

**COMPUESTOS DE DIPEPTIDIL-CETOAMIDA Y SU USO PARA EL  
TRATAMIENTO Y/O LA PREVENCIÓN DE LA ACUMULACIÓN DE GRASA  
DESCRIPCIÓN**

5 **CAMPO DE LA INVENCION**

La invención se refiere al uso de compuestos de dipeptidil-cetoamida para prevenir la acumulación de triglicéridos en tejido adiposo o para reducir la cantidad de triglicéridos en tejido adiposo en un sujeto que lo necesita.

10 La prevención de la acumulación de triglicéridos y la reducción de la cantidad de triglicéridos en tejido adiposo permite el uso de los compuestos de dipeptidil-cetoamida de la invención para controlar el aumento de peso, y/o para tratar un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo  
15 que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia. La invención se refiere además a un subgrupo de compuestos de dipeptidil-cetoamida novedosos.

**ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

20 El tejido adiposo o la grasa corporal es tejido conjuntivo suelto compuesto principalmente por adipocitos. Además de adipocitos, el tejido adiposo contiene la fracción vascular estromal (SVF) de células incluyendo preadipocitos, fibroblastos, células endoteliales vasculares y una variedad  
25 de células inmunitarias (es decir macrófagos de tejido adiposo (ATM)). El tejido adiposo se deriva de preadipocitos. Su función principal es almacenar energía en forma de lípidos, aunque también protege y aísla al organismo. Sin embargo, una acumulación excesiva de grasa en tejido adiposo es indeseable  
30 y puede conducir en primer lugar a problemas estéticos, pero en última instancia también a estados patológicos tales como obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia.

La invención se refiere al uso de compuestos de  
35 dipeptidil-cetoamida para prevenir la acumulación de

triglicéridos en tejido adiposo o para reducir la cantidad de triglicéridos en tejido adiposo en un sujeto que lo necesita. La prevención de la acumulación de triglicéridos y la reducción de la cantidad de triglicéridos en tejido adiposo permite el uso de los compuestos de dipeptidil-cetoamida de la invención para controlar el aumento de peso, y/o para tratar un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia.

Por tanto, la invención también se refiere i) a un método no terapéutico para reducir la acumulación de grasa en un sujeto que no padece obesidad u otros estados relacionados con la obesidad tales como lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia mediante la administración de determinados compuestos de dipeptidil-cetoamida, ii) al uso de dichos compuestos de dipeptidil-cetoamida para prevenir y/o tratar un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia y iii) a dichos compuestos de dipeptidil-cetoamida para su uso en la prevención y/o el tratamiento de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia.

La obesidad es el exceso de peso corporal para una edad, sexo y altura particulares como consecuencia de un desequilibrio entre la ingesta calórica y el gasto calórico. La principal causa de la obesidad es debida a comer en exceso, ejercicio inadecuado o trastorno de la conducta alimentaria, algunos trastornos genéticos, enfermedad subyacente (por ejemplo, hipotiroidismo), determinados medicamentos, estilo de vida sedentario, una dieta con alto contenido glucémico (es decir, una dieta que consiste en comidas que proporcionan un alto nivel de glucemia posprandial), ciclos de peso (provocados por intentos repetidos de perder peso mediante

dieta, trastornos de la conducta alimentaria), estrés y sueño insuficiente.

5 Una indicación común del sobrepeso de una persona es el índice de masa corporal (IMC) que es una medida del peso relativo basándose en la masa y altura de un individuo y se define como la masa corporal del individuo dividida entre el cuadrado de su altura (dándose universalmente el valor en unidades de  $\text{kg/m}^2$ ).

10 Generalmente se acepta dentro de la profesión médica que una persona no tiene sobrepeso si tiene un IMC no superior a  $25 \text{ kg/m}^2$ . Por otro lado, cuando el IMC de una persona supera un valor de  $30 \text{ kg/m}^2$  se acepta generalmente que dicha persona padece obesidad. Entre  $25 \text{ kg/m}^2$  y  $30 \text{ kg/m}^2$  se considera que la persona tiene sobrepeso.

15 La obesidad se caracteriza como masa de tejido adiposo no controlada en el organismo y se reconoce como el trastorno metabólico que está creciendo más rápidamente en el mundo. Un aumento en la masa de tejido adiposo puede ser el resultado de la producción de nuevos adipocitos mediante el proceso de adipogénesis y/o el depósito de cantidades aumentadas de gotitas de triglicéridos o lípidos citoplasmáticas por célula. La adipogénesis es el proceso de diferenciación celular mediante el cual los preadipocitos se convierten en adipocitos. En el proceso de adipogénesis, se necesita que la proliferación de preadipocitos o adipocitos precursores vaya seguida por la diferenciación de estas células para dar el fenotipo de adipocito maduro. La acumulación de lípidos aumentada en las células de adipocitos maduros es la característica más importante del trastorno de obesidad.

30 La grasa se almacena en forma de triglicéridos en tejido adiposo. La reducción de la formación de nuevo tejido adiposo y la formación de reservas de grasa mediante la inhibición de la diferenciación de preadipocitos para dar adipocitos maduros puede ser una buena estrategia para controlar enfermedades mediadas por adipogénesis, especialmente obesidad. Por tanto,

35

la modulación de la adipogénesis en seres humanos puede conducir a una reducción en la carga de la obesidad.

Las dietas con bajo contenido en calorías y el ejercicio pueden ayudar con la pérdida de peso; sin embargo, la dieta y el ejercicio por sí solos no han demostrado ser satisfactorios para soluciones a largo plazo en la gestión del peso. Además, la complementación con fármacos que suprimen el apetito, reducen la ingesta de alimentos, reducen la absorción de grasas alimenticias, aumentan el gasto calórico y afectan al metabolismo o la distribución de nutrientes tienen posible eficacia pero desafortunadamente van acompañados por efectos secundarios adversos (C. A. Haller y N. L. Benowitz., New England J. Medicine, 2000, 343, 1833-1838). Se han recomendado varios fármacos para el tratamiento de la obesidad (M. K. Sharma et al., European Journal of Medicinal Chemistry, 2014, 79, 298-339). Un fármaco de este tipo, es fentermina (Fastin, Adipex P), que se recomienda para su uso a corto plazo en el control del peso. Sin embargo, fentermina tiene efectos secundarios tales como alta tensión arterial, cefalea, insomnio, irritabilidad y nerviosismo. Otro fármaco para el control del peso es orlistat (comercializado como Xenical® por Roche y como Alli® por GlaxoSmithKline). También se han notificado varios efectos secundarios indeseables para orlistat: flatulencia, calambres, diarrea y tensión arterial elevada.

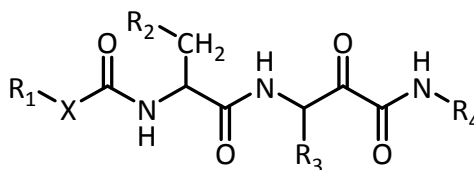
Por tanto, existe la necesidad de encontrar nuevos fármacos para usarlos en terapia antiobesidad.

#### **SUMARIO DE LA INVENCION**

Los presentes inventores encontraron sorprendentemente que determinados compuestos de dipeptidil-cetoamida pueden reducir la adipogénesis y/o el depósito de cantidades aumentadas de gotitas de triglicéridos o lípidos citoplasmáticas en adipocitos, pudiendo así prevenir la acumulación de triglicéridos en tejido adiposo y/o reducir la

cantidad de triglicéridos en tejido adiposo en un sujeto que lo necesita, lo cual hace que sean candidatos ideales para el tratamiento de la obesidad y otros estados relacionados con la obesidad seleccionados del grupo que consiste en lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia.

En el primer aspecto, la invención se refiere a un compuesto de fórmula (I):



(I)

en la que

X se selecciona del grupo que consiste en un enlace sencillo, un átomo de oxígeno y un grupo -NH-,

cuando X es O, R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en

a) alquilo C<sub>1-8</sub>, opcionalmente sustituido con un grupo alcoxilo C<sub>1-8</sub>, b) (aril C<sub>6-10</sub>)-alquilo C<sub>1-4</sub> y c) (heteroaril C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>1-4</sub> en el que el resto heteroarilo C<sub>5-10</sub> comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre,

cuando X es un enlace sencillo o un grupo -NH-, R<sub>1</sub> se

selecciona del grupo que consiste en d) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado, alcoxilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; e) naftilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado, alcoxilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; f) (heterociclílo C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> en el que el resto heterociclílo está saturado o insaturado y comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, CN, CF<sub>3</sub>,

alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; g) alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con un grupo alcoxilo C<sub>1-8</sub> y h) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno;

R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en i) alquilo C<sub>1-8</sub> opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de flúor, j) (alcoxi C<sub>1-8</sub>)-O-alquilo C<sub>1-8</sub> y k) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> en el que el anillo de cicloalquilo está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de flúor;

R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en l) alquilo C<sub>1-8</sub> y m) bencilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, MeO, CN y átomos de halógeno;

R<sub>4</sub> se selecciona del grupo que consiste en n) alquilo C<sub>1-8</sub>, o) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> opcionalmente sustituido con alquilo C<sub>1-4</sub> y p) alcoxilo C<sub>1-8</sub>; y

R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en átomos de hidrógeno y grupos alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento y/o la prevención de unos estados relacionados con la obesidad seleccionados del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia.

En un segundo aspecto, la invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se definió en el primer aspecto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia.

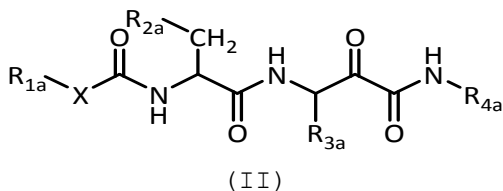
En un tercer aspecto, la invención se refiere a un método de tratamiento y/o prevención de un estado relacionado

con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en  
obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e  
hiperlipidemia en un sujeto que lo necesita, que comprende  
administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente  
eficaz de un compuesto de fórmula (I) tal como se definió en  
el primer aspecto o una sal farmacéuticamente aceptable del  
mismo.

En un cuarto aspecto, la invención se refiere al uso no  
terapéutico de un compuesto de fórmula (I) tal como se definió  
en el primer aspecto

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para  
reducir la acumulación de grasa, por ejemplo para mejorar el  
aspecto corporal, en un sujeto que no padece obesidad.

En un quinto aspecto, la presente invención se refiere a  
un compuesto de fórmula (II)



en la que

X se selecciona del grupo que consiste en un enlace  
sencillo, un átomo de oxígeno y un grupo -NH-,

cuando X es O, R<sub>1a</sub> se selecciona del grupo que consiste  
en a1) alquilo C<sub>1-8</sub>, opcionalmente sustituido con un grupo  
alcoxilo C<sub>1-8</sub>, b1) (aril C<sub>6-10</sub>)-alquilo C<sub>1-4</sub> y c1) (heteroaril C<sub>5-10</sub>)-  
alquilo C<sub>1-4</sub> en el que el resto heteroarilo C<sub>5-10</sub> comprende  
de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en  
nitrógeno, oxígeno y azufre,

cuando X es un enlace sencillo, R<sub>1a</sub> se selecciona del  
grupo que consiste en d1) fenilo opcionalmente sustituido con  
de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en  
OH, NR<sub>5a</sub>R<sub>6a</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado, alcoxilo  
C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; e1) naftilo  
opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes

- seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5a</sub>R<sub>6a</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado, alcoxilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; f1) (heterociclil C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> en el que el resto heterociclilo comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; g1) alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con un grupo alcoxilo C<sub>1-8</sub> y h1) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5a</sub>R<sub>6a</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno;
- cuando X es un grupo -NH-, R<sub>1a</sub> se selecciona del grupo que consiste en d2) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NH<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; e2) naftilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5a</sub>R<sub>6a</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; f2) (heterociclil C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> en el que el resto heterociclilo comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5a</sub>R<sub>6a</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; g2) alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado, opcionalmente sustituido con un grupo alcoxilo C<sub>1-8</sub> y h2) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NH<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno;
- R<sub>2a</sub> se selecciona del grupo que consiste en i1) alquilo C<sub>1-8</sub> opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de flúor, j1) (alcoxi C<sub>1-8</sub>)-alquilo C<sub>1-8</sub> y k1) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub>

en el que el anillo de cicloalquilo está opcionalmente sustituido con 1, 2 ó 3 átomos de flúor con la condición de que cuando X es O entonces R<sub>2a</sub> no es un grupo isopropilo,

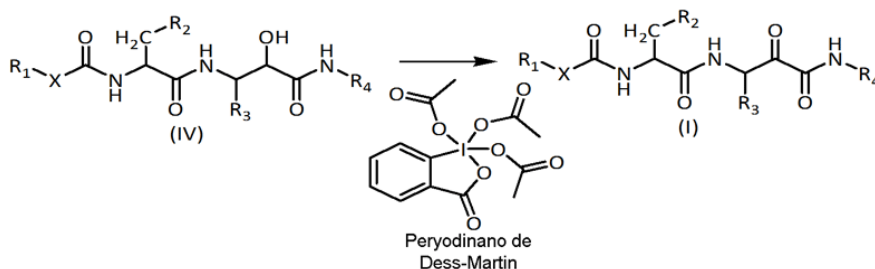
R<sub>3a</sub> se selecciona del grupo que consiste en l1) alquilo C<sub>1-8</sub> y m1) bencilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, MeO, CN y átomos de halógeno con la condición de que cuando X es un enlace sencillo y R<sub>1a</sub> es un grupo (heterociclil C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub>, R<sub>3a</sub> no es un grupo etilo;

R<sub>4a</sub> se selecciona del grupo que consiste en n1) alquilo C<sub>1-8</sub>, o1) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> opcionalmente sustituido con alquilo C<sub>1-4</sub> y p1) alcoxilo C<sub>1-8</sub>; y

R<sub>5a</sub> y R<sub>6a</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en átomos de hidrógeno y grupos alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto adicional la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) tal como se definió en el primer aspecto, en particular de un compuesto de fórmula (II) tal como se definió en el quinto aspecto, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (IV) con peryodinano de Dess-Martin tal como se muestra a continuación



En un aspecto adicional la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (II) tal como se definió en el quinto aspecto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

**DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**Definiciones

Se incluyen algunas definiciones con el objetivo de facilitar la comprensión de la invención.

5 El término "alquilo" tal como se emplea en el presente documento solo o como parte de otro grupo designa una cadena hidrocarbonada monovalente, saturada, lineal o ramificada que contiene el número de átomos de carbono indicado en cada caso que es normalmente de desde de uno hasta seis átomos de carbono, y preferiblemente desde uno hasta tres. Ejemplos de alquilos son metilo, etilo, propilo, 2-propilo, n-butilo, 10 isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, sec-pentilo, terc-pentilo, neopentilo y similares.

15 El término "alcoxilo" tal como se emplea en el presente documento solo o como parte de otro grupo designa un grupo alquilo tal como se definió anteriormente unido a través de oxígeno, es decir alquil-O-, en el que el grupo alquilo puede estar sustituido con un grupo arilo tal como se define a continuación. Los ejemplos de los mismos incluyen metoxilo, 20 etoxilo, isopropoxilo, terc-butoxilo, benciloxilo y similares.

El término "arilo" significa un grupo aromático mono o bicíclico, que contiene el número de átomos de carbono del anillo indicado en cada caso que es normalmente de desde seis hasta diez, en el que el anillo monocíclico es aromático, y al 25 menos uno de los anillos en el anillo bicíclico es aromático. Los ejemplos representativos incluyen fenilo, naftilo e indanilo y similares.

El término "arilo" significa un grupo aromático mono o bicíclico, que contiene el número de átomos de carbono del anillo indicado en cada caso que es normalmente de desde seis hasta diez, en el que el anillo monocíclico es aromático, y al 30 menos uno de los anillos en el anillo bicíclico es aromático. Los ejemplos representativos incluyen fenilo, naftilo e indanilo y similares.

El término "arilalquilo" se usa en la presente invención para designar un grupo arilo que está unido a un grupo alquilenos  $-(CH_2)_n-$ . Cuando el número entero  $n$  toma un valor de cero, el grupo arilalquilo es de hecho un grupo arilo. De manera similar, el término "heteroarilalquilo" se usa en la presente invención para designar un grupo heteroarilo que está unido a un grupo alquilenos  $-(CH_2)_n-$  y el término cicloalquilalquilo se usa en la presente invención para designar un grupo arilo que está unido a un grupo alquilenos  $-(CH_2)_n-$ . Cuando el número entero  $n$  toma un valor de cero, el grupo heteroarilalquilo es de hecho un grupo heteroarilo.

Los términos "halógeno" y "halo" se refieren a uno cualquiera de F, Cl, Br y I.

