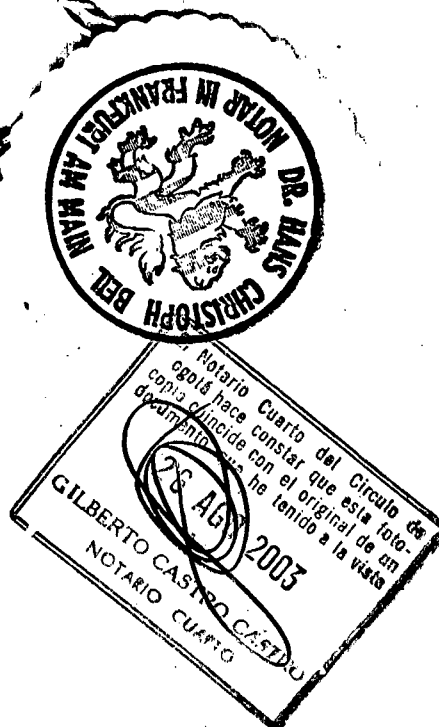

Notary Public
Notar

Kostenberechnung

Geschäftswert: DM 10.000,--
Gebühr §§ 141,32, 45 KostO
Gebühr § 150 I KostO
16% Mehrwertsteuer

DM 20,--
DM 20,--
DM 6,40
DM 46,40
=====


Notar



Die Echtheit vorstehender Unterschrift des
Notars

und die Echtheit des besagten Dien-

stempels wird hiermit bestätigt.

Eugleich wird berichtet, daß der Vor-

genannte zur Vornahme der Amtshandlung

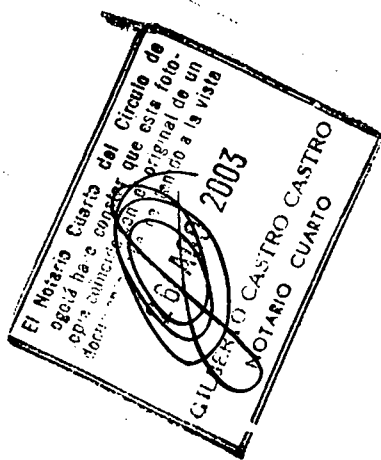
bestellt war.

Frankfurt am Main, den 11. 7. 00

1. PRÄSIDENT DES LANDEGERICHTS

In Vertretung

Schillz





CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA

Fürstenberger Str. 223, 60323 Frankfurt am Main, R.F.A.
Teléfono: 49-69-5963050 * Fax: 49-69-5962080

0139

LA SUSCRITA VICE-CONSUL DE COLOMBIA EN FRANKFURT AM MAIN

CERTIFICA

Que el señor Schlitz ejercía las funciones de Representante del Presidente del Tribunal Regional en Frankfurt am Main en la fecha indicada y su firma corresponde a la registrada en esta Oficina Consular.

Que la empresa Aventis Pharma Deutschland GmbH con sede en Frankfurt am Main, es una sociedad constituida de acuerdo con las leyes de la República Federal de Alemania y cumple su objeto conforme a las mismas.

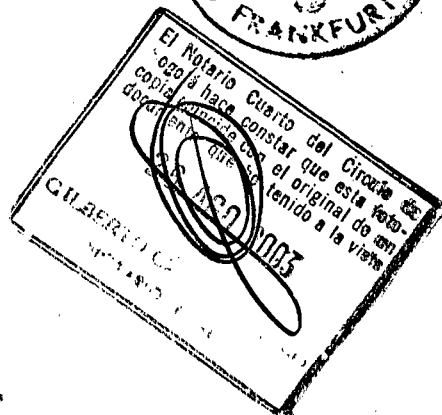
Que los señores Dr. Markus Jacobi y Dr. Hans-Jürgen Fischer, quienes en su calidad de apoderados, y cuyas firmas fueron autenticadas ante el señor Notario Dr. Hans Christoph Beil, son sus representantes legales en este país.

Frankfurt am Main, Marzo 10, 2000


MARCELA RODRIGUEZ
VICE-CONSUL DE COLOMBIA



Derechos cancelados:
Impuesto de Timbre: US\$ 7.00
Fondo Rotatorio: US\$ 100.00



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

Arce
37357
Padilla
FIRMA APTARECE
DOCUMENTO DESPACHADO
LAS FUNCIONES INDICADAS

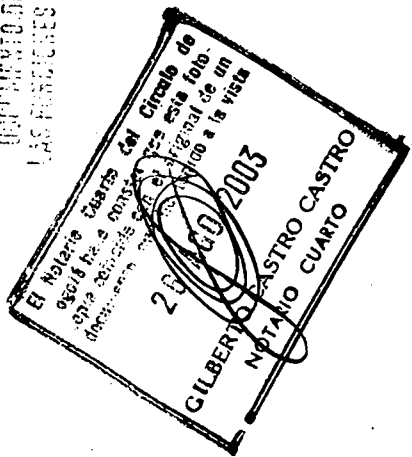
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2000 MAR 21 A 10:20

Padilla

JEFE DE LEGALIZACIONES

SECRETARIA DE ESTADO



Traducción oficial del alemán de la autenticación y legalización de firmas del poder que AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH domiciliada en Frankfurt am Main, República Federal de Alemania, otorga a Gustavo Hollmann Restrepo.

Registro Notarial No. 10 para el año 2000

Se autentican oficialmente las firmas que aparecen anteriormente, reconocidas en presencia mía como propias por:

1. Dr. Markus Jakobi, D-60385 Frankfurt am Main,

2. Dr. Hans-Jürgen Fischer, D-64297 Darmstadt,

a quienes yo, el suscrito Notario, conozco personalmente.

Al mismo tiempo se confirma que, de conformidad con el correspondiente Registro Comercial revisado el día de hoy por el Notario, la persona señalada en 1. está autorizada en su calidad de Apoderado para representar conjuntamente con otro Apoderado a la compañía Aventis Pharma Deutschland GmbH domiciliada en D-65926 Frankfurt am Main,

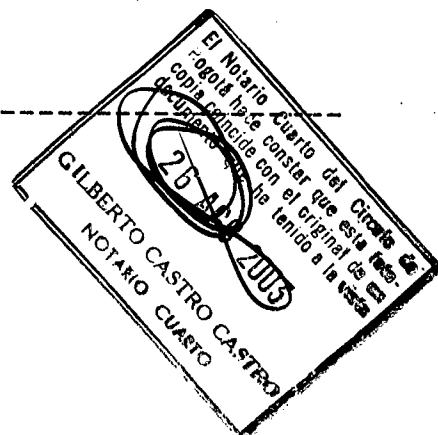
y que, de conformidad con el poder fechado el 2 de Junio de 1997 que me ha sido presentado, la persona señalada en 2. Está autorizada para representar conjuntamente con otro Apoderado a la mencionada compañía

Frankfurt am Main, 11 de Febrero del 2000

DR. HANS CHRISTOPH BEIL, NOTARIO EN FRANKFURT AM MAIN

(Firma y Sello Oficial)

----- (continúa en la 2ª página) -----



Nota de gastos:

Valor del negocio = DM 10.000,--

Impuesto Artículos 141, 32, 45 Disp. Impuestos	DM 20,--
Impuesto Artículo 150 I Disposición Impuestos	DM 20,--
16% Impuesto sobre el Valor Agregado	DM 6,40
Total	DM 46,40

DR. HANS CHRISTOPH BEIL, NOTARIO (firma)

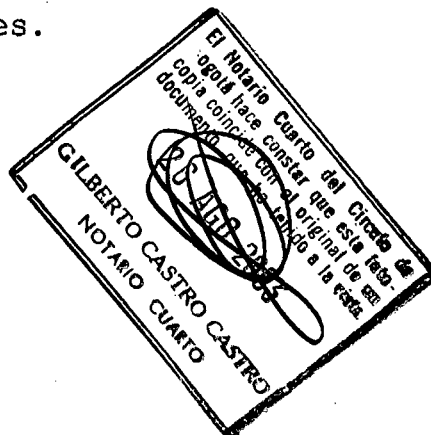
Se confirma mediante este documento la autenticidad de la firma que aparece anteriormente, la cual pertenece al Notario Dr. Hans Christoph Beil en Frankfurt am Main, y también la autenticidad del sello oficial que aparece al lado de dicha firma.

Al mismo tiempo se certifica que la persona mencionada se encontraba legalmente autorizada para la ejecución de ese acto oficial.

Frankfurt am Main, 17.2.2000

Schlitz, Representante del Presidente Tribunal Regional
(Firma y Sello Oficial)

El documento traducido del alemán fue legalizado bajo el No. 137357 el día 21 de Marzo del 2000 en la Oficina de Legalizaciones del Ministerio de Relaciones Exteriores.



Adolf Watzke

ADOLF WATZKE
Traductor Oficial
Res. 2433 Minjusticia

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

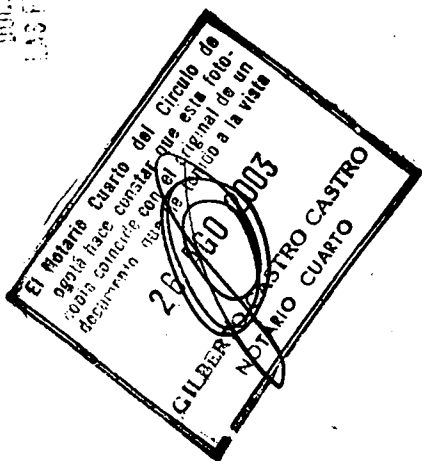
2000 MAR 23 *W. J. 1984*

JEFE DE LEGALIZACIONES
ESTADO DE GUATEMALA

MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

W. J. 1984

W. J. 1984
SISTEMA APARECER EN EL
DOCUMENTO DESEMPLEO
LAS FUNCIONES INDICADAS



(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
19 September 2002 (19.09.2002)

PCT

(10) International Publication Number
WO 02/072573 A1

(51) International Patent Classification⁷: C07D 401/12, 233/74, 233/76, A61K 31/4166, 31/4178

(21) International Application Number: PCT/EP02/01917

(22) International Filing Date: 23 February 2002 (23.02.2002)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
101 11 877.5 10 March 2001 (10.03.2001) DE

(71) Applicant: AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH [DE/DE]; Brünigstrasse 50, 65929 Frankfurt (DE).

(72) Inventors: WEHNER, Volkmär; Lindenstrasse 1, 97657 Sandberg (DE). BLUM, Horst; Beckenhäuser Landstrasse 118, 60138 Frankfurt (DE). RÜTTEN, Hartmut; Falkenberg 25, 65510 Idstein (DE). STILZ, Hans, Ulrich; Johannesallee 18, 65929 Frankfurt (DE).

(81) Designated States (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

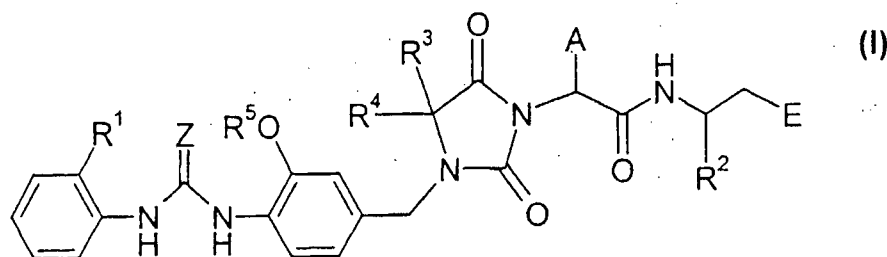
(84) Designated States (*regional*): ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guidance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the beginning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: IMIDAZOLIDINE DERIVATIVES, THEIR PREPARATION, AND THEIR USE AS ANTINFLAMMATORY AGENT.



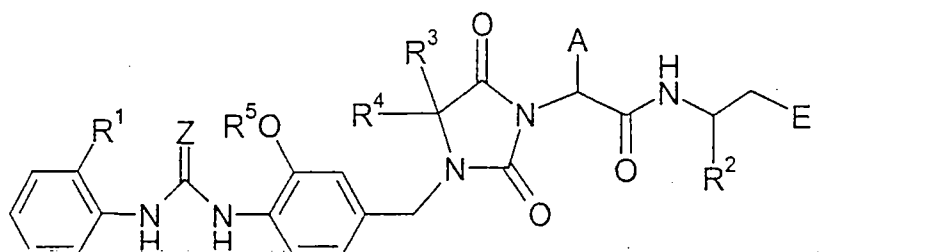
(57) Abstract: The present invention relates to novel imidazolidine derivatives of formula (I), in which A, E, Z, R¹, R², R³, R⁴ and R⁵ have the meanings indicated in the claims. The compounds of formula (I) are valuable pharmaceutical active compounds which are suitable, for example, for the treatment of inflammatory diseases, for example of rheumatoid arthritis, or of allergic diseases. The compounds of the formula (I) are inhibitors of the adhesion and migration of leukocytes and/or antagonists of the adhesion receptor VLA-4 belonging to the integrins group. They are generally suitable for the treatment of diseases which are caused by an undesired extension of leukocyte adhesion and/or leukocyte migration or are associated therewith or in which cell-cell or cell-matrix interactions which are based on the interactions of VLA-4 receptors with their ligands play a role. The invention furthermore relates to processes for the preparation of the compounds of formula (I), their use and pharmaceutical preparations which contain compounds of formula (I).

groups, the $\beta 2$ subfamily containing the representatives LFA-1, Mac-1 and p150/95, which are responsible in particular for cell-cell interactions of the immune system, and the subfamilies $\beta 1$ and $\beta 3$, whose representatives mainly mediate cell adhesion to components of the extracellular matrix (Ruoslahti, Annu. Rev. Biochem. 1988, 57, 375). The integrins of the $\beta 1$ subfamily, also called VLA proteins (very late (activation) antigen), include at least six receptors which interact specifically with fibronectin, collagen and/or laminin as ligands. Within the VLA family, the integrin VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$) is atypical insofar as it is mainly restricted to lymphoid and myeloid cells and is responsible in these for cell-cell interactions with a large number of other cells. VLA-4 mediates, for example, the interactions of T and B lymphocytes with the heparin II-binding fragment of human plasma fibronectin (FN). The binding of VLA-4 with the heparin II-binding fragment of the plasma fibronectin is based especially on an interaction with an LDVP sequence. In contrast to the fibrinogen or vitronectin receptor, VLA-4 is not a typical RGD-binding integrin (Kilger and Holzmann, J. Mol. Meth. 1995, 73, 347).

The leukocytes circulating in the blood normally exhibit only a low affinity for the vascular endothelial cells which line the blood vessels. Cytokines which are released from inflamed tissue cause the activation of endothelial cells and thus the expression of a large number of cell surface antigens. These include, for example, the adhesion molecules ELAM-1 (endothelial cell adhesion molecule-1; also designated as E-selectin), which, inter alia, binds neutrophils, ICAM-1 (intercellular adhesion molecule-1), which interacts with LFA-1 (leukocyte function-associated antigen 1) on leukocytes, and VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1), which binds various leukocytes, inter alia lymphocytes (Osborn et al., Cell 1989, 59, 1203). VCAM-1 is, like ICAM-1, a member of the immunoglobulin gene superfamily. VCAM-1 (first known as INCAM-110) was identified as an adhesion molecule which is induced on endothelial cells by inflammatory cytokines such as TNF and IL-1 and lipopolysaccharides (LPS). Elises et al. (Cell 1990, 60, 577) showed that VLA-4 and VCAM-1 form a receptor-ligand pair which mediates the attachment of lymphocytes to activated endothelium. The binding of VCAM-1 to VLA-4 does not take place due

IMIDAZOLIDINE DERIVATIVES, THEIR PREPARATION, AND THEIR USE AS ANTINFLAMMATORY AGENT

The present invention relates to novel imidazolidine derivatives of the formula I,



in which A, E, Z, R¹, R², R³, R⁴ and R⁵ have the meanings indicated below. The compounds of the formula I are valuable pharmaceutical active compounds which are suitable, for example, for the treatment of inflammatory diseases, for example of rheumatoid arthritis, or of allergic diseases. The compounds of the formula I are inhibitors of the adhesion and migration of leukocytes and/or antagonists of the adhesion receptor VLA-4 belonging to the integrins group. They are generally suitable for the treatment of diseases which are caused by an undesired extent of leukocyte adhesion and/or leukocyte migration or are associated therewith or in which cell-cell or cell-matrix interactions which are based on the interactions of VLA-4 receptors with their ligands play a role. The invention furthermore relates to processes for the preparation of the compounds of the formula I, their use and pharmaceutical preparations which contain compounds of the formula I.

The integrins are a group of adhesion receptors which play an important role in cell-cell-binding and cell-extracellular matrix-binding processes. They have an $\alpha\beta$ -heterodimeric structure and exhibit a wide cellular distribution and a high extent of evolutive conservation. The integrins include, for example, the fibrinogen receptor on platelets, which interacts especially with the RGD sequence of fibrinogen, or the vitronectin receptor on osteoclasts, which interacts especially with the RGD sequence of vitronectin or of osteopontin. The integrins are divided into three major

to an interaction of the VLA-4 with an RGD sequence, such a sequence is not contained in VCAM-1 (Bergelson et al., Current Biology, 1995, 5, 615). VLA-4 occurs, however, also on other leukocytes, and the adhesion of leukocytes other than lymphocytes is also mediated via the VCAM-1/VLA-4 adhesion mechanism. VLA-4 thus represents an individual example of a $\beta 1$ -integrin receptor which, via the ligands VCAM-1 and fibronectin, plays an important role both in cell-cell interactions and in cell-extracellular matrix interactions.

The cytokine-induced adhesion molecules play an important role in the recruitment of leukocytes into extravascular tissue regions. Leukocytes are recruited into inflammatory tissue regions by cell adhesion molecules which are expressed on the surface of endothelial cells and serve as ligands for leukocyte cell surface proteins or protein complexes (receptors) (the terms ligand and receptor can also be used vice versa). Leukocytes from the blood must first adhere to endothelial cells before they can migrate into the synovium. Since VCAM-1 binds to cells which carry the integrin VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$), such as eosinophils, T and B lymphocytes, monocytes or neutrophils, it and the VCAM-1/VLA-4 mechanism have the function of recruiting cells of this type from the bloodstream into areas of infection and inflammatory foci (Elices et al., Cell 1990, 60, 577; Osborn, Cell 1990, 62, 3; Issekutz et al., J. Exp. Med. 1996, 183, 2175).

The VCAM-1/VLA-4 adhesion mechanism has been connected with a number of physiological and pathological processes. Apart from by cytokine-induced endothelium, VCAM-1 is additionally expressed, inter alia, by the following cells: myoblasts, lymphoid dendritic cells and tissue macrophages, rheumatoid synovium, cytokine-stimulated neural cells, parietal epithelial cells of Bowman's capsule, the renal tubular epithelium, inflamed tissue during heart and kidney transplant rejection, and by intestinal tissue in graft versus host disease. VCAM-1 is also found to be expressed on those tissue areas of the arterial endothelium which correspond to early atherosclerotic plaques of a rabbit model. In addition, VCAM-1 is expressed on follicular dendritic cells of human lymph nodes and is found on stroma cells of the bone marrow, for example in the mouse. The latter finding points to a function of

VCAM-1 in B-cell development. Apart from on cells of hematopoietic origin, VLA-4 is also found, for example, on melanoma cell lines, and the VCAM-1/VLA-4 adhesion mechanism is connected with the metastasis of such tumours (Rice et al., Science 1989, 246, 1303).

5

The main form in which VCAM-1 occurs in vivo on endothelial cells and which is the dominant form in vivo is designated as VCAM-7D and carries seven immunoglobulin domains. The domains 4, 5 and 6 are similar in their amino acid sequences to the domains 1, 2 and 3. In a further form consisting of six domains, designated here as VCAM-6D, the fourth domain is removed by alternative splicing. VCAM-6D can also bind VLA-4-expressing cells.

10

Further details concerning VLA-4, VCAM-1, integrins and adhesion proteins are found, for example, in the articles by Kilger and Holzmann, J. Mol. Meth. 1995, 73, 347; Elices, Cell Adhesion in Human Disease, Wiley, Chichester 1995, p. 79; Kuijpers, Springer Semin. Immunopathol. 1995, 16, 379.

15

On account of the role of the VCAM-1/VLA-4 mechanism in cell adhesion processes, which are of importance, for example, in infections, inflammation or atherosclerosis, it has been attempted by means of interventions in these adhesion processes to control disorders, in particular, for example, inflammations (Osborn et al., Cell 1989, 59, 1203). A method of doing this is the use of monoclonal antibodies which are directed against VLA-4. Monoclonal antibodies (mABs) of this type, which as VLA-4 antagonists block the interaction between VCAM-1 and VLA-4, are known. Thus, for example, the anti-VLA-4 mABs HP2/1 and HP1/3 inhibit the attachment of VLA-4-expressing Ramos cells (B-cell-like cells) to human umbilical cord endothelial cells and to VCAM-1-transfected COS cells. Likewise, the anti-VCAM-1 mAB 4B9 inhibits the adhesion of Ramos cells, Jurkat cells (T-cell-like cells) and HL60 cells (granulocyte-like cells) to COS cells transfected with genetic constructs which cause VCAM-6D and VCAM-7D to be expressed. In vitro data with antibodies which are directed against the $\alpha 4$ subunit of VLA-4 show that the adhesion of lymphocytes to

20

25

30

synovial endothelial cells is blocked, an adhesion which plays a role in rheumatoid arthritis (van Dinther-Janssen et al., J. Immunol. 1991, 147, 4207).

In vivo experiments have shown that experimental autoimmune encephalomyelitis can be inhibited by anti- $\alpha 4$ mAB. The migration of leukocytes into an inflammatory focus is likewise blocked by a monoclonal antibody against the $\alpha 4$ chain of VLA-4. The influencing of the VLA-4-dependent adhesion mechanism using antibodies has also been investigated in an asthma model in order to investigate the role of VLA-4 in the recruitment of leukocytes into inflamed lung tissue (WO-A-93/13798). The administration of anti-VLA-4 antibodies inhibited the late-phase reaction and the airway hyperreaction in allergic sheep. The importance of VLA-4 as a target for the treatment of asthma is discussed in detail in Metzger, Springer Semin. Immunopathol. 1995, 16, 467.

The VLA-4-dependent cell adhesion mechanism was also investigated in a primate model of inflammatory bowel disease (IBD). In this model, which corresponds to ulcerative colitis in man, the administration of anti- $\alpha 4$ antibodies resulted in a significant reduction of the acute inflammation.

Moreover, it was possible to show that the VLA-4-dependent cell adhesion plays a role in the following clinical conditions including the following chronic inflammatory processes: rheumatoid arthritis (Cronstein and Weismann, Arthritis Rheum. 1993, 36, 147; Elices et al., J. Clin. Invest. 1994, 93, 405), diabetes mellitus (Yang et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1993, 90, 10494), systemic lupus erythematosus (Takeuchi et al., J. Clin. Invest. 1993, 92, 3008), allergies of the delayed type (type IV allergy) (Elices et al., Clin. Exp. Rheumatol. 1993, 11, S77), multiple sclerosis (Yednock et al., Nature 1992, 356, 63), malaria (Ockenhouse et al., J. Exp. Med. 1992, 176, 1183), atherosclerosis (O'Brien et al., J. Clin. Invest. 1993, 92, 945; Shih et al., Circ. Res. 1999, 84, 345), transplantation (Isobe et al., Transplantation Proceedings 1994, 26, 867), various malignancies, for example melanoma (Renkonen et al., Am. J.

Pathol. 1992, 140, 763), lymphoma (Freedman et al., Blood 1992, 79, 206) and others (Albelda et al., J. Cell Biol. 1991, 114, 1059).

The interaction of VLA-4 with VCAM-1 and fibronectin is connected with some
5 pathophysiological processes in cardiovascular diseases. In an in vitro cell system, infiltrated neutrophils inhibit the cell contraction (negative inotropy) of cardiomyocytes by 35%. It was possible to inhibit this negative inotropic action of neutrophils by an anti- α 4 antibody, but not by an anti-CD18 antibody (Poon et al., Circ. Res. 1999, 84, 1245). The importance of VLA-4 in the pathogenesis of atherosclerosis was shown in
10 a mouse model of atherosclerosis. Thus, the CS-1 peptide, which is directed against the binding site of VLA-4 on fibronectin, inhibits the recruitment of leukocytes and the accumulation of fat in the aorta and thus the formation of atherosclerotic plaques in atherogenically fed LDL receptor knockout mice (Shih et al., Circ. Res. 1999, 84, 345). Using the same CS-1 peptide, it was furthermore possible to show in a
15 heterotopic heart transplantation model in the rabbit that the formation of a transplant vasculopathy can be significantly decreased by the blockade of the interaction of VLA-4 and fibronectin (Molossi et al., J. Clin. Invest. 1995, 95, 2601).

Blocking of VLA-4 by suitable antagonists thus offers effective therapeutic
20 possibilities of treating, for example, in particular various inflammatory conditions including asthma and IBD. The particular relevance of VLA-4 antagonists for the treatment of rheumatoid arthritis results here, as already stated, from the fact that leukocytes from the blood must first adhere to endothelial cells before they can migrate into the synovium, and that the VLA-4 receptor plays a role in this adhesion.
25 The fact that VCAM-1 is induced on endothelial cells by inflammatory agents (Osborn, Cell 1990, 62, 3; Stoolman, Cell 1989, 56, 907), and the recruitment of various leukocytes into areas of infection and inflammatory foci has already been discussed above. T cells adhere to activated endothelium here mainly via the LFA-1/ICAM-1 and VLA-4/VCAM-1 adhesion mechanisms (Springer, Cell 1994, 76, 301).
30 On most synovial T cells, the binding capacity of VLA-4 for VCAM-1 is increased in rheumatoid arthritis (Postigo et al., J. Clin. Invest. 1992, 89, 1445). In addition, an increased adhesion of synovial T cells to fibronectin has been observed (Laffon et al.,

J. Clin. Invest. 1991, 88, 546; Morales-Ducret et al., J. Immunol. 1992, 149, 1424).

VLA-4 is thus upregulated both with respect to its expression and with respect to its function on T lymphocytes of the rheumatoid synovial membrane. The blocking of the binding of VLA-4 to its physiological ligands VCAM-1 and fibronectin makes possible

5 an effective prevention or alleviation of articular inflammatory processes. This is also confirmed by experiments with the antibody HP2/1 on Lewis rats with adjuvant arthritis, in which an effective disease prevention was observed (Barbadillo et al., Springer Semin. Immunopathol. 1995, 16, 427). CS-1 peptidomimetics which contain an aspartic acid unit or a derivative thereof in the molecule and which inhibit the
10 binding of VLA-4 to the CS-1 sequence of the matrix-protein fibronectin are described in WO-A-00/02903. VLA-4 is thus an important therapeutic target molecule.

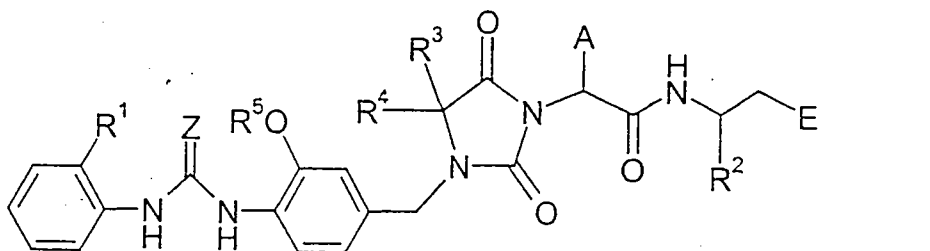
The abovementioned VLA-4 antibodies and the use of antibodies as VLA-4 antagonists are described in the patent applications WO-A-93/13798, WO-A-
15 93/15764, WO-A-94/16094, WO-A-94/17828 and WO-A-95/19790. The patent applications WO-A-94/15958, WO-A-95/15973, WO-A-96/00581, WO-A-96/06108 and WO-A-96/20216 describe peptide compounds as VLA-4 antagonists. The use of antibodies and peptide compounds as pharmaceuticals, however, is afflicted with disadvantages, for example lack of oral availability, easy degradability or
20 immunogenic action on long-term administration, and there is thus a need for VLA-4 antagonists having a favourable property profile for use in the therapy and prophylaxis of various disease conditions.

WO-A-95/14008, WO-A-93/18057, US-A-5 658 935, US-A-5 686 421, US-A-

25 5 389 614, US-A-5 397 796, US-A-5 424 293 and US-A-5 554 594 describe substituted 5-membered ring heterocycles which have an amino, amidino or guanidino function at the N-terminal end of the molecule and which show platelet aggregation-inhibiting actions. EP-A-796 855 describes further heterocycles which are inhibitors of bone resorption. EP-A-842 943, EP-A-842 945 and EP-A-842 944
30 describe that compounds from these series and further compounds surprisingly also inhibit leukocyte adhesion and are VLA-4 antagonists.

EP-A-903 353, EP-A-905 139, EP-A-918 059, WO-99/23063, WO-A-99/24398, WO-A-99/54321 and WO-A-99/60015 describe further compounds which inhibit leukocyte adhesion and are VLA-4-antagonists. The properties of these compounds, however, are still not satisfactory in various respects and there is a need for compounds having a further improved property profile. EP-A-918 059 mentions, inter alia, imidazolidine derivatives in which the imidazolidine ring is bonded via its 1-position to the carbon atom in the 2-position of a 2-(cycloalkylalkyl)acetyl amino unit or a 2-isobutylacetyl amino unit. Not specifically disclosed, however, are the imidazolidine derivatives of the formula I of the present invention, which are distinguished by their advantageous property profile and in particular by their markedly increased potency.

The present invention relates to compounds of the formula I,



15

in which

A is cyclopropylmethyl- or isobutyl;

E is $-\text{CO}-\text{R}^6$, $-\text{CO}-\text{H}$ or $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{R}^7$;

Z is oxygen or sulfur;

20 R^1 is hydrogen or methyl;

R^2 is phenyl, pyridyl or (C_1-C_4) -alkyl, where the alkyl residue can be substituted by one or more fluorine atoms and the phenyl residue can be substituted by one or more identical or different substituents from the group consisting of (C_1-C_4) -alkyl, (C_1-C_4) -alkoxy, methylenedioxy, ethylenedioxy, halogen, trifluoromethyl and trifluoromethoxy;

25 R^3 and R^4 are methyl or trifluoromethyl;

R^5 is hydrogen or (C_1-C_4) -alkyl, where the alkyl residue can be substituted by one or more fluorine atoms;

R^6 is hydroxyl, (C₁-C₁₀)-alkoxy, phenyl-(C₁-C₈)-alkoxy, phenyloxy, (C₁-C₈)-alkylcarbonyloxy-(C₁-C₆)-alkoxy, phenylcarbonyloxy-(C₁-C₆)-alkoxy, phenyl-(C₁-C₆)-alkylcarbonyloxy-(C₁-C₆)-alkoxy, (C₁-C₈)-alkoxycarbonyloxy-(C₁-C₆)-alkoxy, phenyloxycarbonyloxy-(C₁-C₆)-alkoxy, phenyl-(C₁-C₆)-alkoxycarbonyloxy-(C₁-C₆)-alkoxy, amino, mono((C₁-C₁₀)-alkyl)amino or di((C₁-C₁₀)-alkyl)amino;

R^7 is hydrogen or (C₁-C₄)-alkyl;

in all their stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, and their physiologically tolerable salts.

- 10 Alkyl residues can be straight-chain or branched. This also applies if they carry substituents or occur as substituents of other residues, for example in fluoroalkyl residues, alkoxy residues or alkoxycarbonyl residues. Examples of alkyl residues are methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl (= 1-methylethyl = iC₃H₇), n-butyl, isobutyl (= 2-methylpropyl), sec-butyl (= 1-methylpropyl), tert-butyl (= 1,1-dimethylethyl),
- 15 n-pentyl, isopentyl, tert-pentyl, neopentyl, n-hexyl, 3-methylpentyl, isohexyl, neoheptyl, n-heptyl, 2,3,5-trimethylhexyl, n-octyl, n-nonyl, n-decyl. Preferred alkyl residues are methyl, ethyl, n-propyl, isopropyl, n-butyl, isobutyl, sec-butyl, tert-butyl. In alkyl residues, one or more, for example 1, 2, 3, 4 or 5, hydrogen atoms can be substituted by fluorine atoms. Examples of such fluoroalkyl residues are
- 20 trifluoromethyl, 2,2,2-trifluoroethyl, pentafluoroethyl, heptafluoroisopropyl. Substituted alkyl residues, for example phenylalkyl residues or fluoroalkyl residues, can be substituted in any desired positions.

- Phenyl residues can be unsubstituted or mono- or polysubstituted, for example
- 25 mono-, di-, tri-, tetra- or pentasubstituted, by identical or different substituents. If a phenyl residue is substituted, it preferably carries one or two identical or different substituents. This also applies to substituted phenyl residues in groups such as phenylalkyl, phenylcarbonyl, etc. Phenylalkyl residues are, for example, benzyl, 1-phenylethyl or 2-phenylethyl, in particular benzyl, all of which can also be
- 30 substituted.

In monosubstituted phenyl residues, the substituent can be situated in the 2-position, the 3-position or the 4-position. Disubstituted phenyl can be substituted in the 2,3-position, 2,4-position, 2,5-position, 2,6-position, 3,4-position or 3,5-position. In trisubstituted phenyl residues, the substituents can be situated in the 2,3,4-position, 2,3,5-position, 2,4,5-position, 2,4,6-position, 2,3,6-position or 3,4,5-position. If a phenyl residue carries substituents from the group consisting of methylenedioxy (-O-CH₂-O-) and ethylenedioxy (-O-CH₂-CH₂-O-), it preferably carries only one substituent from this group (if desired in addition to other substituents).

- 10 Examples of substituted phenyl residues which can represent R² are 2-methylphenyl, 3-methylphenyl, 4-methylphenyl, 2,3-dimethylphenyl, 2,4-dimethylphenyl, 2,5-dimethylphenyl, 2,6-dimethylphenyl, 3,4-dimethylphenyl, 3,5-dimethylphenyl, 2,4,5-trimethylphenyl, 2,4,6-trimethylphenyl, 3,4,5-trimethylphenyl, 2-(n-butyl)phenyl, 3-(n-butyl)phenyl, 4-(n-butyl)phenyl, 2-isobutylphenyl, 3-isobutylphenyl, 4-isobutylphenyl, 3-tert-butylphenyl, 4-tert-butylphenyl, 2-methoxyphenyl, 3-methoxyphenyl, 4-methoxyphenyl, 2,3-dimethoxyphenyl, 2,4-dimethoxyphenyl, 2,5-dimethoxyphenyl, 2,6-dimethoxyphenyl, 3,4-dimethoxyphenyl, 3,5-dimethoxyphenyl, 2,4,5-trimethoxyphenyl, 2,4,6-trimethoxyphenyl, 3,4,5-trimethoxyphenyl, 2-(n-butoxy)phenyl, 3-(n-butoxy)phenyl, 4-(n-butoxy)phenyl, 2-isobutoxyphenyl, 3-isobutoxyphenyl, 4-isobutoxyphenyl, 2-tert-butoxyphenyl, 3-tert-butoxyphenyl, 4-tert-butoxyphenyl, 2,3-methylenedioxyphenyl, 3,4-methylenedioxyphenyl, 2,3-ethylenedioxyphenyl, 3,4-ethylenedioxyphenyl, 2-fluorophenyl, 3-fluorophenyl, 4-fluorophenyl, 2,3-difluorophenyl, 2,4-difluorophenyl, 2,5-difluorophenyl, 2,6-difluorophenyl, 3,4-difluorophenyl, 3,5-difluorophenyl, 2,4,5-trifluorophenyl, 2,4,6-trifluorophenyl, 3,4,5-trifluorophenyl, 2,3,5,6-tetrafluorophenyl, 2,3,4,5,6-pentafluorophenyl, 2-chlorophenyl, 3-chlorophenyl, 4-chlorophenyl, 2,3-dichlorophenyl, 2,4-dichlorophenyl, 2,5-dichlorophenyl, 2,6-dichlorophenyl, 3,4-dichlorophenyl, 3,5-dichlorophenyl, 2-bromophenyl, 3-bromophenyl, 4-bromophenyl, 3-iodophenyl, 4-iodophenyl, 2-trifluoromethylphenyl, 3-trifluoromethylphenyl, 4-trifluoromethylphenyl, 3,4-bis-(trifluoromethyl)phenyl, 3,5-bis(trifluoromethyl)phenyl, 2-trifluoromethoxyphenyl, 3-trifluoromethoxyphenyl, 4-trifluoromethoxyphenyl, etc. In substituted phenyl residues, however, just so different substituents can be present in

any desired combination, such as, for example, in the residues 3-methoxy-4-methylphenyl, 4-fluoro-3-methoxyphenyl, 3-fluoro-4-methoxyphenyl, 3,5-difluoro-4-methoxyphenyl, 3-fluoro-4,5-methylenedioxyphenyl, 3-fluoro-4,5-ethylenedioxyphenyl, 2-chloro-3-methylphenyl, 3-chloro-4-methylphenyl, 3-chloro-4-fluorophenyl, etc.

Halogen is fluorine, chlorine, bromine or iodine, preferably fluorine or chlorine.

Pyridyl is 2-pyridyl, 3-pyridyl or 4-pyridyl. In pyridyl residues, the nitrogen atom can also be oxidized and the corresponding compound of the formula I can be present as a pyridine N-oxide, which is likewise included by the present invention.

Physiologically tolerable salts of the compounds of the formula I are in particular non-toxic or pharmaceutically utilizable salts. Compounds of the formula I which contain acidic groups, for example a carboxylic acid group representing the group E, can be present, for example, as alkali metal salts or alkaline earth metal salts, for example sodium salts, potassium salts, magnesium salts and calcium salts, or as ammonium salts such as, for example, salts with physiologically tolerable quaternary ammonium ions and acid addition salts with ammonia and physiologically tolerable organic amines, such as, for example, methylamine, ethylamine, triethylamine, 2-hydroxyethylamine, tris(2-hydroxyethyl)amine, α,α,α -tris(hydroxymethyl)methylamine (tromethamine) or amino acids, in particular basic amino acids. Salts of an acidic compound of the formula I with an organic amine can contain the two components in the ratio 1:1 or about 1:1 or in another ratio, for example in a ratio of from about 1:0.5 to about 1:4 (1 molecule of the formula I per 0.5 to 4 molecules of the amine), in particular in a ratio of from about 1:0.5 to about 1:2 (1 molecule of the formula I per 0.5 to 2 molecules of the amine).

Compounds of the formula I which contain basic groups, for example a pyridyl group, can be present as acid addition salts, for example as salts with inorganic acids such as, for example, hydrochloric acid, sulfuric acid or phosphoric acid, or as salts with organic carboxylic acids or sulfonic acids such as, for example, acetic acid, citric

acid, benzoic acid, maleic acid, fumaric acid, tartaric acid, methanesulfonic acid or p-toluenesulfonic acid. Compounds which contain both acidic groups and basic groups can also be present in the form of inner salts, zwitterions or betaines, which are likewise included by the present invention.

5

Salts can be obtained from the compounds of the formula I by customary processes known to the person skilled in the art, for example by combination with an organic or inorganic acid or base in a solvent or diluent, or from other salts by anion exchange or cation exchange.

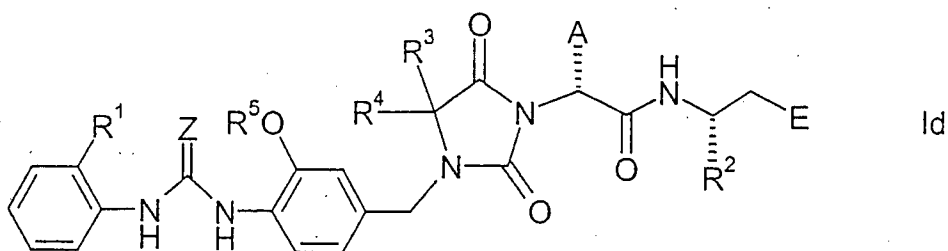
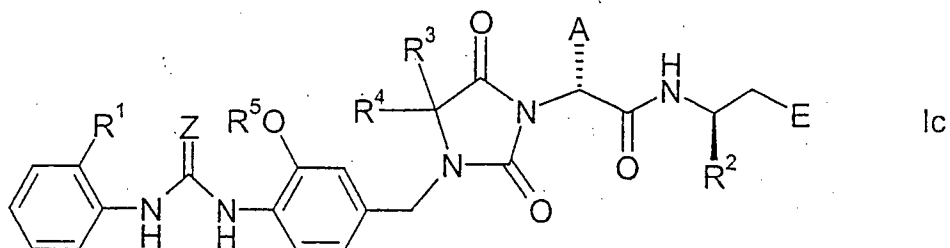
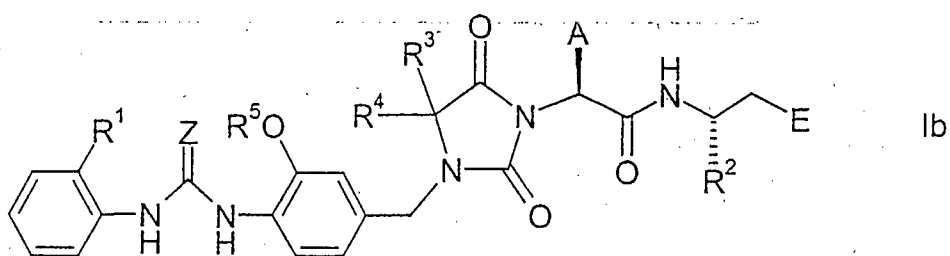
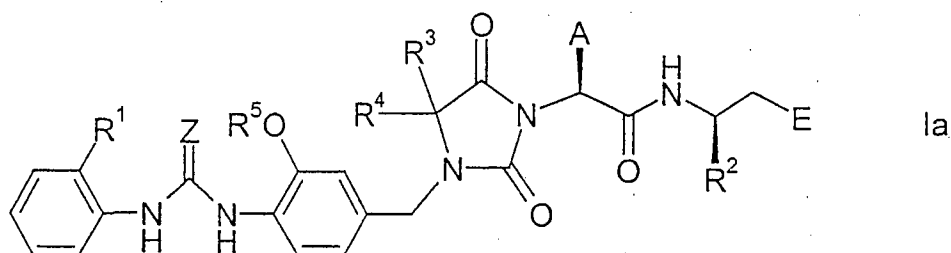
10

The compounds of the formula I can be present in stereoisomeric forms. With respect to each asymmetric centers in the compounds of the formula I, independently of any other asymmetric center, it is possible for the S configuration or the R configuration to be present or R/S mixtures to be present. Thus the asymmetric carbon atom to which the residue R^2 is bonded can have the R configuration or S configuration or the compound of the formula I can be present as an R/S mixture with respect to this carbon atom. Likewise, the asymmetric carbon atom to which the group A and the imidazolidine ring are bonded can have the R configuration or S configuration or the compound of the formula I can be present as an R/S mixture with respect to this carbon atom. All other asymmetric carbon atoms can likewise have the R configuration or the S configuration or the compound of the formula I can be present as an R/S mixture with respect to each of these carbon atoms. In R/S mixtures the individual stereoisomers can be present in any ratio including a ratio of 1:1.

20

25 The invention includes all possible stereoisomers of the compounds of the formula I, for example pure or largely pure enantiomers and pure or largely pure diastereomers and mixtures of two or more stereoisomeric forms, for example mixtures of enantiomers and/or diastereomers, in all ratios. The invention thus relates to enantiomers in enantiomerically pure form, both as levorotatory and as dextrorotatory
30 antipodes, in the form of racemates and in the form of mixtures of the two enantiomers in all ratios. The invention likewise relates to diastereomers in diastereomerically pure form and in the form of mixtures in all ratios. Examples of

individual stereoisomers which are comprised by the invention are the compounds of the formulae Ia, Ib, Ic and Id.



The preparation of individual stereoisomers, if desired, can be carried out by use of stereochemically uniform starting substances in the synthesis, by stereoselective synthesis or by separation of a mixture according to customary methods, for example by chromatography or crystallization, in the case of enantiomers, for example, by

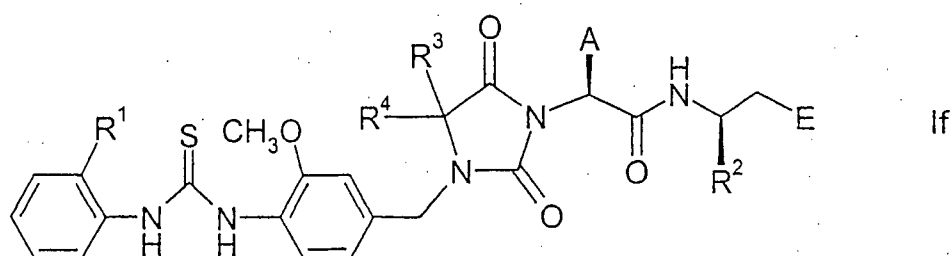
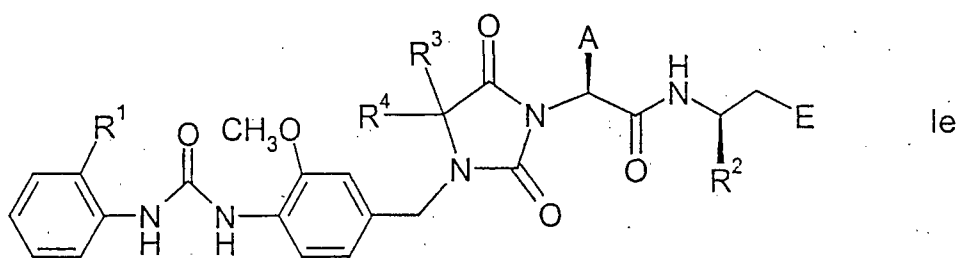
chromatography on chiral phases. If appropriate, a derivatization can be carried out before a separation of stereoisomers. The separation of a stereoisomer mixture can be carried out at the stage of the compounds of the formula I or at the stage of a starting substance or an intermediate in the course of the synthesis.

5

The compounds of the formula I according to the invention can contain mobile hydrogen atoms, i. e., they can be present in various tautomeric forms. The present invention comprises all tautomers of the compounds of the formula I. The present invention also comprises solvates and addition compounds or adducts of compounds of the formula I, for example adducts with water, i.e. hydrates, or adducts with alcohols or amines. The invention furthermore comprises derivatives of compounds of the formula I, for example esters, amides, prodrugs and other physiologically tolerable derivatives, and active metabolites of compounds of the formula I. The invention in particular also relates to prodrugs of the compounds of the formula I which in vitro are not necessarily pharmacologically active, but which in vivo, under physiological conditions, are converted into active compounds of the formula I. Suitable prodrugs for the compounds of the formula I, i.e. chemically modified derivatives of the compounds of the formula I having properties improved in a desired manner, are known to the person skilled in the art. More detailed information regarding prodrugs is found, for example, in Fleisher et al., Advanced Drug Delivery Reviews 19 (1996) 115; Design of Prodrugs, H. Bundgaard, Ed., Elsevier, 1985; H. Bundgaard, Drugs of the Future 16 (1991) 443. Suitable prodrugs for the compounds of the formula I are especially ester prodrugs, amide prodrugs, aldehyde prodrugs and alcohol prodrugs of carboxylic acid groups, for example of a carboxylic acid group representing the group E. Thus, also the compounds of the formula I in which the group E is hydroxymethyl, alkoxymethyl or formyl and which exhibit VLA-4 antagonism in vivo are prodrugs of the compounds of the formula I in which the group E is hydroxycarbonyl. Examples of ester prodrugs and amide prodrugs which may be mentioned are (C₁-C₄)-alkyl esters such as methyl esters, ethyl esters, isopropyl esters, isobutyl esters, substituted alkyl esters such as hydroxyalkyl esters, acyloxyalkyl esters, aminoalkyl esters, acylaminoalkyl esters, dialkylaminoalkyl

esters, unsubstituted amides or N-(C₁-C₄)-alkylamides such as methylamides or ethylamides.

Examples of compounds of the formula I according to the invention which may be mentioned are the following compounds of the formulae Ie and If, which have the S configuration on the carbon atom which carries the group A, and have the S configuration on the carbon atom which carries the group R² if R² is phenyl or pyridyl, and have the R configuration on the carbon atom which carries the group R² if R² is methyl. The present invention likewise relates to the physiologically tolerable salts of the compounds of the formulae Ie and If, for example metal salts or salts with organic ammonium cations of compounds of the formulae Ie and If which contain a carboxylic acid group, or acid additions salts of compounds of the formulae Ie and If which contain pyridyl residues, for example the hydrochlorides.



Compounds of the formulae Ie and If:

R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	phenyl	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	phenyl	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	phenyl	COOC ₂ H ₅

R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	phenyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	phenyl	CH ₂ OH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	CH ₂ OH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	phenyl	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	phenyl	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	phenyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	phenyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	phenyl	CH ₂ OH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	CH ₂ OH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	2-pyridyl	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	2-pyridyl	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	2-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	2-pyridyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	2-pyridyl	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	2-pyridyl	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	2-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	2-pyridyl	COOiC ₃ H ₇

R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	2-pyridyl	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	2-pyridyl	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	2-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	2-pyridyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	2-pyridyl	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	2-pyridyl	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	2-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	2-pyridyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	3-pyridyl	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	3-pyridyl	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	3-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	3-pyridyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	3-pyridyl	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	3-pyridyl	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	3-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	3-pyridyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	3-pyridyl	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	3-pyridyl	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	3-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	3-pyridyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	3-pyridyl	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	3-pyridyl	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	3-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	3-pyridyl	COOiC ₃ H ₇

R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	4-pyridyl	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	4-pyridyl	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	4-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	4-pyridyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	4-pyridyl	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	4-pyridyl	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	4-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	4-pyridyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	4-pyridyl	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	4-pyridyl	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	4-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	4-pyridyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	4-pyridyl	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	4-pyridyl	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	4-pyridyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	4-pyridyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	methyl	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	methyl	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	methyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	methyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutyl	methyl	CH ₂ OH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOC ₂ H ₅

R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	CH ₂ OH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	methyl	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	methyl	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	methyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	methyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutyl	methyl	CH ₂ OH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	CH ₂ OH
H	CH ₃	CH ₃	isobutyl	phenyl	COOH
H	CH ₃	CH ₃	isobutyl	phenyl	COONa
H	CH ₃	CH ₃	isobutyl	phenyl	COOC ₂ H ₅
H	CH ₃	CH ₃	isobutyl	phenyl	COOiC ₃ H ₇
H	CH ₃	CH ₃	isobutyl	phenyl	CH ₂ OH
H	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOH
H	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COONa
H	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOC ₂ H ₅
H	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOiC ₃ H ₇
H	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	CH ₂ OH
H	CF ₃	CF ₃	isobutyl	phenyl	COOH
H	CF ₃	CF ₃	isobutyl	phenyl	COONa
H	CF ₃	CF ₃	isobutyl	phenyl	COOC ₂ H ₅

R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
H	CF ₃	CF ₃	isobutyl	phenyl	COOiC ₃ H ₇
H	CF ₃	CF ₃	isobutyl	phenyl	CH ₂ OH
H	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOH
H	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COONa
H	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOC ₂ H ₅
H	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	COOiC ₃ H ₇
H	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	phenyl	CH ₂ OH
H	CH ₃	CH ₃	isobutyl	methyl	COOH
H	CH ₃	CH ₃	isobutyl	methyl	COONa
H	CH ₃	CH ₃	isobutyl	methyl	COOC ₂ H ₅
H	CH ₃	CH ₃	isobutyl	methyl	COOiC ₃ H ₇
H	CH ₃	CH ₃	isobutyl	methyl	CH ₂ OH
H	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOH
H	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COONa
H	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOC ₂ H ₅
H	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOiC ₃ H ₇
H	CH ₃	CH ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	CH ₂ OH
H	CF ₃	CF ₃	isobutyl	methyl	COOH
H	CF ₃	CF ₃	isobutyl	methyl	COONa
H	CF ₃	CF ₃	isobutyl	methyl	COOC ₂ H ₅
H	CF ₃	CF ₃	isobutyl	methyl	COOiC ₃ H ₇
H	CF ₃	CF ₃	isobutyl	methyl	CH ₂ OH
H	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOH
H	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COONa
H	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOC ₂ H ₅

R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
H	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	COOIC ₃ H ₇
H	CF ₃	CF ₃	cyclopropylmethyl-	methyl	CH ₂ OH

The individual structural elements in the compounds of the formula I according to the invention preferably have the following meanings, which they can have independently of one another.