El término "haloalquilo" tal como se emplea en el presente documento solo o como parte de otro grupo designa un grupo alquilo tal como se definió anteriormente sustituido con uno o más átomos de halógeno, preferiblemente uno, dos, tres o cuatro átomos de halógeno. Los ejemplos de los mismos incluyen bromometilo, clorometilo, fluorometilo, trifluorometilo, 1-bromoetilo, 2-bromoetilo, 1,2-dibromoetilo, 1,1-dibromoetilo, 2,2-dibromoetilo, 1-cloroetilo, 2-cloroetilo, 1,2-dicloroetilo, 1,1-dicloroetilo, 2,2-dicloroetilo, 1-fluoroetilo, 2-fluoroetilo, 1,2-difluoroetilo, 1,1-difluoroetilo, 2,2-difluoroetilo y similares.

El término "heteroarilo" significa un sistema de anillos bicíclico condensado, bicíclico de 8 a 10 miembros, monocíclico de 5 a 6 miembros o monocíclico que contiene uno o más, específicamente uno, dos o tres heteroátomos de anillo seleccionados independientemente de O, N y S, y siendo los átomos de anillo restantes carbono. Los átomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y el heteroátomo de nitrógeno está opcionalmente cuaternizado. En el caso de grupos heteroarilo monocíclicos el anillo será aromático y en el caso de grupos bicíclicos condensados al menos uno de los

anillos condensados será aromático. Ejemplos de grupos heteroarilo son piridinilo, furanilo, tiofenilo, quinolinilo, tetrahydroquinolinilo y similares.

5 El término "heterociclilo" significa un grupo monocíclico saturado o insaturado que contiene el número de átomos de anillo indicado en cada caso que es normalmente de 3 a 8, preferiblemente de 5 a 7, o un grupo bicíclico condensado saturado o insaturado que contiene el número de átomos de anillo indicado en cada caso que es normalmente de 5 a 12  
10 átomos de anillo en el que uno o más, específicamente uno, dos o tres heteroátomos de anillo se seleccionan independientemente de N, O y S. Los átomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y el heteroátomo de nitrógeno está opcionalmente cuaternizado. El radical  
15 bicíclico condensado incluye sistemas de anillos en puente. Ejemplos de heterociclilo son morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo, pirrolidinilo, oxolanilo, tiolanilo, oxanilo, tianilo, azepanilo, oxepanilo, tiepanilo, tiomorfolinilo, dioxanilo, ditianilo. El término heterociclilo también abarca  
20 grupos heterocíclicos totalmente insaturados, es decir grupos heteroaromáticos. Ejemplos de grupos heteroaromáticos son piridinilo, pirazinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, quinolinilo e isoquinolinilo.

25 Las referencias a grupos sustituidos en los compuestos de la presente invención se refieren al resto especificado que puede estar sustituido en una o más posiciones disponibles con uno o más grupos adecuados, en particular con uno, dos o tres sustituyentes.

30 El término "sal" debe entenderse como cualquier forma de un compuesto según la presente invención, en la que dicho compuesto está en forma iónica o está cargado y acoplado a un contraión (un catión o anión) o está en disolución. Esta definición también incluye sales de amonio cuaternario. La

definición incluye en particular sales farmacéuticamente aceptables.

5 El término "sal farmacéuticamente aceptable" abarca sales con un ácido o base farmacéuticamente aceptable, que se sintetizan a partir del compuesto original que contiene un resto ácido mediante adición de una base farmacéuticamente aceptable, o que se sintetizan a partir del compuesto original que contiene un resto básico mediante adición de un ácido farmacéuticamente aceptable. Los ácidos farmacéuticamente  
10 aceptables incluyen tanto ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, sulfúrico, fosfórico, difosfórico, bromhídrico, yodhídrico y nítrico, como ácidos orgánicos, por ejemplo, ácido cítrico, fumárico, maleico, málico, mandélico, ascórbico, oxálico, succínico, tartárico, benzoico, acético, metanosulfónico (mesilato), etanosulfónico, bencenosulfónico (besilato) o p-toluenosulfónico (tosilato). Las bases farmacéuticamente aceptables incluyen hidróxidos de metales alcalinos (por ejemplo, sodio o potasio) y metales alcalinotérreos (por ejemplo, calcio o magnesio) y bases  
15 orgánicas, tales como alquilaminas, arilalquilaminas y aminas heterocíclicas. Por ejemplo, sales farmacéuticamente aceptables de compuestos proporcionados en el presente documento se sintetizan a partir del compuesto original que contiene un resto básico o uno ácido mediante métodos químicos  
20 convencionales. Generalmente, tales sales se preparan, por ejemplo, haciendo reaccionar las formas de base libre o ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido o base apropiado, respectivamente, en agua o en un disolvente orgánico o en una mezcla de los dos.

30 Todos los estereoisómeros de los compuestos de esta invención se contemplan o bien solos o bien como mezclas de los mismos. El procedimiento de preparación puede usar racematos, enantiómeros o diastereoisómeros como materiales de partida. Cuando se preparan productos diastereoisoméricos o  
35 enantioméricos, pueden separarse mediante métodos

convencionales, por ejemplo, cristalización funcional o por cromatografía.

5 A menos que se mencione lo contrario, también se pretende que los compuestos de la invención incluyan compuestos que sólo se diferencian en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, compuestos que tienen las presentes estructuras excepto por la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido en  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$  o nitrógeno enriquecido en  $^{15}\text{N}$  están dentro del alcance de esta invención.

15 Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en formas no solvatadas así como en formas solvatadas, incluyendo formas hidratadas. En general, las formas solvatadas son equivalentes a las formas no solvatadas y quedan abarcadas dentro del alcance de la presente invención.

20 Determinados compuestos de la presente invención pueden existir en múltiples formas cristalinas o amorfas. En general, todas las formas físicas son equivalentes para los usos contemplados por la presente invención y se pretende que estén dentro del alcance de la presente invención.

25 El término "prevención", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la administración de un compuesto de fórmula (I) o de un compuesto de fórmula (II) de la invención en un estadio inicial o temprano de una enfermedad o estado, o también para prevenir su aparición.

30 El término "tratamiento" se usa para designar la administración de un compuesto de fórmula (I) o de un compuesto de fórmula (II) de la invención para controlar la progresión del trastorno antes o después de que hayan aparecido los signos clínicos. Se pretende que por control de la progresión del trastorno designe resultados clínicos beneficiosos o deseados incluyendo, pero sin limitarse a, reducción de síntomas, reducción de la duración del trastorno, estabilización del estado patológico (específicamente evitar

35

un deterioro adicional), retraso en la progresión del trastorno, mejora del estado patológico y remisión (tanto parcial como total). En una realización particular de la invención el compuesto de fórmula (I) o de fórmula (II) de la invención se usa para controlar la progresión del trastorno una vez que ha aparecido al menos uno de los signos clínicos del trastorno.

El término "medicamento", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una composición farmacéutica de la invención que comprende un compuesto de fórmula (I) o un compuesto de fórmula (II) de la invención. El medicamento puede administrarse mediante cualquier vía adecuada. Se prepara mediante medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables.

El término "sujeto", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier animal o ser humano que padece una de las enfermedades o estados dados a conocer en el presente documento. Preferiblemente, el sujeto es un mamífero. El término "mamífero", tal como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier especie de mamífero, incluyendo, pero sin limitarse a, animales domésticos y de granja (vacas, caballos, cerdos, ovejas, cabras, perros, gatos o roedores), primates y seres humanos. Preferiblemente, el mamífero es un ser humano.

#### Compuestos de fórmula (I)

En el primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia.

En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I) para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad

seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia en los que

X se selecciona del grupo que consiste en un enlace sencillo, un átomo de oxígeno y un grupo -NH-,

5 cuando X es O, R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en a) alquilo C<sub>1-8</sub>, b) (aril C<sub>6-10</sub>)-alquilo C<sub>1-4</sub> y c) (heteroaril C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>1-4</sub> en el que el resto heteroarilo C<sub>5-10</sub> comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre,

10 cuando X es un enlace sencillo o un grupo -NH-, R<sub>1</sub> se selecciona del grupo que consiste en d) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado; alcoxilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de  
15 halógeno; e) naftilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado, alcoxilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; f) (heterocicli C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> en el que el resto heterocicli está saturado  
20 o insaturado y comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; g)  
25 alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y h) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno;

30 R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en i) alquilo C<sub>1-8</sub>, j) (alcoxi C<sub>1-8</sub>)-O-alquilo C<sub>1-8</sub> y k) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub>;

35 R<sub>3</sub> se selecciona del grupo que consiste en l) alquilo C<sub>1-8</sub> y m) bencilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, MeO, CN y átomos de halógeno;

$R_4$  se selecciona del grupo que consiste en n) alquilo  $C_{1-8}$  y o) (cicloalquil  $C_{3-6}$ )-alquilo  $C_{0-2}$  opcionalmente sustituido con alquilo  $C_{1-4}$ ; y

5  $R_5$  y  $R_6$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en átomos de hidrógeno y grupos alquilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I) para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia en los que X es un enlace sencillo.

15 En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), tal como se definieron para el primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia en los que X se selecciona del grupo que consiste en un enlace sencillo y NH y el grupo  $R_1$  se selecciona del grupo que consiste en d) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-3}$  lineal o ramificado; y átomos de halógeno y f) heterociclilo  $C_{5-10}$  en el que el resto heterociclilo es heteroaromático y comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH,  $NR_5R_6$ , CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado y átomos de halógeno.

20  
25  
30

35 En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), tal como se definieron para el primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en

particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia en los que X se selecciona del grupo que consiste en un enlace sencillo y NH y el grupo  $R_1$  se selecciona del grupo que consiste en d) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-3}$  lineal o ramificado; y átomos de halógeno y f) un heteroarilo  $C_{5-10}$  seleccionado del grupo que consiste en piridinilo, pirimidinilo y quinolinilo, todos ellos opcionalmente sustituidos con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH,  $NH_2$ ,  $N(CH_3)_2$ , CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado y átomos de halógeno.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), tal como se definieron para el primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia, en los que  $R_1$  se selecciona del grupo que consiste en d) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH,  $NR_5R_6$ , CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado, alcoxilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado (preferiblemente metoxi) y átomos de halógeno; y f) (heterociclilo  $C_{5-10}$ )-alquilo  $C_{0-2}$  en el que el resto heterociclilo está saturado o insaturado y comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH,  $NR_5R_6$ , CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado y átomos de halógeno.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), tal como se definieron para el primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia, en los que

5  $R_1$  se selecciona del grupo que consiste en d) fenilo  
 opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes alcoxilo  
 $C_{1-6}$  lineal o ramificado (preferiblemente metoxilo); y f)  
 heterociclilo  $C_{5-10}$  en el que el resto heterociclilo es  
 heteroaromático y comprende de 1 a 3 heteroátomos  
 seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y  
 azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3  
 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH,  
 10  $NR_5R_6$ , CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado y átomos de  
 halógeno.

En otra realización, la presente invención proporciona  
 compuestos de fórmula (I), tal como se definieron para el  
 primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento  
 y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad  
 15 seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en  
 particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia, en los que  
 $R_1$  se selecciona del grupo que consiste en d) fenilo  
 opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes alcoxilo  
 $C_{1-6}$  lineal o ramificado (preferiblemente metoxilo); y f)  
 20 heterociclilo  $C_{5-10}$  en el que el heterociclilo se selecciona  
 del grupo que consiste en piridinilo, pirimidinilo y  
 quinolinilo, todos ellos opcionalmente sustituidos con de 1 a  
 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH,  
 $NH_2$ ,  $N(CH_3)_2$ , CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado y átomos  
 25 de halógeno.

En otra realización, la presente invención proporciona  
 compuestos de fórmula (I), tal como se definieron para el  
 primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento  
 y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad  
 30 seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en  
 particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia en los que el  
 grupo  $R_2$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo  $C_{2-5}$   
 lineal o ramificado y cicloalquilo  $C_{3-5}$ .

35 En otra realización, la presente invención proporciona  
 compuestos de fórmula (I), tal como se definieron para el

primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia en los que el grupo  $R_2$  se selecciona del grupo que consiste en isopropilo, propilo y ciclopropilo, preferiblemente isopropilo.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), tal como se definieron para el primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia en los que el grupo  $R_3$  es bencilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo  $C_{1-4}$ , MeO, CN y átomos de halógeno.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), tal como se definieron para el primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia en los que el grupo  $R_4$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo  $C_{2-5}$  lineal o ramificado y cicloalquilo  $C_{3-5}$  ambos opcionalmente sustituidos con alquilo  $C_{1-4}$ .

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), tal como se definieron para el primer aspecto de la invención, para su uso en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia en los que el grupo  $R_4$  se selecciona del grupo que consiste en etilo, terc-butilo y ciclopropilo.

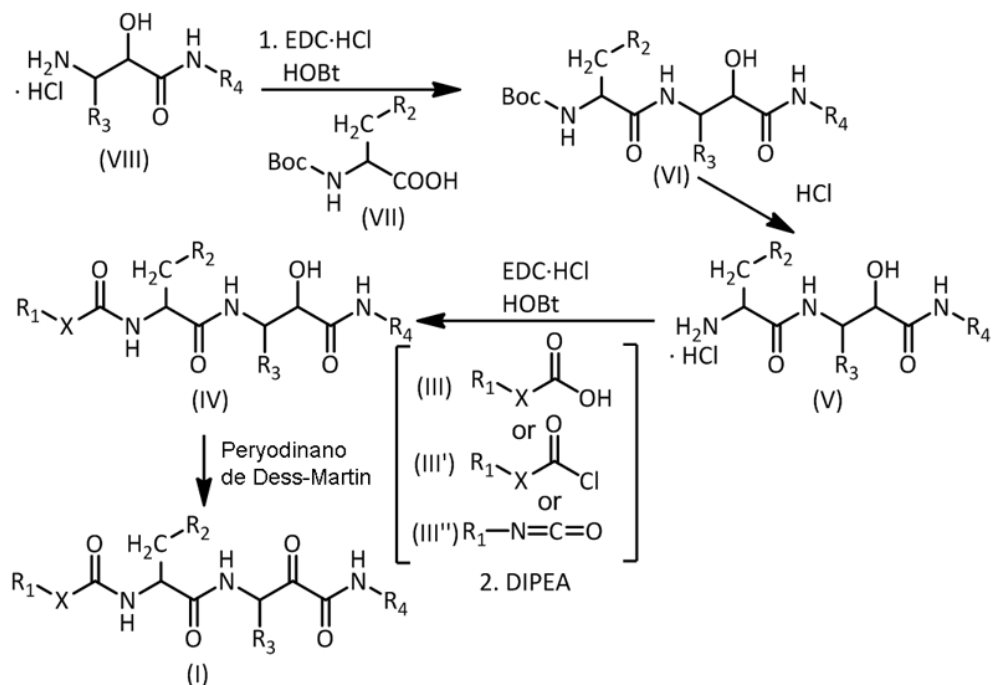
En el segundo aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

para la fabricación de un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia.

5           En el tercer aspecto, la presente invención se refiere a un método de tratamiento y/o prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia en un sujeto que lo necesita, que  
10       comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15       Procedimiento para la preparación de compuestos de fórmulas (I) o (II)

          Los compuestos de fórmula (I) o (II) pueden prepararse a partir de los clorhidratos de 3-amino-2-hidroxi-amida sustituidos en N de fórmula (VIII) siguiendo el esquema de  
20       síntesis mostrado a continuación:



En una primera etapa se disuelven el aminoácido protegido de fórmula (VII), HOBt (hidroxibenzotriazol), EDC·HCl (clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) y los clorhidratos de 3-amino-2-hidroxi-amida sustituidos en N de fórmula (VIII) en un disolvente tal como diclorometano (DCM). Después se añade DIPEA (N,N-diisopropiletilamina) y se deja reaccionar la mezcla para proporcionar el compuesto de fórmula (VI). Otros reactivos de acoplamiento de amida son igualmente eficaces tales como HATU en presencia de DIPEA en DMF o T3P en presencia de  $\text{NEt}_3$  en DMF.

Se hizo reaccionar el compuesto de fórmula (VI) en un disolvente tal como 1,4-dioxano con un ácido fuerte tal como ácido clorhídrico o en DCM y se trató con TFA para proporcionar el compuesto de fórmula (V).

Cuando X es un enlace, se disuelven el compuesto de fórmula (III), HOBt (hidroxibenzotriazol), EDC·HCl (clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) y el compuesto de fórmula (V) en un disolvente tal como DCM.

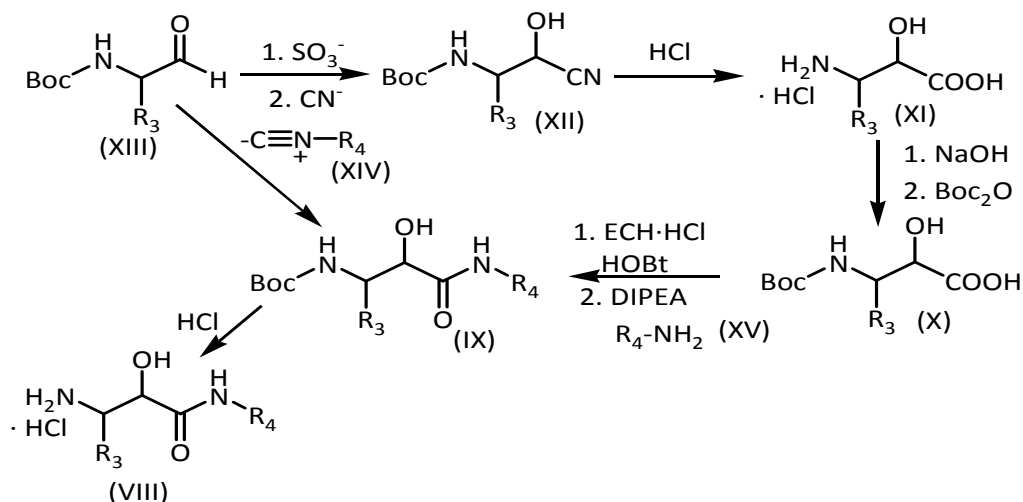
Después se añade DIPEA (N,N-diisopropiletilamina) y se deja reaccionar la mezcla para proporcionar el compuesto de fórmula (IV). Otros agentes de acoplamiento de amida son igualmente eficaces tales como HATU en presencia de DIPEA en DMF o T3P en presencia de  $\text{NEt}_3$  en DMF.

Cuando X es O, el compuesto de fórmula (IV) puede prepararse a partir de compuesto (V) mediante reacción con un derivado de clorhidrato de carbono (III') en un disolvente aprótico tal como DCM o mediante reacción con carbonilimidazol y el alcohol correspondiente.

Cuando X es NH, el compuesto de fórmula (IV) puede prepararse a partir de compuesto (V) mediante reacción con un derivado de isocianato (III'') en un disolvente aprótico tal como DCM o tolueno.

Finalmente, se disuelve el compuesto de fórmula (IV) en disolventes tales como DCM, DMF o una mezcla de los mismos y se añade peryodinano de Dess-Martin para proporcionar el compuesto de fórmula (I). Otros oxidantes tales como DCC en DMSO son igualmente útiles.

Los clorhidratos de 3-amino-2-hidroxi-amida sustituidos en N de fórmula (VIII) pueden obtenerse a partir de los aminoaldehídos protegidos de fórmula (XIII) siguiendo el esquema de síntesis mostrado a continuación:



En una primera etapa se disuelven los aminoaldehídos protegidos de fórmula (XIII) en un disolvente tal como 1,4-dioxano y se añade bisulfito de sodio seguido por la adición de una disolución acuosa de cianuro de potasio para proporcionar el compuesto de fórmula (XII).

Se disuelve el compuesto de fórmula (XII) en una disolución acuosa de ácido concentrado tal como ácido clorhídrico concentrado y se somete a reflujo para proporcionar el compuesto de fórmula (XI).

Se lleva una disolución acuosa de compuesto de fórmula (XI) a pH alcalino (preferiblemente en el intervalo de 10-12) por ejemplo con hidróxido de sodio y se añade  $\text{Boc}_2\text{O}$  (dicarbonato de di-terc-butilo). Tras la conversión total se acidifica la mezcla, por ejemplo con  $\text{KHSO}_4$ , y se extrae el compuesto de fórmula (X) con un disolvente inmiscible en agua tal como acetato de etilo.

Se disuelven el compuesto de fórmula (X), HOBt (hidroxibenzotriazol), EDC·HCl (clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) en un disolvente tal como DCM anhidro. Después se añaden DIPEA (N,N-diisopropiletilamina) y la amina de fórmula (XV) y se deja reaccionar la mezcla durante de 8 a 24 horas para proporcionar el compuesto de fórmula (VIII). También puede usarse T3P o HATU en lugar de EDC·HCl y HOBt con buenos resultados.

Se hizo reaccionar el compuesto de fórmula (IX) en un disolvente tal como 1,4-dioxano con un ácido fuerte tal como ácido clorhídrico para proporcionar el compuesto de fórmula (V).

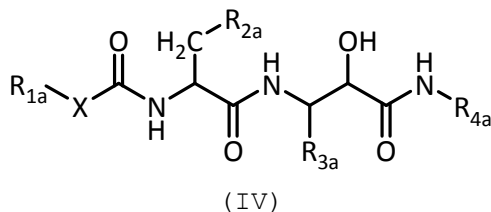
En una ruta de síntesis alternativa que también se ilustra en el esquema anterior, se disuelven los aminoaldehídos protegidos de fórmula (XIII) en un disolvente tal como DCM anhidro y se añaden un ácido tal como ácido acético y un compuesto de isocianuro de fórmula (XIV) y se dejan reaccionar en una atmósfera inerte tal como atmósfera de argón a temperatura ambiente. Después se elimina el disolvente

y se extrae el compuesto resultante con acetato de etilo y se lava con una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio. Después se disolvió el producto en una mezcla de THF (tetrahidrofurano) y MeOH (metanol) y se trató con una disolución acuosa de hidróxido de litio para proporcionar el compuesto de fórmula (IX).

Después, se hace reaccionar el compuesto de fórmula (IX), tal como se describió anteriormente, en un disolvente tal como 1,4-dioxano con un ácido fuerte tal como ácido clorhídrico para proporcionar el compuesto de fórmula (VIII).

Los compuestos de partida de fórmulas (XIII), (XIV), (XV), (VII) y (III) o bien están disponibles comercialmente o bien pueden obtenerse mediante métodos descritos en la bibliografía.

Por tanto, en un aspecto adicional, la presente invención se refiere a un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (II) tal como se define en el presente documento, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (IV) con peryodinano de Dess-Martin



en la que X, R<sub>1a</sub>, R<sub>2a</sub>, R<sub>3a</sub> y R<sub>4a</sub> son tal como se definieron para los compuestos de fórmula (II).

#### Uso de compuestos de fórmula (I) o (II)

##### **Uso no terapéutico**

Los compuestos de dipeptidil-cetoamida de fórmulas (I) o (II) tal como se definieron anteriormente pueden reducir la adipogénesis y/o el depósito de cantidades aumentadas de gotitas de triglicéridos o lípidos citoplasmáticas en adipocitos, pudiendo así prevenir la acumulación de triglicéridos en tejido adiposo y/o reducir la cantidad de

triglicéridos en tejido adiposo. Esta propiedad permite el uso no terapéutico de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II).

5 En particular, un aspecto de la invención se refiere al uso no terapéutico de un compuesto de fórmula (I) tal como se definió anteriormente en el primer aspecto de la invención para reducir la acumulación de grasa, por ejemplo para mejorar el aspecto corporal, en un sujeto que no padece obesidad u otros estados patológicos relacionados con la obesidad, tales como lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia.

10

#### **Uso terapéutico**

La capacidad de los compuestos de dipeptidil-cetoamida de fórmula (I) o (II) tal como se definieron para reducir la adipogénesis y/o el depósito de cantidades aumentadas de gotitas de triglicéridos o lípidos citoplasmáticas en adipocitos también permite el uso terapéutico de dichos compuestos en el tratamiento y/o la prevención de un estado relacionado con la obesidad seleccionado del grupo que consiste en obesidad, lipidosis (en particular esteatosis hepática) e hiperlipidemia mediante administración de dichos compuestos a un sujeto que lo necesita, particularmente a un sujeto que padece obesidad o corre el riesgo de padecer obesidad.

15

20

25

#### Compuestos de fórmula (II)

En el quinto aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (II) tal como se definió anteriormente. Los compuestos de fórmula (II) son un subgrupo de compuestos de fórmula (I) que no se han dado a conocer anteriormente.

30

En una realización la presente invención proporciona compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el quinto aspecto de la invención, en los que

X se selecciona del grupo que consiste en un enlace sencillo, un átomo de oxígeno y un grupo -NH-,

cuando X es O, R<sub>1a</sub> se selecciona del grupo que consiste en a1) alquilo C<sub>1-8</sub>, b1) (aril C<sub>6-10</sub>)-alquilo C<sub>1-4</sub> y c1) (heteroaril C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>1-4</sub> en el que el resto heteroarilo C<sub>5-10</sub> comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre,

cuando X es un enlace sencillo, R<sub>1a</sub> se selecciona del grupo que consiste en d1) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5a</sub>R<sub>6a</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado, alcoxilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; e1) naftilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5a</sub>R<sub>6a</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado, alcoxilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; f1) (heterociclil C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> en el que el resto heterociclilo comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5</sub>R<sub>6</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; g1) alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y h1) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5a</sub>R<sub>6a</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno;

cuando X es un grupo -NH-, R<sub>1a</sub> se selecciona del grupo que consiste en d2) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NH<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; e2) naftilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5a</sub>R<sub>6a</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; f2) (heterociclil C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> en el que el resto heterociclilo comprende de 1 a 3 heteroátomos

seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NR<sub>5a</sub>R<sub>6a</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno; g2) alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y h2) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH, NH<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y átomos de halógeno;

R<sub>2a</sub> se selecciona del grupo que consiste en i1) alquilo C<sub>1-8</sub>, j1) (alcoxi C<sub>1-8</sub>)-alquilo C<sub>1-8</sub> y k1) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> con la condición de que cuando X es O entonces R<sub>2a</sub> no es un grupo isopropilo,

R<sub>3a</sub> se selecciona del grupo que consiste en l1) alquilo C<sub>1-8</sub> y m1) bencilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, MeO, CN y átomos de halógeno con la condición de que cuando X es un enlace sencillo y R<sub>1a</sub> es un grupo (heterociclíl C<sub>5-10</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub>, R<sub>3a</sub> no es un grupo etilo;

R<sub>4a</sub> se selecciona del grupo que consiste en n1) alquilo C<sub>1-8</sub> y o1) (cicloalquil C<sub>3-6</sub>)-alquilo C<sub>0-2</sub> opcionalmente sustituido con alquilo C<sub>1-4</sub>; y

R<sub>5a</sub> y R<sub>6a</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en átomos de hidrógeno y grupos alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización la presente invención proporciona compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el quinto aspecto de la invención, en los que X es un enlace sencillo.

En otra realización la presente invención proporciona compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el quinto aspecto de la invención, en los que o bien i) X se selecciona del grupo que consiste en O y NH y el grupo R<sub>1a</sub> se selecciona del grupo que consiste en a1) alquilo C<sub>1-6</sub> o bien

ii) X es un enlace sencillo y el grupo  $R_{1a}$  se selecciona del grupo que consiste en d1) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-3}$  lineal o ramificado, alcoxilo  $C_{1-3}$  lineal o ramificado (preferiblemente metoxilo) y átomos de halógeno y f1) heterociclilo  $C_{5-10}$  en el que el resto heterociclilo es heteroaromático y comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH,  $NR_5R_6$ , CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado y halógeno.

En otra realización la presente invención proporciona compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el quinto aspecto de la invención, en los que X es un enlace sencillo y el grupo  $R_{1a}$  se selecciona del grupo que consiste en d1) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 alcoxilos  $C_{1-3}$  lineales o ramificados (preferiblemente metoxilo), y f1) heterociclilo  $C_{5-10}$  en el que el resto heterociclilo es heteroaromático y comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH,  $NR_5R_6$ , CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-6}$  lineal o ramificado y halógeno.

En otra realización la presente invención proporciona compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el quinto aspecto de la invención, en los que o bien i) X se selecciona del grupo que consiste en O y NH y el grupo  $R_{1a}$  se selecciona del grupo que consiste en a1) alquilo  $C_{1-6}$  o bien ii) X es un enlace sencillo y el grupo  $R_{1a}$  se selecciona del grupo que consiste en d1) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en CN,  $CF_3$ , alquilo  $C_{1-3}$  lineal o ramificado, y átomos de halógeno y f1) heterociclilo  $C_{5-10}$  en el que el resto heterociclilo es heteroaromático y comprende de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y

azufre y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH,  $\text{NR}_5\text{R}_6$ , CN,  $\text{CF}_3$ , alquilo  $\text{C}_{1-6}$  lineal o ramificado y halógeno.

5 En otra realización la presente invención proporciona compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el quinto aspecto de la invención, en los que o bien i) X se selecciona del grupo que consiste en O y NH y el grupo  $\text{R}_{1a}$  se selecciona del grupo que consiste en a1) alquilo  $\text{C}_{1-8}$  o bien  
 10 ii) X es un enlace sencillo y el grupo  $\text{R}_{1a}$  se selecciona del grupo que consiste en d1) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en CN,  $\text{CF}_3$ , alquilo  $\text{C}_{1-3}$  lineal o ramificado, alcoxilo  $\text{C}_{1-3}$  lineal o ramificado (preferiblemente metoxi), y átomos de halógeno y f1) un heterociclilo  $\text{C}_{5-10}$  en el que el resto heterociclilo es  
 15 heteroaromático y se selecciona del grupo que consiste en piridinilo, pirimidinilo y está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en OH,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ , CN,  $\text{CF}_3$ , alquilo  $\text{C}_{1-6}$  lineal o ramificado y halógeno.

20 En otra realización la presente invención proporciona compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el quinto aspecto de la invención, en los que o bien X es un enlace sencillo y el grupo  $\text{R}_{1a}$  se selecciona del grupo que consiste en d1) fenilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3  
 25 sustituyentes alcoxilo  $\text{C}_{1-3}$  lineal o ramificado (preferiblemente metoxilo), y f1) un heterociclilo  $\text{C}_{5-10}$  en el que el resto heterociclilo es heteroaromático y se selecciona del grupo que consiste en piridinilo, pirimidinilo y opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes  
 30 seleccionados del grupo que consiste en OH,  $\text{NH}_2$ ,  $\text{N}(\text{CH}_3)_2$ , CN,  $\text{CF}_3$ , alquilo  $\text{C}_{1-6}$  lineal o ramificado y halógeno.

En otra realización la presente invención proporciona compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el quinto aspecto de la invención, en los que o bien i) X se  
 35 selecciona del grupo que consiste en O y NH y el grupo  $\text{R}_{1a}$  se

selecciona del grupo que consiste en a1) alquilo C<sub>1-8</sub> o bien  
 ii) X es un enlace sencillo y el grupo R<sub>1a</sub> se selecciona del  
 grupo que consiste en d1) fenilo opcionalmente sustituido con  
 de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en  
 5 CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-3</sub> lineal o ramificado; y átomos de halógeno  
 y f1) un heterocicclilo C<sub>5-10</sub> en el que el resto heterocicclilo  
 es heteroaromático y se selecciona del grupo que consiste en  
 piridinilo, pirimidinilo y está opcionalmente sustituido con  
 de 1 a 3 sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en  
 10 OH, NH<sub>2</sub>, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, CN, CF<sub>3</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> lineal o ramificado y  
 halógeno.

En otra realización la presente invención proporciona  
 compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el  
 tercer aspecto de la invención, en los que X es un enlace  
 15 sencillo.

En otra realización la presente invención proporciona  
 compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el  
 tercer aspecto de la invención, en los que el grupo R<sub>2a</sub> se  
 selecciona del grupo que consiste en alquilo C<sub>2-5</sub> lineal o  
 20 ramificado y cicloalquilo C<sub>3-5</sub> con la condición de que cuando X  
 es O entonces R<sub>2a</sub> no es un grupo isopropilo.

En otra realización la presente invención proporciona  
 compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el  
 tercer aspecto de la invención, en los que el grupo R<sub>2a</sub> se  
 25 selecciona del grupo que consiste en isopropilo, propilo y  
 ciclopropilo, preferiblemente isopropilo, con la condición de  
 que cuando X es O entonces R<sub>2a</sub> no es un grupo isopropilo.

En otra realización la presente invención proporciona  
 compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el  
 tercer aspecto de la invención, en los que el grupo R<sub>3a</sub> es  
 30 bencilo opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes  
 seleccionados del grupo que consiste en alquilo C<sub>1-4</sub>, MeO, CN y  
 átomos de halógeno.

En otra realización la presente invención proporciona  
 35 compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el

tercer aspecto de la invención, en los que el grupo  $R_{4a}$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo  $C_{2-5}$  lineal o ramificado y cicloalquilo  $C_{3-5}$  ambos opcionalmente sustituidos con alquilo  $C_{1-4}$ .