5

R² is preferably (C₁-C₄)-alkyl which can be substituted by one or more fluorine atoms, or pyridyl, or unsubstituted phenyl, or phenyl which is substituted by a methylenedioxy residue or an ethylenedioxy residue, or phenyl which is substituted by one or two (C₁-C₄)-alkoxy groups. The alkyl group representing R², which can

10 optionally be substituted by fluorine, is in particular one of the groups methyl, ethyl, isopropyl, trifluoromethyl and 2,2,2-trifluoroethyl. The alkoxy substituents in a phenyl group representing R² are in particular methoxy groups. Particularly preferably, R² is methyl, pyridyl, unsubstituted phenyl, phenyl which is substituted by a methylenedioxy residue or an ethylenedioxy residue or phenyl which is substituted by
15 one or two methoxy groups. Very particularly preferably, R² is methyl, unsubstituted phenyl or pyridyl.

R³ and R⁴ can be identical or different. Preferably, the two groups R³ and R⁴ are identical. In one embodiment of the present invention, R³ and R⁴ are both methyl. In
20 another embodiment of the present invention, R³ and R⁴ are both trifluoromethyl.

An alkyl group representing R⁵, which can be substituted by one or more fluorine atoms, is preferably a methyl group, an ethyl group or a trifluoromethyl group.

Preferably, R⁵ is (C₁-C₄)-alkyl, which can be substituted by one or more fluorine
25 atoms. Particularly preferably, R⁵ is methyl or trifluoromethyl, very particularly preferably methyl.

R⁶ is preferably hydroxyl, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl-(C₁-C₄)-alkoxy, phenyloxy or amino (NH₂), particularly preferably hydroxyl, (C₁-C₆)-alkoxy or amino, very particularly

preferably hydroxyl or (C₁-C₆)-alkoxy, especially preferably hydroxyl or (C₁-C₄)-alkoxy, in particular hydroxyl.

R⁷ is preferably hydrogen or (C₁-C₃)-alkyl, particularly preferably hydrogen or methyl,
5 very particularly preferably hydrogen.

E is preferably -CO-R⁶, -CO-H, -CH₂-OH or -CH₂-OCH₃, particularly preferably
-CO-R⁶, -CH₂-OH or -CH₂-OCH₃, very particularly preferably -CO-R⁶ or -CH₂-OH,
moreover preferably -COOH, -COOC₂H₅, -COOiC₃H₇ or -CH₂-OH, in particular
10 -COOH.

In one embodiment of the present invention Z is sulfur, in another embodiment Z is oxygen.

15 In one embodiment of the present invention A is the isobutyl residue (2-methylpropyl residue; (CH₃)₂CH-CH₂-), in another embodiment A is the cyclopropylmethyl residue (cyclopropyl-CH₂-). Furthermore, in one embodiment of the present invention R¹ is hydrogen and in another embodiment R¹ is methyl.

20 Preferred compounds of the formula I are those which have a uniform configuration on one or more chiral centers, for example on the carbon atom which carries the residue R², and/or on the carbon atom which carries the residue A and the imidazolidine residue. I. e., compounds are preferred which are present in a uniform or essentially uniform configuration on one or more chiral centers, either in the R
25 configuration or in the S configuration, but not as an R/S mixture. However, as explained, the individual chiral centers in these compounds of the formula I can independently of one another have the R configuration or the S configuration and have identical or different configurations. Particularly preferred compounds of the formula I are those in which the carbon atom which carries the residue A and the
30 imidazolidine residue is present in the S configuration, i.e. in the configuration with respect to this stereocenter which is shown in the formulae Ia and Ib. Particularly preferred compounds of the formula I are also those in which the carbon atom which

carries the group R^2 is present in the configuration shown in the formulae Ia and Ic. If R^2 , for example, is phenyl, substituted phenyl or pyridyl, in these particularly preferred compounds the carbon atom which carries the group R^2 has the S configuration, if R^2 is methyl, ethyl or isobutyl, it has the R configuration. Very particularly preferred compounds of the formula I are those in which the two above-mentioned stereocenters are present in the configurations shown in the formula Ia.

Preferred compounds of the formula I are those compounds in which one or more of the residues have preferred meanings or have a specific meaning selected from the meanings included, the present invention relating to all combinations of preferred meanings and/or specific meanings of residues. Examples of preferred compounds are, for example, compounds in which, simultaneously, R^1 , R^3 , R^4 and R^5 are methyl and A is isobutyl, or compounds in which, simultaneously, R^1 , R^3 , R^4 and R^5 are methyl and A is cyclopropylmethyl, or compounds in which, simultaneously, R^1 is methyl, R^3 and R^4 are trifluoromethyl, R^5 is methyl and A is isobutyl, or compounds in which, simultaneously, R^1 is methyl, R^3 and R^4 are trifluoromethyl, R^5 is methyl and A is cyclopropylmethyl, or compounds in which, simultaneously, R^1 is hydrogen, R^3 , R^4 and R^5 are methyl and A is isobutyl, or compounds in which, simultaneously, R^1 is hydrogen, R^3 , R^4 and R^5 are methyl and A is cyclopropylmethyl, or compounds in which, simultaneously, R^1 is hydrogen, R^3 and R^4 are trifluoromethyl, R^5 is methyl and A is isobutyl, or compounds in which, simultaneously, R^1 is hydrogen, R^3 and R^4 are trifluoromethyl, R^5 is methyl and A is cyclopropylmethyl, and the other groups have the general meanings indicated above in the compounds of the formula I or have preferred meanings or have specific meanings from their respective definitions.

Particularly preferred compounds are, for example, compounds of the formula I, in which

A is cyclopropylmethyl- or isobutyl;

E is $-\text{CO}-R^6$ or $-\text{CH}_2-\text{OH}$;

Z is oxygen;

R^1 is hydrogen or methyl;

R² is pyridyl, unsubstituted phenyl, phenyl which is substituted by a methylenedioxy residue or an ethylenedioxy residue, phenyl which is substituted by one or two (C₁-C₄)-alkoxy groups, or (C₁-C₄)-alkyl which can be substituted by one or more fluorine atoms;

5 R³ and R⁴ are methyl;

R⁵ is methyl;

R⁶ is hydroxyl, (C₁-C₆)-alkoxy, phenyl-(C₁-C₄)-alkoxy, phenoxy or amino;

in all their stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios,

and their physiologically tolerable salts.

10

Very particularly preferred compounds are, for example, compounds of the formula I, in which

A is cyclopropylmethyl- or isobutyl;

E is -COOH, -COOC₂H₅, -COOiC₃H₇ or -CH₂-OH;

15 Z is oxygen;

R¹ is methyl;

R² is pyridyl, unsubstituted phenyl, phenyl which is substituted by a methylenedioxy residue or an ethylenedioxy residue, phenyl which is substituted by one or two methoxy groups, or (C₁-C₄)-alkyl which can be substituted by one or more fluorine

20 atoms;

R³ and R⁴ are methyl;

R⁵ is methyl;

in all their stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios,

and their physiologically tolerable salts.

25

Especially preferred compounds are, for example, compounds of the formula I, in which

A is cyclopropylmethyl- or isobutyl;

E is -COOH, -COOC₂H₅, -COOiC₃H₇ or -CH₂-OH;

30 Z is oxygen;

R¹ is methyl;

R² is unsubstituted phenyl, pyridyl, methyl or 2,2,2-trifluoroethyl;

R^3 and R^4 are methyl;

R^5 is methyl;

in all their stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios,
and their physiologically tolerable salts.

5

Particularly especially preferred compounds are, for example, compounds of the formula I, in which

A is cyclopropylmethyl- or isobutyl;

E is $-\text{COOH}$, $-\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{COOiC}_3\text{H}_7$ or $-\text{CH}_2\text{-OH}$;

10 Z is oxygen;

R^1 is methyl;

R^2 is unsubstituted phenyl, pyridyl or methyl;

R^3 and R^4 are methyl;

R^5 is methyl;

15 in all their stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios,
and their physiologically tolerable salts.

All above definitions of subgroups of the compounds of the formula I apply analogously for compounds of the formula I in which R^3 and R^4 are both

20 trifluoromethyl instead of methyl. Thus, for example, particularly especially preferred compounds are also compounds of the formula I, in which

A is cyclopropylmethyl- or isobutyl;

E is $-\text{COOH}$, $-\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{COOiC}_3\text{H}_7$ or $-\text{CH}_2\text{-OH}$;

Z is oxygen;

25 R^1 is methyl;

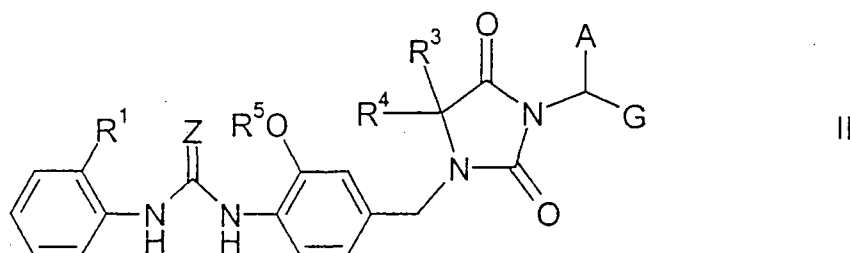
R^2 is unsubstituted phenyl, pyridyl or methyl;

R^3 and R^4 are trifluoromethyl;

R^5 is methyl;

in all their stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios,
30 and their physiologically tolerable salts

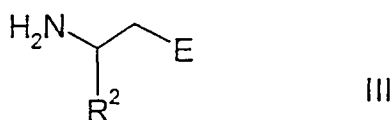
The compounds of the formula I can be prepared, for example, by condensation of a compound of the formula II



II

5

with a compound of the formula III,



III

- 10 where in the formulae II and III the groups A, E, Z, R¹, R², R³, R⁴ and R⁵ are defined as indicated above or alternatively functional groups can be present in these groups in protected form or in the form of precursors, and where G is hydroxycarbonyl, (C₁-C₆)-alkoxycarbonyl or activated carboxylic acid derivatives such as, for example, acid chlorides or active esters.

15

In the condensation of the compounds of the formulae II and III, as a rule it is necessary that a carboxylic acid group which is present but is not involved in the condensation reaction is protected by a reversible protective group and then is present, for example, in the form of a suitable (C₁-C₆)-alkyl ester such as the tert-butyl ester or the benzyl ester. When compounds of the formula I are to be prepared in which the group E, for example, is a hydroxycarbonyl group or a group which is to be prepared from a hydroxycarbonyl group, in the compounds of the formula III, for example, the residue E can first be a hydroxycarbonyl group present in protected form and then, after the condensation of the compounds of the formulae II and III, the hydroxycarbonyl group can be liberated and/or the desired final group E can be synthesized in one or more further steps.

25

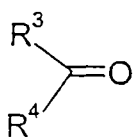
Precursors of functional groups are groups which can be converted into the desired functional group according to the customary synthesis processes known to the person skilled in the art. For example, a cyano group which can be converted into a carboxylic acid group by hydrolysis can be designated as a precursor for this group. An alcohol group which can be oxidized to an aldehyde group can be designated as a precursor for this group. Examples of protective groups which may be introduced before carrying out a reaction or a reaction sequence and are later removed again have already been mentioned.

For the condensation of the compounds of the formulae II and III, the coupling methods of peptide chemistry which are well known per se to the person skilled in the art are advantageously used (see, for example, Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie [Methods of Organic Chemistry], Volume 15/1 and 15/2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974). Possible condensing agents or coupling reagents are, for example, carbonyldiimidazole, carbodiimides such as dicyclohexylcarbodiimide (DCC) or diisopropylcarbodiimide, O-((cyano(ethoxycarbonyl)methylene)amino)-N,N,N',N'-tetramethyluronium tetrafluoroborate (TOTU) or propylphosphonic anhydride (PPA). The condensations can be carried out under standard conditions which are well known to the person skilled in the art. In general, they are carried out in an inert solvent or diluent, for example in an aprotic solvent such as N,N-dimethylformamide (DMF), dimethyl sulfoxide (DMSO), N-methyl-2-pyrrolidone (NMP), tetrahydrofuran (THF) or dimethoxyethane (DME). Depending on the condensation carried out in the individual case, it may be advantageous to add a base such as a tertiary amine or auxiliary reagents, for example an N-hydroxy compound such as 1-hydroxybenzotriazole (HOBT). The work-up of the reaction mixture and a purification of the product can be carried out according to customary standard processes. After the condensation, the protective groups present are removed in a suitable manner. For example, benzyl groups in benzyl esters can be removed by catalytic hydrogenation, or protective groups of the tert-butyl type can be removed by treatment with a suitable acid. The preparation of the compounds of the formula I can also be carried out, for example,

by synthesizing the compounds stepwise on a solid phase according to customary methods, it being possible to introduce the individual structural elements of the molecule in different sequences.

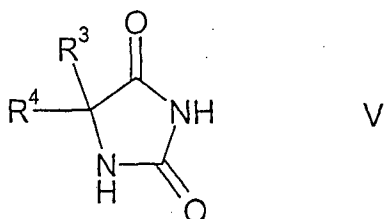
- 5 The amino compounds of the formula III are commercially available or can be synthesized according to or analogously to well-known standard processes from starting compounds which are commercially available or in turn are obtainable according to or analogously to literature procedures. For example, optically active 3-substituted 3-aminopropionic acids of the formula III or their esters, in particular
- 10 3-phenyl-3-aminopropionic acid esters, can be prepared from the corresponding 3-substituted acrylic acids, which in turn are obtainable from the corresponding aldehydes. The 3-substituted acrylic acids are converted using oxalyl chloride into the acid chlorides and these are converted using an alcohol into the esters, for examples using tert-butanol into the tert-butyl esters. For the introduction of the
- 15 amino group, the esters are then reacted with the lithium salt of an optically active amine, for example the lithium salt of (R)-(+)-N-benzyl-N-(1-phenylethyl)amine, and then the benzyl group and the phenylethyl group in the 3-substituted tert-butyl 3-(N-benzyl-N-(1-phenylethyl)amino)propionate obtained are removed by catalytic hydrogenation. For the preparation of compounds of the formula III in which E is the
- 20 hydroxymethyl group CH_2OH or an etherified hydroxymethyl group, it is possible to employ in the condensation reaction 3-substituted 3-aminopropanols or their ethers which are obtainable from the 3-substituted 3-aminopropionic acids or their esters by reduction of the acid group or the ester group, for example from the ethyl ester or tert-butyl ester, using lithium aluminum hydride or lithium aluminum
- 25 hydride/aluminum trichloride.

Compounds of the formula II can be prepared, for example, by first reacting compounds of the formula IV

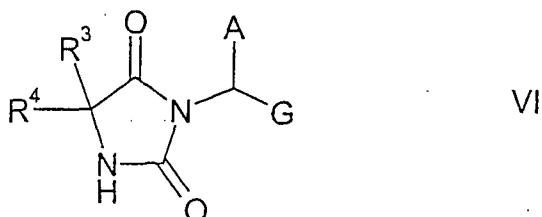


IV

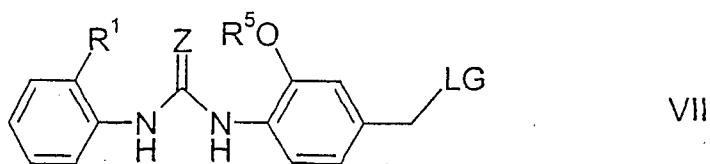
in a Bucherer reaction, for example with ammonium carbonate and potassium cyanide, to give compounds of the formula V



which are then reacted with an alkylating reagent of the formula LG-CHA-G, which introduces the residue of the formula -CHA-G into the molecule, to give compounds of the formula VI,

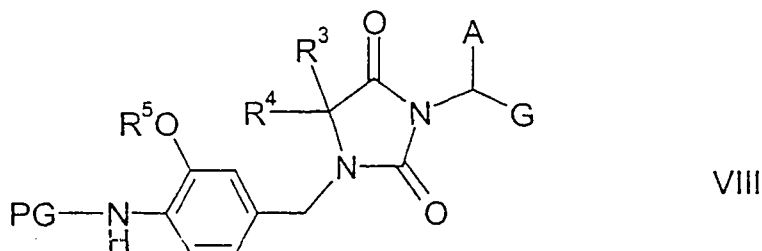


where A, R³, R⁴ and G are defined as indicated above. The reaction of compounds of the formula VI with a second alkylating reagent of the formula VII,



in which Z, R¹ and R⁵ are defined as indicated above, then leads to the corresponding compounds of the formula II. The group LG is a nucleophilically substitutable leaving group, for example halogen, in particular chlorine or bromine, or sulfonyloxy such as tosyloxy, methylsulfonyloxy or trifluoromethylsulfonyloxy.

Compounds of the formula II can also be prepared, for example, by reacting a compound of the formula VI firstly with a reagent of the formula 4-(PG-NH)-C₆H₃(OR⁵)-CH₂-LG, in which LG is a nucleophilically substitutable leaving group as explained above, to give a compound of the formula VIII,

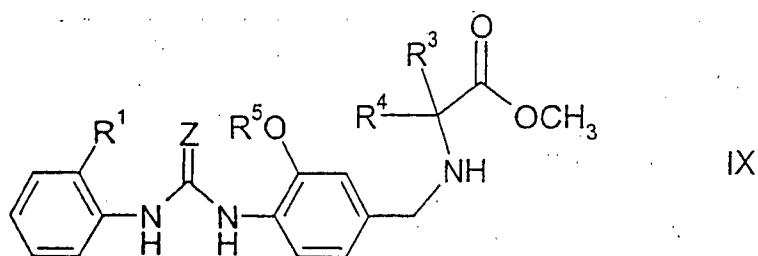


where the meanings indicated above apply for A, G, R³, R⁴ and R⁵ and PG is an amino protective group, for example tert-butoxycarbonyl or benzyloxycarbonyl. After removal of the protective group PG, the compounds of the formula II are obtained by reaction of the resulting amino group H₂N mit phenyl isocyanate, phenyl isothiocyanate, 2-methylphenyl isocyanate or 2-methylphenyl isothiocyanate. Just like compounds of the formula VIII, compounds can be prepared and employed in the synthesis in which in the formula VIII the group PG-NH- is replaced by a group which is a precursor for an amino group and which is then converted into an amino group in a further reaction step. For example, a compound of the formula VI can firstly be reacted with a nitro compound of the formula 4-O₂N-C₆H₃(OR⁵)-CH₂-LG to give a compound corresponding to the compound of the formula VIII, then the nitro group can be converted into the amino group, for example by catalytic hydrogenation, and then the amino group can be converted into the desired compound of the formula II using phenyl isocyanate, phenyl isothiocyanate, 2-methylphenyl isocyanate or 2-methylphenyl isothiocyanate.

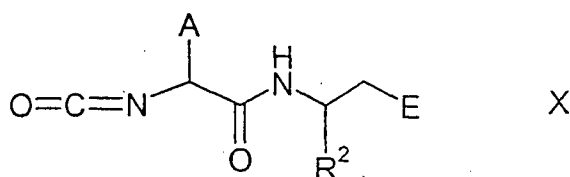
In general, the individual steps in the preparation of the compounds of the formula I can be carried out according to or analogously to known methods familiar to the person skilled in the art. Depending on the individual case, it may be appropriate in any steps in the synthesis of the compounds of the formula I, as already explained, temporarily to block functional groups which could lead to side reactions or undesired

reactions by means of a protective group strategy suited to the specific synthesis problem, which procedure is known to the person skilled in the art.

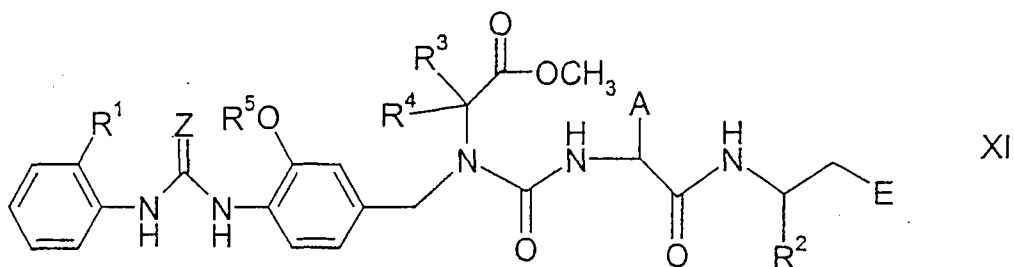
Compounds of the formula I can also be obtained as follows. By means of reaction of
5 N-substituted amino acids or preferably of their esters, for example of the methyl esters, ethyl esters, tert-butyl esters or benzyl esters, which compounds are obtainable according to standard processes, for example of compounds of the formula IX,



in which Z, R¹, R³, R⁴ and R⁵ are defined as indicated above, with an isocyanate of the formula X,

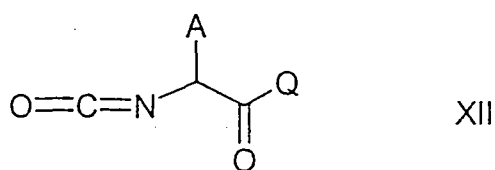


for which the above definitions of A, E and R² apply and which is obtainable according to standard processes from the corresponding compound which instead of the isocyanate group contains an H₂N group, urea derivatives are obtained, for
20 example compounds of the formula XI,

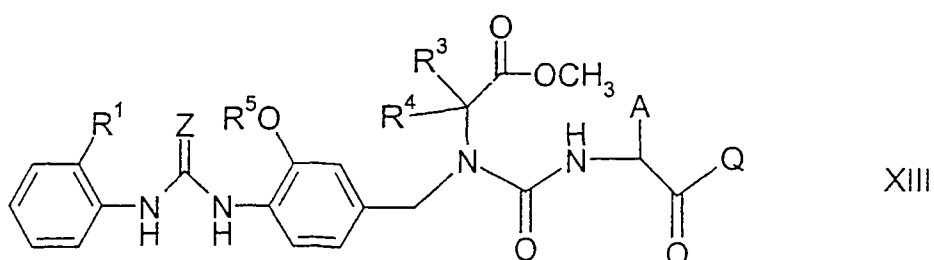


for which the definitions indicated above apply. The compounds of the formula XI can then be cyclized by heating with acid to give the compounds of the formula I. The
 5 cyclization of the compounds of the formula XI to the compounds of the formula I can also be carried out by treatment with bases in inert solvents, for example by treatment with sodium hydride in an aprotic solvent such as dimethylformamide! During the reactions, as explained above, functional groups can be present in protected form.

Compounds of the formula I can also be obtained by reacting a compound of the
 formula IX with an isocyanate of the formula XII

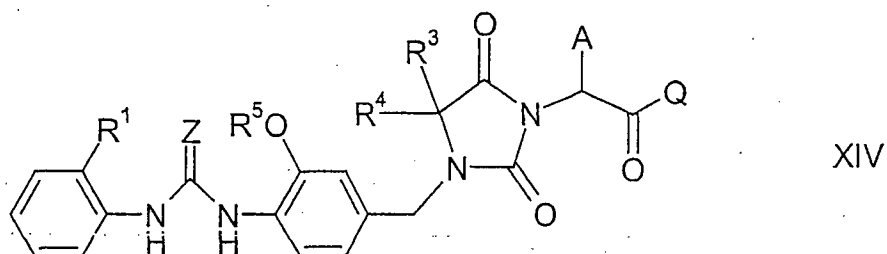


in which A has the meanings indicated above and Q, for example, is an alkoxy group, for example a (C₁-C₄)-alkoxy group such as methoxy, ethoxy or tert-butoxy, or a (C₆-C₁₄)-aryl-(C₁-C₄)-alkoxy group, for example benzyloxy. In this reaction, a compound
 of the formula XIII is obtained,



in which A, Q, Z, R¹, R³, R⁴ and R⁵ are defined as indicated above, which is then cyclized in the presence of an acid or a base, as described above for the cyclization of the compounds of the formula XI, to a compound of the formula XIV,

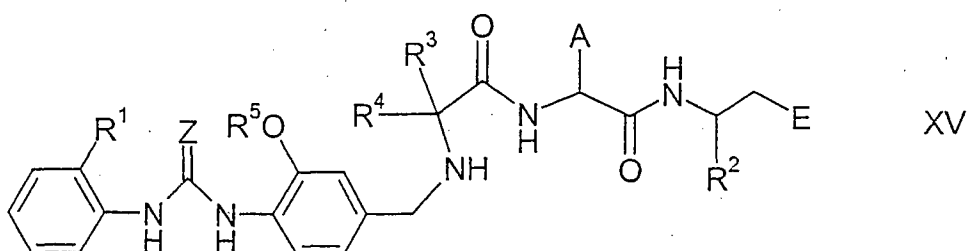
5



in which A, Q, Z, R¹, R³, R⁴ and R⁵ are defined as indicated above. It is then possible in the compound of the formula XIV, for example by hydrolysis, to convert the group
 10 CO-Q into the carboxylic acid group COOH. If the cyclization of the compound of the formula XIII to the compound of the formula XIV is carried out using an acid, the conversion of the group CO-Q into the group COOH can also be carried out simultaneously with the cyclization. By subsequent coupling with a compound of the
 15 formula III, as described above for the coupling of the compounds of the formulae II and III, a compound of the formula I is then obtained. In this synthesis process, too, functional groups can be present in protected form or in the form of precursors.

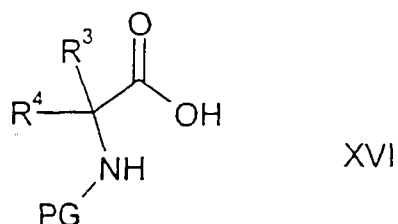
20

A further method for the preparation of compounds of the formula I is, for example, the reaction of compounds of the formula XV,

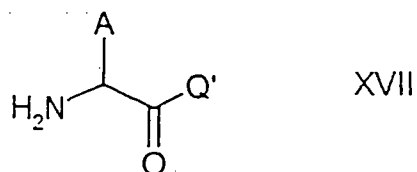


for which the definitions indicated above apply, with phosgene or equivalents (analogously to S. Goldschmidt and M. Wick, Liebigs Ann. Chem. 575 (1952), 217 and C. Tropp, Chem. Ber. 61 (1928), 1431).

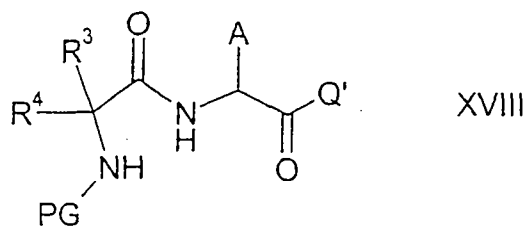
- 5 Compounds of the formula I can also be prepared by firstly coupling a compound of the formula XVI,



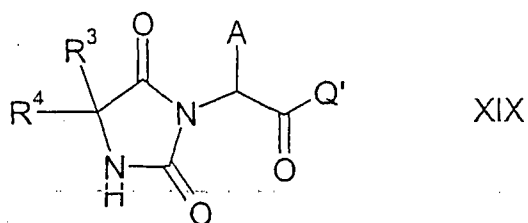
- 10 in which R³ and R⁴ have the meanings indicated above and PG is an amino protective group such as, for example, a benzyloxycarbonyl group, with a compound of the formula XVII,



- 15 in which A has the meanings indicated above and Q' is a protected carboxylic acid hydroxyl group, for example an alkoxy group such as tert-butoxy, to give a compound of the formula XVIII



in which A, R³, R⁴, PG and Q' have the meanings indicated above: In the compound of the formula XVIII, the protective group PG can then be removed selectively from the amino group, for example by hydrogenation in the case of a benzyloxycarbonyl group, and by introduction of a CO group a ring closure to give a compound of the formula XIX,



in which A, R³, R⁴ and Q' have the meanings indicated above, can be carried out. For the introduction of the carbonyl group, it is possible to use, for example, phosgene or a phosgene equivalent such as diphosgene (analogously to the reaction of the compounds of the formula XV explained above). As an intermediate, it is possible in the conversion of the compound of the formula XVIII into the compound of the formula XIX, for example, for an isocyanate to occur or to be prepared specifically.

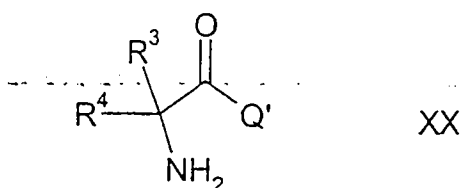
The conversion of the compound of the formula XVIII into that of the formula XIX can be carried out in one or more steps. For example, the carbonyl group can be firstly introduced and then in a separate step the cyclization can be carried out in the presence of a base such as sodium hydride as described for the cyclizations mentioned above. Compounds of the formula XVIII in which PG is the benzyloxycarbonyl group can also be converted directly into compounds of the formula XIX, without a synthetic building block such as phosgene being employed for the introduction of the carbonyl group. If compounds of the formula XVIII in which PG is benzyloxycarbonyl are treated with a base such as sodium hydride, the compounds of the formula XIX can be obtained directly.

The compounds of the formula XIX can then be alkylated, as explained above for the compounds of the formula VI, on the NH group using a reagent of the formula VII, and after conversion of the protected carboxylic acid group CO-Q' into the carboxylic

acid group COOH the desired compounds of the formula I can be synthesized as described above for the compounds of the formulae VI and II. In this synthesis process, too, functional groups can be present in protected form or in the form of precursors.

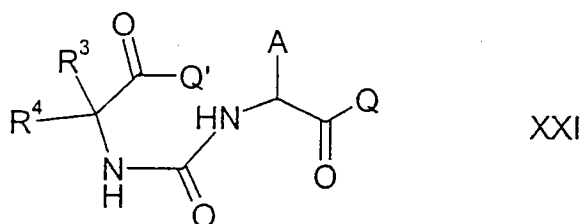
5

Compounds of the formula I can furthermore be prepared by firstly reacting a compound of the formula XX



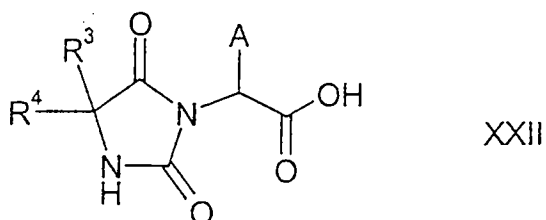
10

in which R³, R⁴ and Q' have the meanings indicated above, with an isocyanate of the formula XII to give a compound of the formula XXI,



15

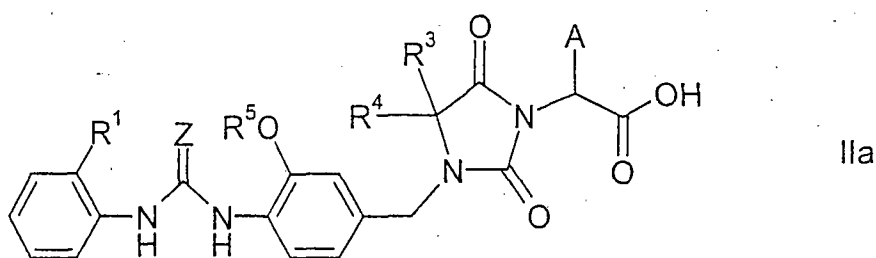
in which A, R³, R⁴, Q and Q' have the meanings indicated above. The compound of the formula XXI is then cyclized by treating with a strong acid, for example semiconcentrated hydrochloric acid, to give a compound of the formula XXII.



20

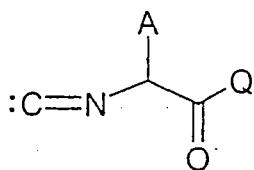
Compounds of the formula XXII can also be prepared by firstly preparing a compound of the formula XVIII in which A, R³, R⁴ and Q' have the meanings indicated and PG is an alkoxycarbonyl group such as (C₁-C₄)-alkoxycarbonyl, an (C₆-C₁₄)-aryl-(C₁-C₄)-alkoxycarbonyl group such as phenyl-(C₁-C₄)-alkoxycarbonyl, or an (C₆-C₁₄)-aryloxycarbonyl group such as phenyloxycarbonyl, converting this compound by liberating the protected carboxylic acid group CO-Q' into a compound of the formula XVIII in which CO-Q' is the free carboxylic acid group CO-OH, PG is (C₁-C₄)-alkoxycarbonyl, (C₆-C₁₄)-aryl-(C₁-C₄)-alkoxycarbonyl or (C₆-C₁₄)-aryloxycarbonyl and A, R³ and R⁴ have the meanings indicated, and cyclizing this compound with a base such as, for example, sodium carbonate to the compound of the formula XXII.

Compounds of the formula IIa,

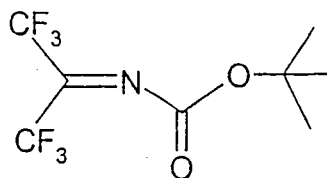


in which A, Z, R¹, R³, R⁴ and R⁵ have the meanings indicated above, can then be obtained by reacting the compounds of the formula XXII in the presence of excess base, for example in the presence of an excess of n-butyllithium, with an alkylating reagent of the formula VII and then acidifying. The 4-(3-aryloxyureido)benzyl group or 4-(3-arylthioureydo)benzyl group can also be introduced stepwise, analogously to the preparation of the compounds of the formula VIII and the compounds of the formula II obtained therefrom, into the compounds of the formula XXII.

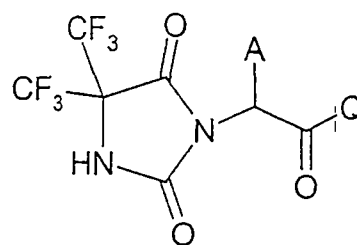
Compounds of the formula I in which the residues R³ and R⁴ are trifluoromethyl can advantageously be prepared by reacting an isonitrile of the formula XXIII with 2-tert-butoxy-4,4-bis(trifluoromethyl)-1,3-oxazabuta-1,3-diene of the formula XXIV to give a compound of the formula XXV,



XXIII



XXIV



XXV

where A and Q have the meanings indicated above. I. e, the group C(=O)-Q, for
 5 example, is an ester group and Q, for example, is alkoxy such as (C₁-C₄)-alkoxy
 including methoxy, ethoxy and tert-butoxy or (C₆-C₁₄)-aryl-(C₁-C₄)-alkoxy including
 benzyloxy. The reaction of the compounds of the formulae XXIII and XXIV to give the
 compounds of the formula XXV is advantageously carried out in a hydrocarbon or
 ether as a solvent, for example in benzene or toluene, with warming, for example to
 10 temperatures of from about 40°C to about 80°C, for example to about 60°C.

The isocyanides (isocyanides) of the formula XXIII can be obtained according to
 standard methods known to the person skilled in the art from the corresponding
 amino carboxylic acid esters of the formula H₂N-CHA-C(=O)-Q, in which A and Q
 15 have the meanings indicated above. Advantageously, the amino carboxylic acid ester
 of the formula H₂N-CHA-C(=O)-Q is firstly converted by reaction with a reactive
 formic acid ester, for example cyanomethyl formate, into the N-formylamino acid
 ester of the formula HC(=O)-NH-CHA-C(=O)-Q, which is then converted, for
 example, by reaction with phosgene or a phosgene equivalent such as diphosgene
 20 or triphosgene in the presence of a tertiary amine such as triethylamine into the
 isocyanide of the formula XXIII. The 2-tert-butoxy-4,4-bis(trifluoromethyl)-1,3-
 oxazabuta-1,3-diene of the formula XXIV is obtainable, according to the process
 described by Steglich et al., *Chemische Berichte* 107 (1974), 1488, from tert-butyl
 carbamate ((CH₃)₃C-O-CO-NH₂) and anhydrous hexafluoroacetone and subsequent
 25 treatment of the 2-tert-butoxycarbonylamino-2-hydroxy-1,1,1,3,3,3-
 hexafluoropropane initially obtained with trifluoroacetic anhydride in the presence of a

base such as quinoline.

The compounds of the formula XXV can then be alkylated, for example with compounds of the formula VII, on the NH group to give compounds of the formula XIV which, if desired after conversion of the ester group CO-Q into the carboxylic acid group CO-OH, by reaction with compounds of the formula III yield compounds of the formula I as described above. In the compounds of the formula XXV, it is also possible firstly to convert the ester group CO-Q according to standard processes into the carboxylic acid group CO-OH and to convert the compound of the formula XXII obtained as described above with an alkylating reagent of the formula VII in the presence of excess base into a compound of the formula IIa, which then yields a compound of the formula I by reaction with a compound of the formula III. Analogously to the preparation of the compounds of the formula VIII described above and the compounds of the formula II or IIa obtained therefrom, the 4-(3-aryluroido)benzyl group or 4-(3-arylthioureido)benzyl group can also be introduced stepwise into the compounds of the formula XXV. In these reactions, too, functional groups can be present in protected form or in the form of precursors.

The compounds of the formula I in which E, for example, is hydroxycarbonyl or hydroxymethyl can be converted according to standard processes into compounds of the formula I in which E has other meanings, or into other prodrugs or derivatives of the compounds of the formula I. Thus, for the preparation of esters, the compounds of the formula I in which E is hydroxycarbonyl can be esterified using the appropriate alcohols, for example in the presence of a condensing reagent such as DCC, or the compounds of the formula I in which E is hydroxycarbonyl can be alkylated with alkyl halides such as alkyl chlorides or alkyl bromides, for example with acyloxyalkyl halides, to give compounds of the formula I in which E is acyloxyalkoxy-CO-. Compounds of the formula I in which E is hydroxycarbonyl can be converted into amides using ammonia or organic amines in the presence of a condensing reagent. Compounds of the formula I in which E is CO-NH₂ can advantageously also be obtained on the solid phase by coupling the compound in which E is COOH in the presence of a condensing agent such as TOTU to Rink amide resin and then

removing it from the resin again using trifluoroacetic acid. Compounds of the formula I in which E is the hydroxymethyl group CH_2OH can be etherified on the hydroxymethyl group according to standard processes. According to standard processes for the selective oxidation of alcohols to aldehydes, for example using sodium hypochlorite in the presence of 4-acetamido-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-oxyl (4-acetamido-TEMPO), compounds of the formula I in which E is CH_2OH can be converted into compounds of the formula I in which E is the aldehyde group $-\text{CO}-\text{H}$.

Compounds of the formula I in which R^5 is hydrogen can also be prepared by carrying out an ether cleavage with compounds of the formula I in which R^5 is methyl. For example, a methoxy group representing R^5O can be converted into a hydroxyl group by treatment with boron tribromide.

The compounds of the formula I are valuable pharmaceutical active compounds which are suitable, for example, for the treatment of inflammatory diseases, allergic diseases or asthma. The compounds of the formula I and their physiologically tolerable salts and derivatives can be administered according to the invention to animals, preferably to mammals, and in particular to humans, as pharmaceuticals for the treatment of disease conditions, treatment being generally understood as meaning both the therapy of acute or chronic disease symptoms as well as the prophylaxis or prevention of disease symptoms, i.e., for example, the prevention of the occurrence of acute allergic or asthmatic disease symptoms or the prevention of myocardial infarct or of myocardial reinfarct in appropriate patients. The compounds of the formula I and their salts and derivatives can be administered on their own, in mixtures with one another or in the form of pharmaceutical preparations which allow enteral or parenteral administration and which as active constituent contain an efficacious dose of at least one compound of the formula I and/or its physiologically tolerable salts and/or derivatives and a pharmaceutically tolerable carrier.

The present invention therefore also relates to the compounds of the formula I and/or their physiologically tolerable salts and/or derivatives for use as pharmaceuticals (or as medicaments), the use of the compounds of the formula I and/or their

physiologically tolerable salts and/or derivatives for the production of pharmaceuticals for the treatment of the diseases mentioned above or below, for example for the treatment of inflammatory diseases; and the use of the compounds of the formula I and/or their physiologically tolerable salts and/or derivatives in the treatment of these diseases. The present invention furthermore relates to pharmaceutical preparations (or pharmaceutical compositions) which contain an efficacious dose of at least one compound of the formula I and/or its physiologically tolerable salts and/or derivatives and a pharmaceutically tolerable carrier, that is one or more pharmaceutically innocuous vehicles and/or additives.

The pharmaceuticals can be administered systemically or locally. They can be administered, for example, orally in form of pills, tablets, film-coated tablets, sugar-coated tablets, granules, hard and soft gelatine capsules, powders, solutions, syrups, emulsions, suspensions or in other pharmaceutical forms. Administration, however, can also be carried out vaginally or rectally, for example in the form of suppositories, or parenterally or as implants, for example in the form of injection solutions or infusion solutions, microcapsules or rods, or topically or percutaneously, for example in the form of creams, ointments, powders, solutions, emulsions or tinctures, or in another way, for example in the form of nasal sprays or aerosol mixtures. Parenteral administration of solutions can occur, for example, intravenously, intramuscularly, subcutaneously, intra-articularly, intrasynovially or in another manner.

The pharmaceutical preparations according to the invention are produced in a manner known per se, the compound or the compounds of the formula I and/or their physiologically tolerable salts and/or derivatives being mixed with pharmaceutically inert inorganic and/or organic vehicles and/or additives and brought into a suitable dosage form and administration form. For the production of pills, tablets, sugar-coated tablets and hard gelatine capsules, it is possible to use, for example, lactose, cornstarch or derivatives thereof, talc, stearic acid or its salts, polyethylene glycols, etc., for soft gelatine capsules and suppositories, for example, fats, waxes, semisolid and liquid polyols, polyethylene glycols, natural or hardened oils etc. Suitable vehicles for the preparation of solutions, for example, injection solutions, or of

emulsions or syrups are, for example, water, alcohols, glycerol, diols, polyols, sucrose, invert sugar, glucose, vegetable oils etc. Suitable vehicles for microcapsules, implants or rods are, for example, copolymers of glycolic acid and lactic acid. The pharmaceutical preparations normally contain from about 0.5 to about 5 90 % by weight of the compounds of the formula I and/or their physiologically tolerable salts and/or derivatives. The amount of active compound of the formula I and/or its physiologically tolerable salts and/or derivatives in the pharmaceutical preparations is normally from about 0.2 to about 1000 mg, preferably from about 1 to about 500 mg. Depending on the nature of the pharmaceutical preparation, the 10 amount of the active compound, however, can also be greater.

In addition to the active compounds and vehicles, the pharmaceutical preparations can also contain excipients or additives, for example fillers, disintegrants, binders, lubricants, wetting agents, stabilizers, emulsifiers, preservatives, sweeteners, 15 colorants, flavorings, aromatizers, thickening agents, diluents, buffer substances, solvents, solubilizers, agents for achieving a depot effect, salts for changing the osmotic pressure, coating agents or antioxidants. They can also contain two or more compounds of the formula I and/or their physiologically tolerable salts and/or derivatives. Furthermore, in addition to at least one compound of the formula I and/or 20 its physiologically tolerable salts and/or derivatives they can also contain one or more other pharmaceutical active compounds, for example substances having anti-inflammatory action.

If the compounds of the formula I or pharmaceutical preparations comprising them 25 are administered as aerosols, for example as nasal aerosols or by inhalation, this can be carried out, for example, using a spray, a nebulizer, a pump nebulizer, an inhalation apparatus, a metered inhaler or a dry powder inhaler. Pharmaceutical forms for administration of the compounds of the formula I as an aerosol can be prepared according to processes well known to the person skilled in the art. For their 30 preparation, for example, solutions or dispersions of the compounds of the formula I in water, water/alcohol mixtures or suitable saline solutions can be employed using customary additives, for example benzyl alcohol or other suitable preservatives,

absorption enhancers for increasing the bioavailability, solubilizers, dispersants and others, and, if appropriate, customary propellants, for example chlorofluorocarbons and/or fluorocarbons.

- 5 Other pharmaceutical active compounds which can be contained in the pharmaceutical preparations according to the invention in addition to compounds of the formula I, but with which the compounds of the formula I can also be combined in other ways in the context of a combination treatment, are in particular those active compounds which are suitable for the treatment, i.e. the therapy or prophylaxis, of
- 10 the diseases mentioned above or below for whose treatment the compounds of the formula I are suitable. Examples classes of active compound of this type which may be mentioned are steroids, nonsteroidal antiinflammatory substances, nonsteroidal antiinflammatory acetic acid derivatives, nonsteroidal antiinflammatory propionic acid derivatives, nonsteroidal antiasthmatics, salicylic acid derivatives, pyrazolones,
- 15 oxicams, leukotriene antagonists, inhibitors of leukotriene biosynthesis, cyclooxygenase inhibitors, cyclooxygenase-2 inhibitors (COX-2 inhibitors), antihistamines, H1-histamine antagonists, nonsedating antihistamines, gold compounds, β 2 agonists, anticholinergics, muscarine antagonists, lipid-lowering agents, cholesterol-lowering agents, HMG-CoA reductase inhibitors, statins, nicotinic
- 20 acid derivatives, immunosuppressants, cyclosporins, β -interferons, tumor therapeutics, cytostatics, metastasis inhibitors, antimetabolites, 5-aminosalicylic acid derivatives, antidiabetics, insulins, sulfonylureas, biguanides, glitazones, α -glucosidase inhibitors, and others. Examples of suitable active compounds which may be mentioned are acetylsalicylic acid, benorilate, sulfasalazine, phenylbutazone,
- 25 oxyphenbutazone, metamizole, mofebutazone, fepirazine, celecoxib, rofecoxib, diclofenac, fentiazac, sulindac, zomepirac, tolmetin, indometacin, acetaminophen, ibuprofen, naproxen, carprofen, fenbufen, indoprofen, ketoprofen, piroxicam, tiaprofen acid, diflunisal, flufenamic acid, meclofenamic acid, mefenamic acid, niflumic acid, tolfenamic acid, piroxicam, isoxicam, tenoxicam, nicotinic acid, prednisone,
- 30 dexamethasone, hydrocortisone, methylprednisolone, betamethasone, beclomethasone, budesonide, montelukast, pranlukast, zafirlukast, zileuton, ciclosporin, cyclosporin A, rapamycin, tacrolimus, methotrexate, 6-mercaptopurine,

azathioprine, interferon-beta-1a, interferon-beta-1b, 5-aminosalicylic acid, leflunomide, D-penicillamine, chloroquine, glibenclamide, glimepiride, troglitazone, metformin, acarbose, atorvastatin, fluvastatin, lovastatin, simvastatin, pravastatin, colestipol, colestyramine, probucol, clofibrate, fenofibrate, bezafibrate, gemfibrozil, ipatropium bromide, clenbuterol, fenoterol, metaproterenol, pirbuterol, tulobuterol, salbutamol, salmeterol, terbutaline, isoetharine, ketotifen, ephedrine, oxitropium bromide, atropine, cromoglycic acid, theophylline, fexofenadine, terfenadine, cetirizine, dimetindene, diphenhydramine, diphenylpyraline, pheniramine, brompheniramine, chlorpheniramine, dexchlorpheniramine, alimezain, antazoline, astemizole, azatadine, clemastine, cyproheptadine, hydroxyzine, loratidine, mepyramine, promethazine, tripeleminamine, triprolidine and others.

If compounds of the formula I and/or their physiologically tolerable salts and/or derivatives are to be employed in a combination treatment together with one or more other active compounds in a single pharmaceutical preparation, this can be carried out as mentioned by administering all active compounds together in a single pharmaceutical preparation, for example a tablet or capsule. The present invention expressly likewise relates to pharmaceutical preparations of this type, for which all explanations above correspondingly apply. The amount of the active compounds in these pharmaceutical preparations is in general chosen such that an efficacious amount of each active compound is present. A combination treatment, however, can also be carried out by the active compounds being present in two or more separate pharmaceutical preparations, which can be present in a single pack or in two or more separate packs. The administration of the compounds of the formula I and/or their physiologically tolerable salts and/or derivatives and the other active compounds can be carried out jointly or separately and simultaneously or successively, in any order. The administration can also be carried out in different ways, for example one active compound can be administered orally and the other by injection, inhalation or topical application. All such treatments are comprised by the present invention.

The compounds of the formula I, for example, have the ability to inhibit cell-cell interaction processes and cell-matrix interaction processes in which interactions

between VLA-4 and its ligands play a role. The activity of the compounds of the formula I can be demonstrated, for example, in an assay in which the binding of cells which contain the VLA-4 receptor, for example of leukocytes, to ligands of this receptor is measured, for example to VCAM-1 which for this purpose can

5 advantageously also be prepared by genetic engineering. Details of such an assay are described below. In particular, the compounds of the formula I have the ability to inhibit the adhesion and the migration of leukocytes, for example the adhesion of leukocytes to endothelial cells, which - as explained above - is controlled by the VCAM-1/VLA-4 adhesion mechanism. Apart from as antiinflammatories, the
10 compounds of the formula I and their physiologically tolerable salts and derivatives, are therefore generally suitable for the treatment, i.e. for the therapy and prophylaxis, of diseases which are based on the interaction between the VLA-4 receptor and its ligands or can be influenced by an inhibition of this interaction, and in particular they are suitable for the treatment of diseases which are caused at least partly by an
15 undesired extent of leukocyte adhesion and/or leukocyte migration or are connected therewith, and for whose prevention, alleviation or cure the adhesion and/or migration of leukocytes should be decreased.

The present invention therefore also relates to the compounds of the formula I and/or
20 their physiologically tolerable salts and/or derivatives for the inhibition of the adhesion and/or migration of leukocytes or for the inhibition of the VLA-4 receptor, and to the use of the compounds of the formula I and/or their physiologically tolerable salts and/or derivatives for the preparation of pharmaceuticals therefor, i.e. of pharmaceuticals for the treatment of diseases in which the leukocyte adhesion and/or
25 leukocyte migration shows an undesired extent, or for the treatment of diseases in which VLA-4-dependent adhesion processes play a role, and to the use of the compounds of the formula I and/or their physiologically tolerable salts and/or derivatives in the treatment of diseases of this type.

30 The compounds of the formula I can be employed as antiinflammatories in the case of inflammatory symptoms of very different cause in order to prevent, to reduce or to suppress the undesired or harmful sequelae of the inflammation. They are used, for

example, for the treatment, i.e. therapy or prophylaxis, of arthritis, of rheumatoid arthritis, of polyarthritis, of inflammatory bowel disease (ulcerative colitis, Crohn's disease), of systemic lupus erythematosus, of inflammatory diseases of the central nervous system such as, for example, multiple sclerosis, or of asthma or allergies such as, for example, allergies of the delayed type (type IV allergy). Furthermore, they are suitable for cardioprotection, for stroke protection and for the secondary prophylaxis of stroke and for the treatment, i.e. therapy and prophylaxis, of cardiovascular diseases, of atherosclerosis, of myocardial infarct, of myocardial reinfarct, of the acute coronary syndrome, of stroke, of restenoses, of diabetes, of damage to organ transplants, of immune diseases, of autoimmune diseases, of tumour growth or tumour metastasis in various malignancies, of malaria and of further diseases in which a blocking of the integrin VLA-4 and/or an influencing of the leukocyte activity appears appropriate for prevention, alleviation or cure. A preferred use is the prevention of myocardial infarct or of myocardial reinfarct.

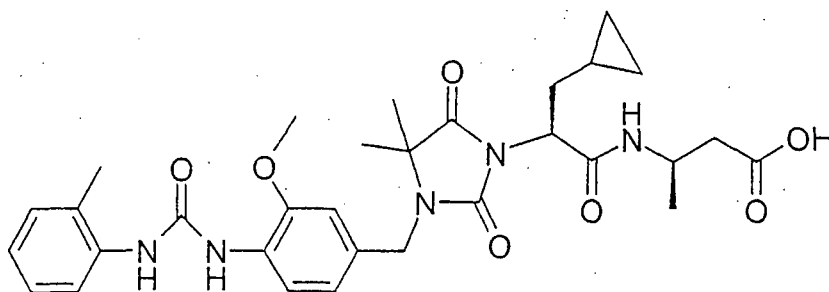
The dose when using the compounds of the formula I can vary within wide limits and, as is customary and is known to the physician, is to be adjusted in each individual case to the individual conditions. It depends, for example, on the nature and severity of the disease to be treated, on the condition of the patient, on the compound employed or on whether an acute or chronic disease condition is being treated or prophylaxis is conducted, or on whether, in addition to the compounds of the formula I, further active compounds are administered. In general, in the case of oral administration a daily dose of from about 0.01 to about 100 mg/kg, preferably from about 0.1 to about 10 mg/kg (in each case mg per kg of body weight) is adequate in the case of administration to an adult weighing about 75 kg to achieve efficacious results. In the case of intravenous administration, the daily dose is in general from about 0.01 to about 50 mg/kg, preferably from about 0.01 to about 10 mg/kg (in each case mg per kg of body weight). The daily dose can be divided, in particular in the case of the administration of relatively large amounts, into a number, for example 2, 3, or 4, of part administrations. If appropriate, depending on individual behaviour, it may be necessary to depart upward or downward from the daily dose indicated.

Apart from as pharmaceutical active compounds in human medicine and veterinary medicine, the compounds of the formula I and their salts and derivatives which are suitable for the desired use can furthermore be employed for diagnostic purposes, for example in in vitro diagnoses of cell samples or tissue samples, and as an auxiliary or as a scientific tool in biochemical investigations in which a blocking of VLA-4 or an influencing of cell-cell or cell-matrix interactions is desired. Furthermore, the compounds of the formula I and their salts can be used as intermediates for the preparation of other compounds, in particular of other pharmaceutical active compounds, which are obtainable from compounds of the formula I, for example, by modification or introduction of residues or functional groups, for example by esterification, reduction, oxidation or other transformations of functional groups.

Examples

15 Example 1

(R)-3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl-amino)-3-methylpropionic acid



20 1a) 4-(3-(2-Methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl alcohol

15 g (81.8 mmol) of 3-methoxy-4-nitrobenzyl alcohol were hydrogenated over 1.3 g of palladium/carbon (10 % strength; 50 % water) in 500 ml of methyl tert-butyl ether with ice cooling. After the absorption of hydrogen was complete, the catalyst was filtered off and 10.14 ml (81.8 mmol) of 2-methylphenyl isocyanate were added to the filtrate with stirring in the course of 30 minutes. The reaction mixture was allowed to

stand overnight, and the precipitated solid was filtered off with suction and washed with methyl tert-butyl ether. Yield: 20.5 g (88 %).

1b) 4-(3-(2-Methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl chloride

5 7.65 ml (104.8 mmol) of thionyl chloride were added dropwise with ice cooling to a suspension of 15 g (52.4 mmol) of the compound of Example 1a in 300 ml of dichloromethane. The reaction mixture was stirred at room temperature for 3 hours, allowed to stand overnight and poured onto 1000 ml of heptane. The heptane was decanted off from the separated oil, the residue was suspended again in heptane
10 and the heptane was decanted off. This process was repeated a further two times. The residue was then dissolved in dichloromethane and poured into 800 ml of ice-cold diisopropyl ether. The mixture was stirred for 2 hours with ice cooling, and the product was filtered off with suction, washed with diisopropyl ether and dried over phosphorus pentoxide. Yield: 12 g (75 %).

15

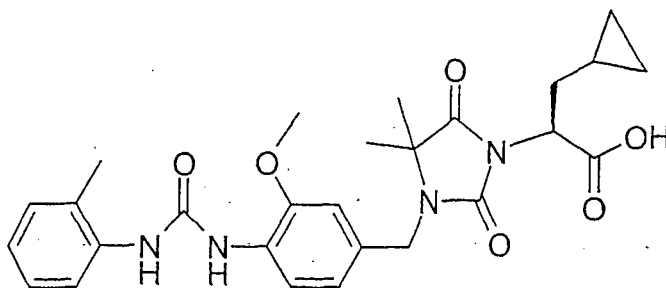
1c) Benzyl (S)-2-amino-3-cyclopropylpropionate

1N sodium hydroxide solution was added at 0 °C to a suspension of 10 g (77.5 mmol) of (S)-2-amino-3-cyclopropylpropionic acid in 160 ml of dioxane until pH 8-9 was achieved. 16.9 g (77.5 mmol) of di-tert-butyl dicarbonate were then added, the
20 ice bath was removed and the pH was kept at 8-9 by further addition of 1N sodium hydroxide solution. After allowing to stand overnight, the dioxane was removed in vacuo, ethyl acetate was added to the water phase and the phases were separated. The water phase was adjusted to pH 4.5 using 1N hydrochloric acid and extracted with ethyl acetate. The ethyl acetate phase obtained was dried over sodium sulfate,
25 the sodium sulfate was filtered off and the filtrate was concentrated in vacuo. The residue was dissolved in 1000 ml of dichloromethane and treated with 53.4 ml of benzyl alcohol, 8.37 g of 4-dimethylaminopyridine and 18.8 g of DCC. After stirring for 6 hours and allowing to stand overnight, the mixture was filtered, the filtrate was concentrated and the residue was treated with 300 ml of 90 % strength trifluoroacetic acid.
30 After stirring at room temperature for 10 minutes, the trifluoroacetic acid was removed in vacuo and the residue was chromatographed twice over silica gel (dichloromethane/methanol, 95/5). Yield: 11.48 g (68 %).

1d) (S)-2-(4,4-Dimethyl-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetic acid

321 mg of HOBT and 4.75 g (23.7 mmol) of DCC were added to a solution of 3.82 g (23.7 mmol) 2-methoxycarbonylamino-2-methylpropionic acid (prepared from 2-amino-2-methylpropionic acid and methyl chloroformate) and 5.2 g (23.7 mmol) of the compound of Example 1c in 100 ml of THF and the mixture was stirred at room temperature for 4 hours. After allowing to stand overnight and filtration, the THF was removed in vacuo, the residue was taken up in methyl tert-butyl ether and the solution was washed twice in each case with saturated NaHCO_3 solution and aqueous $\text{KHSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ solution. The organic phase was dried over sodium sulfate and, after filtration, the solvent was removed in vacuo. The residue was dissolved in ethyl acetate and hydrogenated in the presence of palladium/carbon (10 % strength; 50 % water). The catalyst was filtered off and 500 ml of water and 10.1 g of sodium carbonate were added to the organic phase. After extraction by shaking and phase separation, the water phase was stirred at 100 °C for 24 hours. After allowing to stand overnight, 500 ml of 6N hydrochloric acid were added and the water phase was extracted three times with methyl tert-butyl ether. The combined organic phases were dried over sodium sulfate and, after filtration, concentrated in vacuo. The residue was crystallized using diisopropyl ether and the product was filtered off. Yield: 2.88 g (51 %).

1e) (S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetic acid



9.44 ml of an n-butyllithium solution (2.5M in hexane) were added at -40 °C under argon to a solution of 2.85 g (11.8 mmol) of the compound of Example 1d in 60 ml of absolute THF. After stirring at -40 °C for 30 minutes, the reaction mixture was allowed to warm to 0 °C and a solution of 3.6 g (11.8 mmol) of the compound of Example 1b in 20 ml of N-methyl-2-pyrrolidone was added. The reaction mixture was allowed to warm to 0 °C and then stirred for 2 hours at 0 °C. 15 ml of 1N hydrochloric acid were added and the THF was removed in vacuo. The residue was poured onto 300 ml of methyl tert-butyl ether. The phases were separated, and the organic phase was washed with water, dried over sodium sulfate and, after filtration, concentrated in vacuo. The residue was purified by preparative HPLC. After concentration of the product fractions and freeze drying, 1.33 g (22 %) of the title compound were obtained.

1f) tert-Butyl (R)-3-((S)-2-(4,4-dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-methylpropionate
626 mg (1.91 mmol) of TOTU and 308 µl (1.81 mmol) of N,N-diisopropylethylamine were added successively with ice cooling to a solution of 974 mg (1.91 mmol) of the compound of Example 1e and 305 mg (1.91 mmol) of tert-butyl (R)-3-amino-
butanoate in 10 ml of absolute DMF. After stirring at room temperature for 2 hours, the solvent was removed in vacuo, the residue was dissolved in ethyl acetate and the ethyl acetate solution was washed successively twice in each case with an aqueous KHSO₄/K₂SO₄ solution, a saturated NaHCO₃ solution and water. After drying the organic phase over sodium sulfate and filtration, the solvent was removed in vacuo and the residue was chromatographed over silica gel using ethyl acetate/heptane (1/1). After concentration of the product fractions, 880 mg (71 %) of the title compound were obtained.

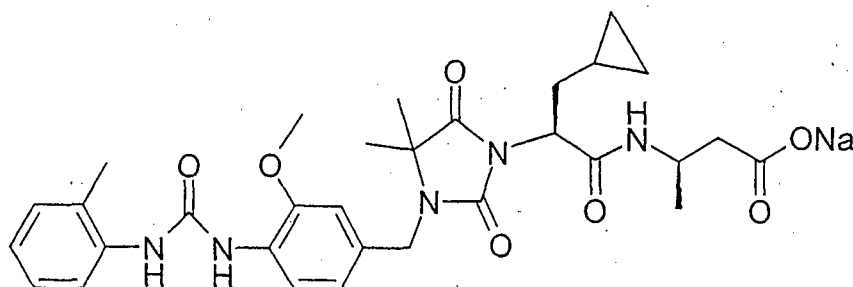
1g) (R)-3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-methylpropionic acid
880 mg (1.35 mmol) of the compound of Example 1f were treated with 10 ml of 90 % strength trifluoroacetic acid. After 15 minutes at room temperature, the reaction

mixture was concentrated in vacuo. The residue was taken up in dichloromethane and concentrated in vacuo. This process was repeated a second time. The residue obtained was then taken up in dichloromethane, and the dichloromethane phase was washed three times with water and dried over sodium sulfate. After filtration and concentration in vacuo, the residue was taken up in acetonitrile/water and freeze dried. Yield: 730 mg (91 %).

ES(+)-MS: 594.2 (M+H)⁺

Example 2

- 10 (R)-3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamin)-3-methylpropionic acid sodium salt



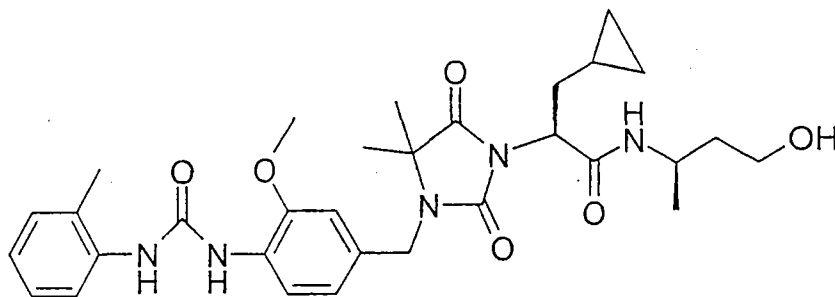
15

1.64 ml of 0.1N sodium hydroxide solution were added in portions with stirring to a suspension of 100 mg (0.168 mmol) of the compound of Example 1 in 10 ml of water and the mixture was stirred at room temperature for 1 hour. After filtering and freeze drying the filtrate, 104 mg (100 %) of the title compound were obtained.

- 20 ES(+)-MS: 594.3 ((R)-3-((S)-2-(4,4-dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamin)-3-methylpropionic acid + H)⁺, 616.2 (M⁺).

Example 3

- 25 (R)-3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamin)-3-methylpropanol



535 mg (1.05 mmol) of the compound of Example 1e in 15 ml of absolute DMF were treated with ice cooling with 140 mg (1.05 mmol) of HOBt and 260 mg (1.26 mmol) of DCC. The mixture was stirred for 45 minutes with ice cooling, then 112 mg (1.26 mmol) of (R)-3-amino-3-methylpropanol were added and the mixture was stirred at room temperature for 2 hours. After allowing to stand overnight, the mixture was filtered, the filtrate was concentrated, the residue was dissolved in ethyl acetate and the ethyl acetate phase was washed twice with aqueous $\text{KHSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ solution.

- 10 After drying over sodium sulfate, filtering and concentrating, the residue was chromatographed over silica gel using ethyl acetate. After concentrating the product fractions, 423 mg (70 %) of the title compound were obtained.

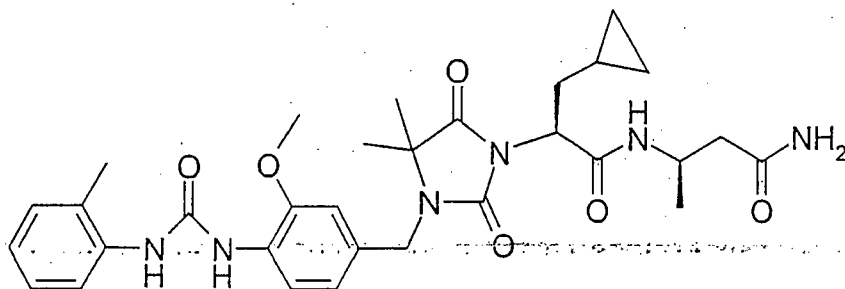
ES(+)-MS: 580.3 (M+H)⁺

15 Preparation of (R)-3-amino-3-methylpropanol

- 5.68 g (149 mmol) of lithium aluminum hydride were added in portions under argon to a solution of 19.9 g (149 mmol) of aluminum trichloride in 250 ml of absolute diethyl ether and the mixture was heated under reflux for 30 minutes. 6 g (37.7 mmol) of tert-butyl (R)-3-aminobutanoate in 50 ml of absolute diethyl ether were slowly added dropwise and the reaction mixture was heated under reflux for 2 hours. 10.8 ml of water and 25.3 g of potassium hydroxide, dissolved in 43 ml of water, were then added dropwise cautiously with ice cooling. The mixture was allowed to stand overnight at room temperature, the ether phase was decanted off and the residue was boiled three times with dichloromethane. The combined organic phases were dried over sodium sulfate. After filtration and removal of the solvent in vacuo, 2.5 g (75 %) of the title compound were obtained.

Example 4

(R)-3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl-amino)-3-methylpropionamide

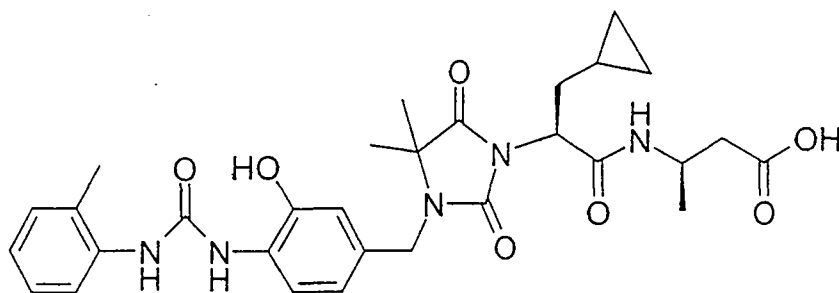


131 mg (0.636 mmol) of DCC were added to a solution of 330 mg (0.555 mmol) of the compound of Example 1 and 125 mg (0.926 mmol) of HOBt in 5 ml of absolute DMF, the mixture was stirred at room temperature for 1 hour and then 47 μ l (0.555 mmol) of a 25 % strength aqueous ammonia solution were added. The mixture was allowed to stand overnight at room temperature, a further 16 μ l of a 25 % strength aqueous ammonia solution were added and the mixture was stirred for 4 hours. After filtration, the filtrate was concentrated in vacuo, the residue was dissolved in ethyl acetate and the ethyl acetate phase was washed twice in each case with an aqueous KHSO₄/K₂SO₄ solution, a saturated NaHCO₃ solution and water. After drying the organic phase over sodium sulfate and filtering, the solvent was removed in vacuo and the residue was chromatographed over silica gel using ethyl acetate. After concentrating the product fractions and freeze drying, 272 mg (82 %) of the title compound were obtained.

ES(+)-MS: 593.3

Example 5

(R)-3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-hydroxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl-amino)-3-methylpropionic acid

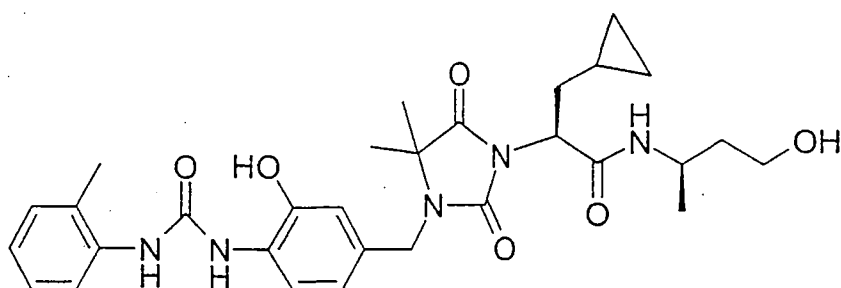


211 μ l of boron tribromide were added under argon to a solution of 100 mg (0.169 mmol) of the compound of Example 1 in 20 ml of absolute dichloromethane at -78°C and the reaction mixture was allowed to warm to 0°C with ice cooling. After 30 minutes at 0°C , water was cautiously added. The phases were separated and the organic phase was dried over sodium sulfate. After filtration, removal of the solvent in vacuo, chromatographic purification by preparative HPLC and freeze drying of the product fractions, 35 mg (36 %) of the title compound were obtained.

ES(+)-MS: 580.2 (M+H)⁺

Example 6

(R)-3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-hydroxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl amino)-3-methylpropanol



488 μ l of boron tribromide were added under argon to a solution of 220 mg (0.39 mmol) of the compound of Example 3 in 40 ml of absolute dichloromethane at -78°C and the reaction mixture was allowed to warm to 0°C with ice cooling. After 30 minutes at 0°C , water was cautiously added. The phases were separated, and the organic phase was washed four times with water and dried over sodium sulfate. After

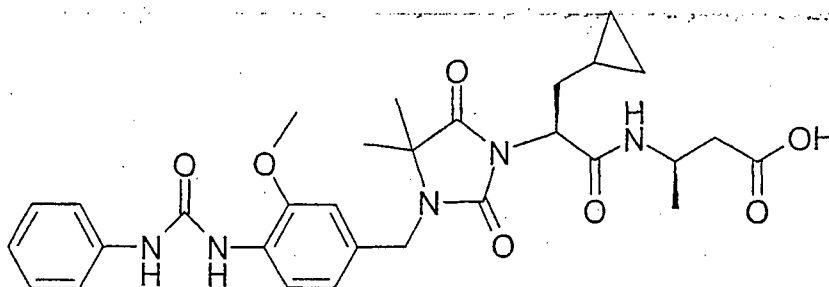
filtration, removal of the solvent in vacuo, chromatographic purification by preparative HPLC and freeze drying of the product fractions, 81 mg (37 %) of the title compound were obtained.

ES(+)-MS: 566.3 (M+H)⁺

5

Example 7

(R)-3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-phenylureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl-amino)-3-methylpropionic acid



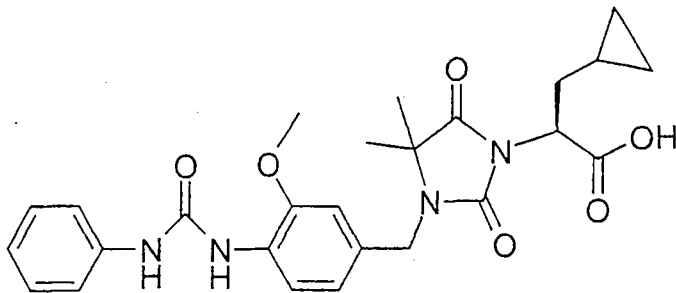
10

7a) 4-(3-Phenylureido)-3-methoxybenzyl chloride

7.55 ml (103.4 mmol) of thionyl chloride were added dropwise to a suspension of 14.07 g (51.7 mmol) of 4-(3-phenylureido)-3-methoxybenzyl alcohol (prepared as described in Example 1, phenyl isocyanate being employed instead of 2-methylphenyl isocyanate) in 200 ml of dichloromethane. The mixture was then stirred at room temperature for 2 hours, allowed to stand overnight and poured onto 800 ml of heptane. The heptane was decanted off from the separated oil, the residue was suspended several times in heptane and in each case the heptane was decanted off.

The residue was dissolved in 100 ml of dichloromethane and added dropwise to 800 ml of diisopropyl ether. The mixture was stirred for 1 hour with ice cooling, and the product was filtered off with suction, washed with diisopropyl ether and dried in vacuo.

7b) (S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-phenylureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetic acid



9.32 ml of an n-butyllithium solution (2.5M in hexane) were added at -40 °C under argon to a solution of 2.8 g (11.6 mmol) of the compound of Example 1d in 60 ml of absolute THF. After stirring at -40 °C for 30 minutes, the reaction mixture was allowed to warm to 0 °C and a solution of 5.07 g (17.4 mmol) of the compound of Example 7a in 20 ml of N-methyl-2-pyrrolidone was added. The reaction mixture was allowed to warm to 0 °C and it was then stirred for 2 hours at 0 °C. 15 ml of 1N hydrochloric acid were added, the THF was removed in vacuo and the residue was poured onto 300 ml of methyl tert-butyl ether. The phases were separated, and the organic phase was washed with water, dried over sodium sulfate and, after filtration, concentrated in vacuo. The residue was purified by preparative HPLC. After concentration of the product fractions and subsequent freeze drying, 484 mg (8 %) of the title compound were obtained.

15

7c) (R)-3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-phenylureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl amino)-3-methylpropionic acid
The compound was obtained analogously to Example 1 from 120 mg (0.242 mmol) of the compound of Example 7b and 38 mg (0.242 mmol) of tert-butyl (R)-3-amino-butanoate by coupling, chromatographic purification, cleavage of the tert-butyl ester and freeze drying. Yield: 113 mg (81 %).

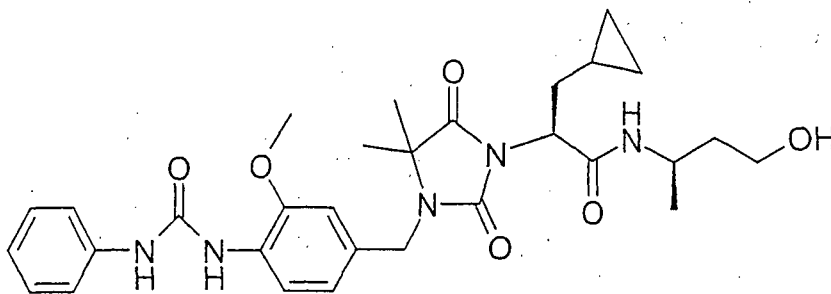
20

ES(+)-MS: 580.2 (M+H)⁺

Example 8

25 (R)-3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-phenylureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl amino)-3-methylpropanol

57

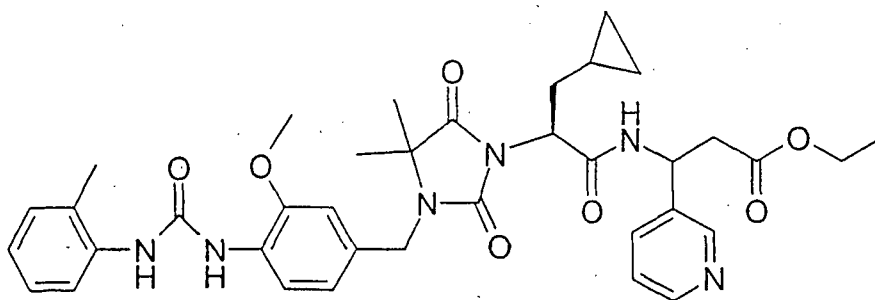


The compound was prepared analogously to Example 3 from 172 mg (0.348 mmol) of the compound of Example 7b and 31 mg (0.417 mmol) of (R)-3-amino-3-methylpropanol (see Example 3) by coupling, chromatographic purification (ethyl acetate/heptane, 9/1), concentration of the product fractions and freeze drying. Yield: 117 mg (59 %).

ES(+)-MS: 566.3 (M+H)⁺

10 Example 9

Ethyl 3-((S)-2-(4,4-dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetilamino)-3-(3-pyridyl)propionate



15

129 mg (0.393 mmol) of TOTU and 64 μ l (0.374 mmol) of N,N-diisopropylethylamine were added with ice cooling to a solution of 200 mg (0.393 mmol) of the compound of Example 1d and 76.4 mg (0.393 mmol) of ethyl 3-amino-3-(3-pyridyl)propionate (for preparation see J. G. Rico et al., J. Org. Chem. 58 (1993) 7948) in 5 ml of absolute DMF. After stirring at room temperature for 30 minutes, the solvent was removed in vacuo and the residue was taken up in ethyl acetate. The ethyl acetate solution was washed successively twice in each case with a saturated NaHCO₃ solution and

20

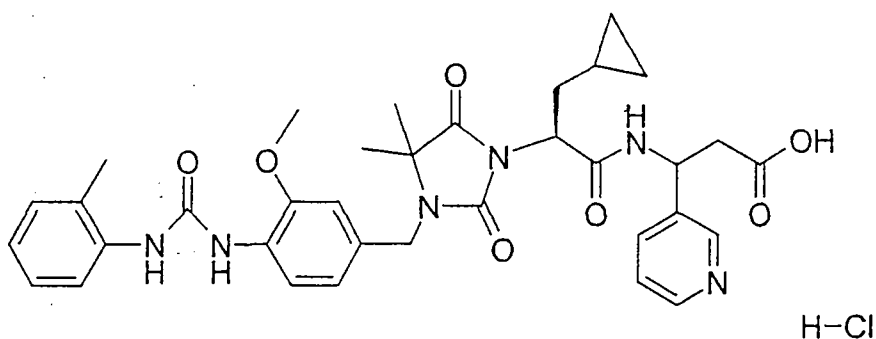
water. After drying the organic phase over sodium sulfate and filtering, the solvent was removed in vacuo and the residue was chromatographed over silica gel using ethyl acetate. After concentrating the product fractions, 195 mg (72 %) of the title compound were obtained.

5 ES(+)-MS: 685.4 (M+H)⁺

Example 10

3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl-amino)-3-(3-pyridyl)propionic acid

10 hydrochloride

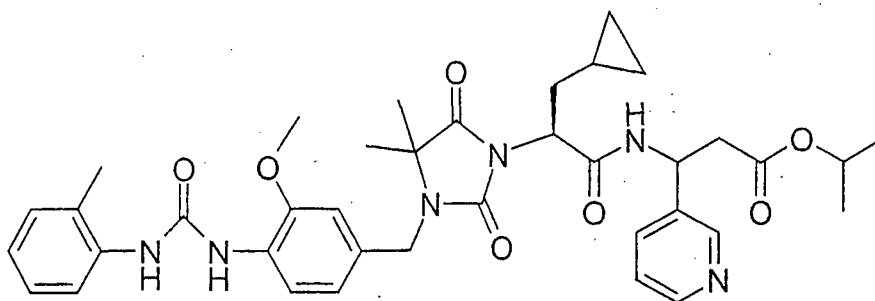


0.82 ml (0.82 mmol) of a 1M aqueous lithium hydroxide solution was added to a
15 solution of 141 mg (0.206 mmol) of the compound of Example 9 in 7.25 ml of
methanol and the reaction mixture was allowed to stand overnight at room
temperature. The methanol was then removed in vacuo, the residue was adjusted to
pH 2 using 1N hydrochloric acid and the mixture was concentrated in vacuo. The
residue was chromatographed over silica gel using dichloromethane/methanol/glacial
20 acetic acid/water (95/5/0.5/0.5). After concentrating the product fractions, the residue
was treated with 1.1 equivalents of 1N hydrochloric acid and freeze dried. Yield: 120
mg (89 %).

ES(+)-MS: 657.4 (M+H)⁺

25 Example 11

Isopropyl 3-((S)-2-(4,4-dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-(3-pyridyl)propionate



5

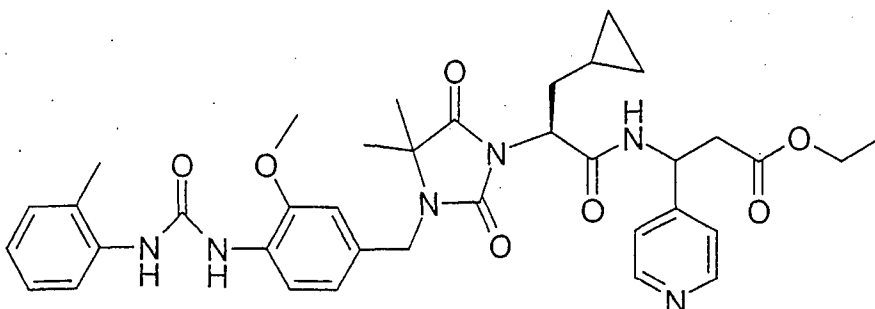
56 μ l (0.731 mmol) of isopropanol and 23.6 mg (0.193 mmol) of 4-dimethylaminopyridine were added to a suspension of 80 mg (0.122 mmol) of the compound of Example 11 in 3 ml of dichloromethane. 38 mg (0.183 mmol) of DCC, dissolved in 1 ml of dichloromethane, were added to the then clear solution. After stirring at room temperature for 2 hours, the mixture was allowed to stand overnight at room temperature. After filtration, the filtrate was concentrated in vacuo and the residue was chromatographed over silica gel using heptane/ethyl acetate (3/1) and ethyl acetate/heptane (20/1). After concentrating the product fractions, 70 mg (82 %) of the title compound were obtained.

15 ES(+)-MS: 699.4 (M+H)⁺

Example 12

Ethyl 3-((S)-2-(4,4-dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-(4-pyridyl)propionate

20



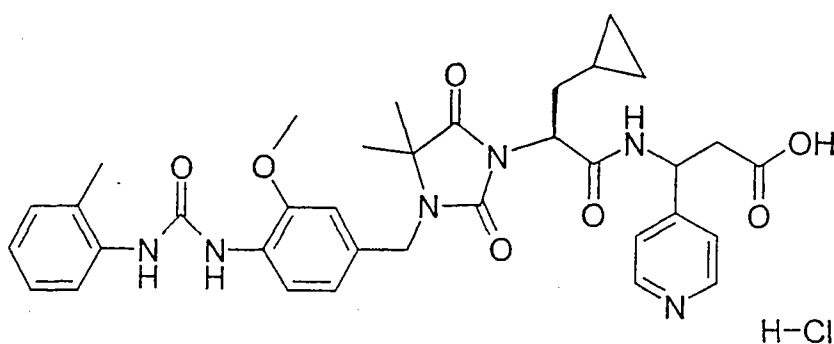
The compound was prepared analogously to Example 9 from 200 mg (0.393 mmol) of the compound of Example 1d and 76.4 mg (0.393 mmol) of ethyl 3-amino-3-(4-pyridyl)propionate (for preparation see J. G. Rico et al., J. Org. Chem. 58 (1993)

5 7948). Yield: 199 mg (74 %).

ES(+)-MS: 685.4 (M+H)⁺

Example 13

10 3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-(4-pyridyl)propionic acid hydrochloride



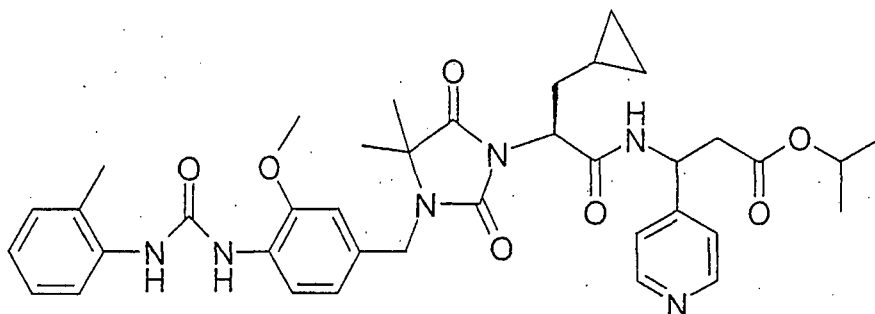
15 The compound was prepared analogously to Example 10 from 143 mg (0.209 mmol) of the compound of Example 12. Yield: 126 mg (87 %).

ES(+)-MS: 657.2 (M+H)⁺

Example 14

20 Isopropyl 3-((S)-2-(4,4-dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-(4-pyridyl)propionate

61



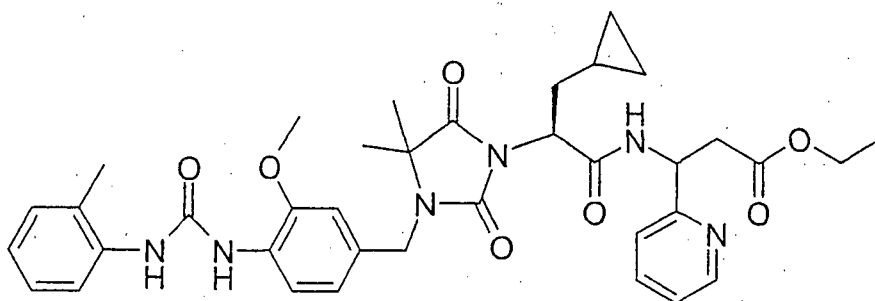
The compound was prepared analogously to Example 11 from 83 mg (0.126 mmol) of the compound of Example 13. Yield: 34.6 mg (39 %).

5 ES(+)-MS: 699.4 (M+H)⁺

Example 15

Ethyl 3-((S)-2-(4,4-dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl-amino)-3-(2-pyridyl)propionate

10

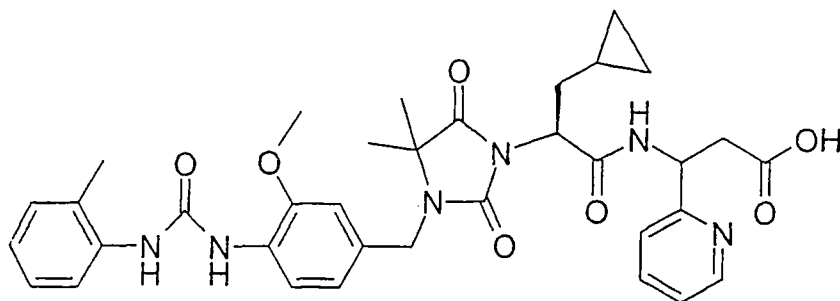


The compound was prepared analogously to Example 9 from 200 mg (0.393 mmol) of the compound of Example 1d and 76.4 mg (0.393 mmol) of ethyl 3-amino-3-(2-pyridyl)propionate (for preparation see J. G. Rico et al., J. Org. Chem. 58 (1993) 7948). Yield: 226 mg (84 %).

15 ES(+)-MS: 685.4 (M+H)⁺

Example 16

20 3-((S)-2-(4,4-Dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl-amino)-3-(2-pyridyl)propionic acid

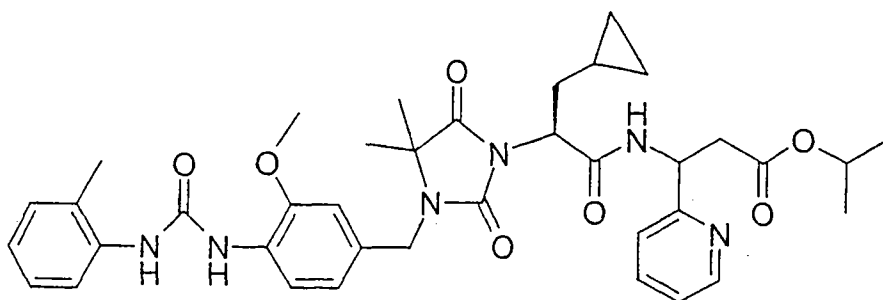


The compound was prepared analogously to Example 10 from 170 mg (0.248 mmol) of the compound of Example 15, but was not converted into the hydrochloride by addition of hydrochloric acid. Yield: 160 mg (98 %).

ES(+)-MS: 657.4 (M+H)⁺

Example 17

- 10 Isopropyl 3-((S)-2-(4,4-dimethyl-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioximidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetamino)-3-(2-pyridyl)propionate

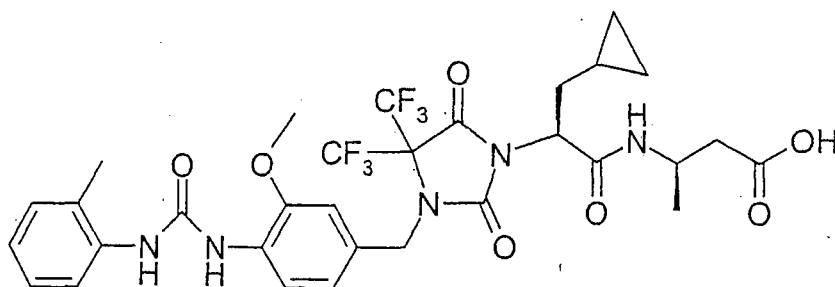


- 15 The compound was prepared analogously to Example 11 from 90 mg (0.137 mmol) of the compound of Example 16. Yield: 39 mg (41 %).

ES(+)-MS: 699.4 (M+H)⁺

Example 18

(R)-3-((S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetyl amino)-3-methylpropionic acid



18a) 2-tert-Butoxy-4,4-bis(trifluoromethyl)-1,3-oxazabuta-1,3-diene

The compound was prepared analogously to W. Steglich et al., Chem. Ber. 107

(1974), 1488-1498. For the preparation of anhydrous hexafluoroacetone (HFA), HFA

10 trihydrate was added dropwise to concentrated sulfuric acid which had been warmed to 80 °C. The resulting gas was washed once more with concentrated sulfuric acid and then passed into the gas space of the reaction flask. A reflux condenser filled with acetone/dry ice was fitted to the gas outlet of the flask.

15 As described above, a solution of 20 g (170 mmol) of tert-butyl carbamate in 150 ml of dichloromethane was reacted with anhydrous gaseous HFA until the reaction solution was saturated. The solvent was removed in vacuo and the resulting crude 2-tert-butoxycarbonylamino-2-hydroxy-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropane (yield: 48.3 g, 100 %) was used in the subsequent reaction step.

20 13.6 g of trifluoroacetic anhydride and subsequently 5 drops of quinoline were added dropwise at 0 °C to a solution of 50.05 g (176 mmol) of 2-tert-butoxycarbonylamino-2-hydroxy-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropane in 300 ml of diethyl ether. After stirring at 0 °C for 10 minutes, a further 27.2 g of trifluoroacetic anhydride were added dropwise.

25 The reaction mixture was stirred at 0 °C (external temperature) for 30 minutes, the internal temperature of the mixture rising to 8-10 °C. After cooling to 0 °C, 50.01 g (388 mmol) of quinoline were added, the trifluoroacetic acid salt of quinoline

beginning to crystallize. After stirring at 0 °C for 2 hours, the mixture was filtered. Residual salt was removed from the filtrate by distilling it in vacuo into a receiver flask cooled with acetone/dry ice. The distillate was then distilled through a Vigreux column. 36.2 g (77 %) of the title compound were obtained. Boiling point: 126-130 °C.

18b) (S)- β -Cyclopropylalanine tert-butyl ester

3.5 g (27.1 mmol) of (S)- β -cyclopropylalanine were added at room temperature to a mixture of 50 ml of dioxane and 5 ml of concentrated sulfuric acid (prepared by cautious dropwise addition of the acid to dioxane at 5 °C). The solution was transferred into a sealing tube into which 40 ml of isobutylene were condensed at -78 °C. The sealed tube was then shaken at room temperature for 24 hours on a shaker. After opening of the sealed tube (with cooling), the reaction mixture was cautiously introduced into a stirred mixture, cooled to 0 °C, of 30 ml of triethylamine and 50 ml of water. After removing excess isobutylene, the product was extracted with ether (2x50 ml). After drying the ether phases over magnesium sulfate, filtering and removing the solvent in vacuo, the crude product obtained (pale yellow oil) was employed in the subsequent reaction without further purification. Yield 4.2 g (84 %).

18c) (S)-N-Formyl- β -cyclopropylalanine tert-butyl ester

A mixture of 10 g (54 mmol) of (S)- β -cyclopropylalanine tert-butyl ester and 4.7 g (55.2 mmol) of cyanomethyl formate in 100 ml of dichloromethane was stirred overnight at room temperature. After removing the solvent in vacuo, the residue obtained was distilled in vacuo. Yield: 8.8 g (76 %). Boiling point 120 °C/40 Pa (0.3 torr).

18d) tert-Butyl (S)-2-(4,4-bis(trifluoromethyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetate

2.4 g (12.1 mmol) of diphosgene were added at -30 °C to a solution of 2.5 g (11.7 mmol) of (S)-N-formyl- β -cyclopropylalanine tert-butyl ester and 2.5 g (24.7 mmol) of triethylamine in 100 ml of dry dichloromethane. The reaction solution was allowed to

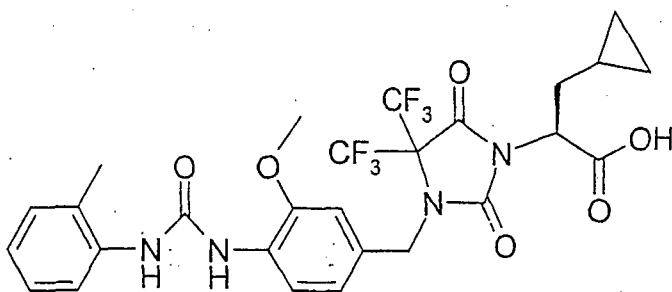
warm to -15 °C in the course of 1 hour and stirring was continued at this temperature until the reaction was complete. The reaction solution was then washed twice at room temperature with 7 % strength sodium hydrogencarbonate solution and the organic phase was dried over magnesium sulfate. After filtration, the solvent was removed in vacuo and the residue was taken up in 70 ml of benzene. 3.05 g (11.5 mmol) of 2-tert-butoxy-4,4-bis(trifluoromethyl)-1,3-oxazabuta-1,3-diene in 10 ml of benzene were added dropwise to this solution at room temperature. The reaction solution was heated overnight to 60 °C and benzene was then removed in vacuo. The residue was chromatographed over silica gel (eluent: petroleum ether/ethyl acetate = 8/1). Yield: 3.7 g (78 %). Melting point: 76-77 °C. $[\alpha]_D^{20} = -28^\circ$ (c = 1, CHCl₃).

18e) (S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetic acid

A solution of 7 g (17.3 mmol) of the compound of Example 18d in 20 ml of dichloromethane was added at 10 °C to a mixture of 30 ml of trifluoroacetic acid and 50 ml of dichloromethane and the mixture was stirred at room temperature for 16 hours. After removal of trifluoroacetic acid and dichloromethane in vacuo, 5.9 g (98 %) of the title compound were obtained.

Melting point: 123-125 °C, $[\alpha]_D^{22} = -26^\circ$ (c = 2, methanol).

18f) (S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetic acid



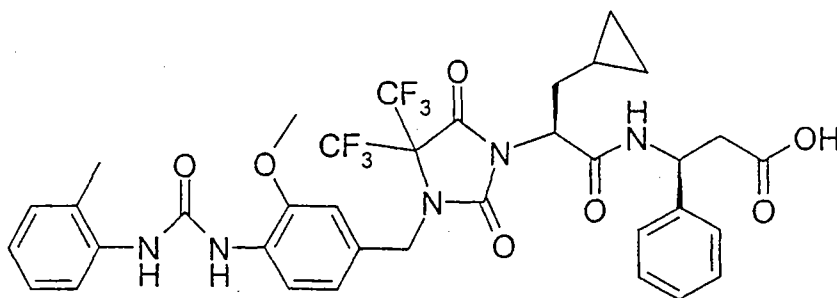
3.2 ml of an n-butyllithium solution (2.5 M in hexane) were added at -40 °C under argon to a solution of 1.39 g (4 mmol) of the compound of Example 18e in 40 ml of absolute THF. The reaction mixture was allowed to warm to 0 °C with stirring, a solution of 2.43 g (8 mmol) of 4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl chloride in 20 ml of absolute THF was added and the reaction mixture was stirred at room temperature for 3 hours. 20 ml of 1N hydrochloric acid were added and THF was removed in vacuo. The aqueous phase was extracted twice with methyl tert-butyl ether. The combined organic phases were dried over sodium sulfate and, after filtration, concentrated in vacuo. The residue was purified by preparative HPLC. After concentration of the product fractions and freeze drying, 1.41 g (57 %) of the title compound were obtained.

18g) (R)-3-((S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-methylpropionic acid

The title compound can be obtained as described in Examples 1f and 1g from the compound of Example 18f and tert-butyl (R)-3-aminobutanoate by coupling and subsequent cleavage of the tert-butyl ester.

Example 19

(S)-3-((S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-phenylpropionic acid



19a) Ethyl (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-phenylpropionate

748 mg (2.28 mmol) of TOTU (O-((cyano(ethoxycarbonyl)methylene)amino)-

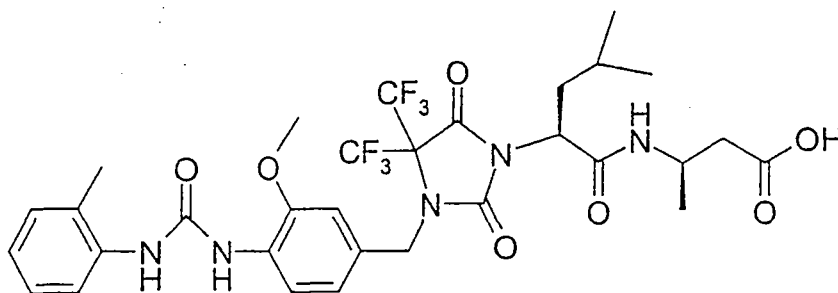
- 5 N,N,N',N'-tetramethyluronium tetrafluoroborate) and 368 μ l of N,N-diisopropyl-ethylamine were added at 0 °C to a solution of 1.41 g (2.28 mmol) of the compound of Example 18f and 442 mg (2.28 mmol) of ethyl (S)-3-amino-3-phenylpropionate in 20 ml of absolute dimethylformamide (DMF). After stirring at room temperature for 1 hour, the DMF was removed in vacuo, the residue was taken up in ethyl acetate and the ethyl acetate solution was washed successively with an aqueous
- 10 $\text{KHSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ solution, a saturated NaHCO_3 solution and water. After drying the organic phase over sodium sulfate and filtering, the solvent was removed in vacuo and the residue was chromatographed over silica gel using heptane/ethyl acetate (3/2). By concentrating the product fractions, 1.48 g (82 %) of the title compound
- 15 were obtained.

19b) (S)-3-((S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-phenylpropionic acid

- 20 A solution of 1.46 g (1.84 mmol) of the compound of Example 19a in 40 ml of N-methyl-2-pyrrolidone and 20 ml of 6N hydrochloric acid was heated to 60 °C for 6 hours. After cooling to room temperature, the reaction mixture was poured onto 300 ml of water, and the precipitate was filtered off with suction, washed with water and dried over phosphorus pentoxide. The crude product was chromatographed twice
- 25 over silica gel (eluent: dichloromethane/methanol/acetic acid/water = 95/5/0.5/0.5). After concentration of the product fractions, the residue was taken up in dichloromethane and the organic phase was washed with water and dried over sodium sulfate. After filtration, removal of the solvent in vacuo and freeze drying, 1.19 g (85 %) of the title compound were obtained.
- 30 ES(+)-MS: 764.2 (M+H)⁺

Example 20

(R)-3-((S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetamino)-3-methylpropionic acid



20a) N-Formyl-L-leucine tert-butyl ester

The preparation was carried out analogously to W. Duczek et al., Synthesis 1996, 37-38. A solution of 4.04 g (40 mmol) of triethylamine in 10 ml of dichloromethane was added at 0 °C to a solution of 8.94 g (40 mmol) of L-leucine tert-butyl ester hydrochloride and 3.4 g (40 mmol) of cyanomethyl formate in 60 ml of dichloromethane. The reaction solution was allowed to warm to room temperature, stirred overnight at room temperature and then washed twice with saturated NaCl solution. The phases were separated and the organic phase was dried over magnesium sulfate. After filtration and removal of the solvent in vacuo, the residue obtained was distilled in vacuo. Yield: 7.5 g (87 %). Boiling point: 118 °C/2.7 Pa (0.02 torr).

20b) tert-Butyl (S)-2-(4,4-bis(trifluoromethyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetate

2.4 g (12.1 mmol) of diphosgene were added at -30 °C to a solution of 2.5 g (11.6 mmol) of N-formyl-L-leucine tert-butyl ester and 2.5 g (24.7 mmol) of triethylamine in 100 ml of dry dichloromethane. The reaction solution was allowed to warm to -10 °C in the course of 1 hour and stirring was continued at this temperature until the reaction was complete. The reaction solution was then washed twice at room temperature with 7 % strength sodium hydrogencarbonate solution. The phases were separated and the organic phase was dried over magnesium sulfate. After filtration,

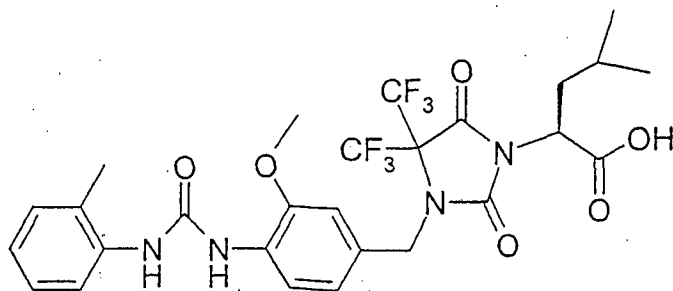
the solvent was removed in vacuo and the residue was taken up in 70 ml of benzene. 3 g (11.3 mmol) of 2-tert-butoxy-4,4-bis(trifluoromethyl)-1,3-oxazabuta-1,3-diene in 10 ml of benzene were added dropwise to this solution at room temperature. The reaction solution was heated to 60 °C overnight and then benzene was removed in vacuo. After chromatography of the residue over silica gel (eluent: petroleum ether/ethyl acetate = 10/1), 3.7 g (80 %) of the title compound were obtained. Melting point: 105-106 °C. $[\alpha]^{20} = -24^\circ$ (c = 1, CHCl₃).

20c) (S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-2,5-dioximidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetic acid

A solution of 7 g (17.2 mmol) of the compound of Example 20b in 20 ml of dichloromethane was added at 10 °C to a mixture of 30 ml of trifluoroacetic acid and 50 ml of dichloromethane and the reaction mixture was stirred at room temperature for 16 hours. After removal of trifluoroacetic acid and dichloromethane in vacuo, 6.0 g (99 %) of the title compound were obtained. Melting point: 154-156 °C. $[\alpha]^{22} = -23^\circ$ (c = 2, methanol).

20d) (R)-3-((S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioximidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetylamin)-3-methylpropionic acid

The title compound was prepared as described in Examples 1f and 1g from 500 mg (0.809 mmol) of (S)-2-(4,4-bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioximidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetic acid of the formula

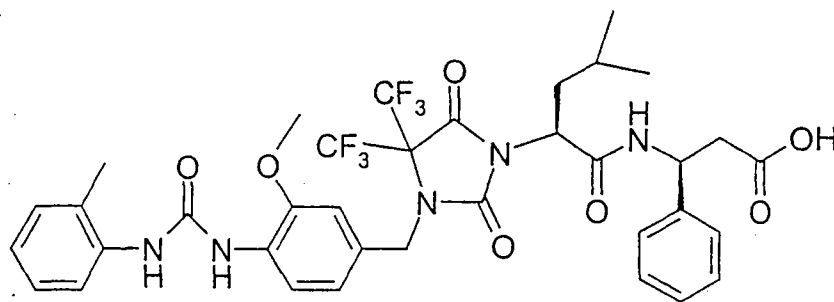


which had been prepared from (S)-2-(4,4-bis(trifluoromethyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetic acid and 4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl chloride as described in Example 18f, and 128 mg (0.809 mmol) of tert-butyl (R)-3-aminobutanoate. After coupling, chromatographic purification over silica gel (eluent: heptane/ethyl acetate = 3/2) and cleavage of the tert-butyl ester, 299 mg (53 %) of the title compound were obtained.