5 En otra realización la presente invención proporciona compuestos de fórmula (II), tal como se definieron para el tercer aspecto de la invención, en los que el grupo  $R_{4a}$  se selecciona del grupo que consiste en etilo, terc-butilo y ciclopropilo.

10

#### Composiciones farmacéuticas/formulaciones y administración

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (II) tal como se definió anteriormente, o un estereoisómero o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

15

El término "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a un vehículo, diluyente o adyuvante que se administra con el principio activo. Tales excipientes farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tales como agua y aceites, incluyendo aquellos de origen del petróleo, animal, vegetal o sintético, tales como aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. Se usan preferiblemente como vehículos agua o soluciones salinas acuosas y disoluciones acuosas de dextrosa y glicerol, particularmente para disoluciones inyectables. Se describen vehículos farmacéuticos adecuados en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E.W. Martin, 21<sup>a</sup> edición, 2005.

20

25

Los compuestos de fórmula (II) de la invención pueden administrarse por las vías oral, sublingual, parenteral, subcutánea, intramuscular, intravenosa, transdérmica, intranasal, intraocular y/o rectal. Los compuestos pueden administrarse solos o en combinación con uno o más de otros compuestos de la invención o uno o más de otros fármacos.

30

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden comprender los compuestos de fórmula (II) dentro de liposomas o microvesículas, y pueden estar en forma de dispersiones, disoluciones, lociones, geles y similares, incluyendo preparaciones tópicas.

## EJEMPLOS

### Abreviaturas

En los ejemplos se usan las siguientes abreviaturas:

- 10 ACN: acetonitrilo  
 Boc: terc-butoxicarbonilo  
 conc: concentrado  
 Boc<sub>2</sub>O: dicarbonato de di-terc-butilo  
 DCC: N,N'-diciclohexilcarbodiimida  
 15 DCM: diclorometano  
 DIPEA: N,N-diisopropiletilamina  
 DMEM: medio esencial mínimo de Eagle modificado por Dulbecco/Vogt  
 DMF: dimetilformamida  
 20 DMSO: dimetilsulfóxido  
 EDC·HCl: clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida  
 EtOAc: acetato de etilo  
 EtOH: etanol  
 25 FBS: suero bovino fetal  
 HEPES: ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico  
 HATU: hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metilen]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio  
 HOBt: hidroxibenzotriazol  
 30 MeOH: metanol  
 Min: minutos  
 NEt<sub>3</sub>: trietilamina  
 T3P: anhídrido cíclico del ácido n-propil-fosfónico  
 TEA: trietilamina  
 35 TFA: ácido trifluoroacético

THF: tetrahidrofurano

Tris-HCl: clorhidrato de tris(hidroximetil)aminometano

tR: tiempo de retención

CL-EM: cromatografía de líquidos-espectrometría de masas

5 Leu-OH: leucina

Sat: saturado

HCl: ácido clorhídrico

HBTU: hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(1H-benzotriazol-1-il)uronio

10 HSe: homoserina

DCHA: dicitclohexilamonio

### **Materiales y métodos**

15 Los productos de los ejemplos se caracterizaron usando cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas (CL-EM).

El análisis mediante HPLC-EM se llevó a cabo usando uno de los tres procedimientos siguientes:

#### **Método A:**

20 En un cromatógrafo Alliance HT 2795 (Waters) equipado con detector por red de fotodiodos 2996 y acoplado a detector Micromass ZQ4000 de CL/EM. Se logró la separación usando una columna YMC-Pack ODS-AQ (50x4,6 mm, S-3 µm) y usando mezclas de una disolución acuosa de ácido fórmico al 0,1% (A) una  
25 disolución al 0,1% de ácido fórmico en acetonitrilo (B) como eluyentes a 50°C y una velocidad de flujo de 1,6 ml/min usando las siguientes condiciones de elución: del 5% al 100% de B en 3,5 min.

30 Se fijó el detector al modo de electropulverización positiva (ESI+) en el intervalo de masas de 100-700. Tensión de cono de 10 V. T de fuente: 120°C. T de desolvatación: 350°C.

#### **Método B:**

35 En un cromatógrafo Alliance HT 2795 (Waters) equipado con detector por red de fotodiodos 2996 y acoplado a un

detector de masas 3100 de CL/EM. Se logró la separación usando una columna XBridge C18 (50x4,6 mm, S-3,5  $\mu$ m) y usando mezclas de una disolución acuosa de  $\text{NH}_4\text{CO}_3$  10 mM a pH=9 (A) y acetonitrilo (B) como eluyentes a 50°C y una velocidad de flujo de 1,6 ml/min usando las siguientes condiciones de elución: del 5% al 100% de B en 3,5 min.

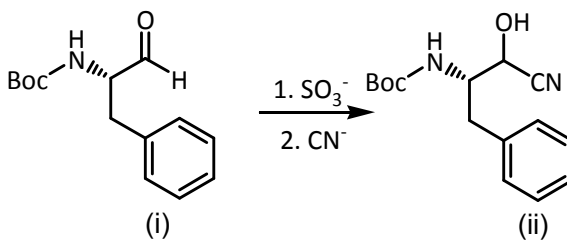
Se fijó el detector al modo de electropulverización positiva (ESI+) en el intervalo de masas de 100-700. Tensión de cono de 10 V. T de fuente: 120°C. T de desolvatación: 350°C.

#### Método C:

En un cromatógrafo AcQuity Ultraperformance LC equipado con un detector de PDA y acoplado a EM (SQD#M06SQD003W), se logró la separación usando una columna ACQUITY UPLC BEH C18 (50 x 2,1 mm, 1,7  $\mu$ m) y usando mezclas de una disolución acuosa de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  10 mM (B) y acetonitrilo (A) como eluyentes a 40°C y una velocidad de flujo de 0,5 ml/min usando las siguientes condiciones de elución: del 10% al 90% A en 3,0 min. Se fijó el detector de PDA a 190-400 nm (se leyeron las muestras a 220 y 260 nm).

#### Ejemplo de referencia 1: Síntesis de (3S)-3-amino-N-etil-2-hidroxi-4-fenilbutanamida (vi)

ETAPA 1: ((2S)-1-ciano-1-hidroxi-3-fenilpropan-2-il)carbamato de terc-butilo (ii)

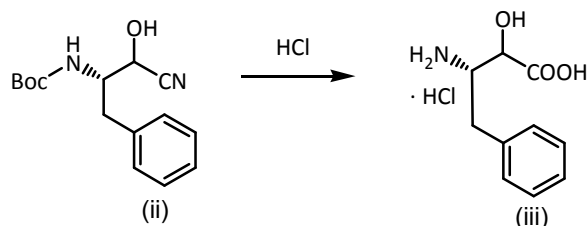


A una disolución de (S)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de terc-butilo (i) (1,49 g, 5,98 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) a 0°C, se le añadió bisulfato de sodio (4 eq). Se agitó la mezcla de reacción a 0°C durante 10 minutos y se añadió cianuro de potasio (4 eq) disuelto en agua (1 ml). Se agitó la mezcla de reacción durante 2 horas.

Se añadieron agua y EtOAc, se separaron las fases. Se lavaron las fases orgánicas combinadas con NaHCO<sub>3</sub> ac. sat., se secaron y se concentraron a presión reducida (1,2 g, 99%).

CL-EM (método A): t<sub>R</sub> = 2,73 min; m/z = 277 (MH<sup>+</sup>).

5 ETAPA 2: clorhidrato del ácido (3S)-3-amino-2-hidroxi-4-fenilbutanoico (iii)

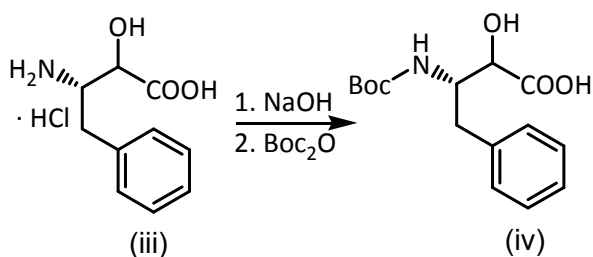


10 Se disolvió compuesto (ii) obtenido en la etapa 1 en 10 ml de disolución de HCl conc. y se sometió a reflujo durante 2 horas. Después, se enfrió la disolución y se neutralizó con NaOH 3 N hasta pH 11. Se extrajo con EtOAc.

Se usó la fase acuosa en la siguiente etapa sin purificación adicional (rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método B): t<sub>R</sub> = 0,88-1,00 min; m/z = 196 (MH<sup>+</sup>).

15 ETAPA 3: ácido (3S)-3-((terc-butoxicarbonil)amino)-2-hidroxi-4-fenilbutanoico (iv)

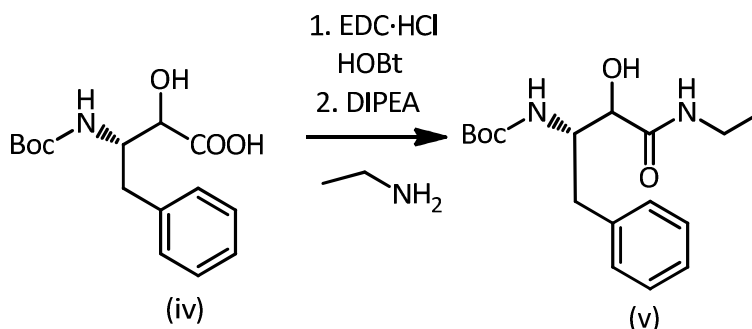


20 A la fase acuosa de la etapa 2 que comprendía compuesto (iii) se le añadieron 40 ml de NaOH 3 M hasta que el pH fue de 11 y, después, se añadieron 4,2 g de Boc<sub>2</sub>O. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Tras lograrse la conversión total se acidificó la mezcla con KHSO<sub>4</sub> hasta pH 2 y se extrajo con EtOAc. Se evaporó la fase orgánica y se usó el producto resultante para la siguiente etapa sin purificación

25 adicional (0,44 g, 32% para 2 etapas).

CL-EM (método B): t<sub>R</sub> = 1,68 min; m/z = 296 (MH<sup>+</sup>).

ETAPA 4: ((2S)-4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)carbamato de terc-butilo (v)



Se añadieron 4 ml de EDC.HCl (1,15 eq) y de HOBT (1,15 eq) a una disolución con agitación del producto (iv) de la etapa 3 (440 mg, 1,475 mmol) en DCM anhidro. Tras 15 min, se añadieron DIPEA (4 eq) y etilamina (2 M, disolución en THF, 6 eq) y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente.

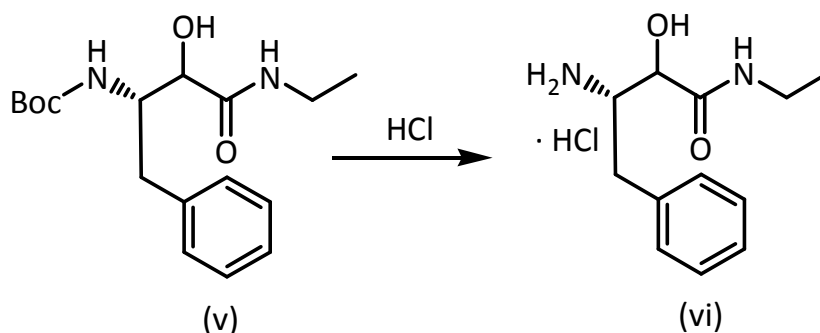
Tras 16 h, se añadieron T3P (2 eq) y DIPEA (2 eq más). Tras 4 h hubo una ligera mejora en la conversión. Se dejó agitar a temperatura ambiente.

Se eliminaron los componentes volátiles a vacío y el producto en bruto extraído con EtOAc se lavó con una disolución sat. de NaHCO<sub>3</sub> (2 x 20 ml).

Se purificó el producto en bruto sobre un sistema ISCO Rf usando hexanos/hexanos:EtOH (8:2) como disolventes, (desde el 0 hasta el 10% de B, producto eluido al 10% de B). Se obtuvieron 130 mg (130 mg, rendimiento del 27%).

CL-EM (método B): t<sub>R</sub> = 2,3 min; m/z = 323 (MH<sup>+</sup>).

ETAPA 5: clorhidrato de (3S)-3-amino-N-etil-2-hidroxi-4-fenilbutanamida (vi)

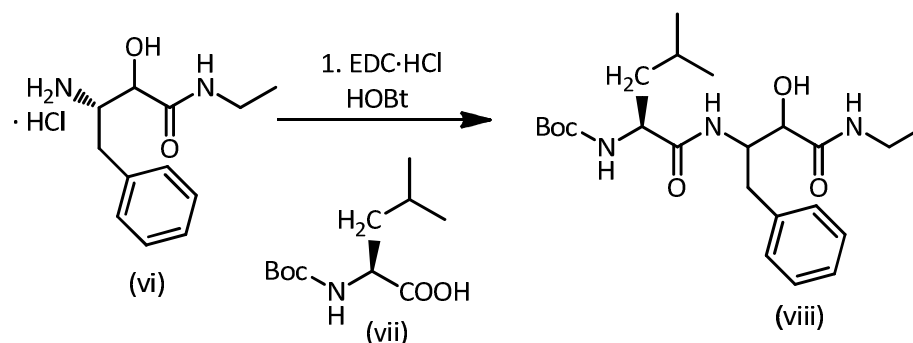


Se añadió HCl 4 N en 1,4-dioxano a (2S)-4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-ilcarbamato de terc-butilo (v) (0,83 g, 2,57 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 h. Se concentró el producto en bruto y se usó el producto resultante para la siguiente etapa sin purificación adicional (rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método C):  $t_R = 1,07$  min;  $m/z = 223$  ( $MH^+$ ).

**Ejemplo de referencia 2: clorhidrato de (2S)-2-amino-N-(4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)-4-metilpentanamida (ix)**

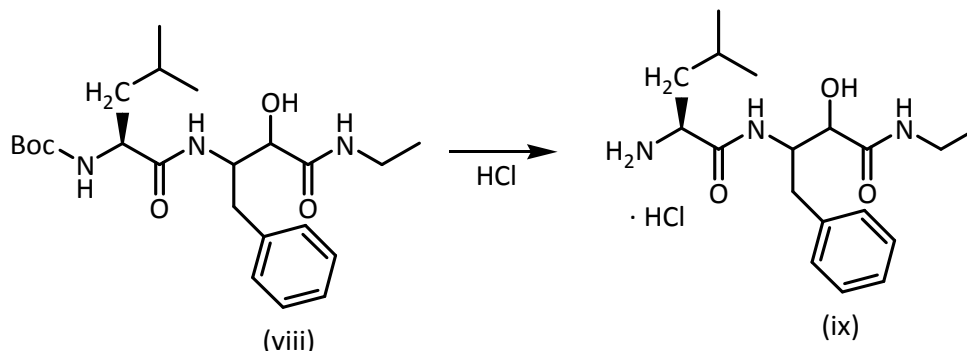
ETAPA 1: ((2S)-1-((4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)carbamato de terc-butilo (viii))



Se disolvieron ácido (2S)-terc-butoxycarbonilamino-4-metil-pentanoico (vii) (964 mg, 1,3 eq), EDC.HCl (856 mg, 1,5 eq), HOBt (684 mg, 1,5 eq) y el compuesto (vi) del ejemplo de referencia 1 (770 mg, 2,98 mmol) en DCM (10 ml), después se añadió DIPEA (2 ml, 4 eq). Se agitó la mezcla durante 16 h a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente. Se disolvió el residuo resultante en EtOAc y se lavó con una disolución saturada de  $NH_4Cl$  y una disolución saturada de  $NaHCO_3$ . Se evaporaron las fases orgánicas combinadas a presión reducida. Se purificó el producto (viii) mediante cromatografía en columna sobre un sistema ISCO Rf usando DCM y MeOH como disolventes (1,35 g, rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método B):  $t_R = 2,6$  min;  $m/z = 436$  ( $MH^+$ ).