ES(+)-MS: 704.5 (M+H)⁺

Example 21

(S)-3-((S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetyl-amino)-3-phenylpropionic acid



21a) Ethyl (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetyl-amino)-3-phenylpropionate

1.89 g (5.77 mmol) of TOTU and 932 μ l of N,N-diisopropylethylamine were added at 0 °C to a solution of 3.57 g (5.77 mmol) of (S)-2-(4,4-bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetic acid (prepared from (S)-2-(4,4-bis(trifluoromethyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetic acid and 4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl chloride as described in Example 18f) and 1.11 g (5.77 mmol) of ethyl (S)-3-amino-3-phenylpropionate in 30 ml of absolute DMF. After stirring at room temperature for 1 hour, DMF was removed in vacuo, the residue was taken up in ethyl acetate and the ethyl acetate solution was washed

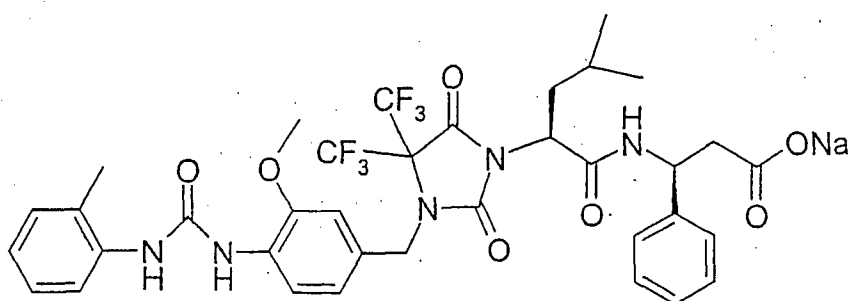
successively with an aqueous $\text{KHSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$ solution, a saturated NaHCO_3 solution and water. After drying the organic phase over sodium sulfate and filtering, the solvent was removed in vacuo and the residue was chromatographed over silica gel using ethyl acetate/heptane (2/3). After concentration of the product fractions, 3.26 g (71 %) of the title compound were obtained.

21b) (S)-3-((S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetyl-amino)-3-phenylpropionic acid

- 10 45 ml of 6N hydrochloric acid were added to a solution of 3.25 g (4.09 mmol) of the compound of Example 21a in 90 ml of N-methyl-2-pyrrolidone and the mixture was heated to 60 °C for 6 hours. After cooling to room temperature, the mixture was poured onto 600 ml of water. The precipitate was filtered off with suction, washed with water and dried over phosphorus pentoxide. After twofold chromatographic
- 15 purification of the crude product over silica gel (eluent: dichloromethane/methanol/acetic acid/water = 95/5/0.5/0.5) and concentration of the product fractions, the residue was taken up in dichloromethane. The organic phase was washed twice with water and dried over magnesium sulfate. After filtration, concentration and freeze drying, 2.7 g (86 %) of the title compound were obtained.
- 20 ES(+)-MS: 766.2 (M+H)⁺

Example 22

(S)-3-((S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetyl-amino)-3-phenylpropionic acid sodium salt

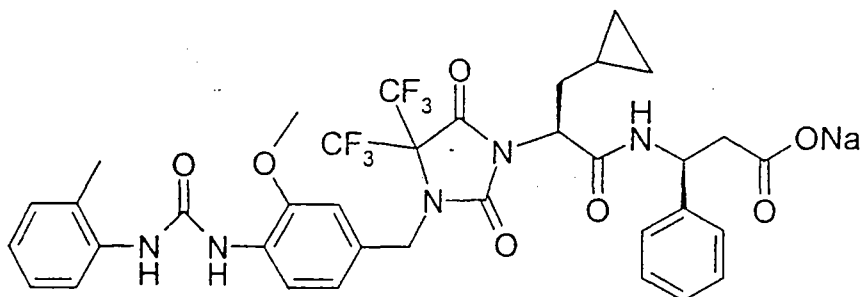


1.24 ml of 1N sodium hydroxide solution (diluted with 20 ml of water) were added; with stirring to a suspension of 1 g (1.3 mmol) of the compound of Example 21 in 100 ml of acetonitrile and 200 ml of water. After freeze drying the solution, 1.01 g (79 %) of the title compound were obtained.

ES(+)-MS: 766.2 (3-((S)-2-(4,4-bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(2-methylpropyl)acetylamino)-3-phenylpropionic acid+H)⁺

10 Example 23

(S)-3-((S)-2-(4,4-Bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-phenylpropionic acid sodium salt



From 720 mg of the compound of Example 19b, according to the process described in Example 22, 720 mg (99 %) of the title compound were obtained.

ES(+)-MS: 764.3 ((S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluoromethyl)-3-(4-(3-(2-methylphenyl)ureido)-3-methoxybenzyl)-2,5-dioxoimidazolidin-1-yl)-2-(cyclopropylmethyl)acetylamino)-3-phenylpropionic acid+H)⁺

Investigation of the biological activity

A) U937/VCAM-1 cell adhesion test

The test method used for the activity of the compounds of the formula I on the interaction between VCAM-1 and VLA-4 is the assay described below, which is specific for this interaction. The cellular binding components, i.e. the VLA-4 integrins, are supplied in their natural form as surface molecules on human U937 cells (ATCC CRL 1593), which belong to the leukocytes group. As specific binding components, recombinant soluble fusion proteins prepared by genetic engineering, consisting of the extracytoplasmic domain of human VCAM-1 and the constant region of a human immunoglobulin of subclass IgG1, are used.

10 Assay for the measurement of the adhesion of U937 cells (ATCC CRL 1593) to hVCAM-1(1-3)-IgG

1. Preparation of human VCAM-1(1-3)-IgG and human CD4-IgG

15 A genetic construct for the expression of the extracellular domain of human VCAM-1, combined with the genetic sequence of the heavy chain of the human immunoglobulin IgG1 (hinge, CH2 and CH3 regions) (from Dr. Brian Seed, Massachusetts General Hospital, Boston, USA; cf. Damle and Aruffo, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1991, 88, 6403), was employed. The soluble fusion protein hVCAM-
20 1(1-3)-IgG contained the three amino-terminal extracellular immunoglobulin-like domains of human VCAM-1 (Damle and Aruffo, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1991, 88, 6403). CD4-IgG (Zettlmeissl et al., DNA and Cell Biology 1990, 9, 347) served as a fusion protein for negative controls. The recombinant proteins were expressed as soluble proteins after DEAE/dextran-mediated DNA transfection in COS cells (ATCC
25 CRL1651) according to standard procedures (Ausubel et al., Current protocols in molecular biology, John Wiley & Sons, Inc., 1994).

2. Assay for the measurement of the adhesion of U937 cells to hVCAM-1(1-3)-IgG

30

2.1 96 well microtiter test plates (Nunc Maxisorb) were incubated at room temperature for 1 hour with 100 µl/well of a goat anti-human IgG antibody solution

(10 µg/ml in 50 mM tris, pH 9.5). After removal of the antibody solution, washing was carried out once with PBS.

2.2 150 µl/well of a blocking buffer (1 % BSA in PBS) were incubated on the plates at room temperature for 0.5 hour. After removal of the blocking buffer, washing was carried out once with PBS.

2.3 100 µl per well of a cell culture supernatant of transfected COS cells were incubated on the plates at room temperature for 1.5 hours. The COS cells were transfected with a plasmid which codes for the three N-terminal immunoglobulin-like domains of VCAM-1, coupled to the Fc part of human IgG₁ (hVCAM-1(1-3)-IgG). The content of hVCAM-1(1-3)-IgG was about 0.5-1 µg/ml. After removal of the culture supernatant, washing was carried out once with PBS.

2.4 The plates were incubated at room temperature for 20 minutes with 100 µl/well of Fc receptor block buffer (1 mg/ml γ-globulin, 100 mM NaCl, 100 µM MgCl₂, 100 µM MnCl₂, 100 µM CaCl₂, 1 mg/ml BSA in 50 mM HEPES, pH 7.5). After removal of the Fc receptor block buffer, washing was carried out once with PBS.

2.5 20 µl of binding buffer (100 mM NaCl, 100 µM MgCl₂, 100 µM MnCl₂, 100 µM CaCl₂, 1 mg/ml BSA in 50 mM HEPES, pH 7.5) were introduced, the substances to be tested were added in 10 µl of binding buffer and incubation was carried out for 20 minutes. Antibodies against VCAM-1 (BBT, No. BBA6) and against VLA-4 (Immunotech, No. 0764) served as controls.

2.6 U937 cells were incubated for 20 minutes in Fc receptor block buffer and then added by pipette in a concentration of 1×10^6 /ml and in an amount of 100 µl per well (final volume 125 µl/well).

2.7 The plates were slowly immersed at an angle of 45° in stop buffer (100 mM NaCl, 100 µM MgCl₂, 100 µM MnCl₂, 100 µM CaCl₂ in 25 mM tris, pH 7.5) and shaken off. The process was repeated.

2.8 50 μ l/well of a dye solution (16.7 μ g/ml of Hoechst dye 33258, 4 % formaldehyde, 0.5 % Triton X-100 in PBS) were then incubated on the plates for 15 minutes.

5

2.9 The plates were shaken out and slowly immersed at an angle of 45° in stop buffer (100 mM NaCl, 100 μ M MgCl₂, 100 μ M MnCl₂, 100 μ M CaCl₂ in 25 mM tris, pH 7.5). The process was repeated. Then, with the liquid (stop buffer) present, the plates were measured in a cytofluorimeter (Millipore) (sensitivity: 5, filter: excitation wavelength: 360 nm; emission wavelength: 460 nm).

10

The intensity of the light emitted by the stained U937 cells is a measure of the number of the U937 cells adhered to the hVCAM-1(1-3)-IgG and remaining on the plate and thus a measure of the ability of the added test substance to inhibit this adhesion. From the inhibition of the adhesion at various concentrations of the test substance, the concentration IC₅₀ was calculated which leads to an inhibition of the adhesion by 50 %.

15

3. Results

20

The following results were obtained in the U937/VCAM-1 cell adhesion test (IC₅₀ values in nM (nanomoles/liter)).

Compound of Example No.	IC ₅₀ (nM)
----------------------------	-----------------------

1	0.3
2	0.5
5	25.9
7	2.1
10	0.6

Compound of Example No.	IC ₅₀ (nM)
----------------------------	-----------------------

13	1.8
----	-----

16	0.9
----	-----

19	4.4
----	-----

The pharmacological properties of the compounds of the formula I can also be investigated in the following models.

5

B) Leukocyte adhesion in the rat

In the model of leukocyte adhesion in the rat, the influencing of the adhesion of leukocytes by the compounds of the formula I is investigated in venules of the rat.

10 The leukocyte adhesion to the endothelium of postcapillary venules is regarded as an important step in inflammatory reactions (J. M. Harlan, Blood 1985, 65, 513). In the recruitment of leukocytes from the blood into inflamed areas a well-coordinated dynamic sequence of events takes place in which chemotactic cytokines and cellular adhesion molecules play an active role. It has been found that VCAM-1/VLA-4

15 interactions play a crucial role in the adhesion and emigration of leukocytes and the increased permeability of vessels for macromolecules which are induced by various mediator substances and cytokines (D. Seiffge, Int. J. Microcirc. 1995, 15, 301). In the present model, a generalized inflammation or rheumatoid arthritis which leads to an adhesion of the leukocytes and their emigration into diseased areas of the organ

20 is caused by local or systemic injection of endotoxins, for example zymosan, bacterial toxins such as lipopolysaccharides (LPS) or Freund's adjuvant. The increased adhesion to the endothelium of the venules produced by the endotoxin is determined.

25 For the determination of the leukocyte adhesion, a camera inverted microscope (Zeiss) is used which is equipped with a video system. Zymosan or bacterial

49
endotoxin is injected into male Sprague-Dawley rats (body weight about 250 g) under a light halothane premedication. The control animals receive an identical volume of 0.9 % strength saline solution. The test substance is then administered subcutaneously or orally to the animals as an individual dose or as a multiple dose.

- 5 For carrying out the measurement, the rats are anesthetized by an intramuscular injection of 1.25 g/kg of urethane. They are allowed to breathe spontaneously through a tracheal tube. The body temperature is kept at 37 °C by means of a regulated heating pat. On a thermostatted (37 °C) window of the microscope stage, the mesentery is carefully exposed by means of a hypogastric incision and covered with liquid paraffin at 37 °C. The ileocecal area of the mesentery is held in position using three blunt needles and modeling clay. After a 30-minute equilibration period, during which the tissue is allowed to stabilize, the leukocyte adhesion is determined in postcapillary venules of 20-30 µm diameter and about 100 µm length by counting in 2-3 segments of the venules at intervals of 10 minutes for 1 hour. A leukocyte is regarded as being adherent to the endothelium if it is stationary for more than 30 seconds. After the experiment, the systemic leukocyte count and the fibrinogen content of the blood are determined. The inhibition of the leukocyte adhesion by the test substance is indicated by the decrease (in %) in the number of adherent leukocytes in the treated animals in comparison with the number in the control animals.

C) Delayed-type hypersensitivity in the mouse

- In the model of delayed-type hypersensitivity (DTH), the antiallergic or anti-inflammatory action of the compounds of the formula I is investigated. DTH is an inflammatory reaction of the skin which is induced by sensitization with antigenic substances. In order to determine the corresponding inflammatory reaction and the leukocyte recruitment into the inflamed areas in vivo, the substances are tested in the following DTH model in the mouse (see also T. B. Issekutz, J. Immunol. 1991, 147, 4178).

Groups of female BALB/c mice (body weight about 20 g) are sensitized epicutaneously on a shaved part of the skin with 150 µl of a 3 % strength solution of oxazalone, which induces a strong inflammatory DTH reaction. 6 days later, the reaction is challenged by administration of 20 µl of a 1 % strength oxazalone solution to the right ear of the animals. The test substances are administered subcutaneously or orally in each case 44 hours before the challenge of the reaction, 20 hours before the challenge and 4 hours after the challenge. Directly before the challenge of the reaction and 24 hours after the challenge, the altered ear thickness due to the inflammatory swelling of the ear is measured on the right ear using a Mitutoyo Engineering micrometer. The difference between these two measurements is determined for each animal of the group. The mean values of the differences of an animal group treated with the test substance on the one hand and an untreated control group on the other hand are compared. As a measure of the effect of the substance, the percentage inhibition of the ear swelling is indicated.

15

D) Antiasthmatic action on the guinea pig

The effect on the lung function and the antiasthmatic action of the compounds of the formula I can be determined in a model on the guinea pig which follows the method described by G. Moacevic, Arch. Toxicol. 1975, 34, 1. For this, the technical preparations for the investigation are carried out according to the details described by Moacevic. Male albino guinea pigs having a body weight of 300-500 g are employed. The animals are placed in a plethysmograph (from FMI) and three starting values of the parameters respiratory rate and respiratory amplitude are recorded. In this model, asthmatic respiration is characterized by the decrease in the respiratory amplitude (= lowering of the respiratory volume on account of the bronchoconstriction) and the increase in the respiratory rate (= reflex reaction). This condition is known in asthma patients as dyspnea.

The albino guinea pigs are sensitized 22 days before the start of the study with 1 ml per animal of a 0.1 % strength ovalbumin solution on two successive days. The experimental asthma attack is induced by inhalation of a 0.3 % strength ovalbumin

solution for 1 minute. After a recovery phase of 40-60 minutes, the animals inhale the test substance as an aqueous solution. Immediately thereafter, 0.3 % strength ovalbumin solution is administered for 1 minute. In the following recovery phase of 30 minutes, the animals breathe normal air. This process is repeated twice. If the
5 asthma attacks are life threatening, oxygen is administered to the animals.

The antiasthmatic effect on the sheep can be determined, for example, as described by Abraham et al., J. Clin. Invest. 1994, 93, 776.

10 E) The antiatherosclerotic action can be investigated in the following animal models.

Cuff model of neointima formation

15 The wild-type mice of the strain C57BL/6J are supplied by the breeding service of Charles River Wiga GmbH (Sulzfeld, FRG) and the homozygous KO mice of the strain C57BL/6J-ApoE tm1Unc (ApoE KO) are supplied by The Jackson Laboratory (Maine, USA). All mice are between 10 and 12 weeks old at the start of the experiment and are kept in fully air-conditioned rooms at a temperature of 22°C. The
20 day/night phase of the controlled light program is adjusted to a period of 12 hours. The mice are firstly anesthetized with 60 mg/kg of body weight of pentobarbital sodium i.p. Each animal then additionally receives 0.01 mg/10 g of body weight of xylazine i.m.

25 The mice are fixed in the supine position, and the inner surfaces of both hind legs are shaved and disinfected. The skin on the inside of the left thigh is then opened by means of a longitudinal incision approximately 1 cm long and the femoral artery is isolated from the surrounding tissue and from the femoral vein and the sciatic nerve. A piece of polyethylene tubing approximately 2 mm long (internal diameter 0.58 mm, external diameter 0.965 mm, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) is then cut
30 according to length and placed around the femoral artery and fixed with Prolene threads (7/0, 0.5 metric from Ethicon, Norderstedt, FRG). The skin is subsequently

closed again by means of a continuous suture. The right hind leg is operated on in an analogous manner, but without a cuff being placed around the femoral artery. The animal is subsequently taken to its cage again. From the operation, the animals are treated daily with the test substance.

5

At the end of the experiment, the mice are again anesthetized with 60 mg/kg of body weight of pentobarbital sodium i.p. and 0.01 mg/10 g of body weight of xylazine i.m. For the fixation of the vessels in situ, each mouse then receives an injection of 4 % strength formalin solution into the abdominal aorta. The right and the left femoral arteries are then removed. On the left side, the portion of the artery is removed which includes the section about 1 mm proximal to the cuff, the section enclosed by the cuff itself and the section of vessel 1 mm distal. On the right side, this portion corresponds to the section which is only isolated during the operation, but not enclosed by a cuff.

15

The portions of the left and the right femoral arteries fixed in 4 % strength formalin solution are embedded in paraffin. From the section of the left artery enclosed by the cuff and from the corresponding section of the right control artery a number of tissue cross sections are prepared which are then stained with hematoxylin and eosin for software-assisted (LeicaQWin from Leica Imaging Systems, Cambridge, GB) morphometric analysis.

20

Per mouse, three tissue cross sections from the area of the left femoral artery enclosed by the cuff and three tissue cross sections from the corresponding area of the right control artery are evaluated. After marking of the lamina elastica externa, the lamina elastica interna and the boundary between the lumen and endothelium, the following areas are calculated by the analysis program: lumen, neointima and media. The size of these areas is indicated in the unit μm^2 . The effect of a compound is indicated by the reduction of the ratio of neointima/media in comparison with the control group.

25

30

Heart transplantation

In the model of allogenic heart transplantation, transplantations between two genetically incompatible rat strains are carried out. For this purpose, Wistar-Furth rats are used as donor animals and Lewis rats as recipient animals. The animals are obtained from the breeding service of Charles River Wiga GmbH (Sulzfeld, FRG). Male Lewis rats of 270-330 g aged 2.5 to 3 months, and male Wistar-Furth rats of 200-250 g aged from 1.5 to 2 months are kept under constant, controlled conditions (temperature 19-22°C; relative humidity 50-55 %; the day/night phase of the controlled light program is adjusted to a period of 12 hours).

For the operation, the rats receive a combination of 3.3 mg/kg of body weight of xylazine and 115 mg/kg of body weight of ketamine. After the onset of the anesthetic action, the abdomen of the recipient is opened by median incision. The abdominal aorta and inferior vena cava are separated from one another between the renal artery and vein and the ilio-lumbar vessels. The aorta is then closed cranially using a vessel clip. Caudally, a silk thread is placed around both vessels and tightened. A second silk thread lies loosely around the cranial end of the inferior vena cava. After opening the abdominal cavity, the donor animal is killed by cutting through the large abdominal vessels. This point in time signaled the start of the ischaemic period of the donor organ. The diaphragm is then opened and the heart is exposed. The superior and inferior vena cava are ligated and cut through on the side of the ligature distal to the heart. A mass ligature of the pulmonary veins is carried out using a silk thread. The aorta and pulmonary artery are then lifted with forceps and cut through. The transplant is then freed of blood residues in the vascular system. The heart is then lifted, removed together with the mass ligature from the lung and stored in cold physiological NaCl solution for one to two minutes. An end-to-side anastomosis of the aorta and of the pulmonary artery of the donor organ with the abdominal artery and inferior vena cava respectively of the recipient animal is then carried out. After completion of the vessel anastomoses, the venous circulation followed by the arterial circulation are successively released. Finally, the abdominal cavity is closed again using a peritoneum/muscle suture and a skin suture. After release of the blood circulation and a short recovery phase, the transplanted heart beats with a sinus rate

of about 100 to 120 beats/minute. Cyclosporin A (CSA) for immunosuppression is administered either subcutaneously (s.c.) or orally via the drinking water. After getting over the acute rejection period, the dose can be reduced from 25 mg/kg of body weight from the 15th day p.op. to 5 mg/kg of body weight. The injections are performed once daily in the morning in the neck area of the animals.

The changeover from s.c. CSA administration to oral CSA administration takes place on day 22 p.op. in order to have safely got over the acute rejection period. The substance to be investigated is administered for 100 days from the operation. After expiration of the observation time interval (100 days), the animals are anesthetized and the abdominal cavity is opened. The heart is then removed with protection of the vessel stumps of the abdominal vessels, cut into slices and in stored in 4 % formalin solution. After the heart slices have been fixed, these are embedded in paraffin and stained for elastica according to the standardized van Gieson histological technique.

The classification of the neointimal proliferation and the constriction of the vascular lumen associated therewith is performed according to Adams et al. (Transplantation 1993, 56,794). Adhesions between the lamina elastica interna and endothelium are classified. The special stain according to van Gieson which selectively emphasizes elastica fibers facilitates the assessment. The effect of a compound is indicated by the reduction of the neointimal proliferation and thus the transplant atherosclerosis in comparison with the control group.

Atherosclerosis model in ApoE knockout (KO) mice

The homozygous KO mice of the strain C57BL/6J-ApoE tm1Unc (ApoE KO) are supplied by The Jackson Laboratory (Maine, USA). All mice are between 10 and 12 weeks old at the start of the experiment and are kept on standard litter for laboratory animals (Altromin, Lage, FRG) in fully air-conditioned rooms at a temperature of 22 °C. The day/night phase of the controlled light program is adjusted to a period of 12 hours. The animals are treated with the test substance for 4 months.

At the end of the experiment, the mice are anesthetized with 60 mg/kg of body weight of pentobarbital sodium i.p. and 0.01 mg/10 g of body weight of xylazine i.m. The heart and aortic arch and the descending thoracic aorta are then removed and fixed in 4 % strength formalin solution. The descending aorta is treated with Oil Red O for the staining of fat lesions. The morphometric analysis of the fat lesions is carried out using a microscope (Leitz DM RBE type from Leica, Bensheim), a camera attached thereto having a control unit (CF 15 MCC Type, Kappa Meßtechnik, Gleichen) and a computer (Leica, Bensheim). The measurements are carried out with the aid of a computer program for image analysis (LeicaQWin from Leica Imaging Systems, Cambridge, GB). The heart and the aortic arch are cut longitudinally and stained with hematoxylin and eosin for morphometric analysis. In each case 15-20 sections are analyzed. Further sections are investigated immunohistochemically for macrophages and T lymphocytes. The effect of a compound is indicated by the reduction of the plaque formation in the aorta in comparison with the control group.

F) The cardioprotective action can be investigated, for example, in the following animal model.

Cardiac infarct size in the rat

Male Wistar rats are obtained from the breeding service of Charles River Wiga GmbH (Sulzfeld, FRG) at an age of 2.5 to 3 months and having a body weight of 270-330 g. The animals are kept under constant, controlled conditions (temperature 19-22°C; relative humidity 50-55%; the day/night phase of the controlled light program is adjusted to a period of 12 hours). For the operation, the rats receive a combination of 3.3 mg/kg of body weight of xylazine and 115 mg/kg of body weight of ketamine. The animals are then intubated and ventilated with 30 % oxygen. The thorax is shaved, disinfected and opened by means of a left lateral thoracotomy. The left coronary artery is permanently ligated 2-3 mm below the left auricle of the heart for 48 hours or 4 weeks, or it is ligated for 30 minutes and reperfused for 47.5 hours or 4 weeks.

After the operation, the thorax is closed again and the animals are extubated after commencing spontaneous respiration. The test substance is administered 30 minutes after the ligature or immediately before the reperfusion. The animals are then treated daily with the test substance. At the end of the experiment, the animals

5 are again anesthetized with a combination of 3.3 mg/kg of body weight of xylazine and 115 mg/kg of body weight of ketamine. For the wall motion analysis, the animals in which the hearts were reperfused are investigated by means of "Nuclear Magnetic Resonance Imaging". In animals with nonreperfused hearts, a tip catheter is introduced via the right carotid artery for the measurement of the ventricular pressure

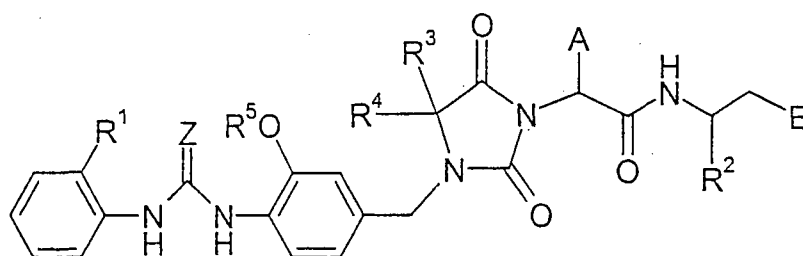
10 and the contractility in the left heart chamber. The heart is then removed in all animals and perfused in a retrograde manner in a Langendorff apparatus via the aorta with warm 1% strength Evans Blue solution at 37 °C for the determination of the anatomical risk area and of the nonischemic area. The hearts are then cut into 5-6 thin slices and incubated in 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride solution for 15

15 minutes for the determination of the vital and of the dead heart tissue. The planimetric analysis of the risk area and of the infarct region is carried out using a camera (Leica, Bensheim) and an attached computer unit with analysis software (Leitz, Bensheim). The risk area is expressed in percent based on the left ventricle plus septum and the infarct region in percent based on the risk area. The effect of a

20 compound is indicated by the reduction of the infarct region based on the risk area in comparison with the control group.

Patent claims

1. A compound of the formula I,



in which

A is cyclopropylmethyl- or isobutyl;

E is $-\text{CO}-\text{R}^6$, $-\text{CO}-\text{H}$ or $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{R}^7$;

10 Z is oxygen or sulfur;

R^1 is hydrogen or methyl;

R^2 is phenyl, pyridyl or (C_1-C_4) -alkyl, where the alkyl residue can be substituted by one or more fluorine atoms and the phenyl residue can be substituted by one or more identical or different substituents from the group consisting of (C_1-C_4) -alkyl, (C_1-C_4) -alkoxy, methylenedioxy, ethylenedioxy, halogen, trifluoromethyl and trifluoromethoxy;

15 R^3 and R^4 are methyl or trifluoromethyl;

R^5 is hydrogen or (C_1-C_4) -alkyl, where the alkyl residue can be substituted by one or more fluorine atoms;

R^6 is hydroxyl, $(\text{C}_1-\text{C}_{10})$ -alkoxy, phenyl- (C_1-C_8) -alkoxy, phenyloxy, (C_1-C_8) -alkylcarbonyloxy- (C_1-C_6) -alkoxy, phenylcarbonyloxy- (C_1-C_6) -alkoxy, phenyl- (C_1-C_6) -alkylcarbonyloxy- (C_1-C_6) -alkoxy, (C_1-C_8) -alkoxycarbonyloxy- (C_1-C_6) -alkoxy, phenyloxycarbonyloxy- (C_1-C_6) -alkoxy, phenyl- (C_1-C_6) -alkoxycarbonyloxy- (C_1-C_6) -alkoxy, amino, mono- $((\text{C}_1-\text{C}_{10})$ -alkyl)amino or di- $((\text{C}_1-\text{C}_{10})$ -alkyl)amino;

R^7 is hydrogen or (C_1-C_4) -alkyl;

25 in all its stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, or its physiologically tolerable salts.

2. A compound of the formula I as claimed in claim 1, in which R^3 and R^4 are both methyl or are both trifluoromethyl, in all its stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, or its physiologically tolerable salts.
- 5 3. A compound of the formula I as claimed in claims 1 and/or 2, in which Z is oxygen, in all its stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, or its physiologically tolerable salts.
4. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 3, in which
10 R^1 is methyl and R^5 is methyl, in all its stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, or its physiologically tolerable salts.
5. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 4, in which
15 R^2 is pyridyl, unsubstituted phenyl, phenyl which is substituted by a methylenedioxy residue or an ethylenedioxy residue, phenyl which is substituted by one or two (C_1 - C_4)-alkoxy groups, or (C_1 - C_4)-alkyl which can be substituted by one or more fluorine atoms, in all its stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, or its physiologically tolerable salts.
- 20 6. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 5, in which E is $-CO-R^6$ or $-CH_2-OH$ and R^6 is hydroxyl, (C_1 - C_6)-alkoxy or amino, in all its stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, or its physiologically tolerable salts.
- 25 7. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 6 in which
A is cyclopropylmethyl- or isobutyl;
E is $-COOH$, $-COOC_2H_5$, $-COOiC_3H_7$ or $-CH_2-OH$;
Z is oxygen;
30 R^1 is methyl;
 R^2 is unsubstituted phenyl, pyridyl or methyl;
 R^3 and R^4 are methyl;

R^5 is methyl;

in all its stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, or its physiologically tolerable salts.

5 8. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 6,

in which

A is cyclopropylmethyl- or isobutyl;

E is $-\text{COOH}$, $-\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{COO}i\text{C}_3\text{H}_7$ or $-\text{CH}_2\text{-OH}$;

Z is oxygen;

10 R^1 is methyl;

R^2 is unsubstituted phenyl, pyridyl or methyl;

R^3 and R^4 are trifluoromethyl;

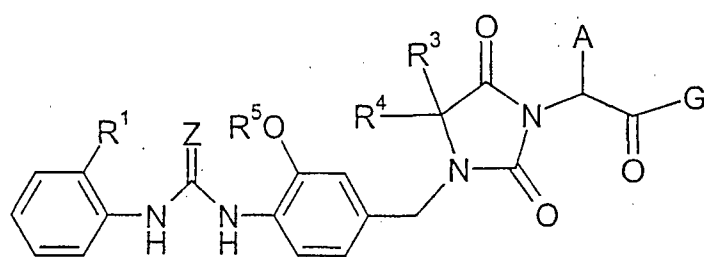
R^5 is methyl;

in all its stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, or its physiologically

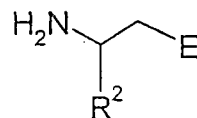
15 tolerable salts.

9. A process for the preparation of compounds of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 8, which comprises reacting a compound of the formula II with a compound of the formula III

20



II



III

where A, E, Z, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are as defined in claims 1 to 8 or functional groups are present in protected form or in the form of precursors, and where G is

25 hydroxycarbonyl, $(\text{C}_1\text{-C}_6)\text{-alkoxycarbonyl}$ or activated carboxylic acid derivatives.

10. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 8 and/or its physiologically tolerable salts for use as medicament.
- 5 11. A pharmaceutical preparation which comprises one or more compounds of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 8 and/or their physiologically tolerable salts and a pharmaceutical tolerable carrier.
12. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 8 and/or its
10 physiologically tolerable salts for use as antiinflammatories.
13. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 8 and/or its physiologically tolerable salts for use in the treatment of arthritis, of rheumatoid arthritis, of polyarthritis, of inflammatory bowel disease, of systemic lupus
15 erythematosus, of multiple sclerosis or of inflammatory diseases of the central nervous system.
14. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 8 and/or its physiologically tolerable salts for use in the treatment of asthma or allergies.
20
15. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 bis 8 and/or its physiologically tolerable salts for use in the treatment of cardiovascular diseases, of atherosclerosis, of myocardial infarct, of the acute coronary syndrome, of stroke, of restenoses, of diabetes, of damage to organ transplants, of immune diseases, of
25 autoimmune diseases, of tumor growth or tumor metastasis, or malaria, or for cardioprotection or secondary prophylaxis of stroke.
16. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 8 and/or its physiologically tolerable salts for use as inhibitors of the adhesion and/or migration of
30 leukocytes or for the inhibition of the VLA-4 receptor.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national Application No

PCT/EP 02/01917

55

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07D401/12 C07D233/74 C07D233/76 A61K31/4166 A61K31/4178

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07D A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP 0 918 059 A (HOECHST MARION ROUSSEL DE GMBH)) 26 May 1999 (1999-05-26) cited in the application page 39, line 38 -page 40, line 14 examples 5-8,17,19 claim 1	1-16
Y	WO 00 69831 A (AVENTIS PHARMA GMBH) 23 November 2000 (2000-11-23) page 1, line 11 -page 1, line 20 claim 1 examples 31,32,37,38 --- -/--	1,10,16

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *Z* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 June 2002

Date of mailing of the international search report

21/06/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Fanni, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

national Application No

PCT/EP 02/01917

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 99 24398 A (BRITTAIN DAVID ROBERT ;JOHNSTONE CRAIG (GB); ZENECA LTD (GB)) 20 May 1999 (1999-05-20) cited in the application page 1, line 3 -page 1, line 8 examples 64-68 claim 1 -----	1,10,16
Y	WO 00 00477 A (MILICI ANTHONY JOHN; PFIZER PROD INC (US); CHUPAK LOUIS STANLEY) 6 January 2000 (2000-01-06) page 1, line 4 -page 1, line 11 page 12, partial formulae (4.1.1) - (4.1.5) claim 1 -----	1,10,16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

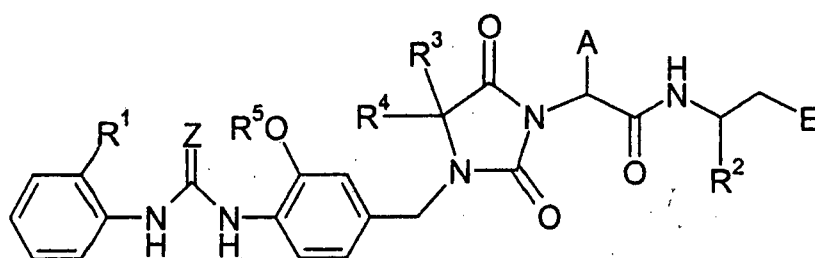
PCT/EP 02/01917

56

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0918059	A	26-05-1999	DE 19751251 A1 20-05-1999
		AU 9242198 A	10-06-1999
		BR 9804695 A	22-05-2001
		CN 1225360 A	11-08-1999
		CZ 9803726 A3	16-06-1999
		EP 0918059 A1	26-05-1999
		HR 980602 A1	31-08-1999
		HU 9802653 A2	28-09-1999
		JP 11246531 A	14-09-1999
		NO 985368 A	20-05-1999
		NZ 332855 A	23-06-2000
		PL 329790 A1	24-05-1999
		SK 158098 A3	11-06-1999
		TR 9802344 A2	21-06-1999
		US 6331552 B1	18-12-2001
		ZA 9810543 A	19-05-1999
WO 0069831	A	23-11-2000	DE 19922462 A1 23-11-2000
		AU 4756000 A	05-12-2000
		BR 0011296 A	26-02-2002
		CZ 20014089 A3	13-02-2002
		WO 0069831 A1	23-11-2000
		EP 1183241 A1	06-03-2002
		NO 20015617 A	15-01-2002
		TR 200103278 T2	22-04-2002
		US 6399643 B1	04-06-2002
WO 9924398	A	20-05-1999	AU 1042099 A 31-05-1999
		CA 2308716 A1	20-05-1999
		CN 1278790 T	03-01-2001
		EP 1030835 A2	30-08-2000
		WO 9924398 A2	20-05-1999
		JP 2001522831 T	20-11-2001
		NO 20002158 A	11-07-2000
		US 6344570 B1	05-02-2002
		ZA 9810330 A	12-05-1999
WO 0000477	A	06-01-2000	AU 3841699 A 17-01-2000
		BG 105190 A	31-12-2001
		BR 9911701 A	20-03-2001
		CN 1308616 T	15-08-2001
		CZ 20004909 A3	17-04-2002
		EP 1091943 A1	18-04-2001
		HR 20000917 A1	28-02-2002
		WO 0000477 A1	06-01-2000
		NO 20006600 A	21-02-2001
		PL 345308 A1	03-12-2001
		TR 200003848 T2	21-06-2001
		US 6306887 B1	23-10-2001
		US 6355662 B1	12-03-2002
		ZA 9903777 A	04-12-2000

Derivados de imidazolidina, su preparación, su uso y preparaciones farmacéuticas que los contienen

La presente invención se refiere a nuevos derivados de imidazolidina de
5 fórmula I,



en la que A, E, Z, R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ tienen los significados indicados a
10 continuación. Los compuestos de fórmula I son valiosos compuestos
farmacéuticos activos, que son adecuados, por ejemplo, para tratar
enfermedades inflamatorias, por ejemplo artritis reumatoide, o enfermedades
alérgicas. Los compuestos de fórmula I son inhibidores de la adhesión y
15 migración de leucocitos y/o antagonistas del receptor de adhesión VLA-4
perteneciente al grupo de las integrinas. Generalmente son adecuados para
tratar enfermedades que son causadas por un grado no deseado de adhesión
de leucocitos y/o migración de leucocitos, o están asociadas con esto, o en las
que juegan un papel las interacciones célula-célula o célula-matriz que se
20 basan en interacciones de receptores VLA-4 con sus ligandos. La invención
además se refiere a procedimientos para preparar los compuestos de fórmula
I, a su uso y a preparaciones farmacéuticas que contienen compuestos de
fórmula I.

Las integrinas son un grupo de receptores de adhesión que juegan un
papel importante en los procesos de unión célula-célula y célula-matriz
25 extracelular. Tienen una estructura $\alpha\beta$ -heterodímera y presentan una amplia
distribución celular y una alta conservación evolutiva. Entre las integrinas se
incluyen, por ejemplo, el receptor de fibrinógeno en plaquetas, que interacciona
especialmente con la secuencia RGD del fibrinógeno, o el receptor de
vitronectina en osteoclastos, que interacciona especialmente con la secuencia
30 RGD de la vitronectina o de la osteopontina. Las integrinas se dividen en tres
grupos principales, la subfamilia $\beta 2$ que contiene las LFA-1, Mac-1 y p150/95
representativas, que son responsables en particular de las interacciones célula-

célula del sistema inmunitario, y las subfamilias $\beta 1$ y $\beta 3$, cuyos representantes principalmente median la adhesión celular a componentes de la matriz extracelular (Ruoslahti, *Annu. Rev. Biochem.* 1988, 57, 375). Las integrinas de la subfamilia $\beta 1$, llamadas también proteínas VLA (antígeno (de activación) muy tardío), incluyen al menos seis receptores que interaccionan específicamente con fibronectina, colágeno y/o laminina como ligandos. Dentro de la familia de VLA, la integrina VLA-4 ($\alpha 4 \beta 1$) es atípica en cuanto que está principalmente restringida a células linfoides y mieloides, y es responsable en éstas de las interacciones célula-célula con un gran número de células distintas. VLA-4 media, por ejemplo, las interacciones de linfocitos T y B con el fragmento de unión de la heparina II de la fibronectina (FN) del plasma humano. La unión de VLA-4 con el fragmento de unión de la heparina II de la fibronectina del plasma se basa especialmente en una interacción con una secuencia LDVP. En contraste con el receptor de fibrinógeno o vitronectina, VLA-4 no es una integrina de unión a RGD típica (Kilger y Holzmann, *J. Mol. Meth.* 1995, 73, 347).

Los leucocitos que circulan en la sangre normalmente presentan sólo una baja afinidad por las células endoteliales vasculares que revisten los vasos sanguíneos. Las citoquinas que son liberadas de tejido inflamado producen la activación de las células endoteliales y por lo tanto la expresión de un gran número de antígenos de superficie celular. Entre estos se incluyen, por ejemplo, las moléculas de adhesión ELAM-1 (molécula de adhesión celular endotelial-1; también denominada E-selectina) que entre otros, se unen a neutrófilos, ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular-1), que interacciona con LFA-1 (antígeno asociado a la función de leucocito 1) en leucocitos, y VCAM-1 (molécula de adhesión celular vascular-1), que se une a diferentes leucocitos, entre otros linfocitos (Osborn et al., *Cell* 1989, 59, 1203). VCAM-1, como ICAM-1, es un miembro de la superfamilia de los genes inmunoglobulina. VCAM-1 (primero conocido como INCAM-110) se identificó como una molécula de adhesión que es inducida en células endoteliales por citoquinas inflamatorias tales como TNF e IL-1, y lipopolisacáridos (LPS). Elices et al. (*Cell* 1990 60, 577) mostraron que VLA-4 y VCAM-1 forman una pareja receptor-ligando que media la unión de linfocitos al endotelio activado. La unión de VCAM-1 a VLA-4 no se produce debido a una interacción de VLA-4 con una secuencia RGD, VCAM-1 no contiene dicha secuencia (Bergelson et al., *Current Biology* 1995, 5, 615). Sin embargo, VLA-4 se encuentra también en otros leucocitos, y la adhesión de leucocitos distintos de los linfocitos, también es mediada por el

- 3 -

mecanismo de adhesión VCAM-1/VLA-4. Por lo tanto VLA-4 representa un ejemplo individual de un receptor integrina β -1 que, mediante los ligandos VCAM-1 y fibronectina, juega un papel importante tanto en interacciones célula-célula como en interacciones célula-matriz extracelular.

5 Las moléculas de adhesión inducidas por citoquinas juegan un papel importante en el reclutamiento de leucocitos en regiones del tejido extravascular. Los leucocitos son reclutados en las regiones del tejido inflamatorio por moléculas de adhesión celular que son expresadas en la superficie de células endoteliales y sirven como ligandos para las proteínas de
10 superficie celular del leucocito o complejos de proteína (receptores) (los términos ligando y receptor también se pueden usar viceversa). Los leucocitos de la sangre se deben adherir primero a las células endoteliales antes de que puedan migrar a la sinovia. Puesto que VCAM-1 se une a células que llevan la integrina VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$), tales como eosinófilos, linfocitos T y B, monocitos o
15 neutrófilos, ésta y el mecanismo VCAM-1/VLA-4 tienen la función de reclutar células de este tipo de la corriente sanguínea en zonas de focos de infección o inflamación (Elices et al., *Cell* 1990, 60, 577; Osborn, *Cell* 1990, 62, 3; Issekutz et al., *J. Exp. Med.* 1996, 183, 2175).

El mecanismo de adhesión VCAM-1/VLA-4 se ha conectado con una serie de procesos fisiológicos y patológicos. Aparte de inducida por citoquina
20 en el endotelio, VCAM-1 es expresada adicionalmente, entre otros, en las siguientes células: mioblastos, células dendríticas linfoides y macrófagos de tejidos, sinovia reumatoide, células neurológicas estimuladas por citoquina, células epiteliales parietales de la cápsula de Bowman, el epitelio tubular renal,
25 tejido inflamado durante el rechazo en el trasplante de corazón y riñón, y por tejido intestinal en injerto frente a enfermedades huésped. También se encuentra que VCAM-1 es expresada en aquellas zonas de tejido del endotelio arterial que corresponden a placas ateroscleróticas tempranas de un modelo de conejo. Además, VCAM-1 es expresada en células dendríticas foliculares de
30 nódulos linfáticos humanos y se encuentra en células del estroma de la médula ósea, por ejemplo en el ratón. El último descubrimiento apunta a una función de VCAM-1 en el desarrollo de células B. Aparte de en células de origen hematopoyético, VLA-4 también se encuentra, por ejemplo, en líneas celulares de melanoma, y el mecanismo de adhesión VCAM-1/VLA-4 está conectado
35 con la metástasis de dichos tumores (Rice et al., *Science* 1989, 246, 1303).

La forma principal en la que VCAM-1 se produce in vivo en células endoteliales y que es la forma dominante in vivo, se denomina VCAM-7D y

- 4 -

lleva siete dominios de inmunoglobulina. Los dominios 4, 5 y 6, son similares en sus secuencias de aminoácidos a los dominios 1, 2 y 3. En una forma adicional que consta de seis dominios, denominada aquí VCAM-6D, el cuarto dominio es eliminado por corte y empalme alternativo. VCAM-6D también se puede unir a células que expresan VLA-4.

Se encuentran detalles adicionales relacionados con VLA-4, VCAM-1, integrinas y proteínas de adhesión, por ejemplo, en los artículos de Kilger y Holzmann, *J. Mol. Meth.* 1995, 73, 347; Elices, *Cell Adhesion in Human Disease*, Wiley, Chichester 1995, p. 79; Kuijpers, Springer Semin. Immunopathol. 1995, 16, 379.

Debido al papel del mecanismo VCAM-1/VLA-4 en procesos de adhesión celular que son importantes, por ejemplo, en infecciones, inflamación o aterosclerosis, se ha intentado controlar trastornos mediante intervenciones en estos procesos de adhesión, en particular, por ejemplo, inflamaciones (Osborn et al., *Cell* 1989, 59, 1203). Un método para hacer esto, es usar anticuerpos monoclonales que son dirigidos contra VLA-4. Se conocen anticuerpos monoclonales (ACm) de este tipo, que como antagonistas de VLA-4 bloquean la interacción entre VCAM-1 y VLA-4. Así, por ejemplo, el ACm anti-VLA-4 HP2/1 y HP1/3 inhibe la unión de células Ramos que expresan VLA-4 (células tipo células B) a células endoteliales del cordón umbilical humano y a células COS transfectadas con VCAM-1. Igualmente, el ACm anti-VCAM-1 inhibe la adhesión de células Ramos, células Jurkat (células tipo células T) y células HL60 (células tipo granulocito) a células COS transfectadas con construcciones genéticas que hacen que se expresen VCAM-6D y VCAM-7D. Los datos in vitro con anticuerpos que son dirigidos contra la subunidad $\alpha 4$ de VLA-4, muestran que se bloquea la adhesión de linfocitos a las células endoteliales sinoviales, una adhesión que juega un papel en la artritis reumatoide (van Dinther-Janssen et al., *J. Immunol.* 1991, 147, 4207).

Los experimentos in vivo han mostrado que la encefalomiелitis autoinmune experimental se puede inhibir con ACm anti- $\alpha 4$. La migración de leucocitos a un foco inflamatorio es bloqueada igualmente por un anticuerpo monoclonal contra la cadena $\alpha 4$ de VLA-4. También se ha investigado la influencia del mecanismo de adhesión dependiente de VLA-4 usando anticuerpos en un modelo de asma, con el fin de investigar el papel de VLA-4 en el reclutamiento de leucocitos en tejido pulmonar inflamado (documento WO-A-93/13798). La administración de anticuerpos anti-VLA-4 inhibió la reacción de fase tardía y la hiperreacción de la vía aérea en ovejas alérgicas.

La importancia de VLA-4 como diana para tratar el asma se discute con detalle en Metzger, *Springer Semin. Immunopathol.* 1995, 16, 467.

También se investigó el mecanismo de adhesión celular dependiente de VLA-4 en un modelo de primate de enfermedad inflamatoria del intestino (EII).
 5 En este modelo, que corresponde a la colitis ulcerativa en el hombre, la administración de anticuerpos anti- $\alpha 4$ dio como resultado una reducción significativa de la inflamación aguda.

Además, fue posible mostrar que la adhesión celular dependiente de VLA-4 juega un papel en los siguientes estados clínicos, incluyendo los
 10 siguientes procesos inflamatorios crónicos: artritis reumatoide (Cronstein and Weismann, *Arthritis Rheum.* 1993, 36, 147; Elices et al., *J. Clin. Invest.* 1994, 93, 405), diabetes mellitus (Yang et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1993, 90, 10494), lupus eritematoso sistémico (Takeuchi et al., *J. Clin. Invest.* 1993, 92, 3008), alergias de tipo retardado (alergia de tipo IV) (Elices et al., *Clin. Exp.*
 15 *Rheumatol.* 1993, 11, S77), esclerosis múltiple (Yednock et al., *Nature* 1992, 356, 63), malaria (Ockenhouse et al., *J. Exp. Med.* 1992, 176, 1183), aterosclerosis (O'Brien et al., *J. Clin. Invest.* 1993, 92, 945; Shih et al., *Circ. Res.* 1999, 84, 345), trasplante (Isobe et al., *Transplantation Proceedings* 1994, 26, 867), diferentes tumores malignos, por ejemplo melanoma (Renkonen et al., *Am. J. Pathol.* 1992, 140, 763), linfoma (Freedman et al., *Blood* 1992, 79, 206) y otros (Albelda et al., *J. Cell Biol.* 1991, 114, 1059).

La interacción de VLA-4 con VCAM-1 y fibronectina está conectada con algunos procesos fisiopatológicos en enfermedades cardiovasculares. En un sistema de célula in vitro, los neutrófilos infiltrados inhiben la contracción
 25 celular (inotropía negativa) de cardiomiocitos en 35%. Se pudo inhibir esta acción inotrópica negativa de los neutrófilos con un anticuerpo anti- $\alpha 4$, pero no con un anticuerpo anti-CD18 (Poon et al., *Circ. Res.* 1999, 84, 1245). Se mostró la importancia de VLA-4 en la patogénesis de la aterosclerosis en un modelo de ratón de aterosclerosis. Por lo tanto, el péptido CS-1, que se dirige
 30 contra el sitio de unión de VLA-4 de la fibronectina, inhibe el reclutamiento de leucocitos y la acumulación de grasa en la aorta, y por lo tanto la formación de placas ateroscleróticas en ratones knockout receptores LDL alimentados aterogénicamente (Shih et al., *Circ. Res.* 1999, 84, 345). Usando el mismo péptido CS-1, se pudo además mostrar en un modelo de trasplante de corazón
 35 heterotópico en el conejo, que la formación de una vasculopatía de trasplante puede disminuir significativamente por bloqueo de la interacción de VLA-4 y fibronectina (Molossi et al., *J. Clin. Invest.* 1995, 95, 2601).

- 6 -

Por lo tanto, el bloqueo de VLA-4 con antagonistas adecuados ofrece posibilidades terapéuticas eficaces para tratar, por ejemplo, en particular diferentes estados inflamatorios incluyendo asma y EII. Como ya se ha expuesto, la particular importancia de los antagonistas de VLA-4 para tratar la

5 artritis reumatoide resulta aquí del hecho de que los leucocitos de la sangre se deben adherir primero a células endoteliales antes de que puedan migrar a la sinovia, y que el receptor VLA-4 juega un papel en esta adhesión. El hecho de que VCAM-1 es inducido en células endoteliales por agentes inflamatorios (Osborn, *Cell* 1990, 62, 3; Stoolman, *Cell* 1989, 56, 907), y el reclutamiento de

10 diferentes leucocitos en zonas de infección y focos inflamatorios ya se ha discutido antes. Aquí, las células T se adhieren al endotelio activado principalmente por los mecanismos de adhesión LFA-1/ICAM-1 y VLA-4/VCAM-1 (Springer, *Cell* 1994, 76, 301). En las mayoría de las células T sinoviales, la capacidad de unión de VLA-4 con VCAM-1 aumenta en la artritis

15 reumatoide (Postigo et al., *J. Clin. Invest.* 1992, 89, 1445). Además, se ha observado una mayor adhesión de las células T sinoviales a la fibronectina (Laffon et al., *J. Clin. Invest.* 1991, 88, 546; Morales-Ducret et al., *J. Immunol.* 1992, 149, 1424). Así, VLA-4 es sobrerregulado tanto con respecto a su expresión como con respecto a su función en los linfocitos T de la membrana

20 sinovial reumatoide. El bloqueo de la unión de VLA-4 a sus ligando fisiológicos VCAM-1 y fibronectina hace posible una prevención eficaz o alivio de los procesos inflamatorios articulares. Esto también se confirma con experimentos con el anticuerpo HP2/1 en ratas Lewis con artritis adyuvante, en las que se observó una prevención eficaz de la enfermedad (Barbadillo et al., *Springer*

25 *Semin. Immunopathol.* 1995, 16, 427). Los peptidomiméticos de CS-1 que contienen una unidad de ácido aspártico o uno de sus derivados en la molécula, y que inhiben la unión de VLA-4 a la secuencia CS-1 de la proteína de matriz fibronectina, se describen en el documento WO-A-00/02903. Por lo tanto, VLA-4 es una molécula diana terapéutica importante.