ETAPA 2: clorhidrato ((2S)-2-amino-N-(4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)-4-metilpentanamida (ix)

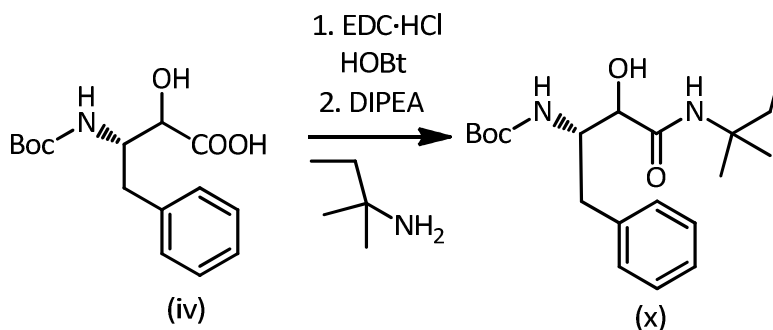


Se añadió HCl 4 N en 1,4-dioxano a ((2S)-1-((4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)carbamato (viii) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 h. Se concentró el producto en bruto y se usó el producto resultante para la siguiente etapa sin purificación adicional (rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método B): tR = 1,9-2,02 min; m/z = 336 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplo de referencia 3: clorhidrato de (3S)-3-amino-2-hidroxi-N-terc-pentil-4-fenilbutanamida (xli)**

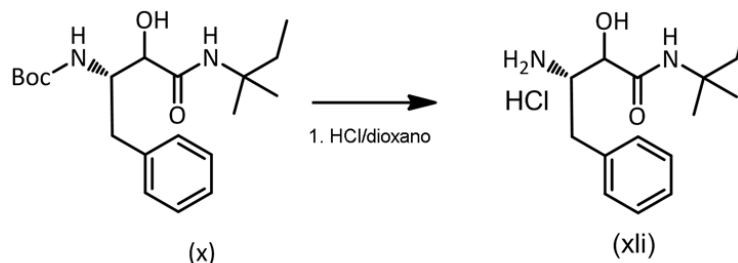
ETAPA 1: ((2S)-3-hidroxi-4-oxo-4-(terc-pentilamino)-1-fenilbutan-2-il)carbamato de terc-butilo (x)



Se obtuvo el compuesto del título siguiendo un procedimiento similar al descrito para el producto (v) en la etapa 4 del ejemplo de referencia 1 pero usando terc-amilamina en lugar de etilamina como material de partida (70 mg, rendimiento del 11%).

CL-EM (método A): tR = 3,12 min; m/z = 365 (MH<sup>+</sup>).

ETAPA 2: clorhidrato de (3S)-3-amino-2-hidroxi-N-terc-pentil-4-fenilbutanamida (xli)

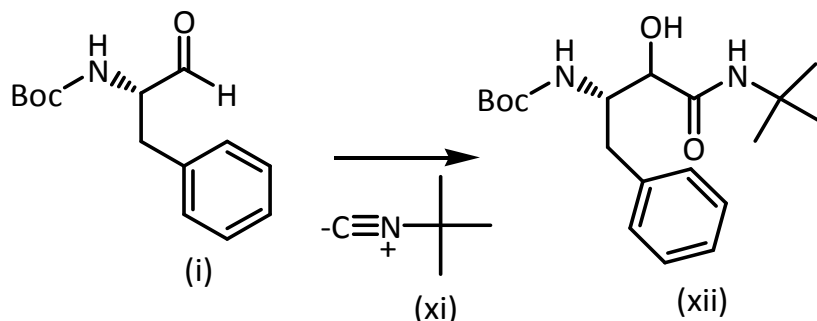


La preparación tuvo lugar de una manera similar a la descrita para el producto (vi) en la etapa 5 del ejemplo de referencia 1 usando compuesto (x) como material de partida (105 mg, rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método A):  $t_R = 1,70-1,78$  min;  $m/z = 265$  ( $MH^+$ ).

Ejemplo de referencia 4: clorhidrato de (3S)-3-amino-N-(terc-butil)-2-hidroxi-4-fenilbutanamida (xiii)

ETAPA 1: ((2S)-4-(terc-butilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)carbamato de terc-butilo (xii)



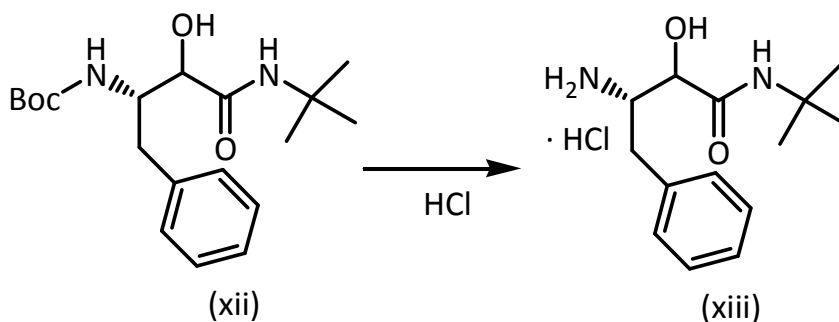
Se añadieron ácido acético (1,4 ml, 2 eq) e isocianuro de terc-butilo (xi) (1,5 ml, 1,1 eq) a una disolución de (S)-1-oxo-3-fenilpropan-2-ilcarbamato de terc-butilo (i) (3,0 g, 1 eq) en DCM anhidro (50 ml) y se agitó la mezcla bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente.

Tras 1,5 h, se eliminó el disolvente a vacío y se extrajo con EtOAc lavando con disolución acuosa saturada de  $NaHCO_3$ . Después se disolvió en THF:MeOH (8:3) y se trató con disolución de LiOH 1 M (1,0 g, 2 eq). Tras 30 min, se secaron los disolventes a vacío, se extrajo el producto en EtOAc

lavando con disolución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  y se purificó mediante cromatografía en columna: ISCO (12 g, hexanos/EtOH, desde el 4 hasta el 5% de EtOH). El producto eluyó al 5% de EtOH. Se obtuvieron 2,48 g (rendimiento del 59%).

5 CL-EM (método B):  $t_R = 2,70$  min;  $m/z = 351$  ( $\text{MH}^+$ ).

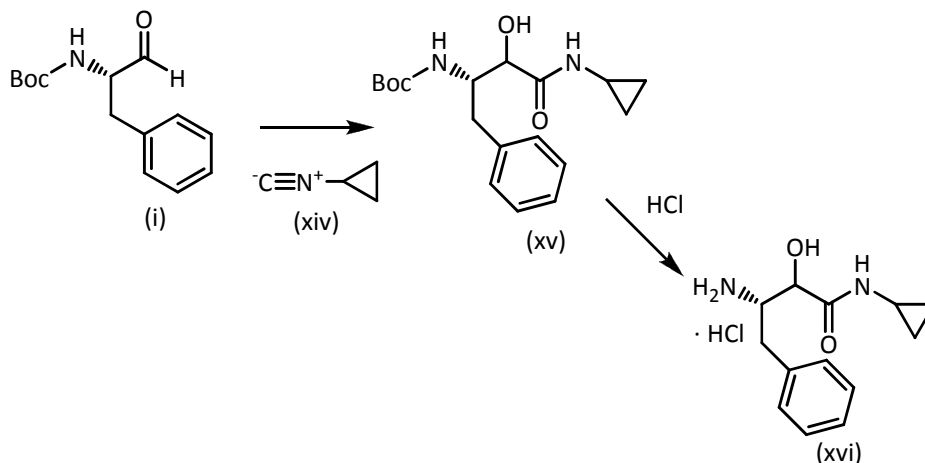
ETAPA 2: clorhidrato de (3S)-3-amino-N-(terc-butil)-2-hidroxi-4-fenilbutanamida (xiii)



10 La preparación tuvo lugar de una manera similar a la descrita para el producto (vi) en la etapa 5 del ejemplo de referencia 1 usando compuesto (xii) como material de partida (3,5 g, rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método B):  $t_R = 1,97$  min;  $m/z = 251$  ( $\text{MH}^+$ ).

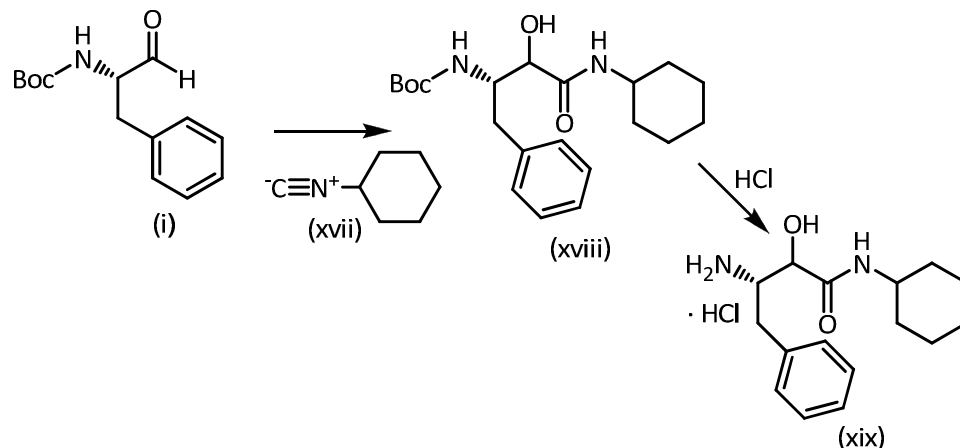
15 Ejemplo de referencia 5: clorhidrato de 3-amino-N-ciclopropil-2-hidroxi-4-fenilbutanamida (xvi)



20 Se obtuvo el compuesto del título siguiendo un procedimiento similar al descrito en el ejemplo de referencia 4 pero usando isocianuro de ciclopropilo (xiv) como material de partida (631 mg, rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método B):  $t_R = 1,55-1,62$  min;  $m/z = 235$  ( $MH^+$ ).

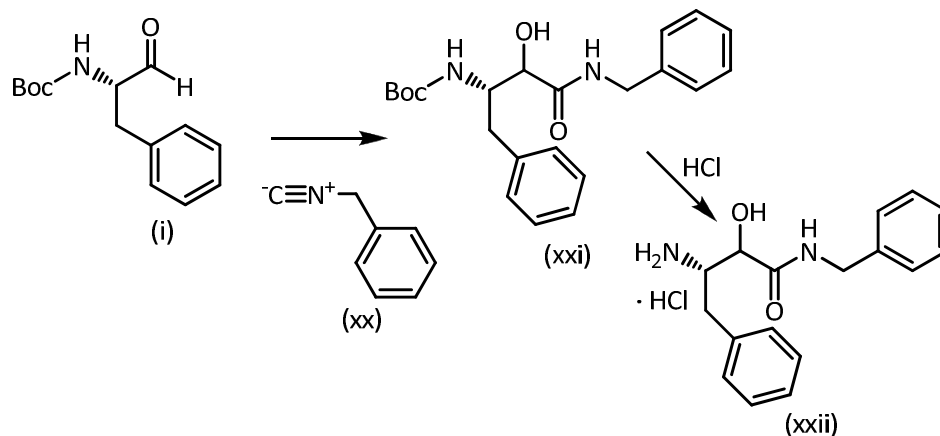
**Ejemplo de referencia 6: clorhidrato de 3-amino-N-ciclohexil-2-hidroxi-4-fenilbutanamida (xix)**



Se obtuvo el compuesto del título siguiendo un procedimiento similar al descrito en el ejemplo de referencia 4 pero usando isocianuro de ciclohexilo (xvii) como material de partida (80 mg, rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método B):  $t_R = 1,63$  min;  $m/z = 277$  ( $MH^+$ ).

**Ejemplo de referencia 7: clorhidrato de 3-amino-N-bencil-2-hidroxi-4-fenilbutanamida (xxii)**

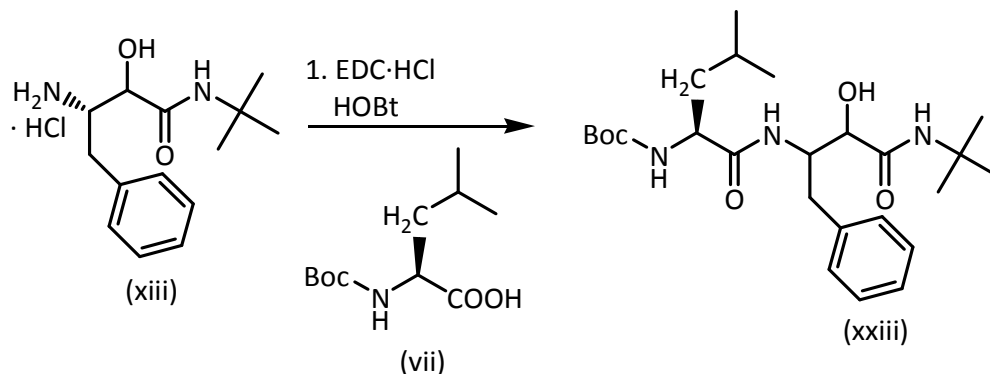


Se obtuvo el compuesto del título siguiendo un procedimiento similar al descrito en el ejemplo de referencia 4 pero usando isocianuro de bencilo (xx) como material de partida (100 mg, rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método B):  $t_R = 1,62$  min;  $m/z = 285$  ( $MH^+$ ).

**Ejemplo de referencia 8: clorhidrato de (2S)-2-amino-N-(4-(terc-butilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)-4-metilpentanamida (xxiv)**

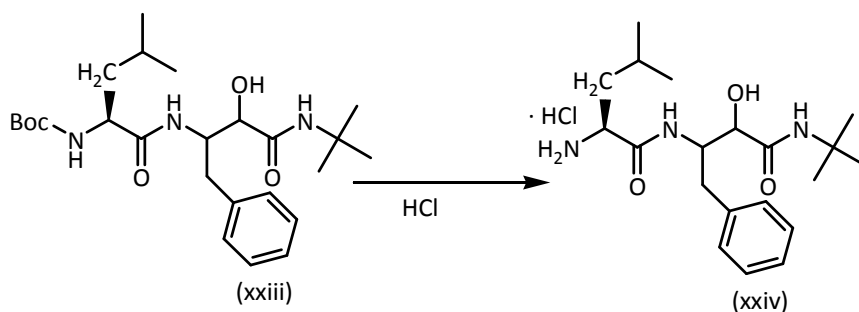
ETAPA 1: (2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-ilcarbamato de terc-butilo (xxiii)



El acoplamiento del compuesto descrito anteriormente (xiii) (2,03 g) con ácido (2S)-terc-butoxicarbonilamino-4-metil-pentanoico (vii) (2,13 g) de una manera similar al ejemplo de referencia 2, etapa 1, proporcionó 2,97 g (rendimiento del 91%).

CL-EM (método B):  $t_R = 2,90$  min;  $m/z = 464$  ( $MH^+$ ).

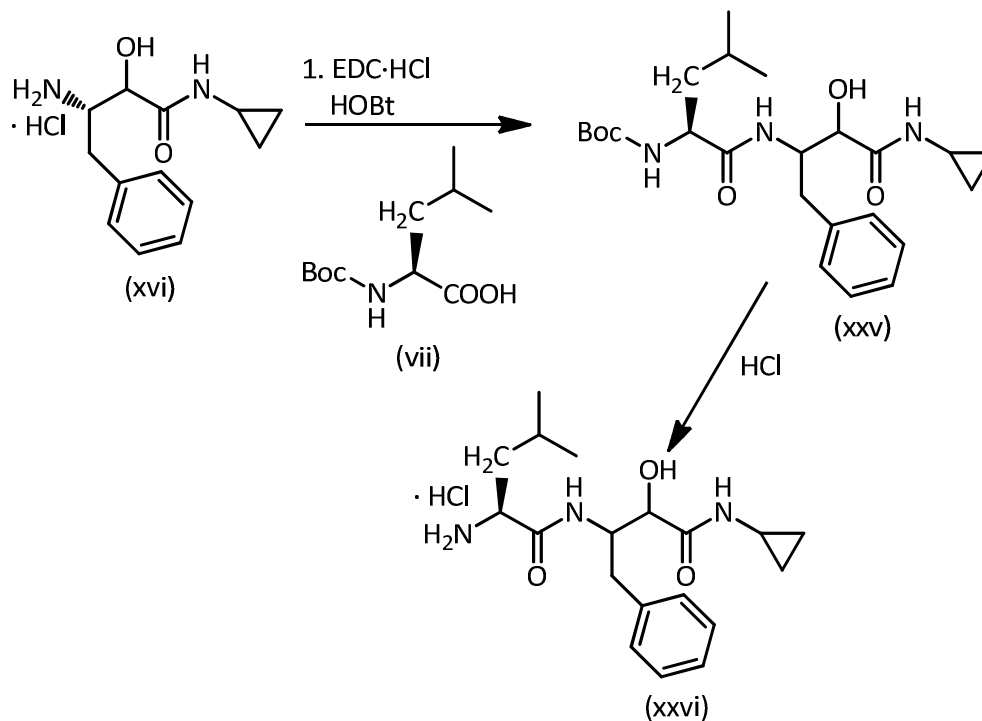
ETAPA 2: clorhidrato de (2S)-2-amino-N-(4-(terc-butilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)-4-metilpentanamida (xxiv)



La preparación tuvo lugar de una manera similar al ejemplo de referencia 1, etapa 5, usando compuesto (xxiii) como material de partida. Se obtuvieron 2,82 g (rendimiento cuantitativo, pureza supuesta del 86%) que se usaron para la siguiente etapa sin purificación adicional.