30 Los anticuerpos de VLA-4 antes mencionados y el uso de anticuerpos como antagonistas de VLA-4 se describe en las solicitudes de patente WO-A-93/13798, WO-A-93/15764, WO-A-94/16094, WO-A-94/17828 y WO-A-95/19790. Las solicitudes de patente WO-A-94/15958, WO-A-95/15973, WO-A-96/00581, WO-A-96/06108 y WO-A-96/20216 describen compuestos

35 peptídicos como antagonistas de VLA-4. Sin embargo, el uso de anticuerpos y compuestos peptídicos como productos farmacéuticos está aquejado de desventajas, por ejemplo, carece de disponibilidad oral, fácil degradabilidad o

- 7 -

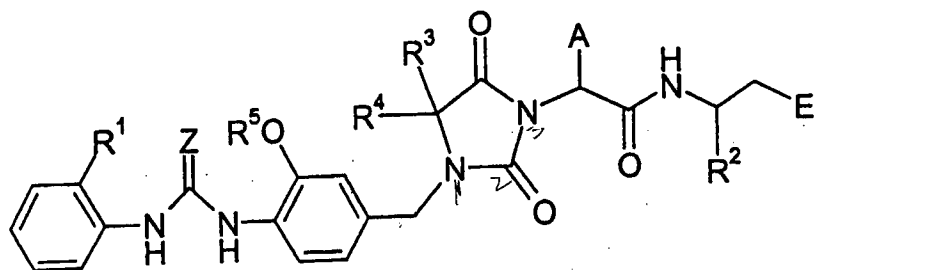
acción inmunogénica en administración a largo plazo, y por lo tanto son necesarios antagonistas de VLA-4 que tengan un perfil de propiedades favorable para usar en la terapia y profilaxis de diferentes estados de enfermedad.

5 Los documentos WO-A-95/14008, WO-A-93/18057, US-A-5.658.935, US-A-5.686.421, US-A-5.389.614, US-A-5.397.796, US-A-5.424.293 y US-A-5.554.594, describen anillos de heterociclo de 5 miembros sustituidos que tienen una función amino, amidino o guanidino en el extremo N-terminal de la molécula, y que muestran acciones de inhibición de agregación de plaquetas.

10 El documento EP-A-796855 describe otros heterociclos que son inhibidores de la resorción ósea. Los documentos EP-A-842943, EP-A-842945 y EP-A-842944, describen que los compuestos de estas series y compuestos adicionales también inhiben sorprendentemente la adhesión de leucocitos y son antagonistas de VLA-4.

15 Los documentos EP-A-903353, EP-A-905139, EP-A-918059, WO-99/23063, WO-A-99/24398, WO-A-99/54321 y WO-A-99/60015, describen compuestos adicionales que inhiben la adhesión de leucocitos y son antagonistas de VLA-4. Sin embargo, las propiedades de estos compuestos, todavía no son satisfactorias en diferentes sentidos, y son necesarios
20 compuestos que tengan un perfil de propiedades mejorado. El documento EP-A-918.059 menciona, entre otros, derivados de imidazolidina en los que el anillo de imidazolidina está unido por su posición 1 al átomo de carbono de la posición 2 de una unidad 2-(cicloalquilalquil)acetilamino o una unidad 2-isobutilacetilamino. Sin embargo, no se describen específicamente los
25 derivados de imidazolidina de fórmula I de la presente invención, que se distinguen por su ventajoso perfil de propiedades y en particular por su potencia marcadamente mayor.

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula I,



30

en la que

- 8 -

A es ciclopropilmetilo o isobutilo;

E es $-\text{CO}-\text{R}^6$, $-\text{CO}-\text{H}$ o $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{R}^7$;

Z es oxígeno o azufre;

R^1 es hidrógeno o metilo;

5 R^2 es fenilo, piridilo o alquilo (C_1-C_4), donde el resto alquilo puede estar sustituido con uno o más átomos de flúor, y el resto fenilo puede estar sustituido con uno o más sustituyentes idénticos o diferentes del grupo que consta de alquilo (C_1-C_4), alcoxi (C_1-C_4), metilendioxi, etilendioxi, halógeno, trifluorometilo y trifluorometoxi;

10 R^3 y R^4 son metilo o trifluorometilo;

R^5 es hidrógeno o alquilo (C_1-C_4), donde el resto alquilo puede estar sustituido con uno o más átomos de flúor;

R^6 es hidroxilo, alcoxi (C_1-C_{10}), fenil-alcoxi(C_1-C_8), feniloxi, alquil(C_1-C_8)-carboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), fenilcarboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), fenil-alquil(C_1-C_6)-carboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), alcoxi(C_1-C_8)-carboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), feniloxi-carboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), fenil-alcoxi(C_1-C_6)-carboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), amino, mono(alquil(C_1-C_{10}))-amino o di(alquil(C_1-C_{10}))-amino;

R^7 es hidrógeno o alquilo (C_1-C_4);

20 en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, y sus sales fisiológicamente tolerables.

Los restos alquilo pueden ser de cadena lineal o ramificada. Esto también se aplica si llevan sustituyentes o están como sustituyentes en otros restos, por ejemplo, en restos fluoroalquilo, restos alcoxi o restos alcoxycarbonilo. Ejemplos de restos alquilo son metilo, etilo, n-propilo, isopropilo (= 1-metiletilo = iC_3H_7), n-butilo, isobutilo (= 2-metilpropilo), sec-butilo (= 1-metilpropilo), terc-butilo (= 1,1-dimetiletilo), n-pentilo, isopentilo, terc-pentilo, neopentilo, n-hexilo, 3-metilpentilo, isohexilo, neohexilo, n-heptilo, 2,3,5-trimetilhexilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo. Los restos alquilo preferidos son metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo. En los restos alquilo, uno o más, por ejemplo 1, 2, 3, 4 ó 5 átomos de hidrógeno se pueden sustituir por átomos de flúor. Ejemplos de estos restos fluoroalquilo son trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, pentafluoroetilo, heptafluoroisopropilo. Los restos alquilo sustituidos, por ejemplo restos fenilalquilo o restos fluoroalquilo, pueden estar sustituidos en cualesquiera posiciones deseadas.

35 Los restos fenilo pueden no estar sustituidos o estar mono o polisustituidos, por ejemplo, mono- di-, tri-, tetra- o pentasustituidos, con sustituyentes idénticos o diferentes. Si un resto fenilo está sustituido,

preferiblemente lleva uno o dos sustituyentes iguales o diferentes. Esto también se aplica a restos fenilo sustituidos en grupos tales como fenilalquilo, fenilcarbonilo, etc. Restos fenilalquilo son, por ejemplo, bencilo, 1-feniletilo o 2-feniletilo, en particular bencilo, todos los cuales también pueden estar
5 sustituidos.

En restos fenilo monosustituidos, el sustituyente puede estar situado en la posición 2, la posición 3 o la posición 4. El fenilo disustituido puede estar sustituido en la posición 2,3, posición 2,4, posición 2,5, posición 2,6, posición 3,4 o posición 3,5. En restos fenilo trisustituidos, los sustituyentes pueden estar
10 situados en la posición 2,3,4, posición 2,3,5, posición 2,4,5, posición 2,4,6, posición 2,3,6 o posición 3,4,5. Si un resto fenilo lleva sustituyentes del grupo que consta de metilendioxi ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{O}-$) y etilendioxi ($-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-$), preferiblemente lleva sólo un sustituyente de este grupo (si se desea además de otros sustituyentes).

15 Ejemplos de restos fenilo sustituidos que pueden representar R^2 son 2-metilfenilo, 3-metilfenilo, 4-metilfenilo, 2,3-dimetilfenilo, 2,4-dimetilfenilo, 2,5-dimetilfenilo, 2,6-dimetilfenilo, 3,4-dimetilfenilo, 3,5-dimetilfenilo, 2,4,5-trimetilfenilo, 2,4,6-trimetilfenilo, 3,4,5-trimetilfenilo, 2-(n-butil)fenilo, 3-(n-butil)fenilo, 4-(n-butil)fenilo, 2-isobutilfenilo, 3-isobutilfenilo, 4-isobutilfenilo, 3-
20 terc-butilfenilo, 4-terc-butilfenilo, 2-metoxifenilo, 3-metoxifenilo, 4-metoxifenilo, 2,3-dimetoxifenilo, 2,4-dimetoxifenilo, 2,5-dimetoxifenilo, 2,6-dimetoxifenilo, 3,4-dimetoxifenilo, 3,5-dimetoxifenilo, 2,4,5-trimetoxifenilo, 2,4,6-trimetoxifenilo, 3,4,5-trimetoxifenilo, 2-(n-butoxi)fenilo, 3-(n-butoxi)fenilo, 4-(n-butoxi)fenilo, 2-isobutoxifenilo, 3-isobutoxifenilo, 4-isobutoxifenilo, 2-terc-butoxifenilo, 3-terc-
25 butoxifenilo, 4-terc-butoxifenilo, 2,3-metilenedioxifenilo, 3,4-metilenedioxifenilo, 2,3-etilenedioxifenilo, 3,4-etilenedioxifenilo, 2-fluorofenilo, 3-fluorofenilo, 4-fluorofenilo, 2,3-difluorofenilo, 2,4-difluorofenilo, 2,5-difluorofenilo, 2,6-difluorofenilo, 3,4-difluorofenilo, 3,5-difluorofenilo, 2,4,5-trifluorofenilo, 2,4,6-trifluorofenilo, 3,4,5-trifluorofenilo, 2,3,5,6-tetrafluorofenilo, 2,3,4,5,6-
30 pentafluorofenilo, 2-clorofenilo, 3-clorofenilo, 4-clorofenilo, 2,3-diclorofenilo, 2,4-diclorofenilo, 2,5-diclorofenilo, 2,6-diclorofenilo, 3,4-diclorofenilo, 3,5-diclorofenilo, 2-bromofenilo, 3-bromofenilo, 4-bromofenilo, 3-yodofenilo, 4-yodofenilo, 2-trifluorometilfenilo, 3-trifluorometilfenilo, 4-trifluorometilfenilo, 3,4-bis-(trifluorometil)fenilo, 3,5-bis(trifluorometil)fenilo, 2-trifluorometoxifenilo, 3-
35 trifluorometoxifenilo, 4-trifluorometoxifenilo, etc. Sin embargo, en restos fenilo sustituidos, puede haber sustituyentes diferentes en cualquier combinación deseada, tal como por ejemplo, en restos 3-metoxi-4-metilfenilo, 4-fluoro-3-

- 10 -

metoxifenilo, 3-fluoro-4-metoxifenilo, 3,5-difluoro-4-metoxifenilo, 3-fluoro-4,5-metilendioxfenilo, 3-fluoro-4,5-etilendioxfenilo, 2-cloro-3-metilfenilo, 3-cloro-4-metilfenilo, 3-cloro-4-fluorofenilo, etc.

Halógeno es flúor, cloro, bromo o yodo, preferiblemente flúor o cloro.

- 5 Piridilo es 2-piridilo, 3-piridilo o 4-piridilo. En los restos piridilo, el átomo de nitrógeno también puede estar oxidado, y el correspondiente compuesto de fórmula I puede estar presente como un N-óxido de piridina, que está igualmente incluido en la presente invención.

- 10 Las sales fisiológicamente tolerables de los compuestos de fórmula I, son en particular sales no tóxicas o farmacéuticamente utilizables. Los compuestos de fórmula I que contienen grupos ácido, por ejemplo un grupo ácido carboxílico que representa el grupo E, pueden estar presentes, por ejemplo, como sales de metal alcalino o sales de metal alcalino-térreo, por ejemplo sales de sodio, sales de potasio, sales de magnesio y sales de calcio, 15 o como sales de amonio, tal como por ejemplo, sales con iones amonio cuaternarios fisiológicamente tolerables y sales de adición de ácido con amoniaco y aminas orgánicas fisiológicamente tolerables, tales como por ejemplo, metilamina, etilamina, trietilamina, 2-hidroxietilamina, tris(2-hidroxietil)amina, α,α,α -tris(hidroximetil)metilamina (trometamina) o 20 aminoácidos, en particular aminoácidos básicos. Las sales de un compuesto ácido de fórmula I con una amina orgánica pueden contener los dos componentes en una relación 1:1 o aproximadamente 1:1 o en otra relación, por ejemplo, en una relación de aproximadamente 1:0,5 a aproximadamente 1:4 (1 molécula de fórmula I por de 0,5 a 4 moléculas de la amina), en particular en una relación de aproximadamente 1:0,5 a aproximadamente 1:2 25 (1 molécula de fórmula I por de 0,5 a 2 moléculas de la amina).

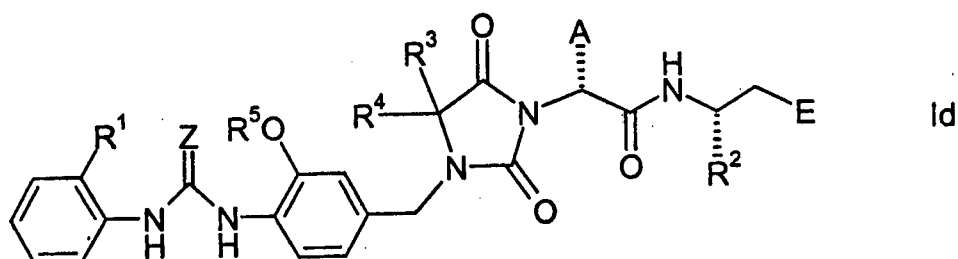
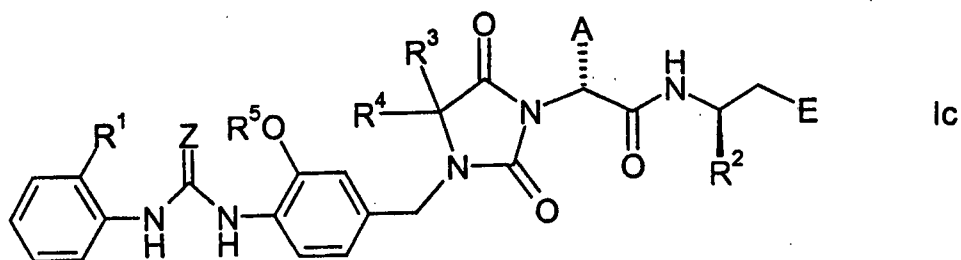
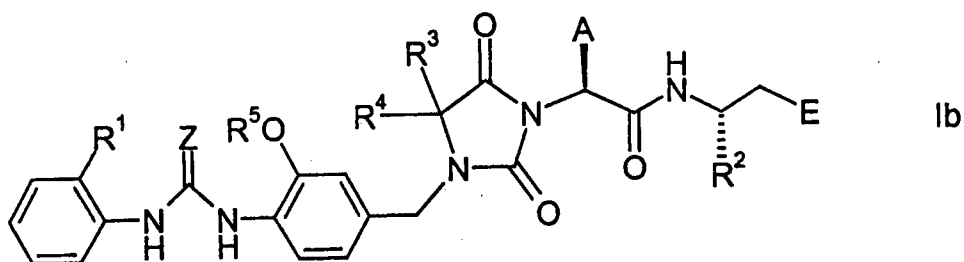
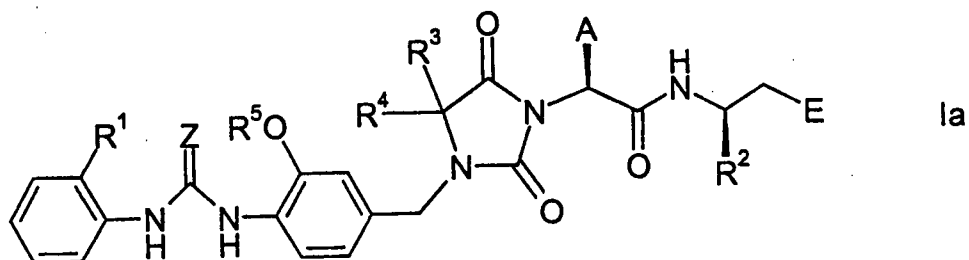
- Los compuestos de fórmula I que contienen grupos básicos, por ejemplo un grupo piridilo, pueden estar presentes como sales de adición de ácido, por ejemplo como sales con ácidos inorgánicos tales como por ejemplo, ácido 30 clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico, o como sales con ácidos carboxílicos orgánicos o ácidos sulfónicos, tales como por ejemplo, ácido acético, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido metanosulfónico o ácido p-toluensulfónico. Los compuestos que contienen tanto grupos ácidos como grupos básicos, también pueden estar 35 presentes en forma de sales internas, iones híbridos o betaínas, que están igualmente incluidos en la presente invención.

Las sales se pueden obtener de los compuestos de fórmula I por procedimientos habituales conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, por combinación con un ácido o base orgánico o inorgánico en un disolvente o diluyente, o a partir de otras sales por intercambio de anión o de
5 catión.

Los compuestos de fórmula I pueden estar presentes en formas estereoisómeras. Con respecto a cada centro asimétrico en los compuestos de fórmula I, independientemente de cualquier otro centro asimétrico, pueden estar presentes con la configuración S o la configuración R o mezclas R/S. Por
10 lo tanto, el átomo de carbono asimétrico al cual está unido el resto R² puede tener la configuración R o configuración S, o el compuesto de fórmula I puede estar presente como una mezcla R/S con respecto a este átomo de carbono. Igualmente, el átomo de carbono asimétrico al cual están unidos el grupo A y el
15 anillo de imidazolidina puede tener la configuración R o configuración S, o el compuesto de fórmula I puede estar presente como una mezcla R/S con respecto a este átomo de carbono. Igualmente todos los demás átomos de carbono asimétricos pueden tener la configuración R o la configuración S, o el
20 compuesto de fórmula I puede estar presente como una mezcla R/S con respecto a cada uno de estos átomos de carbono. En las mezclas R/S los estereoisómeros individuales pueden estar presentes en cualquier proporción incluyendo una proporción 1:1.

La invención incluye todos los posibles estereoisómeros de los compuestos de fórmula I, por ejemplo enantiómeros puros o en buena parte puros, y diastereoisómeros puros o en buena parte puros, y mezclas de dos o
25 más formas estereoisómeras, por ejemplo mezclas de enantiómeros y/o diastereoisómeros, en todas las proporciones. Por lo tanto, la invención se refiere a enantiómeros en forma enantiómera pura, tanto como antípodas levorrotatorios como dextrorrotatorios, en forma de racematos y en forma de
30 mezclas de dos enantiómeros en todas las proporciones. Igualmente la invención se refiere a distereoisómeros en forma diastereoisómera pura y en forma de mezclas en todas las relaciones. Ejemplos de estereoisómeros individuales que están comprendidos en la invención, son los compuestos de fórmula Ia, Ib, Ic y Id.

- 12 -



La preparación de estereoisómeros individuales, si conviene, se puede llevar a cabo usando sustancias iniciales estereoquímicamente uniformes en la

5 síntesis, por síntesis estereoselectiva o por separación de una mezcla de acuerdo con los métodos habituales, por ejemplo, por cromatografía o cristalización, y en el caso de enantiómeros, por ejemplo, por cromatografía en fases quirales. Si es adecuado, se puede llevar a cabo la formación de un derivado antes de la separación de estereoisómeros. La separación de una

10 mezcla de estereoisómeros se puede llevar a cabo en la etapa de los

- 13 -

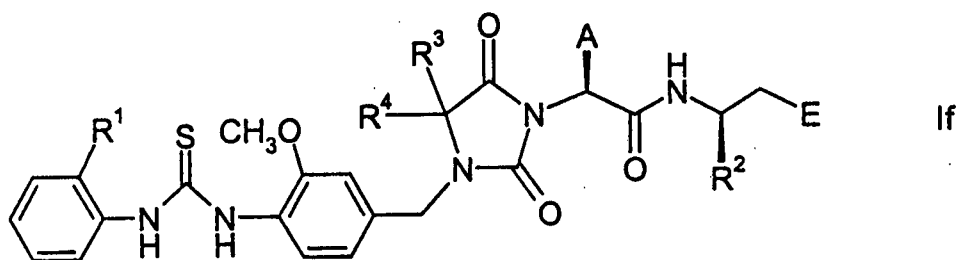
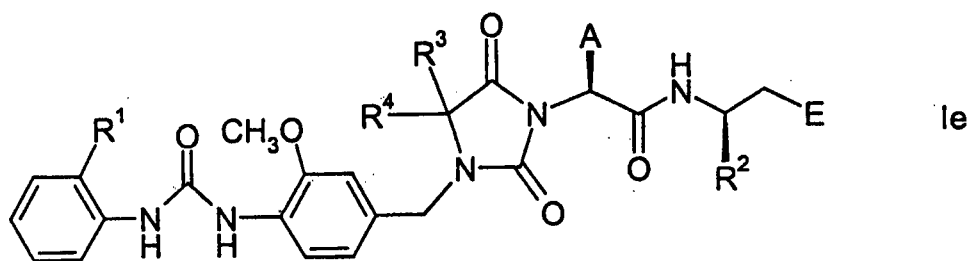
compuestos de fórmula I o en la etapa de las sustancias iniciales o de un producto intermedio en el transcurso de la síntesis.

Los compuestos de fórmula I de acuerdo con la invención, pueden contener átomos de hidrógeno móviles, es decir, pueden estar presentes en diferentes formas tautómeras. La presente invención comprende todos los tautómeros de los compuestos de fórmula I. La presente invención también comprende solvatos y compuestos de adición o aductos de compuestos de fórmula I, por ejemplo, aductos con agua, es decir hidratos, o aductos con alcoholes o aminas. La invención además comprende derivados de compuestos de fórmula I, por ejemplo, ésteres, amidas, profármacos y otros derivados fisiológicamente tolerables, y metabolitos activos de los compuestos de fórmula I. La invención, en particular también se refiere a profármacos de los compuestos de fórmula I, que in vitro no son necesariamente farmacológicamente activos, pero que in vivo, en condiciones fisiológicas, se convierten en compuestos activos de fórmula I. Los expertos en la técnica conocen profármacos adecuados para los compuestos de fórmula I, es decir derivados químicamente modificados de los compuestos de fórmula I que tienen propiedades mejoradas de una forma deseada. Se encuentra información más detallada en relación a los profármacos, por ejemplo, en Fleisher et al., *Advanced Drug Delivery Reviews* 19 (1996) 115; Design of Prodrugs, H. Bundgaard, Ed., Elsevier, 1985; H. Bundgaard, *Drugs of the Future* 16 (1991) 443. Profármacos adecuados para los compuestos de fórmula I, son especialmente profármacos éster, profármacos amida, profármacos aldehído y profármacos alcohol de grupos ácido carboxílico, por ejemplo de un grupo ácido carboxílico que representa el grupo E. Por lo tanto, también los compuestos de fórmula I en los que el grupo E es hidroximetilo, alcoximetilo o formilo, y que presentan antagonismo de VLA-4 in vivo, son profármacos de los compuestos de fórmula I en los que el grupo E es hidroxicarbonilo. Ejemplos de profármacos éster y profármacos amida que se puede mencionar son ésteres de alquilo (C₁-C₄) tales como ésteres de metilo, ésteres de etilo, ésteres de isopropilo, ésteres de isobutilo, ésteres de alquilo sustituido tales como ésteres de hidroxialquilo, ésteres de aciloxialquilo, ésteres de aminoalquilo, ésteres de acilaminoalquilo, ésteres de dialquilaminoalquilo, amidas no sustituidas o N-alquil(C₁-C₄)-amidas tales como metilamidas o etilamidas.

Entre los ejemplos de compuestos de fórmula I de acuerdo con la invención que se pueden mencionar, están los siguientes compuestos de

- 14 -

- fórmulas le y lf, que tienen la configuración S en el átomo de carbono que lleva el grupo A, y tienen la configuración S en el átomo de carbono que lleva el grupo R², si R² es fenilo o piridilo, y tienen la configuración R en el átomo de carbono que lleva el grupo R², si R² es metilo. Igualmente la presente invención se refiere a sales fisiológicamente tolerables de los compuestos de fórmulas le y lf, por ejemplo, sales de metales o sales con cationes de amonio orgánicos de los compuestos de fórmulas le y lf que contienen un grupo ácido carboxílico, o sales de adición de ácido de los compuestos de fórmulas le y lf que contienen restos piridilo, por ejemplo los hidroccloruros.



10

Compuestos de fórmulas le y lf

R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	fenilo	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	fenilo	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	fenilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	fenilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	fenilo	CH ₂ OH
R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	CH ₂ OH

- 15 -

CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	fenilo	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	fenilo	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	fenilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	fenilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	fenilo	CH ₂ OH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	CH ₂ OH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	2-piridilo	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	2-piridilo	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	2-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	2-piridilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	2-piridilo	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	2-piridilo	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	2-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	2-piridilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	2-piridilo	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	2-piridilo	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	2-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	2-piridilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	2-piridilo	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	2-piridilo	COONa
R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	2-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	2-piridilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	3-piridilo	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	3-piridilo	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	3-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	3-piridilo	COOiC ₃ H ₇

- 16 -

CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	3-piridilo	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	3-piridilo	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	3-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	3-piridilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	3-piridilo	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	3-piridilo	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	3-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	3-piridilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	3-piridilo	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	3-piridilo	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	3-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	3-piridilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	4-piridilo	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	4-piridilo	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	4-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	4-piridilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	4-piridilo	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	4-piridilo	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	4-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	4-piridilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	4-piridilo	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	4-piridilo	COONa
R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	4-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	4-piridilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	4-piridilo	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	4-piridilo	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	4-piridilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	4-piridilo	COOiC ₃ H ₇

- 17 -

CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	metilo	COOH
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	metilo	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	metilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	metilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	isobutilo	metilo	CH ₂ OH
CH ₃	CH ₃	CH	ciclopropilmetilo	metilo	COOH
CH ₃	CH ₃	³ CH ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COONa
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	metilo	CH ₂ OH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	metilo	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	metilo	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	metilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	metilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	isobutilo	metilo	CH ₂ OH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOH
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COONa
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOC ₂ H ₅
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOiC ₃ H ₇
CH ₃	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	metilo	CH ₂ OH
H	CH ₃	CH ₃	isobutilo	fenilo	COOH
H	CH ₃	CH ₃	isobutilo	fenilo	COONa
H	CH ₃	CH ₃	isobutilo	fenilo	COOC ₂ H ₅
R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
H	CH ₃	CH ₃	isobutilo	fenilo	COOiC ₃ H ₇
H	CH ₃	CH ₃	isobutilo	fenilo	CH ₂ OH
H	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOH
H	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COONa
H	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOC ₂ H ₅
H	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOiC ₃ H ₇
H	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	CH ₂ OH

- 18 -

H	CF ₃	CF ₃	isobutilo	fenilo	COOH
H	CF ₃	CF ₃	isobutilo	fenilo	COONa
H	CF ₃	CF ₃	isobutilo	fenilo	COOC ₂ H ₅
H	CF ₃	CF ₃	isobutilo	fenilo	COOiC ₃ H ₇
H	CF ₃	CF ₃	isobutilo	fenilo	CH ₂ OH
H	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOH
H	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COONa
H	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOC ₂ H ₅
H	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	COOiC ₃ H ₇
H	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	fenilo	CH ₂ OH
H	CH ₃	CH ₃	isobutilo	metilo	COOH
H	CH ₃	CH ₃	isobutilo	metilo	COONa
H	CH ₃	CH ₃	isobutilo	metilo	COOC ₂ H ₅
H	CH ₃	CH ₃	isobutilo	metilo	COOiC ₃ H ₇
H	CH ₃	CH ₃	isobutilo	metilo	CH ₂ OH
H	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOH
H	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COONa
H	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOC ₂ H ₅
H	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOiC ₃ H ₇
H	CH ₃	CH ₃	ciclopropilmetilo	metilo	CH ₂ OH
H	CF ₃	CF ₃	isobutilo	metilo	COOH
H	CF ₃	CF ₃	isobutilo	metilo	COONa
R ¹	R ³	R ⁴	A	R ²	E
H	CF ₃	CF ₃	isobutilo	metilo	COOC ₂ H ₅
H	CF ₃	CF ₃	isobutilo	metilo	COOiC ₃ H ₇
H	CF ₃	CF ₃	isobutilo	metilo	CH ₂ OH
H	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOH
H	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COONa
H	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOC ₂ H ₅
H	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	metilo	COOiC ₃ H ₇
H	CF ₃	CF ₃	ciclopropilmetilo	metilo	CH ₂ OH

Los elementos estructurales individuales en los compuestos de fórmula I de acuerdo con la invención, preferiblemente tienen los siguientes significados, y pueden tener independientemente uno u otro significado.

5 R^2 preferiblemente es alquilo (C_1-C_4) que puede estar sustituido con uno o más átomos de flúor, o piridilo, o fenilo no sustituido, o fenilo que está sustituido con un resto metilendioxi o un resto etilendioxi, o fenilo que está sustituido con uno o dos grupos alcoxi (C_1-C_4). El grupo alcoxi que representa R^2 , que opcionalmente puede estar sustituido con flúor, es en particular uno de
10 los grupos metilo, etilo, isopropilo, trifluorometilo y 2,2,2-trifluoroetilo. Los sustituyentes alcoxi en un grupo fenilo que representa R^2 son en particular grupos metoxi. Preferiblemente particularmente, R^2 es metilo, piridilo, fenilo no sustituido, fenilo que está sustituido con un resto metilendioxi o un resto etilendioxi o fenilo que está sustituido con uno o dos grupos metoxi. Muy
15 preferiblemente particularmente, R^2 es metilo, fenilo no sustituido o piridilo.

R^3 y R^4 pueden ser iguales o diferentes. Preferiblemente, los dos grupos R^3 y R^4 son idénticos. En una realización de la presente invención, R^3 y R^4 son ambos metilo. En otra realización de la presente invención, R^3 y R^4 son ambos trifluorometilo.

20 Un grupo alquilo que representa R^5 , que puede estar sustituido con uno o más átomos de flúor, preferiblemente es un grupo metilo, un grupo etilo o un grupo trifluorometilo. Preferiblemente, R^5 es alquilo (C_1-C_4), que puede estar sustituido con uno o más átomos de flúor. Preferiblemente particularmente, R^5 es metilo o trifluorometilo, muy preferiblemente particularmente metilo.

25 R^6 preferiblemente es hidroxilo, alcoxi (C_1-C_6), fenil-alcoxi (C_1-C_4), feniloxi o amino (NH_2), preferiblemente particularmente hidroxilo, alcoxi (C_1-C_6) o amino, muy preferiblemente particularmente hidroxilo o alcoxi (C_1-C_6), especialmente preferiblemente hidroxilo o alcoxi (C_1-C_4), en particular hidroxilo.

R^7 preferiblemente es hidrógeno o alquilo (C_1-C_3), preferiblemente
30 particularmente hidrógeno o metilo, muy preferiblemente particularmente hidrógeno.

E es preferiblemente $-CO-R^6$, $-CO-H$, $-CH_2-OH$ o $-CH_2-OCH_3$, preferiblemente particularmente $-CO-R^6$, $-CH_2-OH$ o $-CH_2-OCH_3$, muy preferiblemente particularmente $-CO-R^6$ o $-CH_2-OH$, además preferiblemente
35 $-COOH$, $-COOC_2H_5$, $-COOC_3H_7$ o $-CH_2-OH$, en particular $-COOH$.

En una realización de la presente invención Z es azufre, en otra realización Z es oxígeno.

- 20 -

En una realización de la presente invención A es el resto isobutilo (resto 2-metilpropilo, $(\text{CH}_3)_2\text{CH}-\text{CH}_2-$), en otra realización A es el resto ciclopropilmetilo (ciclopropil- CH_2-). Además, en una realización de la presente invención R^1 es hidrógeno y en otra realización R^1 es metilo.

5 Los compuestos preferidos de fórmula I son los que tienen una configuración uniforme en uno o más centros quirales, por ejemplo en el átomo de carbono que lleva el resto R^2 , y/o en el átomo de carbono que lleva el resto A y el resto imidazolidina. Es decir, se prefieren compuestos que están presentes con una configuración uniforme o esencialmente uniforme en uno o
10 más centros quirales, en la configuración R o en la configuración S, pero no como una mezcla R/S. Sin embargo, como se ha explicado, los centros quirales individuales en estos compuestos de fórmula I pueden tener, independientemente uno de otro, la configuración R o la configuración S y tener configuraciones iguales o diferentes. Los compuestos particularmente
15 preferidos de fórmula I son los que el átomo de carbono que lleva el resto A y el resto imidazolidina está presente con la configuración S, es decir, con la configuración con respecto a este estereocentro que se muestra en las fórmulas Ia y Ib. Compuestos particularmente preferidos de fórmula I también son los que el átomo de carbono que lleva el grupo R^2 está presente en la
20 configuración mostrada en las fórmulas Ia y Ic. Si R^2 , por ejemplo, es fenilo, fenilo sustituido o piridilo, en estos compuestos particularmente preferidos el átomo de carbono que lleva el grupo R^2 tiene la configuración S, si R^2 es metilo, etilo o isobutilo, tiene la configuración R. Son compuestos de fórmula I muy preferidos particularmente aquellos en los que los estereocentros antes
25 mencionados están presentes con las configuraciones mostradas en la fórmula Ia.

Los compuestos preferidos de fórmula I son los compuestos en los que uno o más restos tienen significados preferidos, o tienen un significado específico seleccionado de los significados incluidos en la presente invención
30 en relación a todas las combinaciones de significados preferidos y/o significados específicos de los restos. Ejemplos de compuestos preferidos son, por ejemplo, compuestos en los que, simultáneamente, R^1 , R^3 , R^4 y R^5 son metilo, y A es isobutilo, o compuestos en los que, simultáneamente R^1 , R^3 , R^4 y R^5 son metilo y A es ciclopropilmetilo, o compuestos en los que,
35 simultáneamente R^1 es metilo, R^3 y R^4 son trifluorometilo, R^5 es metilo y A es isobutilo, o compuestos en los que, simultáneamente, R^1 es metilo, R^3 y R^4 son trifluorometilo, R^5 es metilo y A es ciclopropilmetilo, o compuestos en los que,

- 21 -

- simultáneamente R^1 es hidrógeno, R^3 , R^4 y R^5 son metilo y A es isobutilo, o compuestos en los que simultáneamente R^1 es hidrógeno, R^3 , R^4 y R^5 son metilo y A es ciclopropilmetilo, o compuestos en los que, simultáneamente R^1 es hidrógeno, R^3 y R^4 son trifluorometilo, R^5 es metilo y A es isobutilo, o compuestos en los que, simultáneamente, R^1 es hidrógeno, R^3 y R^4 son trifluorometilo, R^5 es metilo y A es ciclopropilmetilo, y los otros grupos tienen los significados generales antes indicados en los compuestos de fórmula I o tienen significados preferidos o tienen significados específicos de sus respectivas definiciones.
- 10 Son compuestos particularmente preferidos, por ejemplo, compuestos de fórmula I en la que
- A es ciclopropilmetilo o isobutilo;
 - E es $-\text{CO}-R^6$, $-\text{CH}_2-\text{OH}$;
 - Z es oxígeno;
- 15 R^1 es hidrógeno o metilo;
- R^2 es piridilo, fenilo no sustituido, fenilo que está sustituido con un resto metilendioxi o un resto etilendioxi, fenilo que está sustituido con uno o dos grupos alcoxi (C_1-C_4), o alquilo (C_1-C_4) que puede estar sustituido con uno o más átomos de flúor;
- 20 R^3 y R^4 son metilo;
- R^5 es metilo;
- R^6 es hidroxilo, alcoxi (C_1-C_6), fenil-alcoxi (C_1-C_4), feniloxi, o amino;
- en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, y sus sales fisiológicamente tolerables.
- 25 Son compuestos particularmente muy preferidos, por ejemplo, los compuestos de fórmula I en la que
- A es ciclopropilmetilo o isobutilo;
 - E es $-\text{COOH}$, $-\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{COO}i\text{C}_3\text{H}_7$ o $-\text{CH}_2-\text{OH}$;
 - Z es oxígeno;
- 30 R^1 es metilo;
- R^2 es piridilo, fenilo no sustituido, fenilo que está sustituido con un resto metilendioxi o un resto etilendioxi, fenilo que está sustituido con uno o dos grupos metoxi, o alquilo (C_1-C_4) que puede estar sustituido con uno o más átomos de flúor;
- 35 R^3 y R^4 son metilo;
- R^5 es metilo;

- 22 -

en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, y sus sales fisiológicamente tolerables.

Son compuestos especialmente preferidos, por ejemplo, los compuestos de fórmula I en la que

- 5 A es ciclopropilmetilo o isobutilo;
 E es $-\text{COOH}$, $-\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{COO}i\text{C}_3\text{H}_7$ o $-\text{CH}_2\text{-OH}$;
 Z es oxígeno;
 R^1 es metilo;
 R^2 es fenilo no sustituido, piridilo, metilo o 2,2,2-trifluoroetilo;
10 R^3 y R^4 son metilo;
 R^5 es metilo;

en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, y sus sales fisiológicamente tolerables.

- 15 Son compuestos particularmente especialmente preferidos, por ejemplo, los compuestos de fórmula I en la que

- A es ciclopropilmetilo o isobutilo;
 E es $-\text{COOH}$, $-\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{COO}i\text{C}_3\text{H}_7$ o $-\text{CH}_2\text{-OH}$;
 Z es oxígeno;
 R^1 es metilo;
20 R^2 es fenilo no sustituido, piridilo o metilo;
 R^3 y R^4 son metilo;
 R^5 es metilo;

en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, y sus sales fisiológicamente tolerables.

- 25 Todas las definiciones anteriores de subgrupos de los compuestos de fórmula I, se aplican análogamente a compuestos de fórmula I, en la que R^3 y R^4 son ambos trifluorometilo en lugar de metilo. Así, por ejemplo, también son compuestos particularmente especialmente preferidos los compuestos de fórmula I, en la que

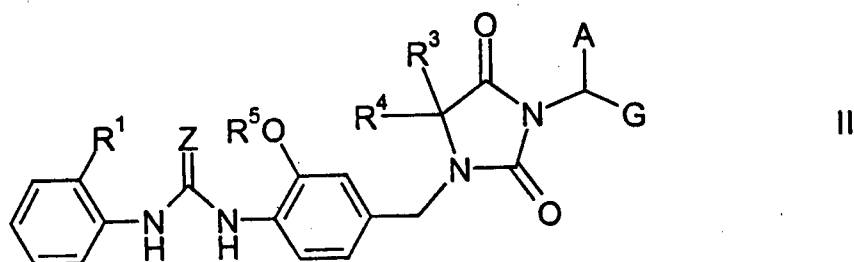
- 30 A es ciclopropilmetilo o isobutilo;
 E es $-\text{COOH}$, $-\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{COO}i\text{C}_3\text{H}_7$ o $-\text{CH}_2\text{-OH}$;
 Z es oxígeno;
 R^1 es metilo;
 R^2 es fenilo no sustituido, piridilo o metilo;
35 R^3 y R^4 son trifluorometilo;
 R^5 es metilo;

- 23 -

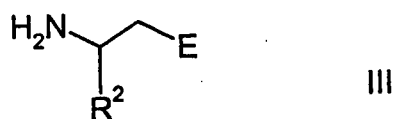
en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, y sus sales fisiológicamente tolerables.

Los compuestos de fórmula I se pueden preparar, por ejemplo, por condensación de un compuesto de fórmula II

5



con un compuesto de fórmula III,



10

donde en las fórmulas II y III los grupos A, E, Z, R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ se definen como se ha indicado antes, o alternatively en estos grupos puede haber grupos funcionales en forma protegida o en forma de precursores, y donde G es hidroxicarbonilo, alcoxi(C₁-C₆)-carbonilo o derivados de ácido carboxílico activados, tales como por ejemplo, cloruros de ácido o ésteres activos.

15

En la condensación de los compuestos de fórmulas II y III, como norma es necesario que el grupo ácido carboxílico que está presente, pero no está implicado en la reacción de condensación, esté protegido con un grupo protector reversible, y por lo tanto esté presente, por ejemplo, en forma de un éster de alquilo (C₁-C₆) adecuado tal como el éster de terc-butilo o éster de bencilo. Cuando se van a preparar los compuestos de fórmula I en la que el grupo E, por ejemplo, es un grupo hidroxicarbonilo o un grupo que se prepara a partir de un grupo hidroxicarbonilo, en los compuestos de fórmula III, por ejemplo, el resto E puede ser primero un grupo hidroxicarbonilo en forma protegida, y después de la condensación de los compuestos de fórmulas II y III, el grupo hidroxicarbonilo se puede liberar y/o se puede sintetizar el grupo final E deseado en una o más etapas adicionales.

25

Los precursores de grupos funcionales son grupos que se pueden convertir en el grupo funcional deseado de acuerdo con los procedimientos de

30

síntesis habituales conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, un grupo ciano que se puede convertir en un grupo ácido carboxílico por hidrólisis se puede designar como un precursor para este grupo. Un grupo alcohol que se puede oxidar a un grupo aldehído se puede designar como un precursor para este grupo. Ya se han mencionado ejemplos de grupos protectores que se pueden introducir antes de llevar a cabo una reacción o una secuencia de reacciones y después se eliminan otra vez.

Para la condensación de los compuestos de fórmulas II y III, se usan ventajosamente los métodos de acoplamiento de la química de péptidos que son bien conocidos por los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, Houben-Weyl, Methoden der Organischen Chemie [Métodos de Química Orgánica], Volumen 15/1 y 15/2, Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1974). Son ejemplos de posibles agentes de condensación o reactivos de acoplamiento, por ejemplo, carbonildiimidazol, carbodiimidas tales como diciclohexilcarbodiimida (DCC) o diisopropilcarbodiimida, tetrafluoroborato de O-((ciano(etoxicarbonil)-metilen)amino)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (TOTU) o anhídrido propilfosfónico (PPA). Las condensaciones se pueden llevar a cabo en condiciones patrón que son bien conocidas por los expertos en la técnica. En general, se llevan a cabo en un disolvente o diluyente inerte, por ejemplo en un disolvente aprótico tal como N,N-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO), N-metil-2-pirrolidona (NMP), tetrahidrofurano (THF) o dimetoxietano (DME). Dependiendo de la condensación llevada a cabo en el caso concreto, puede ser ventajoso añadir una base tal como una amina terciaria o reactivos auxiliares, por ejemplo un compuesto N-hidroxi tal como 1-hidroxibenzotriazol (HOBT). El tratamiento de la mezcla de reacción y purificación del producto se puede llevar a cabo de acuerdo con procedimientos patrón habituales. Después de la condensación, se eliminan los grupos protectores presentes de una forma adecuada. Por ejemplo, los grupos bencilo en ésteres bencílicos se pueden eliminar por hidrogenación catalítica, o los grupos protectores del tipo terc-butilo se pueden eliminar por tratamiento con un ácido adecuado. La preparación de los compuestos de fórmula I, también se puede llevar a cabo, por ejemplo, sintetizando los compuestos por etapas en una fase sólida de acuerdo con los métodos habituales, siendo posible introducir los elementos estructurales individuales de la molécula en diferentes secuencias.

Los compuestos amino de fórmula III, están disponibles en el comercio o se pueden sintetizar de acuerdo con o de forma análoga a procedimientos patrón conocidos, a partir de materias primas que están disponibles en el

- 25 -

comercio, o a su vez se pueden obtener de acuerdo con o de forma análoga a procedimientos de la bibliografía. Por ejemplo, los ácidos 3-aminopropiónicos 3-sustituidos ópticamente activos de fórmula III o sus ésteres, en particular ésteres de ácido 3-fenil-3-aminopropiónico, se pueden preparar a partir de los

5 ácidos acrílicos 3-sustituidos correspondientes, que a su vez se pueden obtener a partir de los aldehídos correspondientes. Los ácidos acrílicos 3-sustituidos se convierten en los cloruros de ácido usando cloruro de oxalilo, y éstos se convierten en los ésteres usando un alcohol, por ejemplo, en ésteres de terc-butilo usando terc-butanol. Para introducir el grupo amino, los ésteres

10 después se hacen reaccionar con la sal de litio de una amina ópticamente activa, por ejemplo, la sal de litio de (R)-(+)-N-bencil-N-(1-feniletíl)amina, y después el grupo bencilo y el grupo feniletilo en el 3-(N-bencil-N-(1-feniletíl)amino)propionato de terc-butilo 3-sustituido se eliminan por hidrogenación catalítica. Para preparar los compuestos de fórmula III en la que

15 E es el grupo hidroximetilo CH_2OH , o un grupo hidroximetilo eterificado, se puede usar en la reacción de condensación 3-aminopropanoles 3-sustituidos o sus éteres que se pueden obtener a partir de ácidos 3-aminopropiónicos 3-sustituidos o sus ésteres, por reducción del grupo ácido o el grupo éster, por ejemplo el éster de etilo o éster de terc-butilo, usando hidruro de litio y aluminio

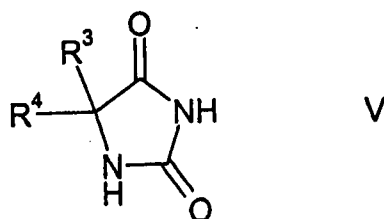
20 o hidruro de litio y aluminio/tricloruro de aluminio.

Los compuestos de fórmula II se pueden preparar, por ejemplo, haciendo reaccionar primero compuestos de fórmula IV



25

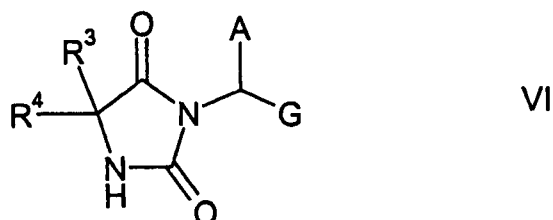
en una reacción de Bucherer, por ejemplo con carbonato amónico y cianuro potásico, para dar compuestos de fórmula V



30

- 26 -

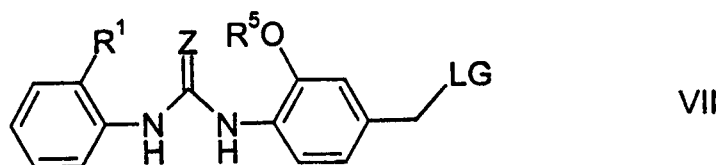
que después se hacen reaccionar con un reactivo de alquilación de fórmula LG-CHA-G, que introduce el resto de fórmula -CHA-G en la molécula, para dar compuestos de fórmula VI,



5

donde A, R³, R⁴ y G se definen como se ha indicado antes. La reacción de los compuestos de fórmula VI con un segundo reactivo de alquilación de fórmula VII,

10

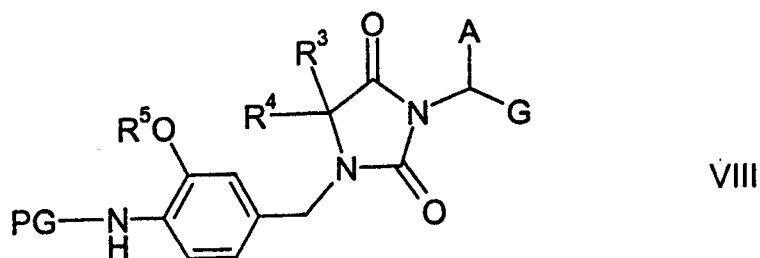


en la que Z, R¹ y R⁵ son como se han definido antes, conduce después a los correspondientes compuestos de fórmula II. El grupo LG es un grupo lábil nucleófilamente sustituible, por ejemplo halógeno, en particular cloro o bromo, o sulfoniloxi tal como tosiloxi, metilsulfoniloxi o trifluorometilsulfoniloxi.

15

Los compuestos de fórmula II también se pueden preparar, por ejemplo haciendo reaccionar un compuesto de fórmula VI primero con un reactivo de fórmula 4-(PG-NH)-C₆H₃(OR⁵)-CH₂-LG, en la que LG es un grupo lábil nucleófilamente sustituible como se ha explicado antes, para dar un compuesto de fórmula VIII,

20

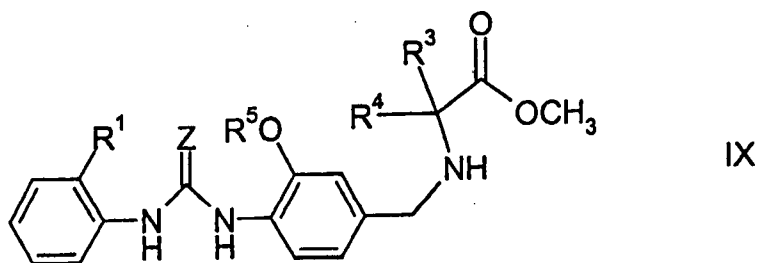


- 27 -

donde los significados indicados antes se aplican para A, G, R³, R⁴ y R⁵, y PG es un grupo protector de amino, por ejemplo terc-butoxicarbonilo o benciloxicarbonilo, Después de eliminar el grupo protector PG, los compuestos de fórmula II se obtienen por reacción del grupo amino NH₂ resultante con isocianato de fenilo, isotiocianato de fenilo, isocianato de 2-metilfenilo o isotiocianato de 2-metilfenilo. Tal como los compuestos de fórmula VIII, se pueden preparar y usar compuestos en la síntesis, en los que en la fórmula VIII el grupo PG-NH- se sustituye por un grupo que es un precursor de un grupo amino, y que después se convierte en un grupo amino en una etapa de reacción adicional. Por ejemplo, un compuesto de fórmula VI se puede hacer reaccionar primero con un grupo nitro de la fórmula 4-O₂N-C₆H₃(OR⁵)-CH₂-LG para dar un compuesto correspondiente al compuesto de fórmula VIII, después el grupo nitro se puede convertir en el grupo amino, por ejemplo, por hidrogenación catalítica, y después el grupo amino se puede convertir en el compuesto deseado de fórmula II usando isocianato de fenilo, isotiocianato de fenilo, isocianato de 2-metilfenilo o isotiocianato de 2-metilfenilo.

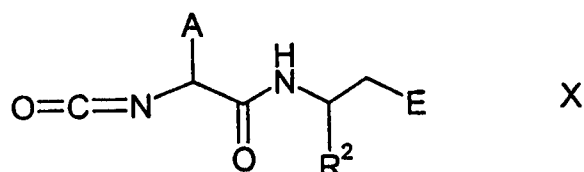
En general, las etapas individuales para preparar los compuestos de fórmula I, se pueden llevar a cabo de acuerdo con o de forma análoga a métodos conocidos familiares para los expertos en la técnica. Dependiendo del caso concreto, puede ser adecuado en cualquier etapa de la síntesis, como ya se ha explicado, bloquear temporalmente grupos funcionales que pueden conducir a reacciones secundarias o reacciones indeseadas, mediante una estrategia de grupo protector adecuada al problema de síntesis específico, cuyo procedimiento es conocido por el experto en la técnica.

Los compuestos de fórmula I también se pueden obtener como sigue. Mediante reacción de aminoácidos N-sustituídos o preferiblemente sus ésteres, por ejemplo ésteres de metilo, ésteres de etilo, ésteres de terc-butilo o ésteres de bencilo, cuyos compuestos se pueden obtener de acuerdo con procedimientos patrón, por ejemplo de compuestos de fórmula IX,



- 28 -

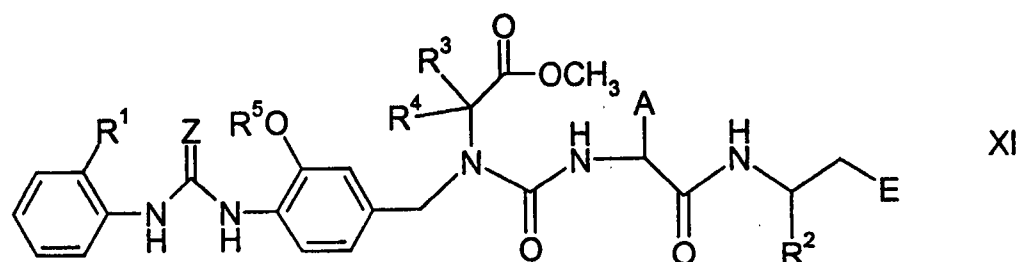
en la que Z, R¹, R³, R⁴ y R⁵ se definen como se ha indicado antes, con un isocianato de fórmula X,



5

para la que se aplican las definiciones anteriores de A, E y R², y que se puede obtener de acuerdo con procedimientos patrón a partir del correspondiente compuesto que en lugar del grupo isocianato contiene un grupo NH₂, se obtienen derivados de urea, por ejemplo compuestos de fórmula XI,

10

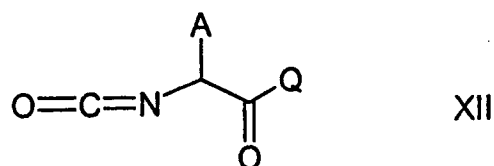


15

para la que se aplican las definiciones antes indicadas. Después, los compuestos de fórmula XI se pueden ciclar calentado con ácido para dar los compuestos de fórmula I. La ciclación de los compuestos de fórmula XI en los compuestos de fórmula I, también se puede llevar a cabo por tratamiento con bases en disolventes inertes, por ejemplo, por tratamiento con hidruro sódico en un disolvente aprótico, tal como dimetilformamida. Durante las reacciones, como se ha explicado antes, puede haber presentes grupos funcionales en forma protegida.

20

Los compuestos de fórmula I también se pueden obtener haciendo reaccionar un compuesto de fórmula IX con un isocianato de fórmula XII

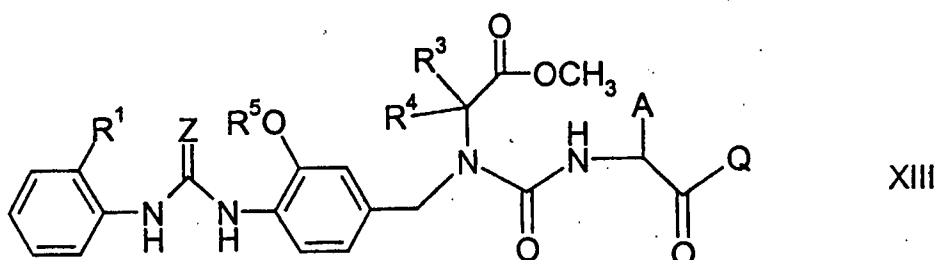


25

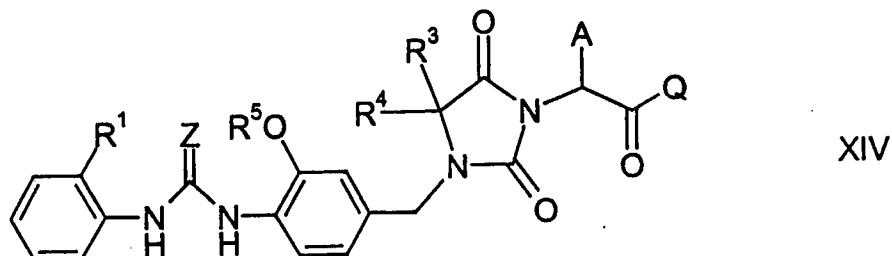
- 29 -

en la que A tiene los significados antes indicados y Q, por ejemplo, es un grupo alcoxi, por ejemplo un grupo alcoxi (C₁-C₄) tal como metoxi, etoxi, o terc-butoxi, o un grupo aril(C₆-C₁₄)-alcoxi(C₁-C₄), por ejemplo benciloxi. En esta reacción, se obtiene un compuesto de fórmula XIII,

5



10 en la que A, Q, Z, R¹, R³, R⁴ y R⁵ se definen como se ha indicado antes, que después se cicla en presencia de un ácido o base, como se ha descrito antes para la ciclación de los compuestos de fórmula XI, en un compuesto de fórmula XIV,

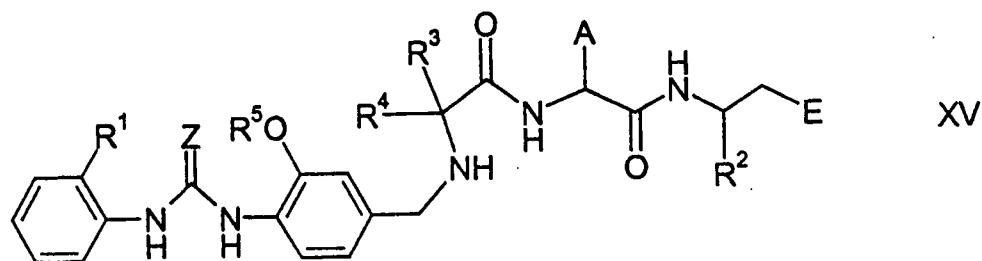


15 en la que A, Q, Z, R¹, R³, R⁴ y R⁵ se definen como se ha indicado antes. Después, en el compuesto de fórmula XIV se puede convertir el grupo CO-Q en el grupo ácido carboxílico COOH, por ejemplo, por hidrólisis. Si la ciclación del compuesto de fórmula XIII en el compuesto de fórmula XIV se lleva a cabo usando un ácido, la conversión del grupo CO-Q en el grupo COOH también se puede llevar a cabo simultáneamente con la ciclación. Por posterior acoplamiento con un compuesto de fórmula III, como se ha descrito antes para el acoplamiento de los compuestos de fórmulas II y III, se obtiene después un compuesto de fórmula I. En este procedimiento de síntesis también puede haber presentes grupos funcionales en forma protegida o en forma de precursores.

25

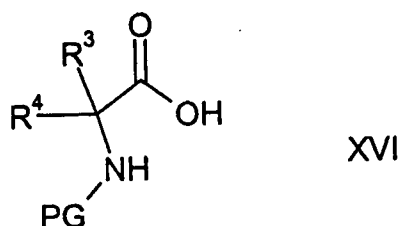
Un método adicional para preparar compuestos de fórmula I es, por ejemplo, hacer reaccionar compuestos de fórmula XV,

- 30 -



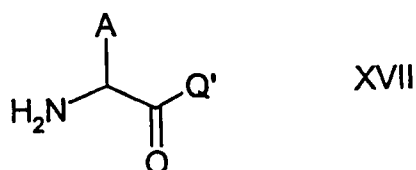
- para la que se aplican las definiciones antes indicadas, con fosgeno o equivalentes (análogamente a S. Goldschmidt and M. Wick, *Liebigs Ann. Chem.* 575 (1952), 217, y C. Tropp, *Chem. Ber.* 61 (1928), 1431).

Los compuestos de fórmula I también se pueden preparar acoplando primero un compuesto de fórmula XVI,



10

en la que R³ y R⁴ tienen los significados antes indicados, y PG es un grupo protector de amino, tal como por ejemplo, un grupo benciloxycarbonilo, con un compuesto de fórmula XVII,

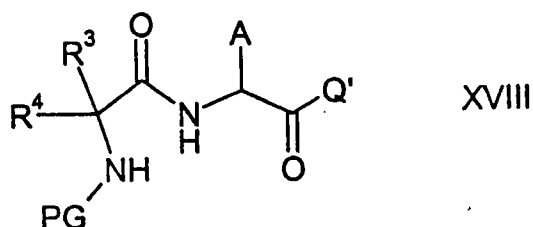


15

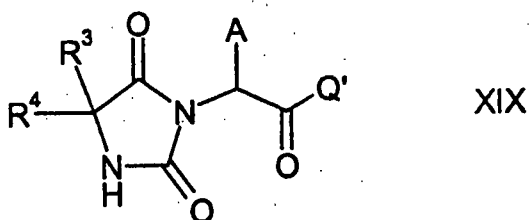
en la que A tiene el significado antes indicado, y Q' es un grupo hidroxilo de ácido carboxílico protegido, por ejemplo, un grupo alcoxi tal como terc-butoxi, para dar un compuesto de fórmula XVIII

20

- 31 -



en la que A, R³, R⁴, PG y Q' tienen los significados antes indicados. En el compuesto de fórmula XVIII, el grupo protector PG, después se puede eliminar selectivamente del grupo amino, por ejemplo, por hidrogenación en el caso de un grupo benciloxycarbonilo, y por introducción de un grupo CO se puede llevar a cabo el cierre de anillo para dar un compuesto de fórmula XIX,



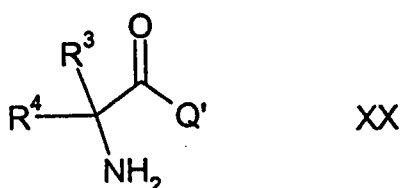
en la que A, R³, R⁴ y Q' tienen los significados antes indicados. Para introducir el grupo carbonilo, se puede usar, por ejemplo, fosgeno o un equivalente del fosgeno tal como difosgeno (análogamente a la reacción de los compuestos de fórmula XV antes explicada). Como producto intermedio en la conversión del compuesto de fórmula XVIII en el compuesto de fórmula XIX, se puede producir o preparar específicamente, por ejemplo, un isocianato. La conversión del compuesto de fórmula XVIII en el de fórmula XIX se puede llevar a cabo en una o más etapas. Por ejemplo, se puede introducir primero el grupo carbonilo, y después en una etapa separada, se puede llevar a cabo la ciclación en presencia de una base tal como hidruro sódico como se ha descrito para las ciclaciones antes mencionadas. Los compuestos de fórmula XVIII en la que PG es el grupo benciloxycarbonilo, también se pueden convertir directamente en compuestos de fórmula XIX, sin usar una unidad estructural sintética tal como fosgeno para introducir el grupo carbonilo. Si los compuestos de fórmula XVIII en la que PG es benciloxycarbonilo, se tratan con una base tal como hidruro sódico, se pueden obtener directamente los compuestos de fórmula XIX.

Después, los compuestos de fórmula XIX se pueden alquilar, como se ha explicado antes para los compuestos de fórmula VI, en el grupo NH usando

- 32 -

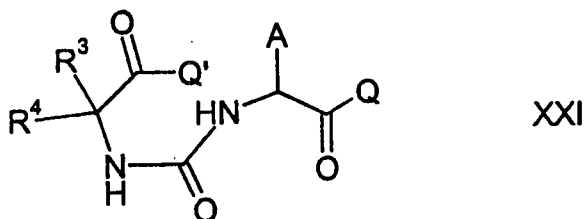
un reactivo de fórmula VII, y después de convertir el grupo ácido carboxílico protegido CO-Q' en el grupo ácido carboxílico COOH, se pueden sintetizar los compuestos deseados de fórmula I como se ha descrito antes para los compuestos de fórmulas VI y II. En este procedimiento de síntesis también
 5 puede haber presentes grupos funcionales en forma protegida o en forma de precursores.

Además, los compuestos de fórmula I se pueden preparar haciendo reaccionar primero un compuesto de fórmula XX



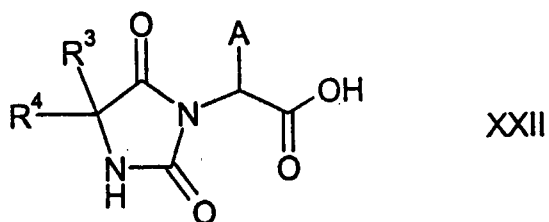
10

en la que R³, R⁴ y Q' tienen los significados antes indicados, con un isocianato de fórmula XII para dar un compuesto de fórmula XXI,



15

en la que A, R³, R⁴, Q y Q' tienen los significados antes indicados. Después, el compuesto de fórmula XXI se cicla por tratamiento con un ácido fuerte, por ejemplo ácido clorhídrico semiconcentrado, para dar un compuesto de fórmula
 20 XXII.

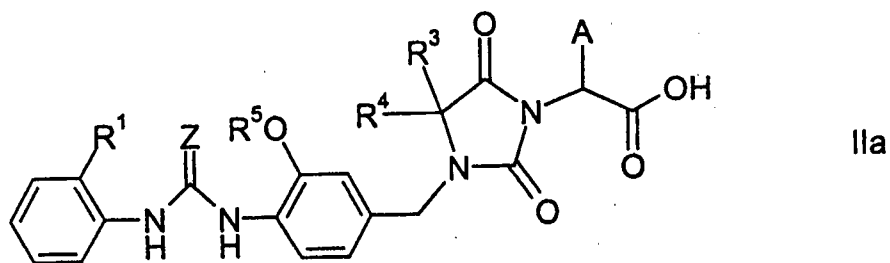


Los compuestos de fórmula XXII también se pueden preparar,
 25 preparando primero un compuesto de fórmula XVIII en la que A, R³, R⁴ y Q'

- 33 -

tienen los significados indicados y PG es un grupo alcoxycarbonilo tal como alcoxí(C₁-C₄)-carbonilo, un grupo aril(C₆-C₁₄)-alcoxí(C₁-C₄)-carbonilo tal como fenil-alcoxí(C₁-C₄)-carbonilo, o un grupo ariloxi(C₆-C₁₄)carbonilo tal como feniloxycarbonilo, convirtiendo dicho compuesto, por liberación del grupo ácido carboxílico protegido CO-Q', en un compuesto de fórmula XVIII en el que CO-Q' es el grupo ácido carboxílico libre CO-OH, PG es alcoxí(C₁-C₄)-carbonilo, aril(C₆-C₁₄)-alcoxí(C₁-C₄)-carbonilo o ariloxi(C₆-C₁₄)-carbonilo, y A, R³ y R⁴ tienen los significados indicados, y ciclando dicho compuesto con una base, tal como por ejemplo, carbonato sódico en el compuesto de fórmula XXII.

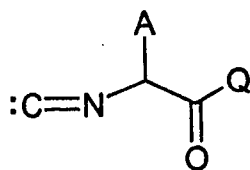
Los compuestos de fórmula IIa



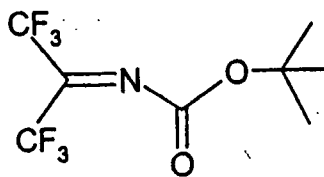
en la que A, Z, R¹, R³, R⁴ y R⁵ tienen los significados antes indicados, se pueden obtener después haciendo reaccionar los compuestos de fórmula XXII en presencia de un exceso de base, por ejemplo en presencia de un exceso de n-butil-litio, con un reactivo de alquilación de fórmula VII, y después acidificando. El grupo 4-(3-arilureido)bencilo o 4-(3-ariltioureido)bencilo también se puede introducir por pasos, de forma análoga a la preparación de los compuestos de fórmula VIII y los compuestos de fórmula II obtenidos a partir de éstos, en los compuestos de fórmula XXII.

Los compuestos de fórmula I en los que los restos R³ y R⁴ son trifluorometilo se pueden preparar ventajosamente haciendo reaccionar un isonitrilo de fórmula XXIII con 2-terc-butoxi-4,4-bis(trifluorometil)-1,3-oxazabuta-1,3-dieno de fórmula XXIV para dar un compuesto de fórmula XXV,

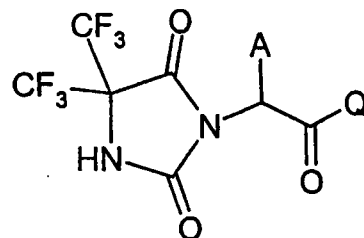
- 34 -



XXIII



XXIV



XXV

donde A y Q tienen los significados antes indicados. Es decir, el grupo C(=O)-Q, por ejemplo, es un grupo éster y Q, por ejemplo, es alcoxi tal como alcoxi (C₁-C₄) incluyendo metoxi, etoxi y terc-butoxi o aril(C₆-C₁₄)-alcoxi(C₁-C₄) incluyendo benciloxi. La reacción de los compuestos de fórmulas XXIII y XXIV para dar los compuestos de fórmula XXV se lleva a cabo ventajosamente en un hidrocarburo o éter como disolvente, por ejemplo en benceno o tolueno, calentando, por ejemplo a temperaturas de aproximadamente 40°C a aproximadamente 80°C, por ejemplo a aproximadamente 60°C.

Los isonitrilos (isocianuros) de fórmula XXIII se pueden obtener de acuerdo con los métodos patrón conocidos por los expertos en la técnica a partir de los correspondientes ésteres de ácido amino-carboxílico de fórmula H₂N-CHA-C(=O)-Q, en la que A y Q tienen los significados antes indicados. Ventajosamente, el éster del ácido amino-carboxílico de fórmula H₂N-CHA-C(=O)-Q se convierte primero, por reacción con un éster de ácido fórmico reactivo, por ejemplo formiato de cianometilo, en el éster del ácido N-formilamino de fórmula HC(=O)-NH-CHA-C(=O)-Q, que después se convierte en el isocianuro de fórmula XXIII, por ejemplo, por reacción con fosgeno o un equivalente de fosgeno tal como difosgeno o trifosgeno en presencia de una amina terciaria tal como trietilamina. El 2-terc-butoxi-4,4-bis(trifluorometil)-1,3-oxazabuta-1,3-dieno de fórmula XXIV se puede obtener, de acuerdo con el procedimiento descrito por Steglich et al., *Chemische Berichte* 107 (1974), 1488, a partir de carbamato de terc-butilo ((CH₃)₃C-O-CO-NH₂) y hexafluoroacetona anhidra y posterior tratamiento del 2-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropano inicialmente obtenido con anhídrido trifluoroacético en presencia de una base tal como quinolina.

Después, los compuestos de fórmula XXV se pueden alquilar, por ejemplo con compuestos de fórmula VII, en el grupo NH para dar compuestos

de fórmula XIV, que, si se desea, después de convertir el grupo éster CO-Q en el grupo ácido carboxílico CO-OH, por reacción con compuestos de fórmula III, dan compuestos de fórmula I como se ha descrito antes. En los compuestos de fórmula XXV, también se puede primero convertir el grupo éster CO-Q de acuerdo con procedimientos patrón en el grupo ácido carboxílico CO-OH y convertir el compuesto de fórmula XXII obtenido como se ha descrito antes con un reactivo de alquilación de fórmula VII en presencia de exceso de base en un compuesto de fórmula IIa, que después da un compuesto de fórmula I por reacción con un compuesto de fórmula III. Análogamente a la preparación de compuestos de fórmula VIII antes descrita y de compuestos de fórmula II o IIa obtenidos a partir de éstos, el grupo 4-(3-arilureido)bencilo o grupo 4-(3-ariltioureido)bencilo también se puede introducir por etapas en los compuestos de fórmula XXV. En estas reacciones, también puede haber grupos funcionales presentes en forma protegida o en forma de precursores.

Los compuestos de fórmula I en los que E, por ejemplo, es hidroxicarbonilo o hidroximetilo, se pueden convertir, de acuerdo con procedimientos patrón, en compuestos de fórmula I en la que E tiene otros significados, o en otros profármacos o derivados de los compuestos de fórmula I. Por lo tanto, para preparar los ésteres, los compuestos de fórmula I en la que E es hidroxicarbonilo, se pueden esterificar usando los alcoholes adecuados, por ejemplo, en presencia de un reactivo de condensación tal como DCC, o los compuestos de fórmula I en la que E es hidroxicarbonilo, se pueden alquilar con haluros de alquilo tales como cloruro de alquilo o bromuros de alquilo, por ejemplo con haluros de aciloxialquilo, para dar compuestos de fórmula I en la que E es aciloxialcoxi-CO-. Los compuestos de fórmula I en la que E es hidroxicarbonilo, se pueden convertir en amidas usando amoníaco o aminas orgánicas en presencia de un reactivo de condensación. Los compuestos de fórmula I en la que E es CO-NH₂ también se pueden obtener ventajosamente en fase sólida acoplando el compuesto en el que E es COOH en presencia de un agente de condensación tal como TOTU en resina de amida Rink, y después eliminándolo de la resina otra vez usando ácido trifluoroacético. Los compuestos de fórmula I en la que E es el grupo hidroximetilo CH₂OH, se pueden eterificar en el grupo hidroxilo de acuerdo con procedimientos patrón. De acuerdo con procedimientos patrón para oxidar selectivamente alcoholes a aldehídos, por ejemplo usando hipoclorito sódico en presencia de 4-acetamido-2,2,6,6,-tetrametilpiperidin-1-oxilo (4-acetamido-TEMPO), los compuestos de

- 36 -

fórmula I en la que E es CH_2OH se pueden convertir en compuestos de fórmula I en la que E es el grupo aldehído $-\text{CO}-\text{H}$.

Los compuestos de fórmula I en la que R^5 es hidrógeno también se pueden preparar llevando a cabo una eliminación de éter en compuestos de fórmula I en la que R^5 es metilo. Por ejemplo, un grupo metoxi que representa R^5O se puede convertir en un grupo hidroxilo por tratamiento con tribromuro de boro.

Los compuestos de fórmula I son compuestos farmacéuticos activos, valiosos que son adecuados, por ejemplo, para tratar enfermedades inflamatorias, enfermedades alérgicas o asma. Los compuestos de fórmula I y sus sales y derivados fisiológicamente tolerables se pueden administrar de acuerdo con la invención, a animales, preferiblemente a mamíferos, y en particular a seres humanos, como productos farmacéuticos para tratar estados de enfermedad, entendiéndose en general el tratamiento como medio tanto de terapia de síntomas de enfermedad aguda o crónica así como de profilaxis o prevención de síntomas de enfermedad, es decir, por ejemplo, la prevención de la aparición de síntomas de enfermedad alérgica o asmática aguda o la prevención de infarto de miocardio o de reinfarto de miocardio en pacientes apropiados. Los compuestos de fórmula I y sus sales y derivados se pueden administrar solos, mezclados entre sí, o en forma de preparaciones farmacéuticas que permiten la administración entérica o parenteral, y que como constituyente activo contienen una dosis eficaz de al menos un compuesto de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables y un vehículo farmacéuticamente tolerable.

Por lo tanto, la presente invención también se refiere a compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables para usar como productos farmacéuticos (o medicamentos), al uso de compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables para preparar productos farmacéuticos para tratar las enfermedades mencionadas antes o a continuación, por ejemplo, para tratar enfermedades inflamatorias, y al uso de los compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables para tratar estas enfermedades. Además, la presente invención se refiere a preparaciones farmacéuticas (o composiciones farmacéuticas) que contienen una dosis eficaz de al menos un compuesto de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables y un vehículo farmacéuticamente tolerable, que son uno o más vehículos y/o aditivos farmacéuticamente inocuos.

- 37 -

Los productos farmacéuticos se pueden administrar sistémica o localmente. Se pueden administrar, por ejemplo, vía oral en forma de píldoras, pastillas, comprimidos revestidos con película, comprimidos revestidos con azúcar, gránulos, cápsulas de gelatina dura y blanda, polvos, soluciones, jarabes, emulsiones, suspensiones o en otras formas farmacéuticas. Sin embargo, la administración también se puede llevar a cabo vía vaginal o rectal, por ejemplo, en forma de supositorios, o vía parenteral o como implantes, por ejemplo en forma de soluciones para inyección o soluciones para infusión, microcápsulas o varillas, o vía tópica o percutánea, por ejemplo en forma de cremas, pomadas, polvos, soluciones, emulsiones o tinturas, o de otra forma, por ejemplo en forma de pulverizadores nasales o mezclas de aerosol. La administración parenteral de soluciones se puede realizar, por ejemplo, vía intravenosa, intramuscular, subcutánea, intra-articular, intrasínovial o de otra forma.

Las preparaciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se preparan de una forma conocida, mezclando el compuesto o compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables con vehículos y/o aditivos inorgánicos y/u orgánicos farmacéuticamente inertes, y poniéndolos en una forma de dosificación y forma de administración adecuadas. Para preparar píldoras, comprimidos, comprimidos revestidos con azúcar y cápsulas de gelatina dura, se puede usar, por ejemplo, lactosa, almidón de maíz o sus derivados, talco, ácido esteárico o sus sales, polietilenglicoles etc., para cápsulas de gelatina blanda y supositorios, por ejemplo, grasas, ceras y polioles semisólidos y líquidos, polietilenglicoles, aceites naturales y endurecidos etc. Vehículos adecuados para preparar soluciones, por ejemplo soluciones para inyección, o emulsiones o jarabes son, por ejemplo, agua, alcoholes, glicerina, dioles, polioles, sacarosa, azúcar invertido, glucosa, aceites vegetales etc. Vehículos adecuados para microcápsulas, implantes o varillas son, por ejemplo, copolímeros de ácido glicólico y ácido láctico. Las preparaciones farmacéuticas normalmente contienen de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 90% en peso de los compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables. La cantidad de compuesto activo de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables en las preparaciones farmacéuticas normalmente es de aproximadamente 0,2 a aproximadamente 1000 mg, preferiblemente de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg. Sin

- 38 -

embargo, dependiendo de la naturaleza de la preparación farmacéutica, la cantidad de compuesto activo también puede ser mayor.

Además de los compuestos activos y vehículos, las preparaciones farmacéuticas también pueden contener excipientes o aditivos, por ejemplo, 5 cargas, desintegrantes, aglutinantes, lubricantes, agentes humectantes, estabilizantes, emulsionantes, conservantes, edulcorantes, colorantes, agentes de sabor, aromas, agentes espesantes, diluyentes, sustancias tampón, disolventes, solubilizantes, agentes para lograr un efecto de depósito, sales para cambiar la presión osmótica, agentes de revestimiento o antioxidantes. 10 También pueden contener dos o más compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables. Además de al menos un compuesto de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables, también pueden contener uno o más compuestos farmacéuticamente activos diferentes, por ejemplo sustancias que tienen acción antiinflamatoria.

15 Si los compuestos de fórmula I o las preparaciones farmacéuticas que los comprenden se administran en forma de aerosoles, por ejemplo como aerosoles nasales o por inhalación, esto se puede llevar a cabo, por ejemplo, usando un pulverizador, un nebulizador, un nebulizador con bomba, un aparato de inhalación, un inhalador con medidor o un inhalador de polvo seco. Las 20 formas farmacéuticas para administrar los compuestos de fórmula I como un aerosol se pueden preparar de acuerdo con procedimientos conocidos por el experto en la técnica. Para prepararlos se pueden usar, por ejemplo, soluciones o dispersiones de los compuestos de fórmula I en agua, mezclas de agua/alcohol o soluciones salinas adecuadas, usando aditivos habituales, por 25 ejemplo, alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, potenciadores de la absorción para aumentar la biodisponibilidad, solubilizantes, dispersantes y otros, y si es adecuado, propelentes habituales, por ejemplo clorofluorocarbonos y/o fluorocarbonos.

Otros compuestos farmacéuticos activos que pueden contener las 30 preparaciones farmacéuticas de acuerdo con la invención además de los compuestos de fórmula I, pero con los que los compuestos de fórmula I también se pueden combinar de otras formas en el contexto de un tratamiento de combinación, son en particular los compuestos activos que son adecuados para el tratamiento, es decir, la terapia o profilaxis de las enfermedades 35 mencionadas antes o a continuación, para cuyo tratamiento los compuestos de fórmula I son adecuados. Ejemplos de clases de compuestos activos de este tipo que se pueden mencionar son esteroides, sustancias antiinflamatorias no

esteroideas, derivados de ácido acético antiinflamatorios no esteroideos, derivados de ácido propiónico antiinflamatorios no esteroideos, antiasmáticos no esteroideos, derivados de ácido salicílico, pirazolonas, oxicams, antagonistas de leucotrienos, inhibidores de biosíntesis de leucotrienos, inhibidores de ciclooxigenasa, inhibidores de ciclooxigenasa-2 (inhibidores de COX-2), antihistaminas, antagonistas de histamina-H1, antihistaminas no sedantes, compuestos de oro, agonistas β -2, anticolinérgicos, antagonistas de muscarina, agentes que disminuyen los lípidos, agentes que disminuyen el colesterol, inhibidores de reductasa HMG-CoA, estatinas, derivados de ácido nicotínico, inmunodepresores, ciclosporinas, β -interferones, productos terapéuticos para tumores, citostáticos, inhibidores de metástasis, antimetabolitos, derivados de ácido 5-aminosalicílico, antidiabéticos, insulinas, sulfonilureas, biguanidas, glitazones, inhibidores de α -glucosidasa, y otros. Ejemplos de compuestos activos adecuados que se pueden mencionar son

ácido acetilsalicílico, benorilato, sulfasalazina, fenilbutazona, oxifenbutazona, metamizol, mofebutazona, feprazona, celecoxib, rofecoxib, diclofenaco, fentiazac, sulindac, zomepirac, tolmetina, indometacina, acetaminofeno, ibuprofeno, naproxeno, carprofeno, fenbufeno, indoprofeno, ketoprofeno, pirofeno, ácido tiaprofénico, diflunisal, ácido flufenámico, ácido meclofenámico, ácido mefenámico, ácido niflúmico, ácido tolfenámico, piroxicam, isoxicam, tenoxicam, ácido nicotínico, prednisona, dexametosa, hidrocortisona, metilprednisolona, betametasona, beclometasona, budesonida, montelukast, pranlukast, zafirlukast, zileuton, ciclosporina, ciclosporina A, rapamicina, tacrolimus, metotrexato, 6-mercaptopurina, azatioprina, interferón-beta-1a, interferón-beta-1b, ácido 5-aminosalicílico, leflunomida, D-penicilamina, cloroquina, glibenclamida, glimepirida, troglitazona, metformina, acarbosa, atorvastatina, fluvastatina, lovastatina, simvastatina, pravastatina, colestipol, colestiramina, probucol, clofibrato, fenofibrato, bezafibrato, gemfibrozilo, bromuro de ipatropio, clenbuterol, fenoterol, metaproterenol, pirbuterol, tulobuterol, salbutamol, salmeterol, terbutalina, isoetarina, ketotiofeno, efedrina, bromuro de oxitropio, atropina, ácido cromoglicólico, teofilina, fexofenadina, terfenadina, cetirizina, dimetindeno, difenhidramina, difenilpiralina, feniramina, bromfeniramina, clorfeniramina, dexclorfeniramina, alimezaina, antazolina, astemizol, azatadina, clemastina, ciproheptadina, hidroxizina, loratidina, mepiramina, prometazina, tripelenamina, triprolidina y otros.

Si se van a usar compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables en un tratamiento de combinación junto con uno o más compuestos activos distintos en una sola preparación farmacéutica, esto se puede llevar a cabo como se ha mencionado administrando todos los compuestos activos juntos en una sola preparación farmacéutica, por ejemplo un comprimido o cápsula. La presente invención se refiere igualmente explícitamente a preparaciones farmacéuticas de este tipo, para las cuales se aplican todas las correspondientes explicaciones anteriores. La cantidad de los compuestos activos en estas preparaciones farmacéuticas, en general se elige de forma que haya presente una cantidad eficaz de cada compuesto activo. Sin embargo, un tratamiento de combinación también se puede llevar a cabo estando presentes los compuestos activos en una o más preparaciones farmacéuticas separadas, que pueden estar presentes en un solo paquete o dos o más paquetes separados. La administración de los compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables y otros compuestos activos se puede llevar a cabo junto con o de forma separada y simultánea o sucesiva, en cualquier orden. La administración también se puede llevar a cabo de diferentes formas, por ejemplo, un compuesto activo se puede administrar vía oral y otro vía inyección, inhalación o aplicación tópica. Todos dichos tratamientos están comprendidos en la presente invención.

Los compuestos de fórmula I, por ejemplo, tienen capacidad de inhibir los procesos de interacción célula-célula y procesos de interacción célula-matriz, en los que juegan un papel las interacciones entre VLA-4 y sus ligandos. La actividad de los compuestos de fórmula I se puede demostrar, por ejemplo, en un ensayo en el que se mide la unión de células que contienen el receptor VLA-4, por ejemplo de leucocitos, a ligandos de este receptor, por ejemplo, a VCAM-1, que para este propósito también se puede preparar ventajosamente por ingeniería genética. A continuación se describen detalles de dicho ensayo. En particular, los compuestos de fórmula I, tienen capacidad de inhibir la adhesión y migración de leucocitos, por ejemplo, la adhesión de leucocitos a células endoteliales, que, como se ha explicado antes, es controlada por el mecanismo de adhesión VCAM-1/VLA-4. Por lo tanto, a parte de como antiinflamatorios, los compuestos de fórmula I y sus sales y derivados fisiológicamente tolerables, en general son adecuados para el tratamiento, es decir para la terapia y profilaxis, de enfermedades que se basan en la interacción entre el receptor VLA-4 y sus ligandos, o pueden estar influidas por una inhibición de esta interacción, y en particular son adecuados para tratar

enfermedades causadas al menos parcialmente por un grado no deseado de adhesión de leucocitos y/o migración de leucocitos, o están conectadas con esto, y para cuya prevención, alivio o cura se debe disminuir la adhesión y/o migración de leucocitos.

- 5 Por lo tanto, la presente invención también se refiere a compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables, para inhibir la adhesión y/o migración de leucocitos, o para inhibir el receptor VLA-4, y al uso de los compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables, para preparar productos farmacéuticos, es decir, productos
- 10 farmacéuticos para tratar enfermedades en las que la adhesión de leucocitos y/o migración de leucocitos muestra un grado no deseado, o para tratar enfermedades en las que juegan un papel los procesos de adhesión dependiente de VLA-4, y al uso de los compuestos de fórmula I y/o sus sales y/o derivados fisiológicamente tolerables para tratar enfermedades de este
- 15 tipo.

- Los compuestos de fórmula I se pueden usar como antiinflamatorios en el caso de síntomas inflamatorios de causas muy diferentes, con el fin de prevenir, reducir o suprimir las secuelas no deseadas o dañinas de la inflamación. Se usan, por ejemplo, para el tratamiento, es decir, para terapia o
- 20 profilaxis, de artritis, de artritis reumatoide, de poliartritis, o de enfermedades inflamatorias de intestino (colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn), de lupus eritematoso sistémico, de enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central tal como, por ejemplo, esclerosis múltiple, o de asma o alergias tales como, por ejemplo, alergias de tipo retardado (alergia de tipo IV). Además, son
- 25 adecuados para cardioprotección, para protección de ataques de apoplejía y para la profilaxis secundaria de ataques de apoplejía, y para el tratamiento, es decir terapia y profilaxis, de enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, infarto de miocardio, reinfarto de miocardio, o síndrome coronario agudo, ataque de apoplejía, restenosis, diabetes, daño en trasplantes de órganos,
- 30 enfermedades inmunitarias, enfermedades autoinmunes, crecimiento de tumores o metástasis de tumores en diferentes tumores malignos, malaria, y de otras enfermedades en las que un bloqueo de la integrina VLA-4 y/o una influencia de la actividad del leucocito parece adecuada para prevenir, aliviar o curar. Un uso preferido es la prevención de infarto de miocardio o de reinfarto
- 35 de miocardio.

La dosis cuando se usan los compuestos de fórmula I puede variar dentro de límites anchos, y como es habitual y como sabe el médico, se debe

- 42 -

ajustar en cada caso individual a las condiciones individuales. Depende, por ejemplo, de la naturaleza y gravedad de la enfermedad que se va a tratar, del estado del paciente, del compuesto usado o de si se va a tratar un estado de enfermedad agudo o crónico, o se lleva a cabo profilaxis, o de si además de los compuestos de fórmula I, se administran compuestos activos adicionales. En general, en el caso de administración oral, es adecuada una dosis diaria de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 100 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg (en cada caso mg por kg de peso corporal), en el caso de administración a un adulto que pesa aproximadamente 75 kg para lograr resultados eficaces. En el caso de administración intravenosa, la dosis diaria en general es de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 50 mg/kg, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 10 mg/kg (en cada caso mg por kg de peso corporal). La dosis diaria se puede dividir, en particular en el caso de administración de cantidades relativamente grandes, en una serie, por ejemplo 2, 3 ó 4 administraciones parciales. Si es adecuado, dependiendo del comportamiento individual, puede ser necesario salirse hacia arriba o hacia abajo de la dosis diaria indicada.

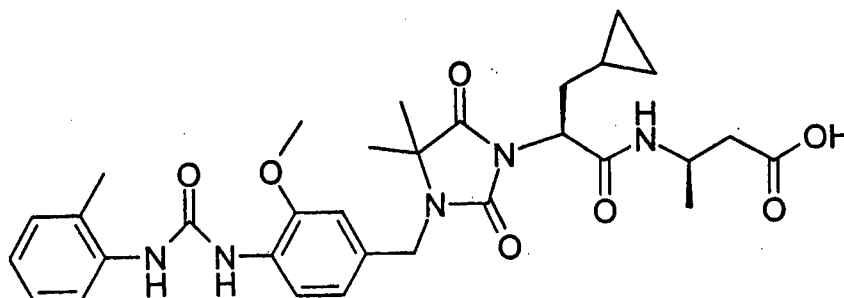
A parte de como compuestos farmacéuticos activos en medicina humana y veterinaria, los compuestos de fórmula I y sus sales y derivados que son adecuados para el uso deseado se pueden usar además para propósitos de diagnóstico, por ejemplo en diagnósticos in vitro de muestras celulares o muestras de tejidos, y como herramienta auxiliar o científica en investigaciones bioquímicas en las que se desea un bloqueo de VLA-4 o una influencia en las interacciones célula-célula o célula-matriz. Además, los compuestos de fórmula I y sus sales se pueden usar como productos intermedios para preparar otros compuestos, en particular otros compuestos farmacéuticos activos, que se pueden obtener a partir de compuestos de fórmula I, por ejemplo, por modificación o introducción de restos o grupos funcionales, por ejemplo por esterificación, reducción, oxidación u otras transformaciones de grupos funcionales.

Ejemplos

35

Ejemplo 1

Ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropiónico



1a) Alcohol 4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencílico

- 5 Se hidrogenaron 15 g (81,8 mmoles) de alcohol 3-metoxi-4-nitrobencílico sobre 1,3 g de paladio/carbón (al 10% de concentración, agua al 50%) en 500 ml de metil-terc-butil-éter enfriando con hielo. Después de completarse la absorción de hidrógeno, el catalizador se filtró, y se añadieron al filtrado 10,14 ml (81,8 mmoles) de isocianato de 2-metilfenilo agitando en el
- 10 transcurso de 30 minutos. La mezcla de reacción se dejó reposar toda la noche, y el sólido precipitado se filtró con succión y se lavó con metil-terc-butil-éter. Rendimiento: 20,5 g (88%).

1b) Cloruro de 4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencilo

- 15 Se añadieron gota a gota 7,65 ml (104,8 mmoles) de cloruro de tionilo enfriando con hielo, a una suspensión de 15 g (52,4 mmoles) del compuesto del Ejemplo 1a en 300 ml de diclorometano. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, se dejó reposar toda la noche y se vertió en 1000 ml de heptano. El heptano se decantó del aceite separado, el
- 20 residuo se suspendió otra vez en heptano y el heptano se decantó. Este procedimiento se repitió dos veces más. Después el residuo se disolvió en diclorometano y se vertió en 800 ml de diisopropil-éter enfriado con hielo. La mezcla se agitó durante 2 horas enfriando con hielo, y el producto se filtró con succión, se lavó con diisopropil-éter y se secó sobre pentóxido de fósforo.
- 25 Rendimiento: 12 g (75%).

1c) (S)-2-Amino-3-ciclopropionato de bencilo

- Se añadió una solución de hidróxido sódico 1N a 0°C a una suspensión de 10 g (77,5 mmoles) de ácido (S)-2-amino-3-ciclopropilpropiónico en 160 ml
- 30 de dioxano hasta que se alcanzó pH 8-9. Después se añadieron 16,9 g (77,5 mmoles) de dicarbonato de diterc-butilo, se quitó el baño de hielo y el pH se

- 44 -

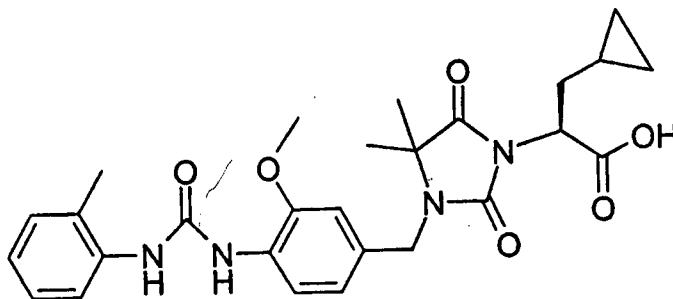
mantuvo a 8-9 por adición posterior de solución de hidróxido sódico 1N. Después de dejar reposar toda la noche, se separó el dioxano a vacío, se añadió acetato de etilo a la fase de agua, y se separaron las fases. La fase de agua se ajustó a pH 4,5 usando ácido clorhídrico 1 N y se extrajo con acetato de etilo. La fase de acetato de etilo obtenida se secó sobre sulfato sódico, el sulfato sódico se filtró y el filtrado se concentró a vacío. El residuo se disolvió en 1000 ml de diclorometano y se trató con 53,4 ml de alcohol bencílico, 8,37 g de 4-dimetilaminopiridina y 18,8 g de DCC. Después de agitar durante 6 horas y dejar reposar toda la noche, la mezcla se filtró, el filtrado se concentró y el residuo se trató con 300 ml de ácido trifluoroacético al 90% de concentración. Después de agitar a temperatura ambiente durante 10 minutos, el ácido trifluoroacético se separó a vacío y el residuo se cromatografió dos veces sobre gel de sílice (diclorometano/metanol, 95/5). Rendimiento: 11,48 g (68%).

15 1d) Ácido (S)-2-(4,4-dimetil-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acético

Se añadieron 321 mg de HOBT y 4,75 g (23,7 mmoles) de DCC a una solución de 3,82 g (23,7 mmoles) de ácido 2-metoxycarbonilamino-2-metilpropiónico (preparado a partir de ácido 2-amino-2-metilpropiónico y cloroformiato de metilo) y 5,2 g (23,7 mmoles) del compuesto del Ejemplo 1c en 100 ml de THF, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de dejar reposar toda la noche y filtrar, el THF se separó a vacío, el residuo se recogió en metil-terc-butil-éter y la solución se lavó dos veces en cada caso con solución saturada de NaHCO_3 y solución acuosa de $\text{KHSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, y después de filtrar, el disolvente se separó a vacío. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se hidrogenó en presencia de paladio/carbón (al 10% de concentración; 50% en agua). El catalizador se filtró, y se añadieron 500 ml de agua y 10,1 g de carbonato sódico a la fase orgánica. Después de extraer por agitación y separación de fase, la fase acuosa se agitó a 100°C durante 24 horas. Después de dejar reposar toda la noche, se añadieron 500 ml de ácido clorhídrico 6 N, y la fase acuosa se extrajo tres veces con metil-terc-butil-éter. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, y después de filtrar se concentraron a vacío. El residuo se cristalizó usando diisopropil-éter y el producto se filtró. Rendimiento: 2,88 g (51%).

- 45 -

1e) Ácido (S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acético



- 5 Se añadieron 9,44 ml de una solución de n-butil-litio (2,5 M en hexano) a -40°C en atmósfera de argón, a una solución de 2,85 g (11,8 mmoles) del compuesto del Ejemplo 1d en 60 ml de THF absoluto. Después de agitar a -40°C durante 30 minutos, la mezcla de reacción se dejó calentar a 0°C, y se añadió una solución de 3,6 g (11,8 mmoles) del compuesto del Ejemplo 1b en 20 ml de N-metil-2-pirrolidona. La mezcla de reacción se dejó calentar a 0°C y después se agitó durante 2 horas a 0°C. Se añadieron 15 ml de ácido clorhídrico 1N y el THF se separó a vacío. El residuo se vertió en 300 ml de metil-terc-butil-éter. Se separaron las fases, y la fase orgánica se lavó con agua, se secó sobre sulfato sódico, y después de filtrar se concentró a vacío.
- 15 El residuo se purificó por HPLC preparativo. Después de concentrar las fracciones con producto y liofilizar, se obtuvieron 1,33 g (22%) del compuesto del título.

- 20 1f) (R)-3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropionato de terc-butilo

- Se añadieron sucesivamente 626 mg (1,91 mmoles) de TOTU y 308 µl (1,81 mmoles) de N,N-diisopropiletilamina enfriando con hielo, a una solución de 974 mg (1,91 mmoles) del compuesto del Ejemplo 1e, y 305 mg (1,91 mmoles) de (R)-3-amino-butanoato de terc-butilo en 10 ml de DMF absoluta. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, el disolvente se separó a vacío, el residuo se disolvió en acetato de etilo y la solución de acetato de etilo se lavó sucesivamente dos veces en cada caso con una solución acuosa de KHSO₄/K₂SO₄, una solución saturada de NaHCO₃ y agua.
- 30 Después de secar la fase orgánica sobre sulfato sódico y filtrar, el disolvente se separó a vacío y el residuo se cromatografió en gel de sílice usando acetato de

- 46 -

etilo/heptano (1/1). Después de concentrar las fracciones con producto, se obtuvieron 880 mg (71%) del compuesto del título.

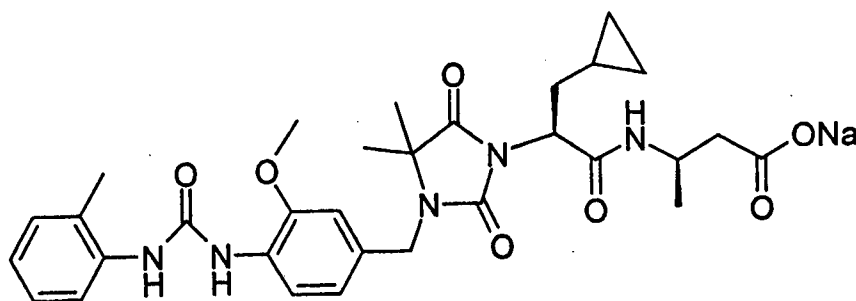
1g) Ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropiónico

Se trataron 880 mg (1,35 mmoles) del compuesto del Ejemplo 1f con 10 ml de ácido trifluoroacético al 90% de concentración. Después de 15 minutos a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a vacío. El residuo se recogió en diclorometano y se concentró a vacío. Este procedimiento se repitió una segunda vez. El residuo obtenido se recogió en diclorometano, y la fase de diclorometano se lavó tres veces con agua y se secó sobre sulfato sódico. Después de filtrar y concentrar a vacío, el residuo se recogió en acetonitrilo/agua y se liofilizó. Rendimiento: 730 mg (91%).

ES(+)-MS: 594,2 (M+H)⁺

Ejemplo 2

Sal sódica del ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropiónico

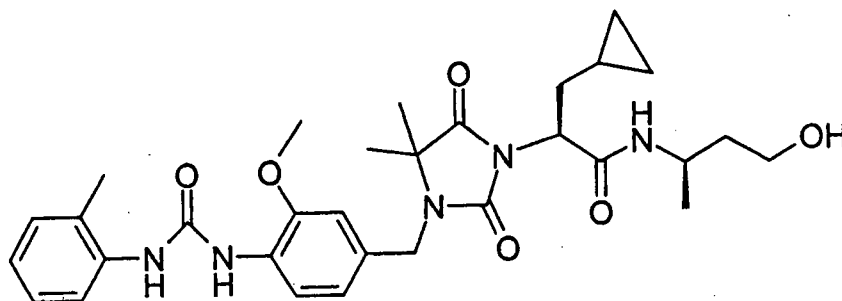


Se añadieron 1,64 ml de solución de hidróxido sódico 0,1N en porciones con agitación a una suspensión de 100 mg (0,168 mmoles) del compuesto del Ejemplo 1 en 10 ml de agua, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Después de filtrar y liofilizar el filtrado, se obtuvieron 104 mg (100%) del compuesto del título.

ES(+)-MS: 594,3 (ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropiónico + H)⁺, 616,2 (M⁺).

Ejemplo 3

(R)-3-((S)-2-(4,4-Dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropanol



5

Se trataron 535 mg (1,05 mmoles) del compuesto del Ejemplo 1e en 15 ml de DMF absoluta enfriando con hielo con 140 mg (1,05 mmoles) de HOBT y 260 mg (1,26 mmoles) de DCC. La mezcla se agitó durante 45 minutos enfriando con hielo, después se añadieron 112 mg (1,26 mmoles) de (R)-3-amino-3-metilpropanol y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de dejar reposar toda la noche, la mezcla se filtró, el filtrado se concentró, el residuo se disolvió en acetato de etilo, y la fase de acetato de etilo se lavó dos veces con solución acuosa de $\text{KHSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$. Después de 10 secar sobre sulfato sódico, filtrar y concentrar, el resto se cromatografió en gel de sílice usando acetato de etilo. Después de concentrar las fracciones con producto, se obtuvieron 423 mg (70%) del compuesto del título.

15

ES(+)-MS: 580,3 (M+H)⁺

20

Preparación de (R)-3-amino-metilpropanol

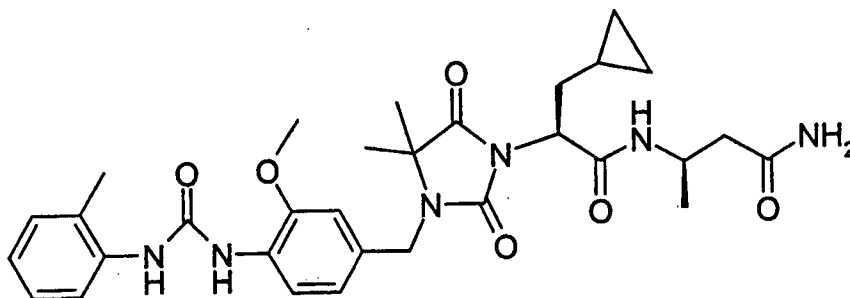
Se añadieron 5,68 g (149 mmoles) de hidruro de litio y aluminio en porciones en atmósfera de argón a una solución de 19,9 g (149 mmoles) de tricloruro de aluminio en 250 ml de éter dietílico absoluto, y la mezcla se calentó a reflujo durante 30 minutos. Se añadieron lentamente gota a gota 6 g 25 (37,7 mmoles) de (R)-3-aminobutanoato de terc-butilo en 50 ml de éter dietílico absoluto y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 horas. Después se añadieron gota a gota cuidadosamente 10,8 ml de agua y 25,3 g de hidróxido potásico disueltos en 43 ml de agua, enfriando con hielo. La mezcla se dejó reposar toda la noche a temperatura ambiente, la fase de éter se decantó y el residuo se hirvió tres veces con diclorometano. Las fases 30 orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico. Después de filtrar y

- 48 -

separar el disolvente a vacío, se obtuvieron 2,5 g (75%) del compuesto del título.

Ejemplo 4

- 5 (R)-3-((S)-2-(4,4-Dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropionamida



- 10 Se añadieron 131 mg (0,636 mmoles) de DCC a una solución de 330 mg (0,555 mmoles) del compuesto del Ejemplo 1 y 125 mg (0,926 mmoles) de HOBT en 5 ml de DMF absoluta, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, y después se añadieron 47 μ l (0,555 mmoles) de una solución acuosa de amoniaco al 25% de concentración. La mezcla se dejó reposar toda
- 15 la noche a temperatura ambiente, se añadieron 16 μ l adicionales de una solución acuosa de amoniaco al 25% de concentración, y la mezcla se agitó durante 4 horas. Después de filtrar, el filtrado se concentró a vacío, el residuo se disolvió en acetato de etilo, y la fase de acetato de etilo se lavó dos veces en cada caso con una solución acuosa de $\text{KHSO}_4/\text{K}_2\text{SO}_4$, una solución
- 20 saturada de NaHCO_3 y agua. Después de secar la fase orgánica sobre sulfato sódico y filtrar, el disolvente se separó a vacío y el residuo se cromatografió en gel de sílice usando acetato de etilo. Después de concentrar las fracciones con producto y liofilizar, se obtuvieron 272 mg (82%) del compuesto del título.