CL-EM (método B):  $t_R = 2,28-2,40$  min;  $m/z = 364$  ( $MH^+$ ).

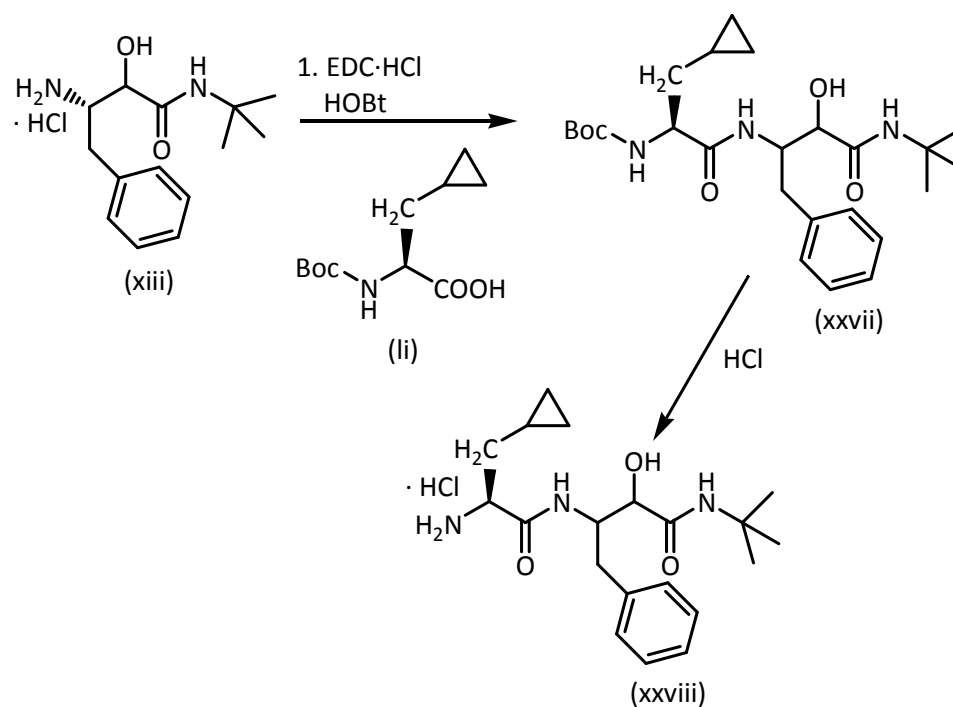
**Ejemplo de referencia 9: clorhidrato de (2S)-2-amino-N-(4-(ciclopropilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)-4-metilpentanamida (xxvi)**



5            Se obtuvo el compuesto del título siguiendo un procedimiento similar al descrito en el ejemplo de referencia 8 pero usando compuesto (xvi) como material de partida (184 mg, rendimiento del 44%).

CL-EM (método B): tR = 1,93-2,03 min; m/z = 348 (MH<sup>+</sup>).

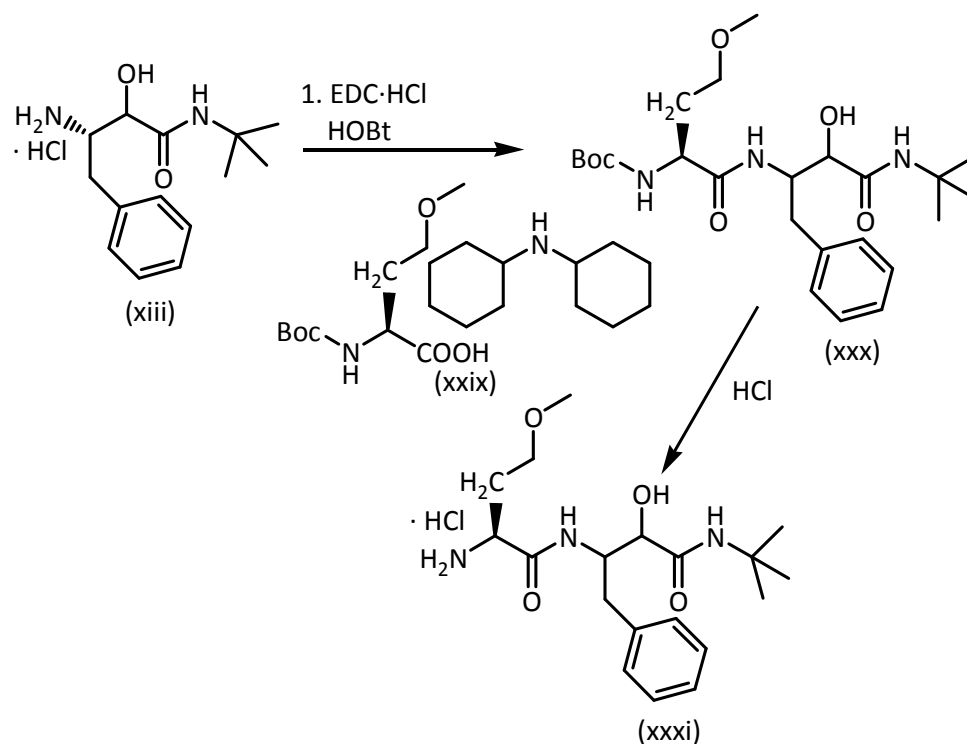
10           **Ejemplo de referencia 10: clorhidrato de 3-((S)-2-amino-3-ciclopropilpropanamido)-N-(terc-butil)-2-hidroxi-4-fenilbutanamida (xxviii)**



Se obtuvo el compuesto del título siguiendo un procedimiento similar al descrito en el ejemplo de referencia 8 pero usando compuesto (xiii) y ácido (S)-2-((terc-butoxicarbonil)amino)-3-ciclopropilpropanoico (li) como materiales de partida (130 mg, rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método B):  $t_R = 1,7-1,79$  min;  $m/z = 362$  ( $MH^+$ ).

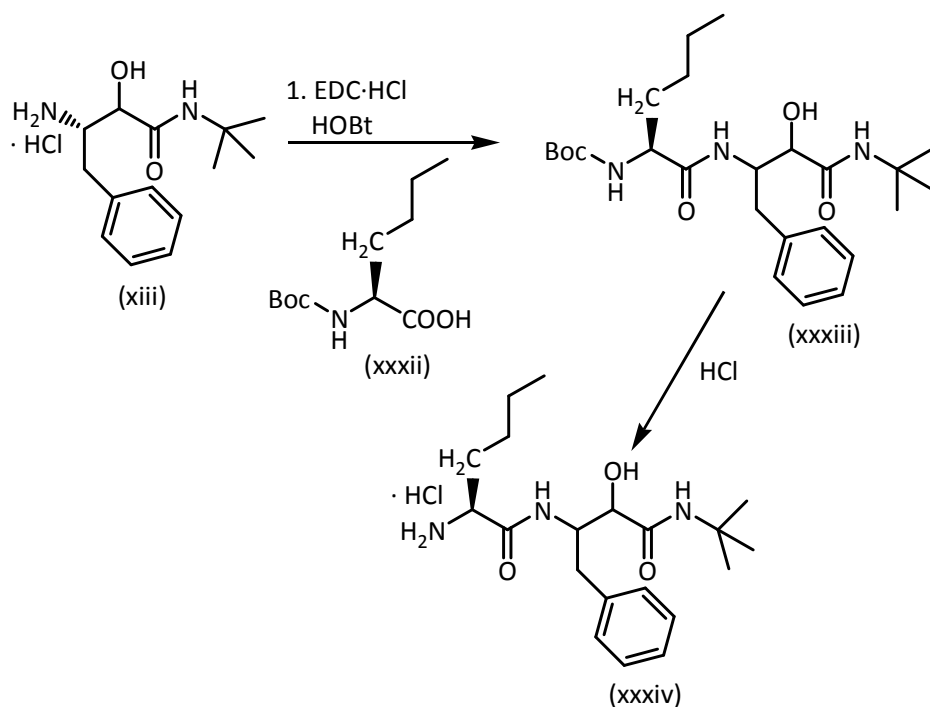
**Ejemplo de referencia 11: clorhidrato de (S)-3-((S)-2-amino-4-metoxibutanamido)-N-(terc-butil)-2-oxo-4-fenilbutanamida (xxxi)**



Se obtuvo el compuesto del título siguiendo un procedimiento similar al descrito en el ejemplo de referencia 8 pero usando compuesto (xiii) y la sal de diciclohexilamina de ácido (2S)-terc-butoxicarbonilamino-4-metoxi-butírico (xxix) como materiales de partida (250 mg, rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método B):  $t_R = 1,6-1,75$  min;  $m/z = 366$  ( $MH^+$ ).

**Ejemplo de referencia 12: clorhidrato de (S)-2-amino-N-((S)-4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)hexanamida (xxxiv)**

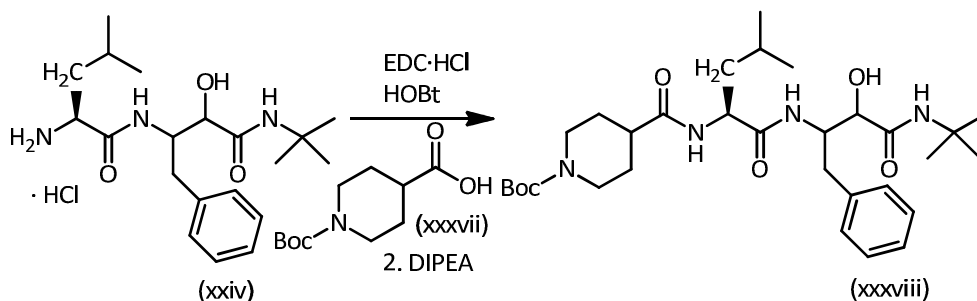


Se obtuvo el compuesto del título siguiendo un procedimiento similar al descrito en el ejemplo de referencia 8 pero usando compuesto (xiii) y ácido (2S)-terc-butoxicarbonilamino-hexanoico (xxxiii) como materiales de partida (315, rendimiento cuantitativo).

CL-EM (método B):  $t_R = 1,72-1,82$  min;  $m/z = 364$  ( $MH^+$ ).

**Ejemplo de referencia 13: 4-(((2S)-1-((4-(tert-butylamino)-3,4-dioxo-1-phenylbutan-2-yl)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)carbamoyl)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (xxxix)**

ETAPA 1: éster terc-butílico del ácido 4-[1-(1-bencil-2-terc-butylcarbamoyl-2-hidroxi-etilcarbamoyl)-3-metil-butylcarbamoyl]-piperidin-1-carboxílico (xxxviii)

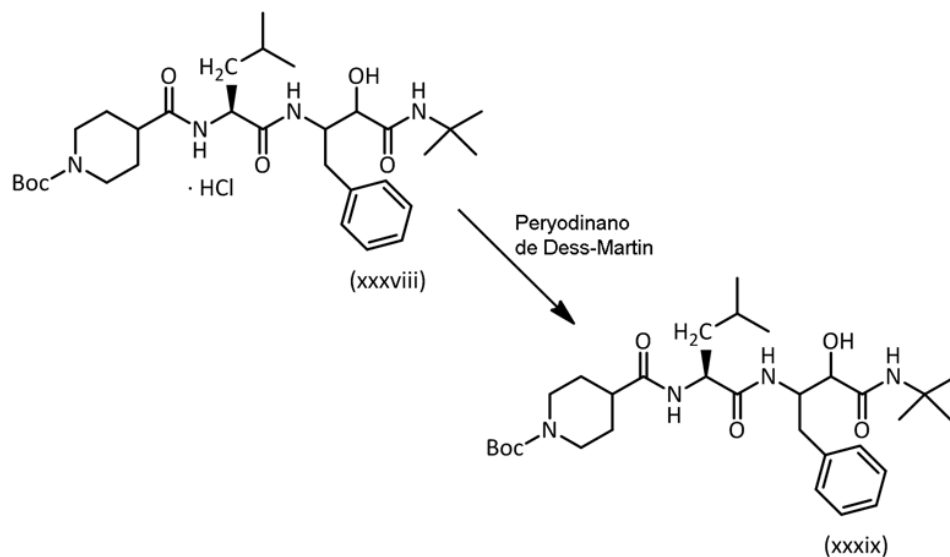


Se disolvieron ácido 1-(terc-butoxi-carbonil)piperidin-4-carboxílico (xxxvii) (37 mg, 1,5 eq), EDC.HCl (41 mg, 2 eq), HOBt.H<sub>2</sub>O (32 mg, 2 eq) y compuesto (xxiv) (50 mg, 0,11 mmol) en DCM (1 ml), después se añadió DIPEA (3 eq). Se agitó la mezcla durante 16 horas a temperatura ambiente.

Después se evaporó el disolvente y se purificó el producto en bruto sobre un sistema ISCO Rf usando hexano y EtOH como fase móvil. El compuesto del título salió al 4% de EtOH (52 mg, rendimiento del 84%).

CL-EM (método B): t<sub>R</sub> = 2,83 min; m/z = 576 (MH<sup>+</sup>).

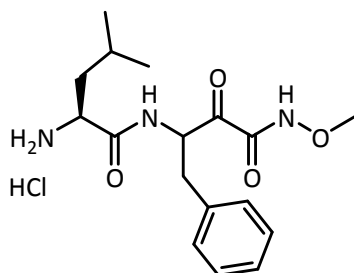
ETAPA 2: 4-(((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)carbamoil)piperidin-1-carboxilato de terc-butilo (xxxix)



Se disolvió compuesto (xxxviii) obtenido en la etapa 1 en DCM. Después se añadió peryodinano de Dess-Martin. Se agitó la mezcla a esta temperatura durante 2 horas. Se evaporó el disolvente y se purificó el producto sobre un sistema ISCO Rf usando hexano y EtOH como disolventes. El compuesto del título salió al 2% de EtOH (33 mg, rendimiento del 72%).

CL-EM (método B): t<sub>R</sub> = 3,07 min; m/z = 574 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplo de referencia 14: clorhidrato de (3S)-3-amino-2-hidroxi-N-metoxi-4-fenilbutanamida (xlii)**

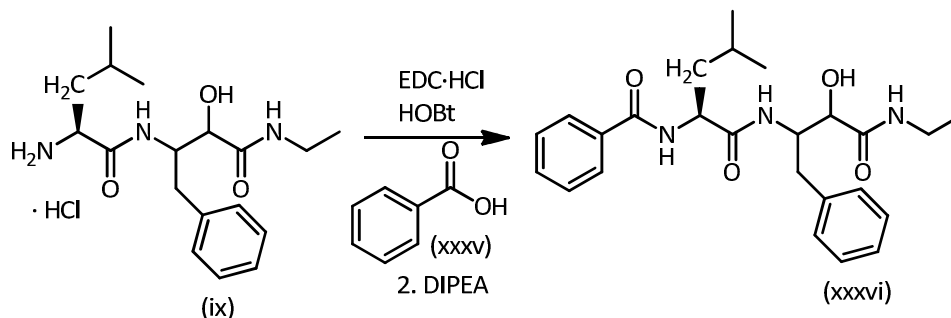


(xlii)

Se obtuvo el compuesto del título siguiendo un procedimiento similar al descrito para el ejemplo de referencia 3 pero usando metoxiamina en lugar de terc-amilamina como material de partida.

**Ejemplo 1: N-((2S)-1-((4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)benzamida (1)**

ETAPA 1: N-((2S)-1-((4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)benzamida (xxxvi)

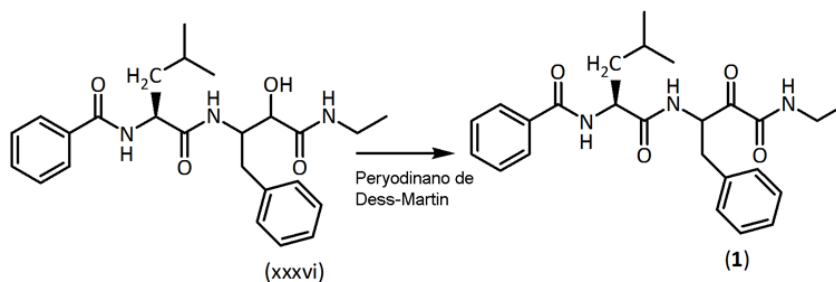


Se disolvieron ácido benzoico (xxxv) (21,3 mg, 1,3 eq), EDC·HCl (38,7 mg, 1,5 eq), HOBt (31 mg, 1,5 eq) y compuesto (ix) (50 mg, 0,134 mmol) en DCM (1 ml), después se añadió DIPEA (3 eq). Se agitó la mezcla durante 2 horas a temperatura ambiente.