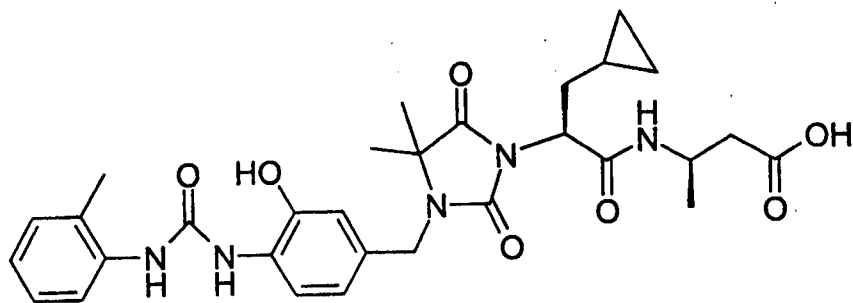
ES(+)-MS: 593,3

25

Ejemplo 5

Ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-hidroxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropiónico

- 49 -

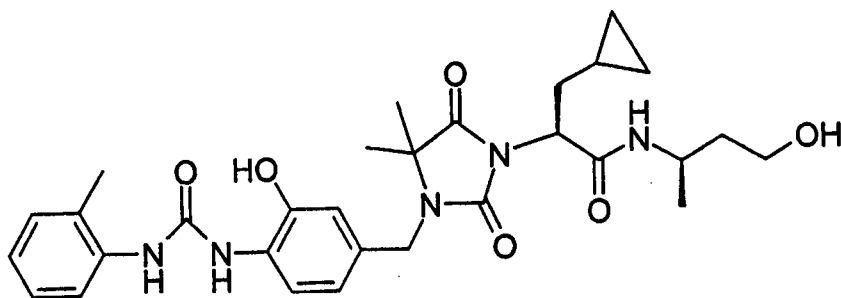


Se añadieron 211 μ l de tribromuro de boro en atmósfera de argón a una solución de 100 mg (0,169 mmoles) del compuesto del Ejemplo 1 en 20 ml de diclorometano absoluto a -78°C , y la mezcla de reacción se dejó calentar a 0°C enfriando con hielo. Después de 30 minutos a 0°C , se añadió agua cuidadosamente. Las fases se separaron y la fase orgánica se secó sobre sulfato sódico. Después de filtrar, separar el disolvente a vacío, purificar por cromatografía por HPLC preparativo y liofilizar las fracciones con producto, se obtuvieron 35 mg (36%) del compuesto del título.

ES(+)-MS: 580,2 (M+H)⁺

Ejemplo 6

(R)-3-((S)-2-(4,4-Dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-hidroxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropanol



Se añadieron 488 μ l de tribromuro de boro en atmósfera de argón a una solución de 220 mg (0,39 mmoles) del compuesto del Ejemplo 3 en 40 ml de diclorometano absoluto a -78°C , y la mezcla de reacción se dejó calentar a 0°C enfriando con hielo. Después de 30 minutos a 0°C , se añadió agua cuidadosamente. Las fases se separaron, y la fase orgánica se lavó cuatro veces con agua, y se secó sobre sulfato sódico. Después de filtrar, separar el disolvente a vacío, purificar por cromatografía por HPLC preparativo y liofilizar

- 50 -

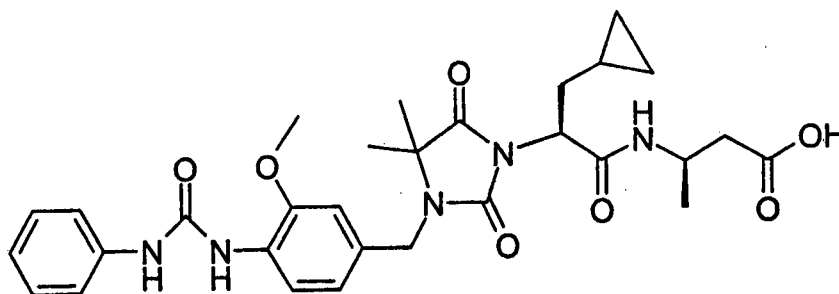
las fracciones con producto, se obtuvieron 81 mg (37%) del compuesto del título.

ES(+)-MS: 566,3 (M+H)⁺

5

Ejemplo 7

Ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-fenilureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropiónico

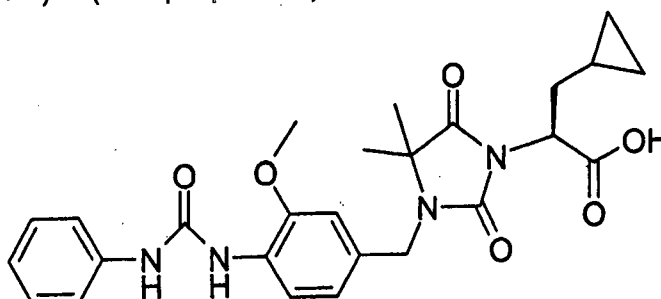


10

7a) Cloruro de 4-(3-fenilureido)-3-metoxibencilo

Se añadieron gota a gota 7,55 ml (103,4 mmoles) de cloruro de tionilo a una suspensión de 14,07 g (51,7 mmoles) de alcohol 4-(3-fenilureido)-3-metoxibencilico (preparado como se ha descrito en el Ejemplo 1, usando isocianato de fenilo en lugar de isocianato de 2-metilfenilo) en 200 ml de diclorometano. Después la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se dejó reposar toda la noche y se vertió en 800 ml de heptano. El heptano se decantó del aceite separado, el residuo se suspendió varias veces en heptano, y en cada caso se decantó el heptano. El residuo se disolvió en 100 ml de diclorometano y se añadió gota a gota a 800 ml de diisopropil-éter. La mezcla se agitó durante 1 hora enfriando con hielo, y el producto se filtró con succión, se lavó con diisopropil-éter y se secó a vacío.

7b) Ácido (S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-fenilureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acético



- 51 -

Se añadieron 9,32 ml de solución de n-butil-litio (2,5 M en hexano) a -
 40°C en atmósfera de argón, a una solución de 2,8 g (11,6 mmoles) del
 compuesto del Ejemplo 1d, en 60 ml de THF absoluto. Después de agitar a
 -40°C durante 30 minutos, la mezcla de reacción se dejó calentar a 0°C, y se
 5 añadió una solución de 5,07 g (17,4 mmoles) del compuesto del Ejemplo 7a en
 20 ml de N-metil-2-pirrolidona. La mezcla de reacción se dejó calentar a 0°C, y
 después se agitó durante 2 horas a 0°C. Se añadieron 15 ml de ácido
 clorhídrico 1N, se separó el THF a vacío y el residuo se vertió en 300 ml de
 metil-terc-butil-éter. Se separaron las fases, la fase orgánica se lavó con agua,
 10 se secó sobre sulfato sódico y, después de filtrar, se concentró a vacío. El
 residuo se purificó por HPLC preparativo. Después de concentrar las
 fracciones con producto y posterior liofilización, se obtuvieron 484 mg (8%) del
 compuesto del título.

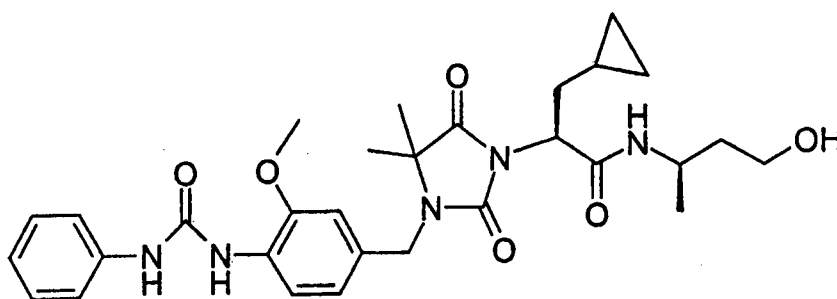
15 7c) Ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-fenilureido)-3-metoxibencil)-
 2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropiónico

El compuesto se obtuvo de forma análoga al Ejemplo 1, a partir de 120
 mg (0,242 mmoles) del compuesto del Ejemplo 7b y 38 mg (0,242 mmoles) de
 (R)-3-aminobutanoato de terc-butilo, por acoplamiento, purificación por
 20 cromatografía, eliminación del éster terc-butílico y liofilización. Rendimiento:
 113 mg (81%).

ES(+)-MS: 580,2 (M+H)⁺

Ejemplo 8

25 (R)-3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-fenilureido)-3-metoxibencil)-2,5-
 dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropanol



30 El compuesto se preparó de forma análoga al Ejemplo 3, a partir de 172
 mg (0,348 mmoles) de compuesto del Ejemplo 7b y 31 mg (0,417 mmoles) de

- 52 -

(R)-3-amino-3-metilpropanol (véase Ejemplo 3), por acoplamiento, purificación cromatográfica (acetato de etilo/heptano, 9/1), concentración de las fracciones con producto y liofilización. Rendimiento: 117 mg (59%).

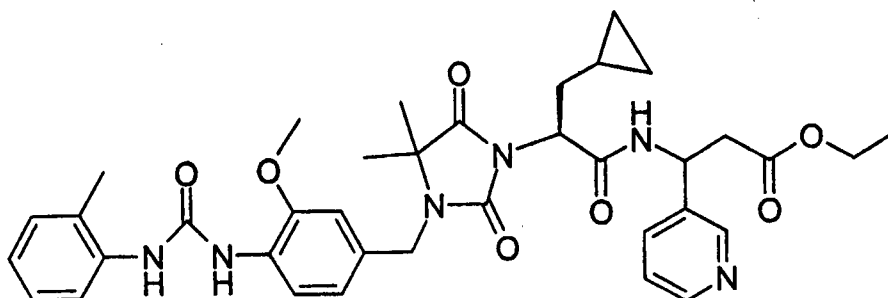
ES(+)-MS: 566,3 (M+H)⁺

5

Ejemplo 9

3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-(3-piridil)propionato de etilo

10



Se añadieron 129 mg (0,393 mmoles) de TOTU y 64 μ l (0,374 mmoles) de N,N-diisopropiletilamina enfriando con hielo, a una solución de 200 mg (0,393 mmoles) de compuesto del Ejemplo 1d y 76,4 mg (0,393 mmoles) de 3-amino-3-(3-piridil)propionato de etilo (para la preparación véase J.G. Rico et al., *J. Org. Chem.* 58 (1993) 7948) en 5 ml de DMF absoluta. Después de agitar a temperatura ambiente durante 30 minutos, se separó el disolvente a vacío y el residuo se recogió en acetato de etilo. La solución de acetato de etilo se lavó sucesivamente dos veces en cada caso con solución saturada de NaHCO₃ y agua. Después de secar la fase orgánica sobre sulfato sódico y filtrar, el disolvente se separó a vacío y el residuo se cromatografió en gel de sílice usando acetato de etilo. Después de concentrar las fracciones con producto, se obtuvieron 195 mg (72%) del compuesto del título.

25

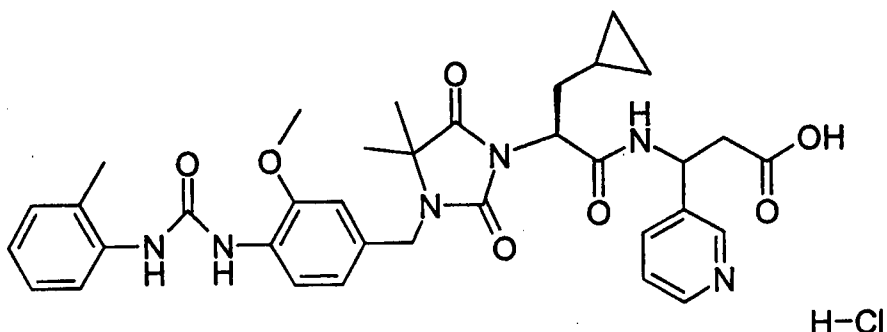
ES(+)-MS: 685,4 (M+H)⁺

Ejemplo 10

Hidrocloruro del ácido 3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-(3-piridil)propiónico

30

- 53 -

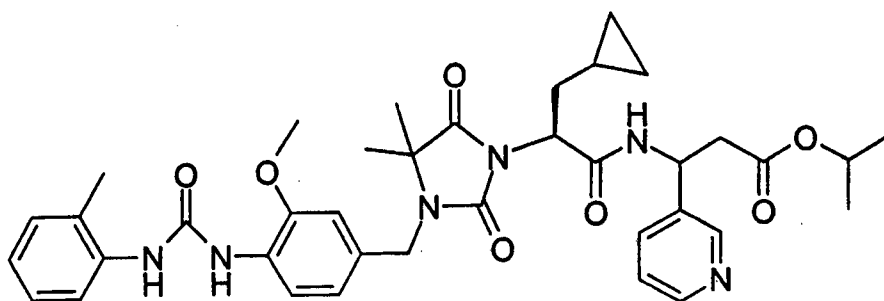


Se añadieron 0,82 ml (0,82 mmoles) de una solución acuosa de hidróxido de litio 1 M a una solución de 141 mg (0,206 mmoles) del compuesto del Ejemplo 9 en 7,25 ml de metanol, y la mezcla de reacción se dejó reposar toda la noche a temperatura ambiente. Después el metanol se separó a vacío, el residuo se ajustó a pH 2 usando ácido clorhídrico 1 N, y la mezcla se concentró a vacío. El residuo se cromatografió en gel de sílice usando diclorometano/metanol/ácido acético glacial/agua (95/5/0,5/0,5). Después de concentrar las fracciones con producto, el residuo se trató con 1,1 equivalentes de ácido clorhídrico 1 N y se liofilizó. Rendimiento: 120 mg (89%).

ES(+)-MS: 657,4 (M+H)⁺

Ejemplo 11

3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-(3-piridil)propionato de isopropilo



20

Se añadieron 56 μ l (0,731 mmoles) de isopropanol y 23,6 mg (0,193 mmoles) de 4-dimetilaminopiridina, a una suspensión de 80 mg (0,122 mmoles) del compuesto del Ejemplo 11 en 3 ml de diclorometano. Se añadieron 38 mg (0,183 mmoles) de DCC disueltos en 1 ml de diclorometano a la solución transparente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2

25

- 54 -

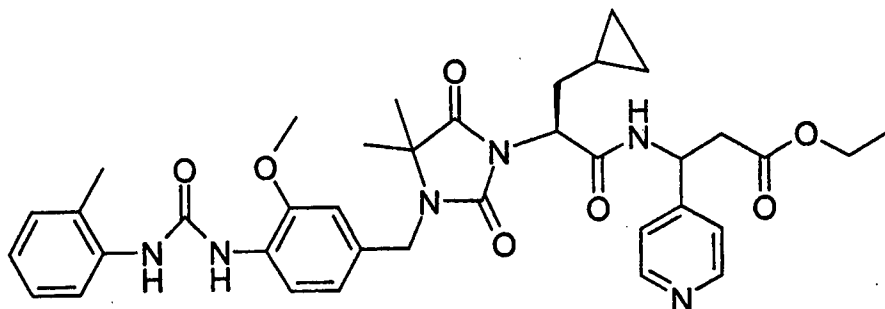
horas, la mezcla se dejó reposar toda la noche a temperatura ambiente. Después de filtrar, el filtrado se concentró a vacío y el residuo se cromatografió en gel de sílice usando heptano/acetato de etilo (3/1) y acetato de etilo/heptano (20/1). Después de concentrar las fracciones con producto, se obtuvieron 70

5 mg (82%) del compuesto del título.

ES(+)-MS: 699,4 (M+H)⁺

Ejemplo 12

10 3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-(4-piridil)propionato de etilo



15 El compuesto se preparó de forma análoga al Ejemplo 9, a partir de 200 mg (0,393 mmoles) de compuesto del Ejemplo 1d y 76,4 mg (0,393 mmoles) de 3-amino-3-(4-piridil)propionato de etilo (para la preparación véase J.G. Rico et al., *J. Org. Chem.* 58 (1993) 7948). Rendimiento: 199 mg (74%).

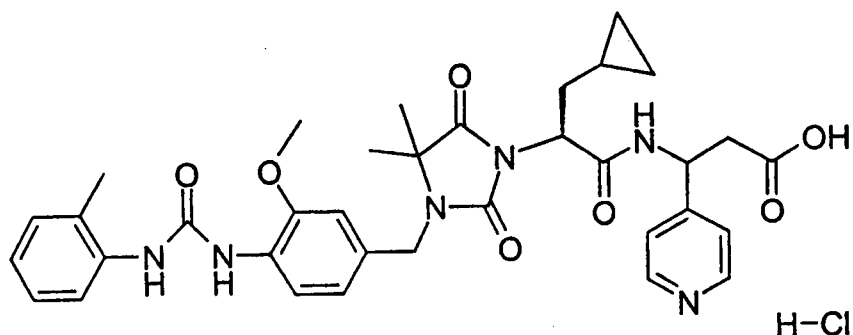
ES(+)-MS: 685,4 (M+H)⁺

20

Ejemplo 13

Hidrocioruro del ácido 3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-(4-piridil)propiónico

- 55 -

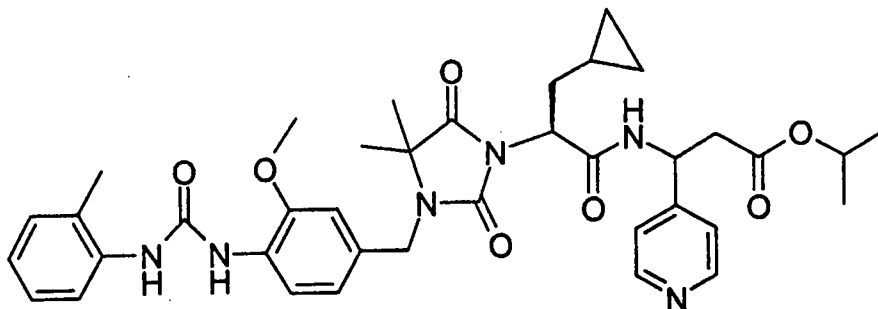


El compuesto se preparó de forma análoga al Ejemplo 10 a partir de 143 mg (0,209 mmoles) de compuesto del ejemplo 12. Rendimiento: 126 mg (87%).

5 ES(+)-MS: 657,2 (M+H)⁺

Ejemplo 14

3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-(4-piridil)propionato de isopropilo



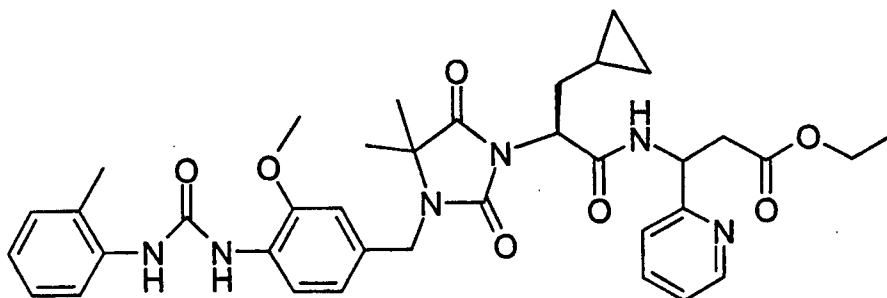
El compuesto se preparó de forma análoga al Ejemplo 11 a partir de 83 mg (0,126 mmoles) de compuesto del Ejemplo 13. Rendimiento: 34,6 mg (39%).

15 ES(+)-MS: 699,4 (M+H)⁺

Ejemplo 15

20 3-((S)-2-(4,4-Dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-(2-piridil)propionato de etilo

- 56 -

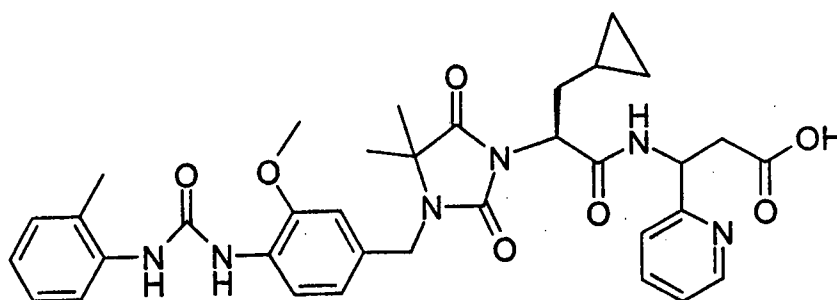


- El compuesto se preparó de forma análoga al Ejemplo 9 a partir de 200 mg (0,393 mmoles) de compuesto del ejemplo 1d y 76,4 mg (0,393 mmoles) de 3-amino-3-(2-piridil)propionato de etilo (para la preparación véase J.G. Rico et al., *J. Org. Chem.* 58 (1993) 7948). Rendimiento: 226 mg (84%).

ES(+)-MS: 685,4 (M+H)⁺

Ejemplo 16

- 10 Ácido 3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-(2-piridil)propiónico



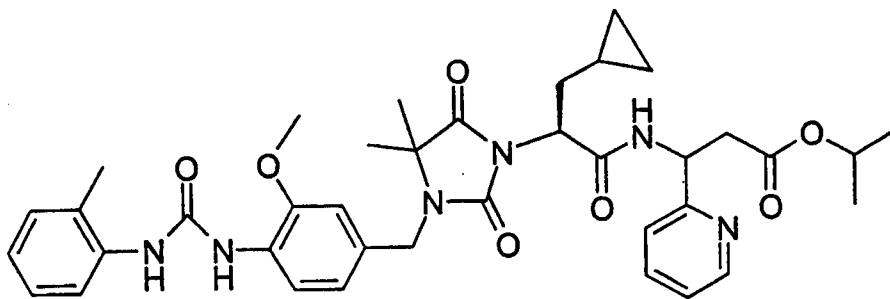
- 15 El compuesto se preparó de forma análoga al Ejemplo 10 a partir de 170 mg (0,248 mmoles) de compuesto del ejemplo 15, pero no se convirtió en el hidrocloreto por adición de ácido clorhídrico. Rendimiento: 160 mg (98%).

ES(+)-MS: 657,4 (M+H)⁺

Ejemplo 17

- 20 3-((S)-2-(4,4-dimetil-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-(2-piridil)propionato de isopropilo

- 57 -



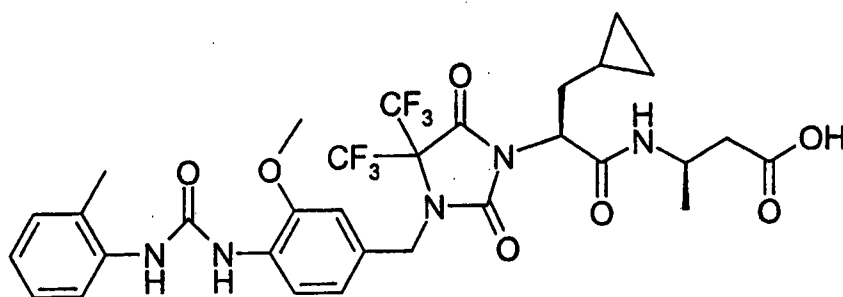
El compuesto se preparó de forma análoga al Ejemplo 11 a partir de 90 mg (0,137 mmoles) de compuesto del ejemplo 16. Rendimiento: 39 mg (41%).

5 ES(+)-MS: 699,4 (M+H)⁺

Ejemplo 18

Ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-metilpropiónico

10



18a) 2-terc-Butoxi-4,4-bis(trifluorometil)-1,3-oxazabuta-1,3-dieno

15

El compuesto se preparó de forma análoga a W. Steglich et al., *Chem. Ber.* 107 (1974), 1488-1498. Para preparar hexafluoroacetona anhidra (HFA), se añadió HFA trihidrato gota a gota en ácido sulfúrico concentrado que se había calentado a 80°C. El gas resultante se lavó una vez más con ácido sulfúrico concentrado y después se pasó al espacio de gas del matraz de reacción. Se ajustó un refrigerante de reflujo relleno con acetona/hielo seco a la salida de gas del matraz.

20

Como se ha descrito antes, se hizo reaccionar una solución de 20 g (170 mmoles) de carbamato de terc-butilo en 150 ml de diclorometano con HFA gaseoso anhidro hasta que se saturó la solución de la reacción. El disolvente se separó a vacío y el 2-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-1,1,1-

25

- 58 -

3,3,3-hexafluoropropano bruto resultante (rendimiento: 48,3 g, 100%) se usó en la siguiente etapa de reacción.

Se añadieron gota a gota 13,6 g de anhídrido trifluoroacético y posteriormente 5 gotas de quinolina a 0°C, a una solución de 50,05 g (176 mmoles) de 2-terc-butoxicarbonilamino-2-hidroxi-1,1,1,3,3,3-hexafluoropropano en 300 ml de éter dietílico. Después de agitar a 0°C durante 10 minutos, se añadieron gota a gota 27,2 g adicionales de anhídrido trifluoroacético. La mezcla de reacción se agitó a 0°C (temperatura externa) durante 30 minutos, subiendo la temperatura interna de la mezcla a 8-10°C. Después de enfriar a 0°C se añadieron 50,01 g (388 mmoles) de quinolina, empezando a cristalizar la sal del ácido trifluoroacético de quinolina. Después de agitar a 0°C durante 2 horas, la mezcla se filtró. La sal residual se separó del filtrado destilando a vacío en un recipiente colector enfriado con acetona/hielo seco. Después el destilado se destiló por una columna Vigreux. Se obtuvieron 36,2 g (77%) del compuesto del título. Punto de ebullición: 126-130°C.

18b) Éster terc-butilico de la (S)-β-ciclopropilalanina

Se añadieron 3,5 g (27,1 mmoles) de (S)-β-ciclopropilalanina a temperatura ambiente a una mezcla de 50 ml de dioxano y 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (preparado por adición gota a gota con precaución del ácido a dioxano a 5°C). La solución se transfirió a un tubo con cierre hermético en el que se habían condensando 40 ml de isobutileno a -78°C. El tubo con cierre hermético se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas en un agitador. Después de abrir el tubo con cierre hermético (enfriando), la mezcla de reacción se introdujo cuidadosamente en una mezcla agitada, enfriada a 0°C, de 30 ml de trietilamina y 50 ml de agua. Después de separar el exceso de isobutileno, el producto se extrajo con éter (2x50 ml). Después de secar las fases de éter sobre sulfato magnésico, filtrar y separar el disolvente a vacío, el producto bruto obtenido (aceite amarillo pálido) se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional. Rendimiento 4,2 g (84%).

18c) Éster terc-butilico de la (S)-N-formil-β-ciclopropilalanina

Una mezcla de 10 g (54 mmoles) de éster terc-butilico de la (S)-β-ciclopropilalanina y 4,7 g (55,2 mmoles) de formiato de cianometilo en 100 ml de diclorometano se agitó toda la noche a temperatura ambiente. Después de separar el disolvente a vacío, el residuo obtenido se destiló a vacío. Rendimiento: 8,8 g (76%). Punto de ebullición 210°C/40 Pa.

- 59 -

18d) (S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetato de terc-butilo

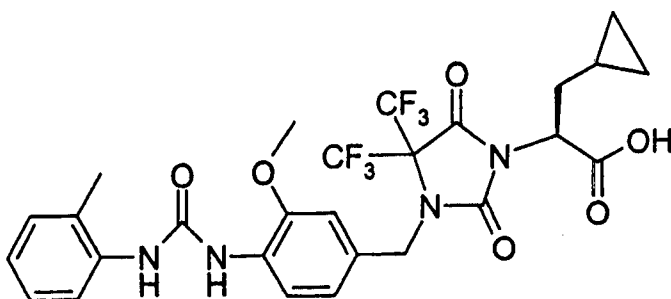
Se añadieron 2,4 g (12,1 mmoles) de difosgeno a -30°C a una solución de 2,5 g (11,7 mmoles) de éster terc-butílico del ácido (S)-N-formil-β-ciclopropilalanina y 2,5 g (24,7 mmoles) de trietilamina en 100 ml de diclorometano seco. La solución de la reacción se dejó calentar a -15°C en el transcurso de 1 hora, y se continuó agitando a esta temperatura hasta completar la reacción. Después la solución de la reacción se lavó dos veces a temperatura ambiente con solución de hidrogeno-carbonato sódico al 7% de concentración, y la fase orgánica se secó sobre sulfato magnésico. Después de filtrar, el disolvente se separó a vacío y el residuo se recogió en 70 ml de benceno. Se añadieron gota a gota 3,05 g (11,5 mmoles) de 2-terc-butoxi-4,4-bis(trifluorometil)-1,3-oxazabuta-1,3-dieno en 10 ml de benceno a esta solución a temperatura ambiente. La solución de la reacción se calentó toda la noche a 60°C y después se separó el benceno a vacío. El residuo se cromatografió en gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo = 8/1). Rendimiento: 3,7 g (78%). Punto de fusión: 76-77°C. $[\alpha]^{20} = -28^\circ$ (c = 1, CHCl₃).

18e) Ácido (S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acético

A una solución de 7 g (17,3 mmoles) del compuesto del Ejemplo 18d en 20 ml de diclorometano, se añadió a 10°C una mezcla de 30 ml ácido trifluoroacético y 50 ml de diclorometano, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de separar el ácido trifluoroacético y diclorometano a vacío, se obtuvieron 5,9 g (98%) del compuesto del título.

Punto de fusión: 123-125°C, $[\alpha]^{22} = -26^\circ$ (c = 2, metanol).

18f) Ácido (S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acético



30

- 60 -

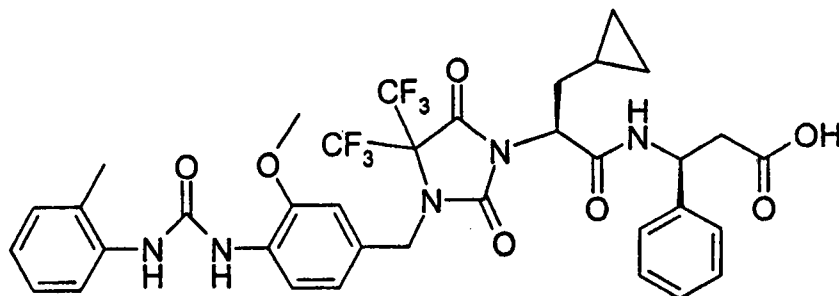
Se añadieron 3,2 ml de una solución de n-butil-litio (2,5 M en hexano) a -40°C en atmósfera de argón a una solución de 1,39 g (4 mmoles) del compuesto del Ejemplo 18e en 40 ml de THF absoluto. La mezcla de reacción se dejó calentar a 0°C con agitación, se añadió una solución de 2,43 g (8 mmoles) de cloruro de 4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencilo en 20 ml de THF absoluto, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se añadieron 20 ml de ácido clorhídrico 1 N y se separó el THF a vacío. La fase acuosa se extrajo dos veces con metil-terc-butil-éter. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, y después de filtrar, se concentraron a vacío. El residuo se purificó por HPLC preparativo. Después de concentrar las fracciones de producto y liofilizar, se obtuvieron 1,41 g (57%) del compuesto del título.

18g) Ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)-acetilamino)-3-metilpropiónico

El compuesto del título se puede obtener como se describe en los Ejemplos 1f y 1g, a partir del compuesto del Ejemplo 18f y (R)-3-aminobutanoato de terc-butilo por acoplamiento y posterior escisión del éster terc-butilico.

Ejemplo 19

Ácido (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-fenilpropiónico



19a) (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)acetilamino)-3-fenilpropionato de etilo

- 61 -

Se añadieron 748 mg (2,28 mmoles) de TOTU (tetrafluoroborato de O-((ciano(etoxicarbonil)metilen)amino)-N,N,N',N'-tetrametiluronio) y 368 µl de N,N-diisopropil-etilamina a 0°C a una solución de 1,41 g (2,28 mmoles) de compuesto del Ejemplo 18f y 442 mg (2,28 mmoles) de (S)-3-amino-3-
 5 fenilpropionato de etilo en 20 ml de dimetilformamida absoluta (DMF). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se separó la DMF a vacío, el residuo se recogió en acetato de etilo, y la solución de acetato de etilo se lavó sucesivamente con una solución acuosa de KHSO₄/K₂SO₄, una solución saturada de NaHCO₃ y agua. Después de secar la fase orgánica sobre sulfato
 10 sódico y filtrar, el disolvente se separó a vacío, y el residuo se cromatógrafió en gel de sílice usando heptano/acetato de etilo (3/2). Concentrando las fracciones con producto, se obtuvieron 1,48 g (82%) del compuesto del título.

19b) Ácido (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metil-
 15 fenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)-acetilamino)-3-fenilpropiónico

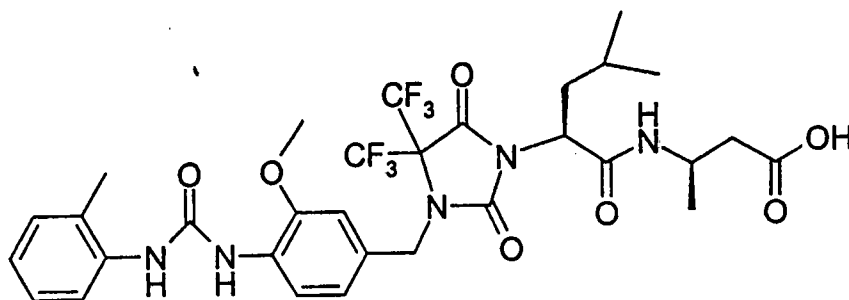
Una solución de 1,46 g (1,84 mmoles) de compuesto del Ejemplo 19a en 40 ml de N-metil-2-pirrolidona y 20 ml de ácido clorhídrico 6N se calentó a 60°C durante 6 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla
 20 de reacción se vertió en 300 ml de agua, y el precipitado se filtró con succión, se lavó con agua y se secó sobre pentóxido de fósforo. El producto bruto se cromatógrafió dos veces en gel de sílice (eluyente: diclorometano/metanol/ácido acético/agua = 95/5/0,5/0,5). Después de concentrar las fracciones con producto, el residuo se recogió en diclorometano
 25 y la fase orgánica se lavó con agua y se secó sobre sulfato sódico. Después de filtrar, separar el disolvente a vacío y liofilizar, se obtuvieron 1,19 g (85%) del compuesto del título.

ES(+)-MS: 764,2 (M+H)⁺

30 Ejemplo 20

Ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(metilpropil)acetilamino)-3-metil-
 propiónico

- 62 -



20a) Éster terc-butílico de la N-formil-L-leucina

La preparación se llevó a cabo de forma análoga a W. Duczek et al.,
 5 *Synthesis* 1996, 37-38. Se añadió una solución de 4,04 g (40 mmoles) de trietilamina en 10 ml de diclorometano a 0°C, a una solución de 8,94 g (40 mmoles) de hidrocloreto del éster terc-butílico de L-leucina y 3,4 g (40 mmoles) de formiato de cianometilo en 60 ml de diclorometano. La solución de la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, se agitó toda la noche a
 10 temperatura ambiente y después se lavó dos veces con solución saturada de NaCl. Las fases se separaron y la fase orgánica se secó sobre sulfato magnésico. Después de filtrar y separar el disolvente a vacío, el residuo obtenido se destiló a vacío. Rendimiento: 7,5 g (87%). Punto de ebullición: 118°C/2,7 Pa.

15

20b) (S)-2-(4,4-Bis(trifluorometil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(2-metil-propil)acetato de terc-butilo

Se añadieron 2,4 g (12,1 mmoles) de difosgeno a -30°C a una solución de 2,5 g (11,6 mmoles) de éster terc-butílico de la N-formil-L-leucina y 2,5 g
 20 (24,7 mmoles) de trietilamina en 100 ml de diclorometano seco. La solución de la reacción se dejó calentar a -10°C en el transcurso de 1 hora, y se continuó agitando a esta temperatura hasta completar la reacción. Después la solución de la reacción se lavó dos veces a temperatura ambiente con solución de hidrógeno-carbonato sódico al 7% de concentración. Las fases se separaron y
 25 la fase orgánica se secó sobre sulfato magnésico. Después de filtrar el disolvente se separó a vacío y el residuo se recogió en 70 ml de benceno. Se añadieron gota a gota a esta solución 3 g (11,3 mmoles) de 2-terc-butoxi-4,4-bis(trifluorometil)-1,3-oxazabuta-1,3-dieno en 10 ml de benceno, a temperatura ambiente. La solución de la reacción se calentó a 60°C toda la noche y
 30 después se separó el benceno a vacío. Después de cromatografía del residuo en gel de sílice (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo =10/1)), se

- 63 -

obtuvieron 3,7 g (80%) del compuesto del título. Punto de fusión: 105-106°C-
 $[\alpha]^{20} = -24^\circ$ (c = 1, CHCl_3).

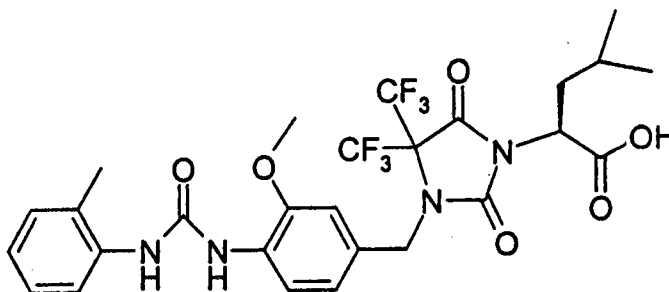
20c) Ácido (S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(2-
 5 metilpropil)acético

Se añadió una solución de 7 g (17,2 mmoles) del compuesto del
 Ejemplo 20b en 20 ml de diclorometano a 10°C, a una mezcla de 30 ml de
 ácido trifluoroacético y 50 ml de diclorometano y la mezcla de reacción se agitó
 a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de separar el ácido
 10 trifluoroacético y diclorometano a vacío, se obtuvieron 6,0 g (99%) del
 compuesto del título. Punto de fusión: 154-156°C. $[\alpha]^{22} = -23^\circ$ (c = 2, metanol).

20d) Ácido (R)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)-
 ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(metilpropil)-acetilamino)-3-
 15 metilpropiónico

El compuesto del título se preparó como se describe en los Ejemplos 1f
 y 1g, a partir de 500 mg (0,809 mmoles) de ácido (S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-
 3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-
 (metilpropil)acético de fórmula

20



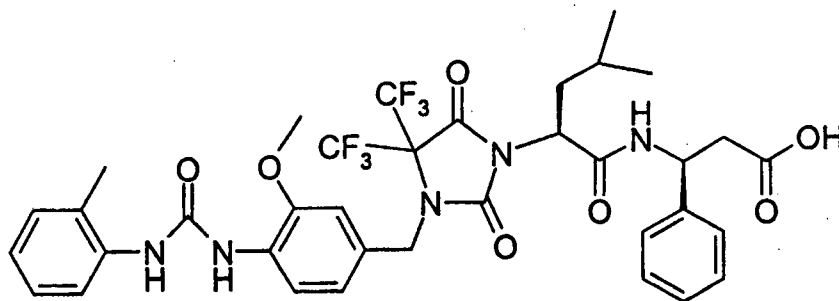
que se había preparado a partir de ácido (S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)- 2,5-
 dioxoimidazolidin-1-il)-2-(metilpropil)acético y cloruro de 4-(3-(2-metil-
 25 fenil)ureido)-3-metoxibencilo como se describe en el Ejemplo 18f, y 128 mg
 (0,809 mmoles) de (R)-3-aminobutanoato de terc-butilo. Después de
 acoplamiento, purificación por cromatografía en gel de sílice (eluyente:
 heptano/acetato de etilo = 3/2) y escisión del éster de terc-butilo, se obtuvieron
 299 mg (53%) del compuesto del título.

30 ES(+)-MS: 704,5 (M+H)⁺

Ejemplo 21

Ácido (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(metilpropil)-acetilamino)-3-fenilpropiónico

5



21a) (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(metilpropil)-acetilamino)-3-fenilpropionato de etilo

Se añadieron 1,89 g (5,77 mmoles) de TOTU y 932 µl de N,N-diisopropiletilamina a 0°C a una solución de 3,57 g (5,77 mmoles) de ácido (S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(metilpropil)acético (preparado a partir de ácido (S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(metilpropil)acético y cloruro de 4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencilo como se describe en el Ejemplo 18f), y 1,11 g (5,77 mmoles) de (S)-3-amino-3-fenilpropionato de etilo en 30 ml de DMF absoluta. Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, se separó la DMF a vacío, el residuo se recogió en acetato de etilo y la solución de acetato de etilo se lavó sucesivamente con solución acuosa de KHSO₄/K₂SO₄, una solución saturada de NaHCO₃ y agua. Después de secar la fase orgánica sobre sulfato sódico y filtrar, el disolvente se separó a vacío y el residuo se cromatografió en gel de sílice usando acetato de etilo/heptano (2/3). Después de concentrar las fracciones con producto, se obtuvieron 3,26 g (71%) del compuesto del título.

21b) Ácido (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(metilpropil)-acetilamino)-3-fenilpropiónico

Se añadieron 45 ml de ácido clorhídrico 6N a una solución de 3,25 g (4,09 mmoles) del compuesto del Ejemplo 21a en 90 ml de N-metil-2-

- 65 -

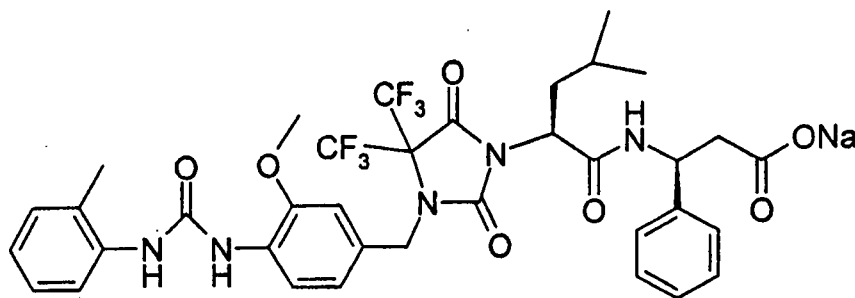
pirrolidona, y la mezcla se calentó a 60°C durante 6 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se vertió en 60 ml de agua. El precipitado se filtró con succión, se lavó con agua y se secó sobre pentóxido de fósforo. Después de purificar por cromatografía dos veces el producto bruto en gel de sílice (eluyente: diclorometano/metanol/ácido acético/agua = 95/5/0,5/0,5) y

5 concentrar las fracciones con producto, el residuo se recogió en diclorometano, La fase orgánica se lavó dos veces con agua y se secó sobre sulfato magnésico. Después de filtrar, concentrar y liofilizar, se obtuvieron 2,7 g (86%) del compuesto del título.

10 ES(+)-MS: 766,2 (M+H)⁺

Ejemplo 22

Sal sódica del ácido (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-
 15 metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(metilpropil)-
 acetilamino)-3-fenilpropiónico



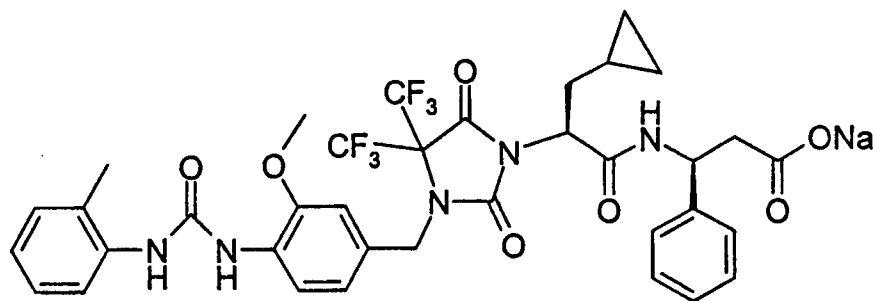
Se añadieron 1,24 ml de solución de hidróxido sódico 1N (diluido con 20
 20 ml de agua) con agitación a una suspensión de 1 g (1,3 mmoles) del
 compuesto del Ejemplo 21 en 100 ml de acetonitrilo y 200 ml de agua.
 Después de liofilizar la solución, se obtuvieron 1,01 g (79%) del compuesto del
 título.

ES(+)-MS: 766,2 (ácido 3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-
 25 metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(2-metilpropil)-
 acetilamino)-3-fenilpropiónico+H)⁺

Ejemplo 23

Sal sódica del ácido (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-
 30 metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioxoimidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)-
 acetilamino)-3-fenilpropiónico

- 66 -



5 A partir de 720 mg de compuesto del Ejemplo 19b, de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 22, se obtuvieron 720 mg (99%) del compuesto del título.

ES(+)-MS: 764,3 (ácido (S)-3-((S)-2-(4,4-bis(trifluorometil)-3-(4-(3-(2-metilfenil)ureido)-3-metoxibencil)-2,5-dioximidazolidin-1-il)-2-(ciclopropilmetil)-acetilamino)-3-fenilpropiónico+H)⁺

10 Investigación de la actividad biológica

A) Ensayo de adhesión celular U937/VCAM-1

15 El método de ensayo usado para la actividad de los compuestos de fórmula I en la interacción entre VCAM-1 y VLA-4 es el ensayo descrito a continuación, que es específico para esta interacción. Los componentes de unión celular, es decir, las integrinas VLA-4, son suministradas en su forma natural como moléculas de superficie en células humanas U937 (ATCC CRL 1593), que pertenecen al grupo de los leucocitos. Como componentes de unión específicos, se usan proteínas de fusión recombinantes solubles preparadas por ingeniería genética, que constan del dominio extracitoplasmático de VCAM-1 humano y la región constante de una inmunoglobulina humana de subclase IgG1.

20 Ensayo para medir la adhesión de células U937 (ATCC CRL 1593) a hVCAM-1(1-3)-IgG

25

1. Preparación de VCAM-1(1-3)-IgG humano y CD4-IgG humano

30 Se usó una construcción genética para expresar el dominio extracelular de VCAM-1 humano, combinado con la secuencia genética de la cadena pesada de la inmunoglobulina humana IgG1 (regiones bisagra, CH2 y CH3) (de Dr. Brian Seed, Massachusetts General Hospital, Boston, USA; Damle and Aruffo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991, 88, 6403). La proteína de fusión

soluble hVCAM-1(1-3)-IgG contenía los tres dominios extracelulares de amino terminal tipo inmunoglobulina de VCAM-1 humano (Damle and Aruffo, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991, 88, 6403). CD4-IgG (Zettlmeissl et al., *DNA and Cell Biology* 1990, 9, 347) servía como una proteína de fusión para testigos negativos. Las proteínas recombinantes se expresaron como proteínas solubles después de la transfección de DNA mediada por DEAE/dextrano en células COS (ATCC CRL 1651) de acuerdo con procedimientos patrón (Ausubel et al., *Current protocols in molecular biology*, John Wiley & Sons, Inc., 1994).

10

2. Ensayo para medir la adhesión de células U937 a hVCAM-1(1-3)-IgG

2.1 Se incubaron placas de ensayo de microvaloración de 96 pocillos (Nunc Maxisorb) a temperatura ambiente durante 1 hora con 100 µl/pocillo de una solución de anticuerpo de IgG anti-humano de cabra (10 µg/ml en tris 50 mM, pH 9,5). Después de separar la solución de anticuerpo, se llevó a cabo un lavado con PBS.

15

2.2 Se incubaron 150 µl/pocillo de un tampón de bloqueo (BSA al 1% en PBS) en las placas a temperatura ambiente durante 0,5 horas. Después de separar el tampón de bloqueo, se llevó a cabo un lavado con PBS.

20

2.3 Se incubaron 100 µl por pocillo de un líquido sobrenadante de cultivo celular de células COS transfectadas, en placas a temperatura ambiente durante 1,5 horas. Las células COS se transfectaron con un plásmido que codifica los tres dominios N-terminales tipo inmunoglobulina de VCAM-1, acoplados a la parte Fc de la IgG₁ humana (hVCAM-1(1-3)-IgG). El contenido de hVCAM-1(1-3)-IgG era aproximadamente 0,5-1 µg/ml. Después de separar el líquido sobrenadante del cultivo, se llevó a cabo un lavado con PBS.

25

2.4. Las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 20 minutos con 100 µl/pocillo de tampón de bloqueo del receptor Fc (1 mg/ml γ-globulina, NaCl 100 mM, MgCl₂ 100 µM, MnCl₂ 100 µM, CaCl₂ 100 µM, 1 mg/ml de BSA en HEPES 50 mM, pH 7,5). Después de separar el tampón de bloqueo del receptor Fc, se llevó a cabo un lavado con PBS.

30

2.5 Se introdujeron 20 µl de tampón de unión (NaCl 100 mM, MgCl₂ 100 µM, MnCl₂ 100 µM, CaCl₂ 100 µM, 1 mg/ml de BSA en HEPES 50 mM, pH 7,5), las sustancias que se van a ensayar se añadieron en 10 µl de tampón de unión y se llevó a cabo la incubación durante 20 minutos. Sirvieron como

35

testigo anticuerpos frente a VCAM-1 (BBT, No. BBA6) y frente a VLA-4 (Immunotech, No. 0764).

2.6 Se incubaron células U937 durante 20 minutos en un tampón de bloqueo de receptor Fc, y después se añadieron con pipeta en una
5 concentración de 1×10^6 /ml y en una cantidad de 100 μ l por pocillo (volumen final 125 μ l/pocillo).

2.7 Las placas se sumergieron lentamente con un ángulo de 45° en tampón de parada (NaCl 100 mM, MgCl₂ 100 μ M, MnCl₂ 100 μ M, CaCl₂ 100 μ M en tris 25 mM, pH 7,5) y se agitaron. Se repitió el procedimiento.

10 2.8 Después se incubaron 50 μ l/pocillo de una solución colorante (16,7 μ g/ml de colorante Hoechst 33258, formaldehído al 4%, Triton X-100 al 0,5% en PBS) en las placas durante 15 minutos.

2.9 Las placas se agitaron y se sumergieron lentamente con un ángulo de 45° en un tampón de parada (NaCl 100 mM, MgCl₂ 100 μ M, MnCl₂
15 100 μ M, CaCl₂ 100 μ M en tris 25 mM, pH 7,5). Se repitió el procedimiento. Después, con el líquido presente (tampón de parada), se midieron las placas en un citofluorímetro (Millipore) (sensibilidad: 5, filtro: longitud de onda de excitación: 360 nm, longitud de onda de emisión: 460 nm).

La intensidad de la luz emitida por las células U937 teñidas es una
20 medida del número de células U937 adheridas a hVCAM-1(1-3)-IgG y que quedan en la placa, y por lo tanto una medida de la capacidad de la sustancia de ensayo añadida para inhibir esta adhesión. A partir de la inhibición de la adhesión a diferentes concentraciones de la sustancia de ensayo, se calculó la CI_{50} que conduce a un 50% de inhibición de la adhesión.

25

3. Resultados

Los siguientes resultados se obtuvieron en el ensayo de adhesión celular U937/VCAM-1 (valores de CI_{50} en nM (nanomoles/litro)).

30

35

- 69 -

Compuesto de ejemplo nº	Cl ₅₀ (nM)
1	0,3
2	0,5
5	25,9
7	2,1
10	0,6
13	1,8
16	0,9
19	4,4

Las propiedades farmacológicas de los compuestos de fórmula I también se pueden investigar en los siguientes modelos.

5 B) Adhesión de leucocitos en la rata

En el modelo de adhesión de leucocitos en la rata, se investiga la influencia de los compuestos de fórmula I en la adhesión de leucocitos en vénulas de rata. La adhesión de leucocitos en el endotelio de vénulas postcapilares se considera una etapa importante en reacciones inflamatorias (J.M. Harlan, *Blood* 1985, 65, 513). En el reclutamiento de leucocitos de la sangre en zonas inflamadas, se produce una secuencia dinámica bien coordinada de sucesos en la que las citoquinas quimiotácticas y las moléculas de adhesión celular juegan un papel activo. Se ha encontrado que las interacciones VCAM-1/VLA-4 juegan un papel crucial en la adhesión y emigración de leucocitos, y en la mayor permeabilidad de los vasos a macromoléculas que son inducidas por diferentes sustancias mediadoras y citoquinas (D. Seiffge, *Int. J. Microcirc.* 1995, 15, 301). En el presente modelo, se produce una inflamación generalizada o artritis reumatoide que conduce a una adhesión de los leucocitos y a su emigración a zonas enfermas del órgano, por inyección local o sistémica de endotoxinas, por ejemplo zimosan, toxinas bacterianas tales como lipopolisacáridos (LPS) o adyuvante de Freund. Se determina la mayor adhesión al endotelio de las vénulas producida por la endotoxina.