Después se evaporó el disolvente y se purificó el producto en bruto sobre un sistema ISCO Rf usando hexano y EtOH como fase móvil. El compuesto del título salió al 30% de EtOH (49 mg, rendimiento del 83%).

CL-EM (método B): tR = 2,63 min; m/z = 440 (MH<sup>+</sup>).

ETAPA 2: N-((2S)-1-((4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)benzamida (1)



Se disolvió compuesto (xxxvi) obtenido en la etapa 1 en DCM. Después, se añadió peryodinano de Dess-Martin. Se agitó la mezcla a esta temperatura durante 2 horas. Se evaporó el disolvente y se purificó el producto sobre un sistema ISCO Rf usando hexano y EtOH como disolventes.

Volvió a purificarse el producto usando un cartucho de HLB en condiciones básicas (42,5 mg, rendimiento del 87%).

CL-EM (método B):  $t_R = 2,65$  min;  $m/z = 438$  ( $MH^+$ ).

#### Ejemplos 2-20:

Los compuestos de ejemplos 2-20 se obtuvieron siguiendo un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 1 pero usando los materiales de partida correspondientes indicados en la tabla.

Para cada compuesto la tabla proporciona el nombre químico (IUPAC), los compuestos de fórmulas (III) y (V) usados para preparar los compuestos siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 1, el método de CL-EM usado para determinar el tiempo de retención y la razón masa/carga del compuesto, el tiempo de retención y la razón masa/carga ( $MH^+$ ) del compuesto.

| Ejemplo | Nombre | Materiales de partida | Método (CL-EM) | $t_R$ (min) | $m/z$ ( $MH^+$ ) |
|---------|--------|-----------------------|----------------|-------------|------------------|
|---------|--------|-----------------------|----------------|-------------|------------------|

|   |                                                                                                               |                                                |   |          |     |
|---|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------|---|----------|-----|
| 2 | N-((2S)-1-((4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)nicotinamida            | Compuesto (ix) y ácido nicotínico              | B | 2,18     | 439 |
| 3 | (2S)-2-(3-ciclohexilpropanamido)-N-(4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)-4-metilpentanamida             | Compuesto (ix) y ácido 3-ciclohexilpropiónico  | B | 3,07     | 472 |
| 4 | N-((2S)-1-((4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)picolinamida            | Compuesto (ix) y ácido picolínico              | B | 2,57     | 439 |
| 5 | N-((2S)-1-((4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)isonicotinamida         | Compuesto (ix) y ácido iso-nicotínico          | B | 2,2      | 439 |
| 6 | N-((2S)-1-((4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)pirimidin-5-carboxamida | Compuesto (ix) y ácido pirimidin-5-carboxílico | A | 2,28-2,5 | 440 |

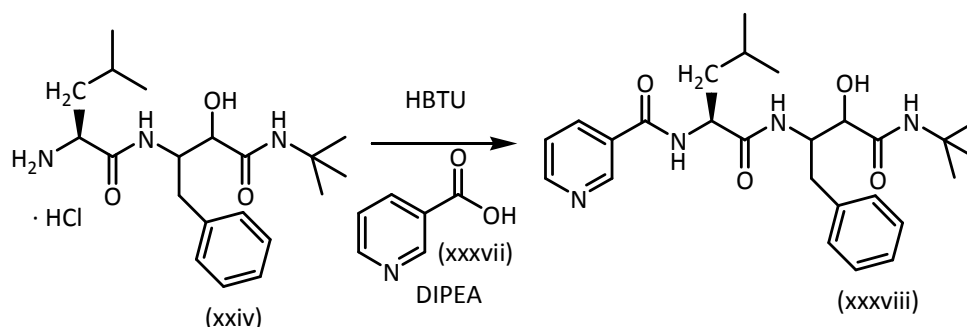
|    |                                                                                                                       |                                                    |   |      |     |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|---|------|-----|
| 7  | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-3-metoxibenzamida        | Compuesto (xxiv) y ácido 3-metoxibenzoico          | B | 2,98 | 496 |
| 8  | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)pirimidin-5-carboxamida   | Compuesto (xxiv) y ácido 5-pirimidin-carboxílico   | B | 2,53 | 468 |
| 9  | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-2-clorobenzamida         | Compuesto (xxiv) y ácido 2-clorobenzoico           | B | 3,00 | 500 |
| 10 | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)quinolin-3-carboxamida    | Compuesto (xxiv) y ácido quinolin-3-carboxílico    | B | 2,85 | 517 |
| 11 | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)isoquinolin-5-carboxamida | Compuesto (xxiv) y ácido isoquinolin-5-carboxílico | B | 2,70 | 517 |

|    |                                                                                                                       |                                                  |   |      |     |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---|------|-----|
| 12 | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-2-cloro-6-metilbenzamida | Compuesto (xxiv) y ácido 2-cloro-6-metilbenzoico | B | 3,07 | 514 |
| 13 | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)piridazin-3-carboxamida   | Compuesto (xxiv) y ácido 3-piridazin-carboxílico | B | 2,65 | 468 |
| 14 | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-2-metilbenzamida         | Compuesto (xxiv) y ácido o-toluico               | B | 3,02 | 480 |
| 15 | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)pirazin-2-carboxamida     | Compuesto (xxiv) y ácido 2-pirazin-carboxílico   | B | 2,70 | 468 |
| 16 | N-((2S)-1-((4-(ciclopropilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)nicotinamida             | Compuesto (xxvi) y ácido nicotínico              | B | 2,23 | 451 |

|    |                                                                                                                      |                                                  |   |      |     |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------|---|------|-----|
| 17 | N-((2S)-1-((4-(ciclopropilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)pirimidin-5-carboxamida | Compuesto (xxvi) y ácido 5-pirimidin-carboxílico | B | 2,15 | 452 |
| 18 | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)benzamida                | Compuesto (xiii) y N-benzoil-L-leucina           | B | 2,97 | 466 |
| 19 | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-5-metilnicotinamida     | Compuesto (xxiv) y ácido 5-metilico-tínico       | B | 2,72 | 481 |
| 20 | N-((2S)-1-((4-(ciclopropilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)benzamida               | Compuesto (xvi) y N-benzoil-L-leucina            | B | 2,63 | 451 |

**Ejemplo 21: N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)nicotinamida**

ETAPA 1: N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)nicotinamida (xxxviii)

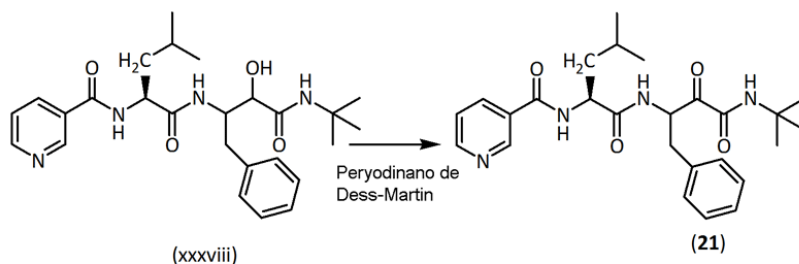


Se añadió HBTU (343 mg, 0,89 mmol) a una disolución de ácido nicotínico (xxxvii) (100 mg, 0,812 mmol) en DCM anhidro (5 ml). Tras 15 min, se añadieron una disolución de compuesto (xxiv) (253 mg, 0,54 mmol) y DIPEA (0,46 ml, 2,68 mmol) en DCM anhidro (3 ml) y se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente. Tras 3 h, se eliminaron los componentes volátiles a vacío y se extrajo el producto en bruto en EtOAc lavando con disol. ac. sat. de  $\text{NaHCO}_3$  (15 ml) y se eliminó el disolvente a vacío.

Se purificó el producto mediante cromatografía en columna: ISCO (40 g, hexanos/EtOH, desde el 2 hasta el 10% de EtOH). El producto eluyó al 10% de EtOH. Se obtuvieron 124 mg (rendimiento del 49%).

CL-EM (método B):  $t_R = 2,30\text{--}2,37$  min;  $m/z = 470$  ( $\text{MH}^+$ ).

ETAPA 2: N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)nicotinamida (21)



La preparación tuvo lugar de una manera similar al ejemplo 1, etapa 2, usando compuesto (xxxviii) (124 mg) como material de partida. Se obtuvieron 96,1 mg (rendimiento del 79%).

CL-EM (método B):  $t_R = 2,58$  min;  $m/z = 467$  ( $\text{MH}^+$ ).

**Ejemplos 22-62:**

Los compuestos de ejemplos 22-62 se obtuvieron siguiendo un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 1 pero usando los materiales de partida correspondientes indicados en la tabla.

Para cada compuesto la tabla proporciona el nombre químico (IUPAC), los compuestos de fórmulas (III) y (V) usados para preparar los compuestos siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 21, el método de CL-EM usado para determinar el tiempo de retención y la razón masa/carga del compuesto, el tiempo de retención y la razón masa/carga ( $MH^+$ ) del compuesto.

| Ejemplo | Nombre                                                                                                            | Materiales de partida                        | Método (CL-EM) | tR (min) | m/z ( $MH^+$ ) |
|---------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------|----------------|----------|----------------|
| 22      | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)isonicotinamida       | Compuesto (xxiv) y ácido isonicotínico       | B              | 2,60     | 467            |
| 23      | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-4-cianobenzamida     | Compuesto (xxiv) y ácido 4-ciano-benzoico    | B              | 2,90     | 491            |
| 24      | N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-3,5-dimetilbenzamida | Compuesto (xxiv) y ácido 3,5-dimetilbenzoico | B              | 3,22     | 494            |

|    |                                                                                                                             |                                                            |   |      |     |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|---|------|-----|
| 25 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-6-metilnicotinamida             | Compuesto (xxiv) y ácido 6-metil-nicotínico                | B | 2,67 | 481 |
| 26 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)pirimidin-4-carboxamida           | Compuesto (xxiv) y ácido pirimidin-4-carboxílico           | A | 3,07 | 468 |
| 27 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-2-metilnicotinamida              | Compuesto (xxiv) y ácido 2-metil-nicotínico                | A | 2,57 | 481 |
| 28 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)tetrahidro-2H-piran-4-carboxamida | Compuesto (xxiv) y ácido tetrahidro-2H-piran-4-carboxílico | A | 2,92 | 474 |
| 29 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)picolinamida                      | Compuesto (xxiv) y ácido picolínico                        | B | 2,93 | 467 |

|    |                                                                                                                                    |                                                                |   |      |     |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|---|------|-----|
| 30 | N-((2S)-1-(4-(ciclohexilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)benzamida                                | Compuesto (xix) y N-benzoil-L-leucina                          | A | 3,33 | 492 |
| 31 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-5-fluoronicotinamida                    | Compuesto (xxiv) y ácido 5-fluoro-nicotínico                   | A | 3,07 | 485 |
| 32 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-6-(trifluorometil)-nicotinamida         | Compuesto (xxiv) y ácido 6-(trifluorometil)-nicotínico         | A | 3,30 | 535 |
| 33 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-2-metil-6-(trifluorometil)-nicotinamida | Compuesto (xxiv) y ácido 2-metil-6-(trifluorometil)-nicotínico | A | 3,33 | 549 |
| 34 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-4-metilnicotinamida                     | Compuesto (xxiv) y ácido 4-metil-nicotínico                    | A | 2,68 | 481 |

|    |                                                                                                                      |                                                    |   |      |     |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|---|------|-----|
| 35 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-4-fluorobenzamida         | Compuesto (xxiv) y ácido 4-fluoro-benzoico         | A | 3,28 | 484 |
| 36 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-4-cloro-2-fluorobenzamida | Compuesto (xxiv) y ácido 4-cloro-2-fluoro-benzoico | A | 3,48 | 518 |
| 37 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-4-cloronicotinamida       | Compuesto (xxiv) y ácido 4-cloro-nicotínico        | A | 3,02 | 501 |
| 38 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-3-ciclopropil-1-oxopropan-2-il)nicotinamida         | Compuesto (xxviii) y ácido nicotínico              | A | 2,75 | 465 |
| 39 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-3-ciclopropil-1-oxopropan-2-il)benzamida            | Compuesto (xxviii) y ácido benzoico                | A | 3,17 | 464 |

|    |                                                                                                                      |                                                    |   |      |     |
|----|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|---|------|-----|
| 40 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-5-cloronicotinamida       | Compuesto (xxiv) y ácido 5-cloro-nicotínico        | A | 3,20 | 501 |
| 41 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-3-cloro-2-fluorobenzamida | Compuesto (xxiv) y ácido 3-cloro-2-fluoro-benzoico | A | 3,43 | 518 |
| 42 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metoxi-1-oxobutan-2-il)nicotinamida               | Compuesto (xxxi) y ácido nicotínico                | A | 2,53 | 469 |
| 43 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metoxi-1-oxobutan-2-il)benzamida                  | Compuesto (xxxi) y ácido benzoico                  | A | 2,97 | 468 |
| 44 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-1-oxohexan-2-il)nicotinamida                        | Compuesto (xxxiv) y ácido nicotínico               | A | 2,85 | 467 |

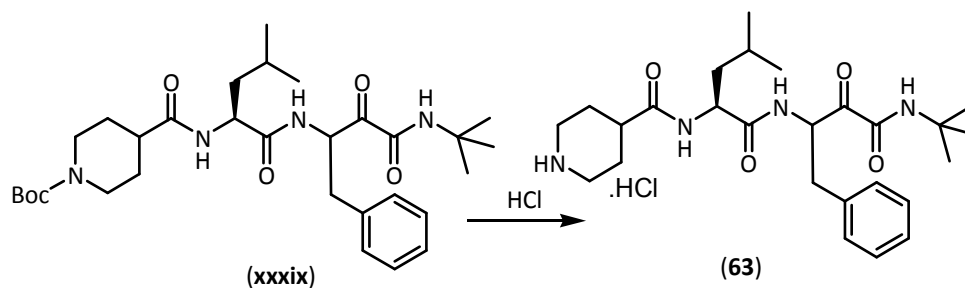
|    |                                                                                                                        |                                                    |   |      |     |
|----|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|---|------|-----|
| 45 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-1-oxohexan-2-il)benzamida                            | Compuesto (xxxiv) y ácido benzoico                 | A | 3,25 | 466 |
| 46 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-4-cloro-2-metilbenzamida   | Compuesto (xxiv) y ácido 4-cloro-2-metilbenzoico   | A | 3,47 | 514 |
| 47 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-4-(dimetilamino)-benzamida | Compuesto (xxiv) y ácido 4-(dimetilamino)-benzoico | A | 3,28 | 509 |
| 48 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-6-hidroxinicotinamida      | Compuesto (xxiv) y ácido 6-hidroxi-nicotínico      | A | 2,56 | 483 |
| 49 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-ciclopentano-carboxamida   | Compuesto (xxiv) y ácido ciclo-pentano-carboxílico | A | 3,25 | 458 |

|    |                                                                                                                    |                                                 |   |      |     |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------|---|------|-----|
| 50 | N-((2S)-1-((3,4-dioxo-4-(terc-pentilamino)-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)benzamida             | Ej. de ref.<br>3 y N-benzoil-L-leucina          | A | 3,35 | 480 |
| 51 | N-((2S)-1-(4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)-2-hidroxinicotinamida   | Compuesto (xxiv) y ácido 2-hidroxi-nicotínico   | A | 2,75 | 483 |
| 52 | N-[(1S)-1-(1-bencil-2-terc-butilcarbamoil-2-oxo-etilcarbamoil)-3-metil-butil]-benzamida                            | Compuesto (ix) y ácido benzoico                 | B | 2,21 | 467 |
| 53 | N-[(1S)-1-(1-bencil-2-ciclopropilcarbamoil-2-oxo-etilcarbamoil)-3-metil-butil]-benzamida                           | Compuesto (xxvi) y ácido benzoico               | B | 2,18 | 451 |
| 54 | [(1S)-1-(1-bencil-2-terc-butilcarbamoil-2-oxo-etilcarbamoil)-3-metil-butil]-amida del ácido quinolin-3-carboxílico | Compuesto (xxiv) y ácido 3-quinolin-carboxílico | B | 2,65 | 517 |

|    |                                                                                                                           |                                                           |   |      |     |
|----|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|---|------|-----|
| 55 | [(1S)-1-(1-bencil-2-terc-butylcarbamoil-2-oxo-etilcarbamoil)-3-metil-butyl]-amida del ácido piridazin-3-carboxílico       | Compuesto (xxiv) y ácido piridazin-3-carboxílico          | B | 2,11 | 469 |
| 56 | N-[(1S)-1-(1-bencil-2-terc-butylcarbamoil-2-oxo-etilcarbamoil)-3-metil-butyl]-2-metil-benzamida                           | Compuesto (xxiv) y ácido o-toluico                        | B | 2,68 | 481 |
| 57 | [(1S)-1-(1-bencil-2-terc-butylcarbamoil-2-oxo-etilcarbamoil)-3-metil-butyl]-amida del ácido tetrahidropiran-4-carboxílico | Compuesto (xxiv) y ácido tetrahidropiran-4-il-carboxílico | B | 2,05 | 475 |
| 58 | N-[(1S)-1-(1-bencil-2-ciclohexilcarbamoil-2-oxo-etilcarbamoil)-3-metil-butyl]-benzamida                                   | Compuesto (xix) y N-benzoil-L-leucina                     | B | 2,67 | 492 |
| 59 | N-[(1S)-1-(1-bencil-2-bencilcarbamoil-2-oxo-etilcarbamoil)-3-metil-butyl]-benzamida                                       | Compuesto (xxii) y N-benzoil-L-leucina                    | B | 2,33 | 500 |

|    |                                                                                                                         |                                                         |   |      |     |
|----|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---|------|-----|
| 60 | N-[(1S)-1-(1-bencil-2-terc-butylcarbamoil-2-oxo-ethylcarbamoil)-3-metil-butyl]-4-cloro-nicotinamida                     | Compuesto (xxiv) y ácido 4-cloro-piridin-3-carboxílico  | B | 2,43 | 502 |
| 61 | N-[(1S)-1-(1-bencil-2-metoxycarbamoil-2-oxo-ethylcarbamoil)-3-metil-butyl]-3-metoxi-benzamida                           | Compuesto (xlii) y ácido 3-metoxibenzoico               | B | 2,64 | 471 |
| 62 | [(1S)-1-(1-bencil-2-metoxycarbamoil-2-oxo-ethylcarbamoil)-3-metil-butyl]-amida del ácido benzo[1,3]dioxol-5-carboxílico | Compuesto (xlii) y ácido benzo[1,3]dioxol-5-carboxílico | B | 2,07 | 485 |

**Ejemplo 63: clorhidrato de N-((2S)-1-((4-(terc-butilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il) amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)piperidin-4-carboxamida**



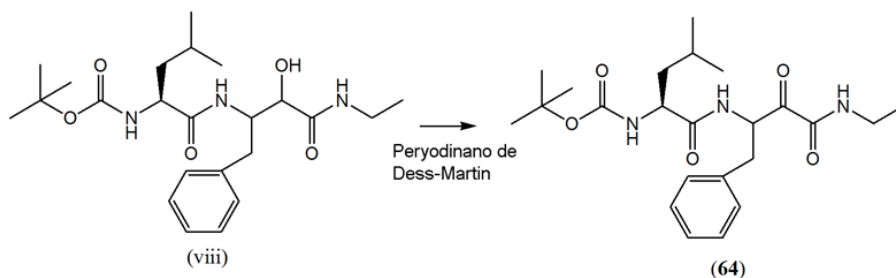
5

Se añadió HCl 4 N en 1,4-dioxano a compuesto (xxxix) del ejemplo de referencia 13 y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 h. Se concentró el producto en bruto. Se obtuvieron 23,2 mg (rendimiento cuantitativo).

10

CL-EM (método B):  $t_R = 2,28$  min;  $m/z = 474$  ( $MH^+$ ).

**Ejemplo 64: (2S)-1-(4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-ilamino)-4-metil-1-oxopentan-2-ilcarbamato de terc-butilo.**

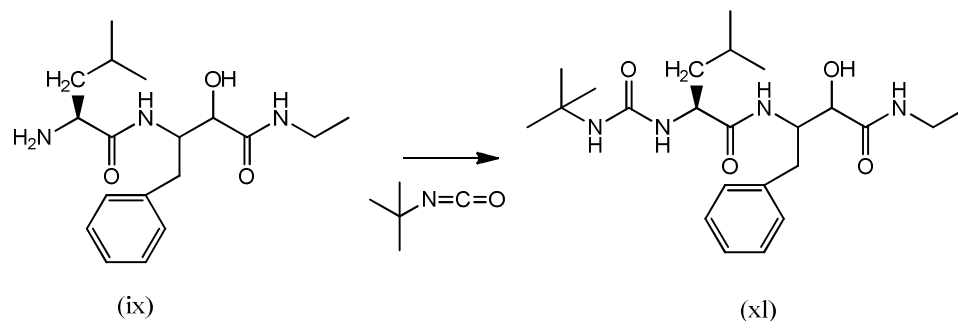


La preparación tuvo lugar de una manera similar al ejemplo 1, etapa 2, usando compuesto (viii) (100 mg) como material de partida. Se obtuvieron 69 mg (rendimiento del 69%).

CL-EM (método B):  $t_R = 2,34$  min;  $m/z = 434$  ( $MH^+$ ).

**Ejemplo 65: (2S)-2-(3-terc-butilureido)-N-(4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)-4-metilpentanamida.**

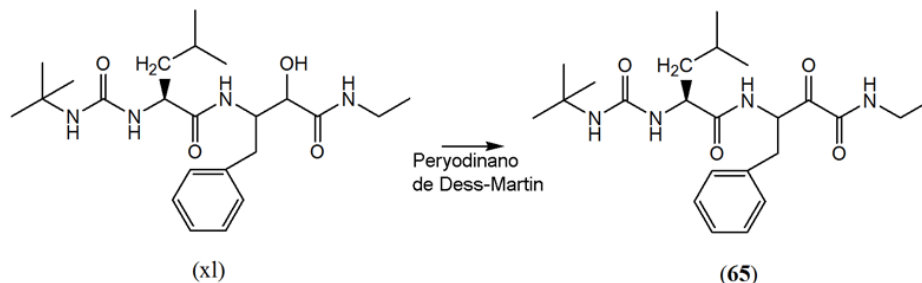
ETAPA 1: (2S)-2-(3-terc-butilureido)-N-(4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenil-butan-2-il)-4-metilpentanamida (xl)



Se disolvieron (2S)-2-amino-N-(4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)-4-metilpentanamida (ix) (40 mg, 0,12 mmol), 2-isocianato-2-metilpropano (18  $\mu$ l, 0,16 mmol) y carbonato de potasio (49 mg, 0,36 mmol) en acetonitrilo (1 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas. Se evaporó el disolvente a presión reducida. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna: ISCO (12 g), hexanos/EtOH, desde el 10 hasta el 30% de EtOH. El producto eluyó al 30% de EtOH. Se obtuvieron 19 mg (rendimiento del 36%).

CL-EM (método B):  $t_R = 2,35$  min;  $m/z = 435$  ( $MH^+$ ).

ETAPA 2: (2S)-2-(3-terc-butilureido)-N-(4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)-4-metilpentanamida.

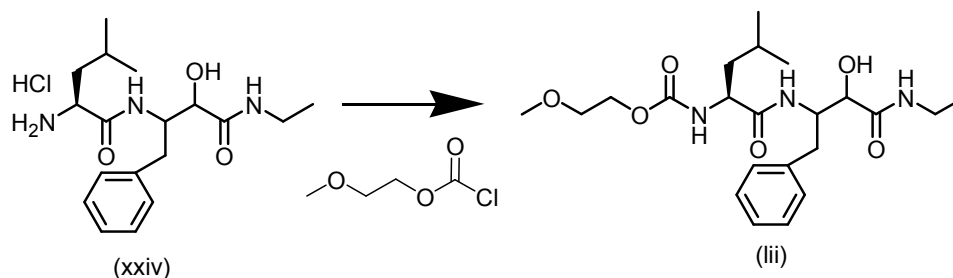


Se disolvió (2S)-2-(3-(terc-butil)ureido)-N-(4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)-4-metilpentanamida (xl) (19 mg, 0,04 mmol) en DCM (1 ml). Se añadió reactivo de Dess-Martin (3 eq) a temperatura ambiente y se agitó la mezcla durante 2 horas. Se evaporó el disolvente a presión reducida. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna: ISCO Rf, hexanos/EtOH, desde el 10 hasta el 30% de EtOH. El producto eluyó al 20-25% de EtOH. Se obtuvieron 14 mg (rendimiento del 74%).

CL-EM (método B):  $t_R = 2,58$  min;  $m/z = 433$  ( $MH^+$ ).

**Ejemplo 66: ((2S)-1-((4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)carbamato de 2-metoxietilo**

ETAPA 1: ((2S)-1-((4-(etilamino)-3-hidroxi-4-oxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentan-2-il)carbamato de 2-metoxietilo (lii)

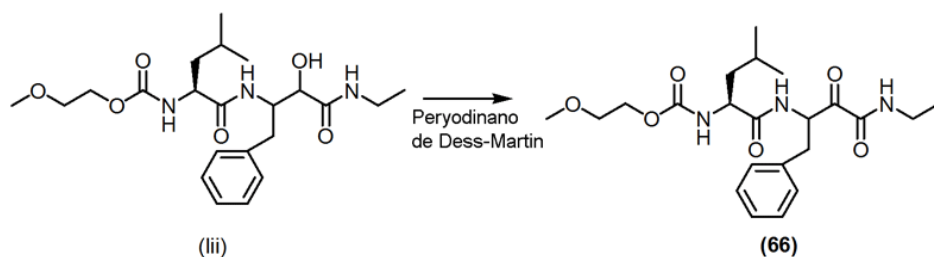


Se disolvió compuesto (xxiv) (40 mg, 0,12 mmol) en DCM (1 ml) y se añadió DIPEA (21  $\mu$ l, 0,12 mmol). Después se añadió clorocarbonato de 2-metoxietilo (21  $\mu$ l, 0,12 mmol) y se agitó la mezcla durante 2 horas a temperatura ambiente. Se evaporó

el disolvente. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna: ISCO (12 g, hexanos/EtOH) desde el 2 hasta el 10% de EtOH. El producto eluyó al 8% de EtOH. Se obtuvieron 58 mg (rendimiento cuantitativo).

5 CL-EM (método B):  $t_R = 2,12$  min;  $m/z = 438$  ( $MH^+$ ).

ETAPA 2: ((2S)-1-((4-(etilamino)-3,4-dioxo-1-fenilbutan-2-il)amino)-4-metil-1-oxopentán-2-il)carbamato de 2-metoxietilo (66)



10 La preparación tuvo lugar de una manera similar al ejemplo 1, etapa 2, usando compuesto (lii) (58 mg) como material de partida. Se purificó el producto mediante cromatografía en columna: ISCO (12 g, hexanos/EtOH) desde el 1 hasta el 5% de EtOH. El producto eluyó al 3% de EtOH

15 Se purificó adicionalmente el producto usando un cartucho de HLB en condiciones básicas (disolución acuosa de  $NH_4CO_3$  10 mM a pH=9 (A) y acetonitrilo (B)). Se obtuvieron 18,6 mg (rendimiento del 32%).

CL-EM (método B):  $t_R = 2,33$  min;  $m/z = 436$  ( $MH^+$ ).

20 **Ejemplo 67: éster 2-metoxi-etílico del ácido [(1S)-1-(1-bencil-2-metoxicarbamoil-2-oxo-etilcarbamoil)-3-metil-butil]-carbámico**

Se obtuvo el compuesto del ejemplo 66 siguiendo un procedimiento similar al descrito en el ejemplo 65 pero usando compuesto (xlii) en lugar de compuesto (xxiv).

CL-EM (método B):  $t_R = 2,51$  min;  $m/z = 438$  ( $MH^+$ ).

### **Datos biológicos**

30 Ensayo de diferenciación celular de preadipocitos 3T3-L1 de ratón

## Cultivo celular y tratamiento

Se adquirió la línea celular de preadipocitos 3T3-L1 de ratón (*Mus musculus*) de ATCC.

5 Se realizó la inducción de la diferenciación de adipocitos según Choi KC *et al* "The role of ghrelin and growth hormone secretagogues receptor on rat adipogenesis" *Endocrinol* 144: 754-759, 2003, con algunas modificaciones.

10 En resumen, se sembraron preadipocitos 3T3-L1 en placas de cultivo de 24 pocillos a una densidad de  $3 \times 10^4$  células / pocillo en medio de crecimiento (DMEM que contenía glucosa 4,5 g/l, piruvato de sodio 1 mM, L-glutamina 2 mM, estreptomycin / penicilina 100 µg/ml, HEPES 25 mM y suero de ternero al 10% (inactivado por calor)). Se usa la disolución resultante como blanco en la medición de la fluorescencia descrita a continuación.

15 Se incubaron células a 37°C, el 95% de humedad y CO<sub>2</sub> al 10%. Dos días tras alcanzar la confluencia (noveno día) se cambió el medio de crecimiento por medio de diferenciación (DMEM que contenía glucosa 4,5 g/l, L-glutamina 2 mM, estreptomycin / penicilina 100 µg/ml, HEPES 25 mM, FBS al 10% (inactivado por calor), piruvato de sodio 1 mM, 3-isobutil-1-metilxantina 0,5 mM, dexametasona 0,25 µM e insulina 5 µg/ml).  
20 Tras 48 h, se sustituyó el medio por medio de insulina (DMEM que contenía glucosa 4,5 g/l, piruvato de sodio 1 mM, L-glutamina 2 mM, estreptomycin / penicilina 100 µg/ml, HEPES 25 mM, FBS al 10% (inactivado) e insulina 5 µg/ml) durante otras 48 horas, y después se incubó en FBS al 10%/DMEM (igual que el medio de insulina, sin insulina) durante 4 días hasta su completa diferenciación.

30 Se añadieron los compuestos que iban a someterse a prueba a la concentración de 25 µM al medio de diferenciación (2 días) y al medio de insulina (2 días).

Tras la incubación, se cuantificaron los lípidos almacenados de manera intracelular midiendo la fluorescencia

tras la tinción de los lípidos con el colorante fluorescente rojo Nilo (9-dietilamino-5-benzo[α]fenoxazinona).

Para llevar a cabo dicha medición de lípidos, se sometieron las células a lisis en tampón hipotónico (Tris-HCl 1 mM pH=7,5) que contenía 2 µg/ml de rojo Nilo (9-dietilamino-5-benzo[α]fenoxazinona) durante 15 min a 37°C.

Se homogeneizaron las células sometidas a lisis y se determinó el contenido en TAG mediante monitorización de la fluorescencia de rojo Nilo en un fluorímetro espectral de láser. Excitación a 522 nm; emisión a 574 nm.

Para cada compuesto que iba a someterse a prueba se registraron las siguientes mediciones de fluorescencia:

- FC: Fluorescencia de una muestra de células sometidas a lisis incubadas en presencia del compuesto tanto en el medio de diferenciación como en el medio de insulina.
- FB: Fluorescencia de una muestra de blanco de muestra de preadipocitos en medio de crecimiento.
- FNC: Fluorescencia de una muestra de células sometidas a lisis incubadas con el medio de diferenciación y medio de insulina que no comprendía ningún compuesto adicional.

La inhibición de la adipogénesis en presencia de los compuestos sometidos a prueba se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$\% \text{ de inhibición de la adipogénesis} = 100 - [100 \times ((FC - FB) / (FNC - FB))]$$

Se determinó el % de inhibición de la adipogénesis (que refleja la actividad frente a la diferenciación de células 3T3-L1 para dar adipocitos) para cada compuesto, y se eligió el efecto a la concentración de 25 µM como el valor más representativo para mostrarse en la tabla de estructura-actividad.

La siguiente tabla resume los resultados obtenidos para los compuestos sometidos a prueba. En la tabla se han usado

los siguientes símbolos para representar el % de inhibición de la adipogénesis:

Inhibición entre >1% y el 15% ➔ +

Inhibición entre >15% y el 30% ➔ ++

Inhibición entre >30% y el 80% ➔ +++

5

| Ejemplo | Puntuación de inhibición de la adipogénesis |
|---------|---------------------------------------------|
| 1       | ++                                          |
| 4       | +                                           |
| 6       | ++                                          |
| 7       | ++                                          |
| 8       | +                                           |
| 10      | +++                                         |
| 11      | +++                                         |
| 15      | +                                           |
| 18      | ++                                          |
| 20      | +++                                         |
| 21      | +                                           |
| 25      | +++                                         |
| 31      | +                                           |
| 32      | +++                                         |
| 52      | ++                                          |
| 53      | +++                                         |
| 54      | +++                                         |
| 55      | ++                                          |
| 56      | ++                                          |
| 57      | ++                                          |
| 58      | +++                                         |
| 59      | +++                                         |
| 60      | +++                                         |
| 61      | +++                                         |
| 62      | +++                                         |
| 64      | +++                                         |
| 65      | ++                                          |

|    |    |
|----|----|
| 67 | ++ |
|----|----|

Los resultados en la tabla anterior muestran que los compuestos de la invención pueden inhibir la adipogénesis en células de preadipocitos.