Para determinar la adhesión de leucocitos, se usa un microscopio de cámara invertida (Zeiss) que está equipado con un sistema de vídeo. Se inyecta zimosan o endotoxinas bacterianas en ratas macho Sprague-Dawley (peso corporal aproximadamente 250 g) bajo premedicación con halotano. Los animales testigo recibieron un volumen idéntico de solución salina al 0,9% de

- 70 -

concentración. Después se administra a los animales la sustancia de ensayo vía subcutánea u oral como una dosis individual o como una dosis múltiple. Para llevar a cabo la medición, las ratas se anestesian por inyección intramuscular de 1,25 g/kg de uretano. Se deja que respiren espontáneamente por un tubo traqueal. La temperatura corporal se mantiene a 37°C mediante una pastilla calefactora regulada. Se expone cuidadosamente el mesenterio en una ventana con termostato de la fase del microscopio mediante una incisión hipogástrica y se recubre con parafina líquida a 37°C. La zona ileocecal del mesenterio se mantiene en posición usando tres agujas de punta roma y arcilla plástica. Después de un periodo de 30 minutos de equilibrado, durante el cual se deja que el tejido se estabilice, se determina la adhesión de leucocitos en las vénulas postcapilares de 20-30 μm de diámetro y aproximadamente 100 μm de longitud, contando en 2-3 segmentos de las vénulas en intervalos de 10 minutos durante 1 hora. Se considera que un leucocito se adhiere al endotelio si está fijo durante más de 30 segundos. Después del experimento, se determina el recuento sistémico de leucocitos y el contenido de fibrinógeno de la sangre. La inhibición de la adhesión de leucocitos por la sustancia de ensayo se indica por la disminución (en %) del número de leucocitos adherentes en los animales tratados comparado con el número en los animales testigo.

20

c) Hipersensibilidad de tipo retardado en el ratón

En el modelo de hipersensibilidad de tipo retardado (DTH, por sus siglas en inglés), se investiga la acción antialérgica o antiinflamatoria de los compuestos de fórmula I. La DTH es una reacción inflamatoria de la piel que es inducida por sensibilización con sustancias antígenas. Con el fin de determinar la correspondiente reacción inflamatoria y el reclutamiento de leucocitos en la zona inflamada in vivo, se ensayan las sustancias en el siguiente modelo de DTH en el ratón (véase también T.B. Issekutz, *J. Immunol.* 1991, 147, 4178).

30

Grupos de ratones BALB/c hembras (peso corporal aproximadamente 20 g) se sensibilizan vía epicutánea en una parte afeitada de la piel con 150 μl de una solución al 3% de concentración de oxazolona, que induce una fuerte reacción inflamatoria de DTH. 6 días después, la reacción se estimula por administración de 20 μl de una solución de oxazolona al 1% de concentración en la oreja derecha de los animales. Las sustancias de ensayo se administran vía subcutánea u oral, en cada caso 44 horas antes del estímulo de la reacción, 20 horas antes del estímulo y 4 horas después del estímulo.

35

- 71 -

Directamente antes del estímulo de la reacción y 24 horas después del estímulo, se mide en la oreja derecha el grosor de la oreja alterada debido al hinchamiento inflamatorio de la oreja, usando un micrómetro Mitutoyo Engineering. Se determina la diferencia entre estas dos medidas para cada animal del grupo. Se comparan por una parte los valores medios de las diferencias de un grupo de animales tratado con la sustancia de ensayo, y por otra parte de un grupo testigo no tratado. Como medida del efecto de la sustancia, se indica el porcentaje de inhibición de hinchamiento de la oreja.

10 D) Acción antiasmática en el cobayo

El efecto en la función pulmonar y la acción antiasmática de los compuestos de fórmula I se puede determinar en un modelo de cobayo que sigue el método descrito por G. Mosacevic, *Arch. Toxicol.* 1975, 34,1. Para esto, se llevan a cabo las preparaciones técnicas para la investigación de acuerdo con los detalles descritos por Moacevic. Se usan cobayos macho albinos con un peso corporal de 300-500 g. Los animales se ponen en un pletismógrafo (de FMI) y se registran tres valores iniciales de los parámetros de velocidad respiratoria y amplitud respiratoria. En este modelo la respiración asmática se caracteriza por la disminución de la amplitud respiratoria (= disminución del volumen respiratorio debido a la bronquiokonstricción) y aumento de la velocidad respiratoria (=reacción refleja). Este estado en los pacientes de asma se conoce como disnea.

Los cobayos albinos se sensibilizan 22 días antes de empezar el estudio con 1 ml por animal de una solución de ovalbúmina al 0,1% de concentración en dos días sucesivos. El ataque de asma experimental es inducido por inhalación de una solución de ovalbúmina al 0,3% de concentración durante 1 minuto. Después de una fase de recuperación de 40-60 minutos, los animales inhalan la sustancia de ensayo en forma de una solución acuosa. Inmediatamente después, se administra solución de ovalbúmina al 0,3% de concentración durante 1 minuto. En la siguiente fase de recuperación de 30 minutos, los animales respiran aire normal. Este procedimiento se repite dos veces. Si los ataques de asma amenazan la vida, se administra oxígeno a los animales.

Se puede determinar el efecto antiasmático en ovejas, por ejemplo, como describen Abraham et al., *J. Clin. Invest.* 1994, 93, 776.

E) La acción antiaterosclerótica se puede investigar en los siguientes modelos animales.

Modelo de brazal de formación de neoíntima

Los ratones de tipo salvaje de cepa C57BL/6J son suministrados por el
5 servicio de cría de Charles River Wiga GmbH (Sulzfeld, FRG) y los ratones KO
homozigotos de cepa C57BL/6J-ApoE tm 1 Unc (ApoE KO) son suministrados
por The Jackson Laboratory (Maine, USA). Todos los ratones tienen entre 10 y
12 semanas de edad al inicio del experimento y se mantienen en habitaciones
completamente climatizadas a una temperatura de 22°C. La fase de día/noche
10 del programa de luz controlado se ajusta a un periodo de 12 horas. Los ratones
primero se anestesian con 60 mg/kg de peso corporal de pentobarbital sódico
i.p. Después cada animal recibe adicionalmente 0,01 mg/10g de peso corporal
de xilazina i.m.

Los ratones se fijan en posición supina, y se afeitan y desinfectan las
15 superficies interiores de ambas patas traseras. Después se abre la piel de la
cara interior del muslo izquierdo mediante una incisión longitudinal de
aproximadamente 1 cm y se aísla la arteria femoral del tejido que la rodea y de
la vena femoral y el nervio ciático. Después se corta un trozo de tubo de
polietileno de aproximadamente 2 mm de longitud (diámetro interno 0,58 mm,
20 diámetro externo 0,965 mm, Becton Dickinson, Sparks, MD, USA) de acuerdo
con la longitud y se pone alrededor de la arteria femoral y se fija con hilo
Prolene (7/0, 0,5 métrico de Ethicon, Norderstedt, FRG). Posteriormente se
vuelve a cerrar la piel mediante una sutura continua. La pata trasera derecha
se opera de manera análoga, pero sin poner un brazal alrededor de la arteria
25 femoral. Posteriormente el animal se devuelve a su jaula. A partir de la
operación, los animales se tratan diariamente con la sustancia de ensayo.

Al final del experimento, los ratones se anestesian otra vez con 60
mg/kg de peso corporal de pentobarbital sódico i.p., y 0,01 mg/10 g de peso
corporal de xilazina i.m. Para fijar los vasos in situ, cada ratón recibe después
30 una inyección de solución de formalina al 4% de concentración en la aorta
abdominal. Después se quitan las arterias femoral derecha e izquierda. En el
lado izquierdo, se quita la parte de la arteria que incluye la sección de
aproximadamente 1 mm próxima al brazal, la sección encerrada por el propio
brazal y la sección del vaso que dista 1 mm. En el lado derecho, esta parte
35 corresponde a la sección que sólo se aísla durante la operación, pero no se
encierra con un brazal.

- 73 -

La parte de las arterias femoral izquierda y derecha fijada en solución de formalina al 4% de concentración se sumerge en parafina. Se preparan una serie de secciones transversales de tejido de la sección de arteria izquierda encerrada por el brazal, y de la correspondiente sección de la arteria derecha testigo, que después se tiñen con hematoxilina y eosina para el análisis morfológico asistido por software (LeicaQWin de Leica Imaging Systems, Cambridge, GB).

Se evalúan para cada ratón tres secciones transversales de tejido de la zona de la arteria femoral izquierda encerrada por el brazal y tres secciones transversales de tejido de la correspondiente zona de la arteria derecha testigo. Después de marcar la lámina elástica externa, la lámina elástica interna y el borde entre el lumen y el endotelio, se calculan las siguientes áreas con el programa de análisis: lumen, neointima y media. El tamaño de estas áreas se indica en unidades de μm^2 . El efecto de un compuesto se indica por la reducción de la proporción neointima/media en comparación con el grupo testigo.

Trasplante de corazón

En el modelo de trasplante de corazón alogénico, se llevan a cabo trasplantes entre dos cepas de ratas genéticamente incompatibles. Para este propósito, se usan ratas Wistar-Furth como animales donantes y ratas Lewis como animales receptores. Los animales se obtienen del servicio de cría de Charles River Wiga GmbH (Sulzfeld, FRG). Ratas macho Lewis de 270-330g y de 2,5 a 3 meses de edad, y ratas Wistar-Furth macho de 200-250 g y de 1,5 a 2 meses de edad, se mantienen en condiciones controladas constantemente (temperatura 19-22°C; humedad relativa 50-55%; la fase de día/noche del programa de luz controlada se ajusta a un periodo de 12 horas).

Para la operación, las ratas recibieron una combinación de 3,3 mg/kg de peso corporal de xilazina y 115 mg/kg de peso corporal de ketamina. Después del inicio de la acción anestésica, se abre el abdomen del receptor mediante incisión. Se separan la aorta abdominal y la vena cava inferior entre la arteria y la vena renal y los vasos iliolumbales. Después la aorta se cierra cranealmente usando un clip de vasos. Se pone un hilo de seda caudalmente alrededor de ambos vasos y se aprieta. Hay un segundo hilo de seda sin apretar alrededor del extremo craneal de la vena cava inferior. Después de abrir la cavidad abdominal, el animal donante se mata cortando los vasos abdominales mayores. Este momento señala el inicio del periodo isquémico del órgano del

- 74 -

donante. Después se abre el diafragma y se saca el corazón. La vena cava superior e inferior se liga y corta en el lado de la ligadura distal del corazón. Se lleva a cabo una ligadura de masa de las venas pulmonares usando un hilo de seda. Después la arteria pulmonar y aorta se sacan con fórceps y se cortan.

5 Después se eliminan los residuos de sangre en el sistema vascular del trasplante. Después se levanta el corazón, se extrae junto con la ligadura de masa del pulmón y se almacena en solución de NaCl fisiológica fría durante de uno a dos minutos. Después se lleva a cabo una anastomosis lateroterminal de la aorta y de la arteria pulmonar del órgano del donante con la arteria

10 abdominal y vena cava inferior respectivamente del animal receptor. Después de completar la anastomosis de vasos, se liberan sucesivamente la circulación venosa seguida de la circulación arterial. Finalmente, se vuelve a cerrar la cavidad abdominal, usando una sutura de peritoneo/músculo y una sutura de piel. Después de liberar la circulación sanguínea y una corta fase de

15 recuperación, el corazón transplantado late con una velocidad sinusal de aproximadamente 100 a 120 latidos/minuto. Se administra ciclosporina A (CSA) para la inmunodepresión vía subcutánea (s.c.) u oral con el agua de beber. Después de superar el periodo de rechazo agudo, la dosis se puede reducir de 25 mg/kg de peso corporal a partir del 15º día p.op. a 5 mg/kg de

20 peso corporal. Las inyecciones se realizan una vez al día por la mañana en la zona del cuello de los animales.

El cambio de administrar CSA s.c. a administrar CSA oral se produce el día 22 p.op. con el fin de haber superado de forma segura el periodo de rechazo agudo. La sustancia que se va a investigar se administra durante 100

25 días a partir de la operación. Después de finalizar el intervalo de tiempo de observación (100 días), los animales se anestesian y se abre la cavidad abdominal. Después se extrae el corazón protegiendo los cabos de vasos de los vasos abdominales, se corta en láminas y se almacenan en solución de formalina al 4%. Después de fijar las láminas de corazón, se sumergen en

30 parafina y se tiñe la elástica de acuerdo con la técnica histológica de van Gieson patrón. Se lleva a cabo la clasificación de la proliferación de neoíntima y la constricción del lumen vascular asociado con ésta, de acuerdo con Adams et al. (*Transplantation* 1993, 56, 794). Se clasifican las adhesiones entre la lámina elástica interna y el endotelio. El colorante especial de acuerdo con van

35 Gieson que enfatiza selectivamente las fibras elásticas facilita la valoración. El efecto de un compuesto se indica por la reducción de la proliferación de

- 75 -

neointima, y por lo tanto de la aterosclerosis del trasplante en comparación con el grupo testigo.

Modelo de aterosclerosis en ratones knockout (KO) ApoE

Los ratones KO homocigotos de la cepa C57BL/6J-ApoE^{tm1Unc} (ApoE KO) son suministrados por The Jackson Laboratory (Maine, USA). Todos los ratones tienen entre 10 y 12 semanas de edad al inicio del experimento, y se mantienen en lechos patrón para animales de laboratorio (Altromin, Lage, FRG) en habitaciones completamente climatizadas a una temperatura de 22°C. La fase de día/noche del programa de luz controlado se ajusta a un periodo de 12 horas. Los animales se tratan con la sustancia de ensayo durante 4 meses. Al final del experimento, se anestesian los ratones con 60 mg/kg de peso corporal de pentobarbital sódico i.p. y 0,01 mg/10 g de peso corporal de xilazina i.m. Después se extraen el corazón y arco aórtico y la aorta torácica descendente y se fijan en solución de formalina al 4% de concentración. La aorta descendente se trata con Aceite Rojo O para teñir lesiones con grasa. El análisis morfométrico de las lesiones con grasa se lleva a cabo usando un microscopio (tipo Leitz DM RBE de Leica, Bensheim), con una cámara unida que tiene una unidad de control (tipo CF 15 MCC, Kappa Meßtechnik, Gelichen) y un ordenador (Leica, Bensheim). Las mediciones se llevan a cabo con ayuda de un programa de ordenador para análisis de imágenes (LeicaQWin de Leica Imaging Systems, Cambridge, GB). Se cortan el corazón y el arco aórtico longitudinalmente y se tiñen con hematoxilina y eosina para el análisis morfométrico. En cada caso se analizan 15-20 secciones. Se estudian los macrófagos y linfocitos T inmunohistoquímicamente en otras secciones. El efecto de un compuesto se indica por la reducción de la formación de placa en la aorta en comparación con el grupo testigo.

F) Se puede investigar la acción cardioprotectora, por ejemplo, en el siguiente modelo animal.

30 Infarto cardiaco en la rata

Se obtienen ratas macho Wistar del servicio de cría Charles River Wiga GmbH (Sulzfeld, FRG) con una edad de 2,5 a 3 meses y que tienen un peso corporal de 270-330 g. Los animales se mantienen en condiciones controladas constantemente (temperatura 19-22°C; humedad relativa 50-55%; la fase de día/noche del programa de luz controlado se ajusta a un periodo de 12 horas). Para la operación, las ratas reciben una combinación de 3,3 mg/kg de peso corporal de xilazina y 115 mg/kg de peso corporal de ketamina. Después los

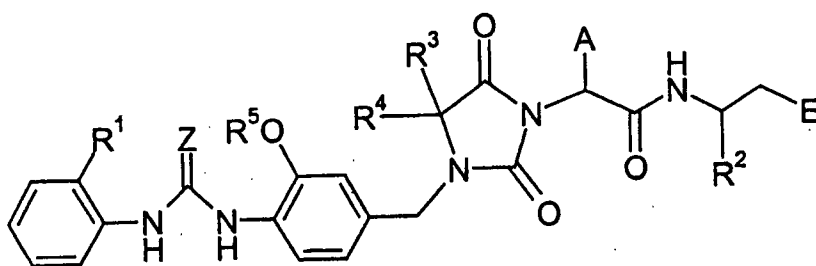
- 76 -

animales se intuban y ventilan con oxígeno al 30%. Se afeita el tórax, se desinfecta y abre mediante una toracostomía lateral izquierda. La arteria coronaria izquierda se liga permanentemente 2-3 mm por debajo de la aurícula izquierda del corazón durante 48 horas o 4 semanas, o se liga durante 30 minutos y se realiza reperfusión durante 47,5 horas o 4 semanas.

Después de la operación se vuelve a cerrar el tórax y los animales se desentuban después de empezar la respiración espontáneamente. La sustancia de ensayo se administra 30 minutos después de la ligadura o inmediatamente antes de la reperfusión. Después los animales se tratan diariamente con la sustancia de ensayo. Al final del experimento, los animales se anestesian otra vez con una combinación de 3,3 mg/kg de peso corporal de xilazina y 115 mg/kg de peso corporal de ketamina. Para analizar el movimiento de las paredes, se investigan los animales en cuyos corazones se ha realizado reperfusión, mediante "Formación de imágenes de resonancia magnética nuclear". En los animales con corazones sin reperfusión, se introduce una punta de catéter por la arteria carótida derecha para medir la presión ventricular y la contracción en la cámara izquierda del corazón. Después se extrae el corazón de todos los animales y se realiza perfusión de una manera retrógrada en un aparato Langendorff por la aorta con solución caliente Azul de Evans al 1% de concentración a 37°C, para determinar la zona de riesgo anatómico y la zona no isquémica. Después los corazones se cortan en 5-6 láminas finas y se incuban en solución de cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio durante 15 minutos para determinar los tejidos cardiacos vivos y muertos. El análisis planimétrico de la zona de riesgo y de la región de infarto se lleva a cabo usando una cámara (Leica, Bensheim) y una unidad de ordenador unida con software de análisis (Leitz, Bensheim). La zona de riesgo se expresa en porcentaje basado en el ventrículo izquierdo más septo, y la región de infarto en porcentaje basado en la zona de riesgo. El efecto de un compuesto se indica por la reducción de la región de infarto basado en la zona de riesgo en comparación con el grupo testigo.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I,



en la que

A es ciclopropilmetilo o isobutilo;

E es $-\text{CO}-\text{R}^6$, $-\text{CO}-\text{H}$ o $-\text{CH}_2-\text{O}-\text{R}^7$;

Z es oxígeno o azufre;

R^1 es hidrógeno o metilo;

R^2 es fenilo, piridilo o alquilo (C_1-C_4), donde el resto alquilo puede estar sustituido con uno o más átomos de flúor, y el resto fenilo puede estar sustituido con uno o más sustituyentes iguales o diferentes del grupo que consta de alquilo (C_1-C_4), alcoxi (C_1-C_4), metilendioxi, etilendioxi, halógeno, trifluorometilo y trifluorometoxi;

R^3 y R^4 son metilo o trifluorometilo;

R^5 es hidrógeno o alquilo (C_1-C_4), donde el resto alquilo puede estar sustituido con uno o más átomos de flúor;

R^6 es hidroxilo, alcoxi (C_1-C_{10}), fenil-alcoxi(C_1-C_8), feniloxi, alquil(C_1-C_8)-carboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), fenilcarboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), fenil-alquil(C_1-C_6)-carboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), alcoxi(C_1-C_8)-carboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), feniloxi-carboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), fenil-alcoxi(C_1-C_6)-carboniloxi-alcoxi(C_1-C_6), amino, mono(alquil(C_1-C_{10}))-amino o di(alquil(C_1-C_{10}))-amino;

R^7 es hidrógeno o alquilo (C_1-C_4);

en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, o sus sales fisiológicamente tolerables.

2. Un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, en la que R^3 y R^4 son ambos metilo o son ambos trifluorometilo, en todas sus formas

estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, o sus sales fisiológicamente tolerables.

3. Un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1 y/o 2, en la que
5 Z es oxígeno, en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, o sus sales fisiológicamente tolerables.

4. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1
a 3, en la que R^1 es metilo y R^5 es metilo, en todas sus formas
10 estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, o sus sales fisiológicamente tolerables.

5. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1
a 4, en la que R^2 es piridilo, fenilo no sustituido, fenilo que está sustituido con
15 un resto metilendioxi o un resto etilendioxi, fenilo que está sustituido con uno o dos grupos alcoxi (C_1-C_4), o alquilo (C_1-C_4) que puede estar sustituido con uno o más átomos de flúor, en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, o sus sales fisiológicamente tolerables.

20 6. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 5, en la que E es $-CO-R^6$ o $-CH_2-OH$ y R^6 es hidroxilo, alcoxi (C_1-C_6), en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, o sus sales fisiológicamente tolerables.

25 7. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 6, en la que

A es ciclopropilmetilo o isobutilo;

E es $-COOH$, $-COOC_2H_5$, $-COOIC_3H_7$ o $-CH_2-OH$;

Z es oxígeno;

30 R^1 es metilo;

R^2 es fenilo no sustituido, piridilo o metilo;

R^3 y R^4 es metilo;

R^5 es metilo;

35 en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, o sus sales fisiológicamente tolerables.

- 79 -

8. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 6, en la que

A es ciclopropilmetilo o isobutilo;

E es $-\text{COOH}$, $-\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{COO}i\text{C}_3\text{H}_7$ o $-\text{CH}_2\text{OH}$;

5 Z es oxígeno;

R^1 es metilo;

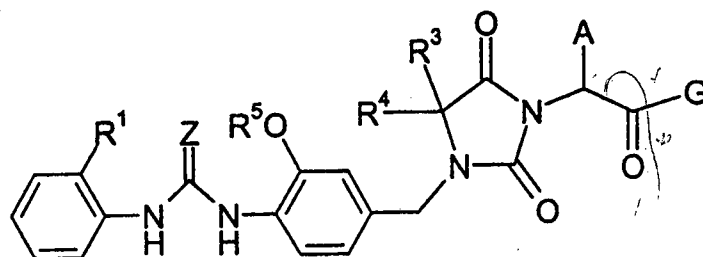
R^2 es fenilo no sustituido, piridilo o metilo;

R^3 y R^4 son trifluorometilo;

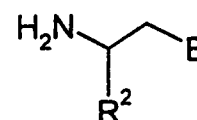
R^5 es metilo;

10 en todas sus formas estereoisómeras y sus mezclas en todas las proporciones, o sus sales fisiológicamente tolerables.

9. Un procedimiento para preparar compuestos de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 8, que comprende hacer reaccionar un
15 compuesto de fórmula II con un compuesto de fórmula III



II



III

20 donde A, E, Z, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 y R^5 son como se definen en las reivindicaciones 1 a 8, o hay grupos funcionales en forma protegida o en forma de precursores, y donde G es hidroxicarbonilo, alcoxi($\text{C}_1\text{-C}_6$)-carbonilo o derivados de ácido carboxílico activados.

25 10. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 8 y/o sus sales fisiológicamente tolerables para usar como medicamento.

11. Una preparación farmacéutica que comprende uno o más compuestos de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 8, y/o sus sales fisiológicamente tolerables y un vehículo farmacéutico tolerable.

- 80 -

12. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 8 y/o sus sales fisiológicamente tolerables, para usar como antiinflamatorios.

5 13. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 8 y/o sus sales fisiológicamente tolerables, para usar para tratar la artritis, artritis reumatoide, poliartritis, enfermedad inflamatoria del intestino, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple o enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central.

10

14. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 8 y/o sus sales fisiológicamente tolerables, para usar para tratar el asma o alergias.

15 15. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 8 y/o sus sales fisiológicamente tolerables, para usar para tratar enfermedades cardiovasculares, aterosclerosis, infarto de miocardio, síndrome coronario agudo, ataque de apoplejía, restenosis, diabetes, daño en trasplantes de órganos, enfermedades inmunitarias, enfermedades
20 autoinmunes, crecimiento de tumor, metástasis de tumor, malaria, cardioprotección o profilaxis secundaria del ataque de apoplejía.

16. Un compuesto de fórmula I según una o más de las reivindicaciones 1 a 8 y/o sus sales fisiológicamente tolerables, para usar como inhibidores en
25 la adhesión y/o migración de leucocitos, o para inhibir el receptor VLA-4.

137

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference DEAV2001/0013		FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/EP02/01917	International filing date (day/month/year) 23/02/2002	Priority date (day/month/year) 10/03/2001	
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C07D401/12			
Applicant AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH			

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet.

☒ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of 1 sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 27/09/2002	Date of completion of this report 04.03.2003
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Authorized officer Fanni, S Telephone No. +49 89 2399 8712



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No. PCT/EP02/01917

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17):*)

Description, pages:

1-84 as originally filed

Claims, No.:

1-6,7 (part), as originally filed
10-16

7 (part),8,9 as received on 27/09/2002 with letter of 26/09/2002

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:
- ☐ the drawings, sheets:

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/EP02/01917

ITEM V

Reference is made to the following documents:

- D1: EP-A-0 918 059 A
- D2: WO 00 69831 A
- D3: WO 99 24398 A
- D4: WO 00 00677 A

NOVELTY (Article 33(2) PCT)

The present subject matter is considered to be a selection of D1, of which is considered to be a novel selection on account of the new technical teaching that the present -OR5 group cannot be hydrogen.

The present subject matter differs from D2 on account of the present definition of R3 and R4.

The present subject matter differs from D3 and D4 on account of the imidazolidine moiety ever present in compounds of formula I according to present claim 1.

INVENTIVE STEP (Article 33(3) PCT)

As outlined above, the present subject matter is considered to be a novel selection of D1, which is considered to be the closest prior art and discloses imidazolidine derivatives which are VLA-4 inhibitors. It is noted, that D1 discloses compounds (e.g. examples 5-8, 17 and 19 according to D1) which only differ from the present compounds on account of the fact that the present -OR5 substituent has been replaced in the said examples according to D1 by an hydrogen. Furthermore, the equivalence of the present -OR5 and hydrogen as substituents in ureido moieties of VLA-4 inhibitors has been explicitly disclosed by D2-D4 (compare for instance: i) D2: examples 31-32 with examples 37-38; ii) D3: examples 64-66 with examples 67-68; D4: partial formulae 4.1.2 and 4.1.3 with partial formulae 4.1.1 and 4.1.5).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. PCT/EP02/01917

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)):

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

6. Additional observations, if necessary:

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Yes: Claims 1,10,16
	No: Claims
Inventive step (IS)	Yes: Claims 1,10,16
	No: Claims
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims 1,10,16
	No: Claims

2. Citations and explanations
see separate sheet

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/EP02/01917

Thus, the problem to be solve by the present application is considered to be the provision of imidazolidine derivatives which disclose unexpected properties when compared with the structurally closest prior art compounds from D1.

Present compounds 7 differs from compound 92 from D1 only on account of the present methoxy group (i.e. O-R5 being methoxy) which is absent in compound 92 according to D1. The biological activity of both compounds appears to have been established by means of the same cell adhesion test (cf Table 13 on page 96 of D1 and paragraph 3 on present page 75). According to said test, the present compound shows an almost twenty-fold improved inhibition activity over compound 93 from D1. The improvement obtained by the introduction of present residue O-R5 appears to be confirmed by the comparison of present compound 1 and compound 8 from D1.

Such an improved potency was not foreseeable from the teaching of the prior art documents. Thus, an inventive step can be acknowledged for the present subject matter.

R^5 is methyl;

in all its stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, or its physiologically tolerable salts.

- 5 8. A compound of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 6, in which

A is cyclopropylmethyl- or isobutyl;

E is $-\text{COOH}$, $-\text{COOC}_2\text{H}_5$, $-\text{COOC}_3\text{H}_7$ or $-\text{CH}_2\text{-OH}$;

Z is oxygen;

- 10 R^1 is methyl;

R^2 is unsubstituted phenyl, pyridyl or methyl;

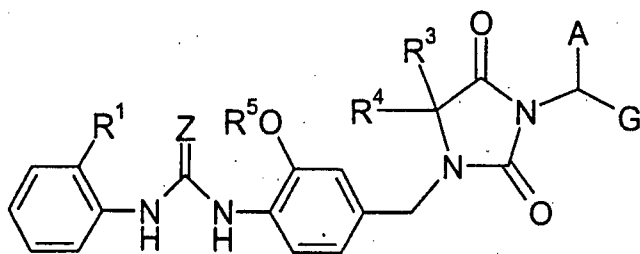
R^3 and R^4 are trifluoromethyl;

R^5 is methyl;

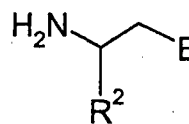
- 15 in all its stereoisomeric forms and mixtures thereof in all ratios, or its physiologically tolerable salts.

9. A process for the preparation of compounds of the formula I as claimed in one or more of claims 1 to 8, which comprises reacting a compound of the formula II with a compound of the formula III

20



II



III

- 25 where A, E, Z, R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 are as defined in claims 1 to 8 or functional groups are present in protected form or in the form of precursors, and where G is hydroxycarbonyl, $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ -alkoxycarbonyl or activated carboxylic acid derivatives.

TRATADO DE COOPERACION EN PATENTES**PCT****REPORTE DEL EXAMEN INTERNACIONAL PROVISIONAL**

(Artículo 36 y Norma 70 PCT)

Referencia del solicitante o representante: DEAV2001/0013

PROCEDIMIENTO ADICIONAL: Ver Comunicación sobre el envío del reporte de examen internacional provisional (Formato PCT/IPEA/416)

No. de referencia internacional: PCT/DE02/01917

Fecha de solicitud internacional: 23/02/2002

Fecha de prioridad: 10/03/2001

Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o Clasificación Nacional e IPC: C07D401/12

Solicitante: AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH

1. La autoridad encargada del examen internacional provisional elaboró el reporte del examen internacional provisional y lo envió al solicitante de conformidad con el Artículo 36
2. Este REPORTE comprende en total 5 hojas incluyendo esta hoja de cubierta

X Además se adjuntan a este reporte ANEXOS; se trata de hojas con descripciones, reivindicaciones y/o dibujos que fueron modificados y son fundamento de este reporte, y/u hojas con correcciones efectuadas por esta autoridad (ver Norma 70.16 y Sección 607 de las Pautas Administrativas del PCT).

Estos Anexos comprenden en total 1 hojas.
3. Este reporte contiene informaciones y las correspondientes páginas respecto a los siguientes puntos:
 - I X Base del reporte
 - II Prioridad
 - III No-establecimiento de opinión respecto a novedad, actividad inventiva y aplicabilidad industrial
 - IV Falta de unidad de la invención
 - V X Verificación fundamentada conforme el artículo 35(2) respecto a la novedad, la actividad inventiva y la aplicabilidad industrial; documentos y explicaciones para apoyar dicha verificación

- VI _ Determinados documentos citados
- VII _ Determinadas deficiencias de la solicitud internacional
- VIII _ Determinadas observaciones a la solicitud internacional

Fecha de entrega de la solicitud:

27/09/2002

Fecha de elaboración de este reporte:

04.03.2003

Nombre y dirección postal de la autoridad encargada del examen internacional de provisional:

Oficina Europea de Patentes

D-80298 Munich

Funcionario autorizado:

Fanni, S

REPORTE DEL EXAMEN INTERNACIONAL PROVISIONAL

No. de referencia internacional PCT/EP02/01917

I. Base del reporte

1. Respecto a los elementos de la solicitud internacional (*las hojas de reemplazo presentadas a la oficina receptora de la solicitud a pedido de ésta conforme al Artículo 14, se consideran en el marco de este reporte como "presentadas originalmente" y no se adjuntan a él pues no contienen ninguna modificación (Normas 70.16 y 70.17))*):

Descripción, páginas:

1-84 versión original

Reivindicaciones, No.:

1-6, 7(parte) versión original

10-16

7(parte), 8, 9 recibidas el 27/09/2002 con escrito del 26/09/2002

2. Respecto al idioma: Todos los componentes arriba mencionados estuvieron a disposición de la autoridad en el idioma en el que se presentó la solicitud o fueron entregados en dicho idioma en tanto bajo este punto no se indique otra cosa diferente.

Los componentes estuvieron a disposición de la autoridad o fueron presentados en el idioma: , que es

- _ el idioma de la traducción que fue entregada a para los fines de la búsqueda internacional (según Norma 23.1(b)).
- _ el idioma de la publicación de la solicitud internacional (según Norma 48.3(b)).
- _ el idioma de la traducción que fue entregada para los fines del examen provisional internacional (según Norma 55.2 y/o Norma 55.3).

3. Respecto a la secuencia nucleótida y/o de aminoácidos revelada en la solicitud internacional se llevó a cabo el examen provisional internacional sobre la base del protocolo de secuencia que:

- _ está contenido en forma escrita en la solicitud internacional.
- _ fue entregado en forma legible por computadora junto con la solicitud internacional.
- _ fue entregado posteriormente a la autoridad en forma

escrita.

- _ fue entregado posteriormente a la autoridad en forma legible por computadora.
- _ Se presentó la declaración de que el protocolo de secuencia entregado por escrito posteriormente no va más allá del contenido revelado de la solicitud internacional en el momento de la solicitud.
- _ Se presentó la declaración de que las informaciones recopiladas en forma legible por computadora corresponden al protocolo de secuencia escrito.

4. Debido a las modificaciones se han suprimido los siguientes documentos

- _ Descripción, páginas:
- _ Reivindicaciones, No.:
- _ Dibujos, hoja:

5. _ Este reporte se elaboró sin tener en cuenta (algunas de) las modificaciones puesto que dichas modificaciones por las razones dadas según la autoridad van más allá del contenido revelado en la versión presentada originalmente (Norma 70.2(c)).

(En las hojas de reemplazo que contienen tales modificaciones se debe indicar bajo el Punto 1; ellas se han de adjuntar a este reporte)

6. Otras observaciones, eventualmente:

V. Constatación fundamentada según Norma 66.2(a)(ii) respecto a la novedad, la actividad inventiva y la aplicabilidad industrial

1. Constatación

Novedad	Sí: Reivindicaciones 1,10,16
	No: Reivindicaciones
Actividad inventiva	Sí: Reivindicaciones 1,10,16
	No: Reivindicaciones
Aplicabilidad industrial	Sí: Reivindicaciones 1,10,16
	No: Reivindicaciones

2. Documentos y declaraciones

ver Hojas adjuntas

REPORTE DEL EXAMEN INTERNACIONAL PROVISIONAL**HOJAS ADJUNTAS**

No. de referencia internacional PCT/EP02/01917

Punto V

Se hace referencia a los siguientes documentos:

D1: EP-A-0 918 059 A

D2: WO 00 69831 A

D3: WO 99 24398 A

D4: WO 00 00677 A

NOVEDAD (Artículo PCT 33(2))

Se considera que el presente tema es una selección de D1, del cual se considera que es una selección novedosa debido a la nueva enseñanza técnica de que el presente grupo -OR5 no puede ser hidrógeno.

El presente tema se diferencia de D2 debido a la presente definición de R3 y R4.

El presente tema se diferencia de D3 y D4 debido a la mitad imidazolidina siempre presente en los compuestos de la formula I de acuerdo con la presente reivindicación 1.

ACTIVIDAD INVENTIVA (Artículo PCT 33(3))

Como se bosquejó arriba, el presente tema se considera como una selección novedosa de D1, el cual es considerado la técnica anterior más próxima y revela derivados de imidazolidina que son los inhibidores VLA-4. Se anota que D1 revela compuestos (por ejemplo ejemplos 5-18, 17 y 19 de acuerdo con D1) que únicamente se diferencian de los presentes compuestos debido al hecho de que el presente substituyente -OR5 ha sido reemplazado en los mencionados ejemplos de acuerdo con D1 por un hidrógeno. Además, la equivalencia del presente -OR5 e hidrógeno como substituyentes en mitades ureido de los inhibidores VLA-4 ha sido explícitamente revelada por D2-D4 (comparar por ejem-

plo: i) D2: ejemplos 31-32 con ejemplos 37-38; ii) D3: ejemplos 64-66 con ejemplos 67-68; D4: fórmulas parciales 4.1.2 y 4.1.3 con formulas parciales 4.1.1 y 4.1.5).

Así, se considera que el problema a ser resuelto por la presente solicitud es suministrar derivados de imidazolidina que revelan propiedades inesperadas al ser comparados con los compuestos D1 que son estructuralmente la técnica anterior más próxima.

El presente compuesto 7 es diferente del compuesto 92 de D1 únicamente debido a que el presente grupo metoxi (es decir siendo O-R5 metoxi) está ausente en el compuesto 92 de acuerdo con D1. La actividad biológica de ambos compuestos parece haber sido establecida mediante la misma prueba de adhesión celular (comparar Tabla 13 en la página 96 de D1 y el párrafo 3 de la presente página 75). De acuerdo con dicha prueba, el presente compuesto muestra una actividad inhibitoria mejorada casi veinte veces respecto al compuesto 93 de D1. El mejoramiento obtenido mediante la introducción del presente radical O-R5 parece ser confirmado por la comparación del presente compuesto 1 y el compuesto 8 de D1.

Tal potencia mejorada no era previsible a partir de la enseñanza de los documentos de la técnica anterior. Así, se puede reconocer una actividad inventiva para el presente tema.

HOJA ENMENDADA

R⁵ es metilo;

en todas sus formas estereoisoméricas y sus mezclas en todas las proporciones, o sus sales fisiológicamente tolerables.

8. Un compuesto de la fórmula I de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 6, en el cual

A es ciclopropilmetilo- o isobutilo;

E es -COOH, -COOC₂H₅, -COOiC₃H₇ o -CH₂-OH;

Z es oxígeno;

R¹ es metilo;

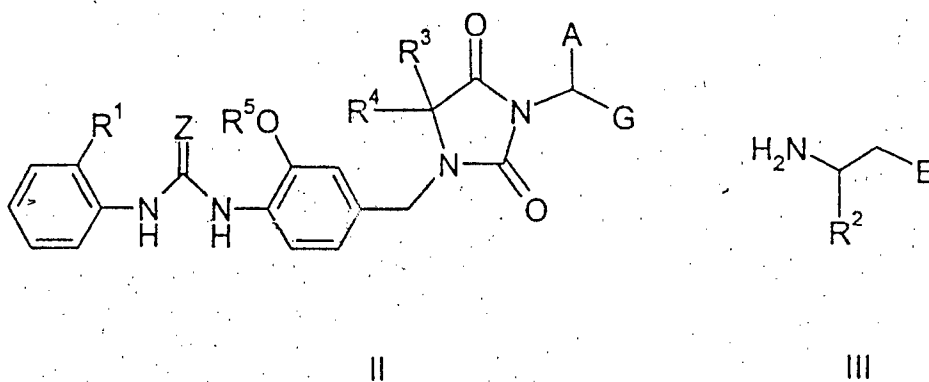
R² es fenilo, piridilo o metilo insubstituidos;

R³ y R⁴ son trifluorometilo;

R⁵ es metilo;

en todas sus formas estereoisoméricas y sus mezclas en todas las proporciones, o sus sales fisiológicamente tolerables.

9. Un procedimiento para la preparación de compuestos de la fórmula I de acuerdo con una o varias de las reivindicaciones 1 a 8, el cual comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula II con un compuesto de la fórmula III



en donde A, E, Z, R¹, R², R³, R⁴ y R⁵ son como se definieron en las reivindicaciones 1 a 8 o grupos funcionales están presentes en forma protegida o en forma de precursores, y en donde G es hidroxicarbonilo, (C₁-C₆)-alcoxicarbonilo o derivados activados de ácido carboxílico.

PCT

REQUEST

The undersigned requests that the present
International application be processed
according to the Patent Cooperation Treaty.

PCT/EP 0 2 / 0 1 9 1 7

International Application No.

(2 3. 02. 02)
International Filing Date

23 FEB 2002

EUROPEAN PATENT OFFICE

PCT INTERNATIONAL APPLICATION

Name of receiving Office and "PCT International Application"

Applicant's or agent's file reference
(if desired) (12 characters maximum) 2001/0013

Box No. I TITLE OF INVENTION

Novel imidazolidine derivatives, their preparation, their use and pharmaceutical preparations comprising them

Box No. II APPLICANT

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation.
The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this
Box is the applicant's State (i.e. country) of residence if no State of residence is indicated below.)

Aventis Pharma Deutschland GmbH
Brüningsstraße 50
65929 Frankfurt
Germany

☐ This person is also
inventor

Telephone No. (069) 305-6037

Facsimile No. (069) 357175

Teleprinter No.

State (that is, country) of nationality:

DE

State (that is, country) of residence:

DE

This person is applicant for the purposes of: ☒ all designated states ☐ all designated states except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the states indicated in the Supplement Box

Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The
address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the
applicant's State (i.e. country) of residence if no State of residence is indicated below.)

WEHNER, Volkmar
Lindenstraße 1
97657 Sandberg
Germany

This person is:

☐ applicant only

☐ applicant and inventor

☒ inventor only (If this
check-box is marked, do
not fill in below.)

State (that is, country) of nationality:

State (that is, country) of residence:

This person is applicant for the purposes of: ☐ all designated states ☐ all designated states except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the states indicated in the Supplement Box

☒ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on a continuation sheet.

Box No. IV AGENT OR COMMON REPRESENTATIVE; OR ADDRESS FOR CORRESPONDENCE

The person identified below is hereby/has been appointed to act on behalf
of the applicant(s) before the competent International Authorities as:

☐ agent

☐ common representative

Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation.
The address must include postal code and name of country.)

Aventis Pharma Deutschland GmbH
Patent- und Lizenzabteilung
Industriepark Höchst, Geb. K 801
65926 Frankfurt
Germany

Telephone No.

(069) 305-6037

Facsimile No. (069) 357175

Teleprinter No.

☒ Address for correspondence: Mark this check-box where no agent or common representative is/has been appointed and the space above is used
instead to indicate a special address to which correspondence should be sent.

Sheet No. 2....

Continuation of Box No. III FURTHER APPLICANT(S) AND/OR (FURTHER) INVENTOR(S)	
If none of the following sub-boxes is used, this sheet should not be included in the request.	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (i.e. country) of residence if no State of residence is indicated below.) BLUM, Horst Eckenheimer Landstraße 118 60318 Frankfurt Germany	This person is:: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
This person is applicant for the purposes of: ☐ All designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (i.e. country) of residence if no State of residence is indicated below.) RÜTTEN, Hartmut Falkenweg 25 65510 Idstein Germany	This person is:: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
This person is applicant for the purposes of: ☐ All designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (i.e. country) of residence if no State of residence is indicated below.) STILZ, Hans Ulrich Johannesalle 18 65929 Frankfurt Germany	This person is:: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☒ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
This person is applicant for the purposes of: ☐ All designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
Name and address: (Family name followed by given name; for a legal entity, full official designation. The address must include postal code and name of country. The country of the address indicated in this Box is the applicant's State (i.e. country) of residence if no State of residence is indicated below.)	This person is:: ☐ applicant only ☐ applicant and inventor ☐ inventor only (If this check-box is marked, do not fill in below.)
State (that is, country) of nationality:	State (that is, country) of residence:
This person is applicant for the purposes of: ☐ All designated States ☐ all designated States except the United States of America ☐ the United States of America only ☐ the States indicated in the Supplemental Box	
☐ Further applicants and/or (further) inventors are indicated on another continuation sheet.	

Sheet No. ...3...

Box No. V DESIGNATION OF STATES

Mark the applicable check-boxes below; at least one must be marked.

The following designations are hereby made under Rule 4.9(a):

Regional Patent

- ☒ **AP ARIPO Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenya, LS Lesotho, MW Malawi, MZ Mozambique, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swaziland, TZ United Republic of Tanzania, UG Uganda, ZM Zambia, ZW Zimbabwe, and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT (*if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line*)
- ☒ **EA Eurasian Patent:** AM Armenia, AZ Azerbaijan, BY Belarus, KG Kyrgyzstan, KZ Kazakhstan, MD Republic of Moldova, RU Russian Federation, TJ Tajikistan, TM Turkmenistan, and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT
- ☒ **EP European Patent:** AT Austria, BE Belgium, CH & LI Switzerland and Liechtenstein, CY Cyprus, DE Germany, DK Denmark, ES Spain, FI Finland, FR France, GB United Kingdom, GR Greece, IE Ireland, IT Italy, LU Luxembourg, MC Monaco, NL Netherlands, PT Portugal, SE Sweden, TR Turkey, and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT
- ☒ **OA OAPI Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Central African Republic, CG Congo, CI Côte d'Ivoire, CM Cameroon, GA Gabon, GN Guinea, GQ Equatorial Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauritania, NE Niger, SN Senegal, TD Chad, TG Togo, and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT (*if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line*)

National Patent (*if other kind of protection or treatment desired, specify on dotted line*):

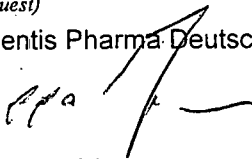
- | | | |
|---|--|--|
| ☒ AE United Arab Emirates | ☒ GM Gambia | ☒ NZ New Zealand |
| ☒ AG Antigua and Barbuda | ☒ HR Croatia | ☒ OM Oman |
| ☒ AL Albania | ☒ HU Hungary | ☒ PH Philippines |
| ☒ AM Armenia | ☒ ID Indonesia | ☒ PL Poland |
| ☒ AT Austria | ☒ IL Israel | ☒ PT Portugal |
| ☒ AU Australia | ☒ IN India | ☒ RO Romania |
| ☒ AZ Azerbaijan | ☒ IS Iceland | ☒ RU Russian Federation |
| ☒ BA Bosnia and Herzegovina | ☒ JP Japan | |
| ☒ BB Barbados | ☒ KE Kenya | ☒ SD Sudan |
| ☒ BG Bulgaria | ☒ KG Kyrgyzstan | ☒ SE Sweden |
| ☒ BR Brazil | ☒ KP Democratic People's Republic of Korea | ☒ SG Singapore |
| ☒ BY Belarus | ☒ KR Republic of Korea | ☒ SI Slovenia |
| ☒ BZ Belize | ☒ KZ Kazakhstan | ☒ SK Slovakia |
| ☒ CA Canada | ☒ LC Saint Lucia | ☒ SL Sierra Leone |
| ☒ CH & LI Switzerland and Liechtenstein | ☒ LK Sri Lanka | ☒ TJ Tajikistan |
| ☒ CN China | ☒ LR Liberia | ☒ TM Turkmenistan |
| ☒ CO Colombia | ☒ LS Lesotho | ☒ TN Tunisia |
| ☒ CR Costa Rica | ☒ LT Lithuania | ☒ TR Turkey |
| ☒ CU Cuba | ☒ LU Luxembourg | ☒ TT Trinidad and Tobago |
| ☒ CZ Czech Republic | ☒ LV Latvia | |
| ☒ DE Germany | ☒ MA Morocco | ☒ TZ United Republic of Tanzania |
| ☒ DK Denmark | ☒ MD Republic of Moldova | ☒ UA Ukraine |
| ☒ DM Dominica | | ☒ UG Uganda |
| ☒ DZ Algeria | ☒ MG Madagascar | ☐ US United States of America |
| ☒ EC Ecuador | ☒ MK The former Yugoslav Republic of Macedonia | |
| ☒ EE Estonia | ☒ MN Mongolia | ☒ UZ Uzbekistan |
| ☒ ES Spain | ☒ MWMalawi | ☒ VN Viet Nam |
| ☒ FI Finland | ☒ MX Mexico | ☒ YU Yugoslavia |
| ☒ GB United Kingdom | ☒ MZ Mozambique | ☒ ZA South Africa |
| ☒ GD Grenada | ☒ NO Norway | ☒ ZM Zambia |
| ☒ GE Georgia | | ☒ ZW Zimbabwe |
| ☒ GH Ghana | | |

Check-boxes below reserved for designating States which have become party to the PCT after issuance of this sheet:

☐	☐	☐
☐	☐	☐

Precautionary Designation Statement: In addition to the designations made above, the applicant also makes under Rule 4.9(b) all other designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) indicated in the Supplemental Box as being excluded from the scope of this statement. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit. (*Confirmation (including fees) must reach the receiving Office within the 15-month time limit.*)

Sheet No. 4....

Box No. VI PRIORITY CLAIM					☐ Further priority claims are indicated in the Supplemental Box
The priority of the following earlier application(s) is hereby claimed:					
Filing Date of earlier application (day/month/year)	Number of earlier application	Where earlier application is:			
		National application: country	Regional application: * regional office	International application: receiving office	
Item(1) 10. March 2001 (10.03.2001)	10111877.5	DE			
Item(2)					
Item(3)					
☐ The receiving Office is requested to prepare and transmit to the International Bureau a certified copy of the earlier application(s) (only if the earlier application was filed with the Office which for the purposes of the present international application is the receiving Office) identified above as item(s): _____					
* Where the earlier application is an ARIPO application, it is mandatory to indicate in the Supplemental Box at least one country party to the Paris Convention for the Protection of Industrial Property for which that earlier application was filed (Rule 4.10(b)(ii)). See Supplemental Box.					
Box No. VII INTERNATIONAL SEARCHING AUTHORITY					
Choice of International Searching Authority (ISA) (If two or more International Searching Authorities are competent to carry out the international search, indicate the Authority chosen; the two-letter code may be used): ISA /			Request to use results of earlier search; reference to that search (if an earlier search has been carried out by or requested from the International Searching Authority): Date (day/month/year): Number: Country (or regional Office):		
Box No. VIII CHECK LIST; LANGUAGE OF FILING					
This international application contains the following number of sheets: request: 4 description (excluding sequence listing part): 84 claims: 4 abstract: 1 drawings: sequence listing part of description _____ Total number of sheets: 93		This international application is accompanied by the item(s) marked below: 1. ☒ fee calculation sheet 2. ☐ separate signed power of attorney 3. ☐ copy of general power of attorney reference number, if any: 4. ☐ statement explaining lack of signature 5. ☒ priority document(s) identified in Box No. VI as item(s) 6. ☐ translation of international application into (language): 7. ☐ separate indications concerning deposited microorganisms or other biological material 8. ☐ nucleotide and/or amino acid sequence listing in computer readable form 9. ☐ other (specify):			
Figure of the drawings which should accompany the abstract:		Language of filing of the International application: english			
Box No. IX SIGNATURE OF APPLICANT OR AGENT					
Next to each signature, indicate the name of the person signing and the capacity in which the person signs (if such capacity is not obvious from reading the request)					
Aventis Pharma Deutschland GmbH					
					
Dr. Jacobi		Dr. Kujath			

For receiving Office use only		
1. Date of actual receipt of the purported international application:	(23.02.02)	23 FEB 2002
3. Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application:		
4. Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2):		
5. International Searching Authority (if two or more are competent):	ISA/	2. Drawings: ☐ received: ☐ not received:
6. ☒ Transmittal of search copy delayed until search fee is paid		

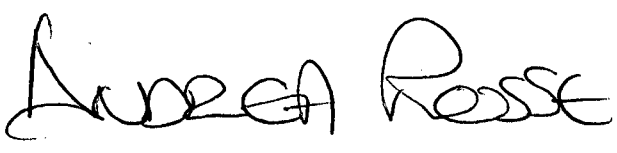
Date of receipt of the record copy
by the International Bureau:

For International Bureau use only

Radicacon : 03077714 00000000
Fecha (AMD): 2003-09-05 15:17:38
Folios: 153
Tramite : 011 PCT-PATENT 379 FASE NACI 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION ☒		
MODELO DE UTILIDAD	()	()
- Indicacon de que se solicita la concesion de una patente.	()	()
- Datos de identificacion del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
- Descripcion de la invencion.	()	()
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()		
INCOMPLETA ()		
DISENO INDUSTRIAL ()		
- Indicacon de que se solicita el registro de Diseno Industrial	()	()
- Datos de identificacion del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Representacion grafica y fotografica del Diseno Industrial o muestra del Material que incorpora el diseno.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()		
INCOMPLETA ()		
ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicacon de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de Identificacion del solcitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
- Representacion grafica del esquema de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()		
INCOMPLETA ()		

Firma Responsable: 

Fecha: