



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 358 857**

15 Folleto corregido: T3

Texto afectado: **Descrip. y Reivindicaciones**

48 Fecha de publicación de la corrección: 16.08.2011

51 Int. Cl.:

A61P 11/00 (2006.01) **A61K 31/425** (2006.01)

A61P 11/06 (2006.01) **A61K 31/444** (2006.01)

A61P 11/08 (2006.01) **C07K 5/06** (2006.01)

A61K 31/401 (2006.01) **A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA CORREGIDA

T9

96 Número de solicitud europea: **07854747 .8**

96 Fecha de presentación : **21.11.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2104535**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **30.09.2009**

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

30 Prioridad: **10.01.2007 US 884334 P**
23.02.2007 US 891474 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.05.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.05.2011

73 Titular/es: **IRM L.L.C.**
131 Front Street P.O. Box HM 2899
Hamilton HM LX, BM

72 Inventor/es: **Tully, David C.;**
Chatterjee, Arnab K.;
Vidal, Agnes;
Bursulaya, Badry y
Spraggon, Glen

74 Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

ES 2 358 857 T9

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Compuestos y composiciones como inhibidores de proteasas activadoras de canales.

5 Campo técnico

[0001] En general, la invención se refiere a inhibidores de proteasas activadoras de canales (PAC).

Antecedentes de la técnica

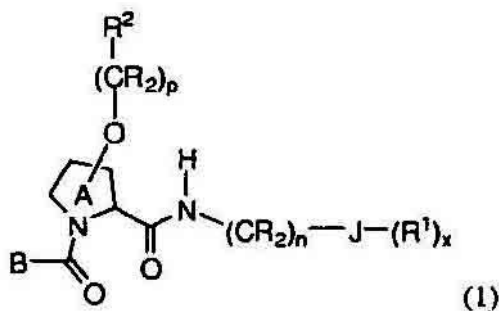
10

[0002] La prolasina es una serina proteasa similar a la tripsina que está presente en diversos tejidos de mamíferos. Es una proteasa anclada a la membrana que se expresa en la membrana extracelular de las células pero que también puede ser secretada en los fluidos corporales, como el semen, la orina y el líquido de la superficie de las vías respiratorias. La prolasina (PRSS8), junto con proteasas como matriptasa, CAP2, CAP3, tripsina, PRSS22, TMPRSS11, catepsina A y elastasa de neutrófilos, puede estimular la actividad del canal epitelial de sodio sensible a la amilorida (ENaC). Inhibiendo estas enzimas pueden inducirse cambios en el transporte epitelial de iones y, por tanto, en la homeostasis del líquido que atraviesa las membranas epiteliales. Por ejemplo, se piensa que la inhibición de las PAC en el riñón promueve la diuresis, mientras que la inhibición de las PAC en las vías respiratorias promueve el aclaramiento del moco y del esputo en el pulmón. Por tanto, la inhibición de las PAC en el riñón puede usarse terapéuticamente para tratar la hipertensión. La inhibición de las PAC en las vías respiratorias previene el estancamiento de las secreciones respiratorias que, de lo contrario, tiende a hacer a las personas que lo sufren vulnerables a infecciones bacterianas secundarias. En los documentos WO2006/108643 y US2004/0186060 se describen ejemplos de inhibidores de PAC.

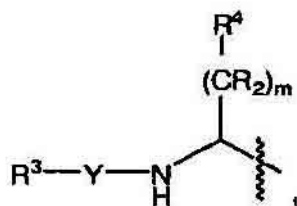
25 Descripción de la invención

[0003] La invención proporciona compuestos, composiciones farmacéuticas y compuestos para la modulación de las proteasas activadoras de canales (PAC). Por ejemplo, los compuestos y composiciones de la invención pueden usarse para modular la prolasina, PRSS22, TMPRSS11 (p. ej., TMPRSS11B y TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A y elastasa de neutrófilos.

[0004] En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (1):



35 o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en donde
 O-(CR₂)_p-R² es un sustituyente en cualquier posición del anillo A;
 J es un anillo monocíclico o carbocíclico fusionado de 5-13 átomos, anillo heterocíclico que comprende N, O y/o S;
 anillo arilo o heteroarilo, siempre que J no sea triazolilo;
 B es



o $(CR_2)_k-R^5$;

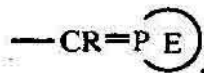
Y es un enlace, $-SO_2-$, $NHCO-$ o $-O-(CO)-$;

5 R^1 es halo, $-(CR_2)_l-NR^6R^7$, $-(CR_2)_l-NRC(=NR)-NR^6R^7$, $-(CR_2)_l-C(=NR)-NR^6R^7$, $-C(O)-(CR_2)_l-NR^6R^7$, $-(CR_2)_l-NR-SO_2R^6$, $-(CR_2)_l-NR-C(O)-R^6$, $-(CR_2)_l-SO_2NR^6R^7$ o $-(CR_2)_l-OR^6$ o un alcoxi C_{1-6} , alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} o alquinilo C_{2-6} opcionalmente sustituido; o un anillo carbocíclico opcionalmente sustituido, anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo;

R^3 es alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o $-(CR_2)_l-R^5$;

alternativamente, $NH-Y-R^3$ juntos forman NH_2 ;

10 R^2 , R^4 y R^5 son independientemente un anillo carbocíclico, anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo de 5-12 átomos opcionalmente sustituidos; o R^4 es H, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o



donde P es C o N y el anillo E junto con P forman un anillo monocíclico o fusionado de 5-12 átomos opcionalmente sustituido; R^6 y R^7 son independientemente H, alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o $-(CR_2)_l-R^5$; cada R es H, o alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} o alquinilo C_{2-6} ;

15 l es 0-6;

k, m, n y p son independientemente 1-6;

x es 0-4;

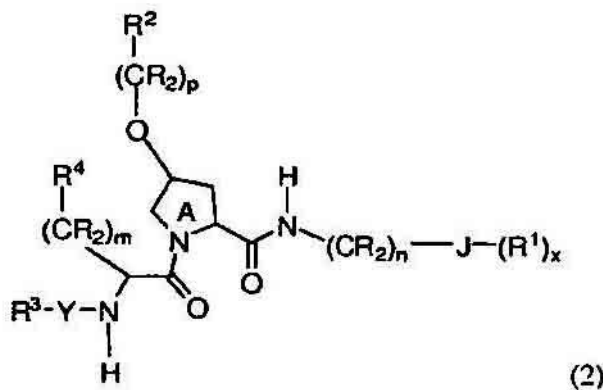
siempre que R^4 sea piperidinilo cuando $NH-Y-R^3$ juntos forman NH_2 ; y además siempre que R^5 sea piperidinilo cuando B es $(CR_2)_k-R^5$.

20

[0005] En la Fórmula (1) anterior, J puede ser tiofenilo, tiazolilo, fenilo, piridilo, indazolilo, piperinilo o pirrolidinilo. En otros ejemplos, R^2 puede ser fenilo y ciclohexilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con halo, SO_2 (alquilo C_{1-6}) o un alquilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} opcionalmente sustituido, como un alquilo C_{1-6} o alcoxi C_{1-6} opcionalmente halogenado.

25

[0006] En una realización, la invención proporciona compuestos de Fórmula (2):



(2)

donde R^2 y J son independientemente un arilo de 6 átomos opcionalmente sustituido;

R^3 es alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o $-(CR_2)_l-R^5$; o $NH-Y-R^3$ juntos forman NH_2 ;

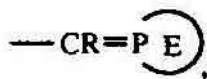
30 cada R en (CR_2) es H o alquilo C_{1-6} ; y

m, n y p son independientemente 1-2.

[0007] En las Fórmulas (1) y (2) anteriores; Y puede ser un enlace, SO_2 u $-O-(CO)-$. En otro ejemplo, R^1 es

halo, alquilo C₁₋₆, CF₃, OCF₃, fenilo, -(CR₂)_l-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-C(=NR)-NR⁶R⁷, -C(O)-(CR₂)_l-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-NR-SO₂R⁶, -(CR₂)_l-NR-C(O)-R⁶, -(CR₂)_l-SO₂NR⁶R⁷ o -(CR₂)_l-OR⁶, donde cada l es 0-1; y R, R⁶ y R⁷ son independientemente H o alquilo C₁₋₆.

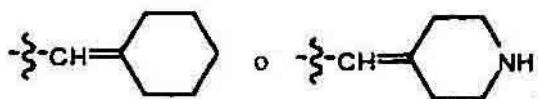
- 5 **[0008]** En las Fórmulas (1) y (2) anteriores, R⁴ puede ser un anillo carbocíclico, anillo heterocíclico, arilo, heteroarilo de 5-6 átomos o



opcionalmente sustituido

donde P es C o N y el anillo E junto con P forman un anillo monocíclico de 5-6 átomos opcionalmente sustituido. Por

- 10 ejemplo, R⁴ puede ser piperidinilo, ciclohexilo, fenilo



opcionalmente sustituido.

[0009] En un ejemplo en particular, R³ en la Fórmula (2) es alquilo C₁₋₆ o un bencilo opcionalmente sustituido.

- 15 En algunos ejemplos, Y es SO₂. En otros ejemplos, R⁴ es un piperidinilo opcionalmente sustituido. Aún en otros ejemplos, J y R² son independientemente fenilos opcionalmente sustituidos. Por ejemplo, J puede estar sustituido con 1-3 R¹ (es decir, en el que x es 1-3) y R² puede estar opcionalmente sustituido con halo.

- 20 **[0010]** En otro aspecto, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (1) ó (2), y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 25 **[0011]** La invención también proporciona compuestos para modular una proteasa activadora de canales, de los cuales puede administrarse a un sistema, o a un mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (1) o (2), o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo, modulando de este modo dicha proteasa activadora de canales.

- 30 **[0012]** En una realización, la invención proporciona compuestos para inhibir una proteasa activadora de canales, de los cuales puede administrarse a una célula, sistema tisular o a un mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (1) o (2) o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo; donde dicha proteasa activadora de canales es prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (p. ej., TMPRSS11B y TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A o elastasa de neutrófilos, inhibiendo de este modo dicha proteasa activadora de canales. En ejemplos particulares, la invención proporciona un procedimiento para la inhibición de prostasina.

- 35 **[0013]** En otro aspecto, la invención proporciona compuestos para mejorar o tratar una afección mediada por una proteasa activadora de canales, de los cuales puede administrarse a una célula, sistema tisular o a un mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (1) o (2), o sales farmacéuticamente aceptables o composiciones farmacéuticas del mismo y, opcionalmente en combinación con un segundo agente terapéutico; donde dicha proteasa activadora de canales es prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (p. ej., TMPRSS11B y TMPRSS11E),
40 TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A o elastasa de neutrófilos, tratando de este modo dicha afección.

- 45 **[0014]** Adicionalmente, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula (1) o (2), para su uso en un procedimiento para tratar una afección mediada por una proteasa activadora de canales. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula (1) o (2), y opcionalmente en combinación con un segundo agente terapéutico, en la fabricación de un medicamento para tratar una afección mediada por una proteasa activadora de canales.

- 50 **[0015]** En ejemplos particulares, los compuestos de la invención pueden usarse para tratar una afección mediada por prostasina. En una realización, el segundo agente terapéutico puede ser un antiinflamatorio, broncodilatador, antihistamínico, antitusivo, antibiótico o ADNasa, y se administra previamente, de forma simultánea o tras el compuesto de Fórmula (1) o (2). En algunos ejemplos, los compuestos de la invención se administran a

células del epitelio bronquial, especialmente células del epitelio bronquial humano.

[0016] Ejemplos de afecciones que pueden mejorarse o tratarse usando los compuestos de la invención son, pero sin limitaciones, afecciones asociadas con el movimiento de líquidos a través de los epitelios transportadores de iones o la acumulación de moco y esputo en tejidos respiratorios, o una combinación de ambos. En algunos ejemplos, las afecciones en las que puede medirse usando los compuestos de la invención son fibrosis quísticas, discinesia ciliar primaria, carcinoma pulmonar, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma o una infección de las vías respiratorias.

10 Definiciones

[0017] "Alquilo" se refiere a un resto así como a un elemento estructural de otros grupos, por ejemplo alquilo y alcoxi halosustituidos, y puede ser de cadena lineal o ramificada. Un alquilo, alquenilo o alquinilo opcionalmente sustituido según se usa en este documento, puede estar opcionalmente halogenado (p. ej., CF_3) o puede tener uno o más carbonos que está sustituido o reemplazado por un heteroátomo, como NR, O o S (p. ej., $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$, alquiltioles, tioalcoxi, alquilaminas, etc.).

[0018] "Ariilo" se refiere a un anillo monocíclico o bicíclico fusionado aromático que contiene átomos de carbono. Por ejemplo, el ariilo puede ser fenilo o naftilo. "Ariileno" significa un radical divalente derivado de un grupo ariilo.

[0019] "Heteroarillo" según se usa en este documento es como se ha definido anteriormente para el grupo ariilo, en el que uno o más de los átomos del anillo son heteroátomos. Entre los ejemplos de heteroarillos se incluyen, pero sin limitaciones, piridilo, indolilo, indazolilo, quinoxalinilo, quinolinilo, benzofuranilo, benzopiranoilo, benzotiopiranoilo, benzo[1,3]dioxol, imidazolilo, benzoimidazolilo, pirimidinilo, furanilo, oxazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, pirazolilo, tienilo, etc.

[0020] Un "anillo carbocíclico" según se usa en este documento se refiere a un anillo monocíclico, bicíclico fusionado o policíclico enlazado saturado o parcialmente insaturado que contiene átomos de carbono, el cual puede estar opcionalmente sustituido, por ejemplo, con $=\text{O}$. Entre los ejemplos de anillos carboxicíclicos se incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclopropileno, ciclohexanona, etc.

[0021] Un "anillo heterocíclico" según se usa en este documento es como se ha definido anteriormente para el anillo carbocíclico, en el que uno o más carbonos del anillo son heteroátomos. Por ejemplo, un anillo heterocíclico puede contener N, O, S, $-\text{N}=\text{}$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_2-$ o $-\text{NR}-$ donde R puede ser hidrógeno, alquilo C_{1-4} o un grupo protector. Entre los ejemplos de anillos heterocíclicos se incluyen morfolino, pirrolidinilo, pirrolidinil-2-ona, piperacinoilo, piperidinilo, piperidinilona, 1,4-dioxo-8-aza-espiro[4,5]dec-8-ilo, etc.

[0022] Siempre que no se indique otra cosa, cuando se considera que un sustituyente está "opcionalmente sustituido" significa que el sustituyente es un grupo que puede estar sustituido con uno o más grupos individual e independientemente seleccionados entre, por ejemplo, un alquilo, alquenilo, alquinilo, alcoxi, alquilamina, alquiltio, alquinilo, amida, amino opcionalmente halogenados incluyendo grupos amino mono y disustituidos, ariilo, ariloxi, ariltio, carbonilo, carbocíclico, ciano, cicloalquilo, halógeno, heteroalquilo, heteroalquenilo, heteroalquinilo, heteroarillo, heterocíclico, hidroxilo, isocianato, isotiocianato, mercapto, nitro, O-carbamilo, N-carbamilo, O-tiocarbamilo, N-tiocarbamilo, C-amido, N-amido, S-sulfonamido, N-sulfonamido, C-carboxi, O-carboxi, perhaloalquilo, perfluoroalquilo, sililo, sulfonilo, tiocarbonilo, tiocianato, trihalometanosulfonilo y los compuestos protegidos de los mismos. Los grupos protectores que pueden formar los compuestos protegidos de los sustituyentes anteriores son conocidos por los expertos en la materia y pueden encontrarse en referencias como Greene y Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, N.Y., 1999, y Kocienski, Protective Groups, Thieme Verlag, Nueva York, N.Y., 1994.

[0023] Las expresiones "administración conjunta" o "administración combinada" según se usan en este documento pretenden abarcar la administración de los agentes terapéuticos seleccionados a un único paciente y pretenden incluir pautas terapéuticas en las que los agentes no se administran necesariamente por la misma vía de administración o al mismo tiempo.

[0024] La expresión "combinación farmacéutica" según se usa en este documento se refiere a un producto obtenido a partir de la mezcla o combinación de principios activos, e incluye tanto combinaciones fijas como no fijas de los principios activos. La expresión "combinación fija" significa que los principios activos, p. ej., un compuesto de

Fórmula (1) y un coagente, se administran ambos a un paciente simultáneamente en forma de una entidad o dosis única. La expresión "combinación no fija" significa que los principios activos, p. ej., un compuesto de Fórmula (1) y un coagente, se administran ambos a un paciente como entidades independientes de forma simultánea, concurrente o secuencial sin límites específicos de tiempo, donde dicha administración proporciona niveles terapéuticamente eficaces de los principios activos en el organismo del paciente. Esto último también se aplica a la politerapia, p. ej., la administración de 3 o más principios activos.

[0025] La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa la cantidad del compuesto en cuestión que mostrará una respuesta biológica o médica en una célula, tejido, órgano, sistema, animal o humano que el investigador, veterinario, médico u otro profesional de la medicina está buscando.

[0026] Los términos "administración" y/o "administrar" del compuesto en cuestión deberían entenderse como proporcionar un compuesto de la invención, incluyendo un profármaco de un compuesto de la invención, al individuo que necesita tratamiento.

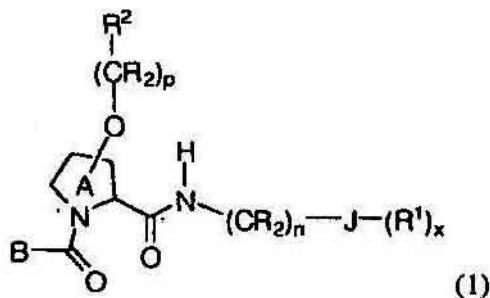
[0027] Según se usa en este documento, los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a un procedimiento para aliviar o mitigar una enfermedad y/o sus síntomas acompañantes.

[0028] El término "protasina" también puede denominarse como: proteasa activadora de canales humana (PACH), proteasa activadora de canales 1 y PRSS8, MERPOPS ID S01-159.

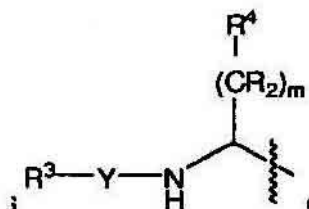
Modos de realización de la invención

[0029] La invención proporciona compuestos, composiciones farmacéuticas y compuestos para la modulación de las proteasas activadoras de canales (PAC).

[0030] En un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula (1):



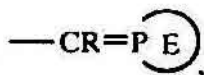
o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, donde
 30 O-(CR₂)_p-R² es un sustituyente en cualquier posición del anillo A;
 J es un anillo monocíclico o carbocíclico fusionado de 5-12 átomos, anillo heterocíclico que comprende N, O y/o S; anillo arilo o heteroarilo, siempre que J no sea triazolilo;
 B es



35 o (CR₂)_k-R⁵;
 Y es un enlace, -SO₂-, -NHCO- o -O-(CO)-;
 R¹ es halo, -(CR₂)_l-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-NRC(=NR)-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-C(=NR)-NR⁶R⁷, -C(O)-(CR₂)_l-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-NR-SO₂R⁶,
 -(CR₂)_l-NR-C(O)-R⁶, -(CR₂)_l-SO₂NR⁶R⁷ o -(CR₂)_l-OR⁶ o un alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆
 opcionalmente sustituido; o un anillo carbocíclico, anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;
 40 R³ es alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o -(CR₂)_l-R⁵;

alternativamente, NH-Y-R³ juntos forman NH₂;

R², R⁴ y R⁵ son independientemente un anillo carbocíclico, anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo de 5-12 átomos opcionalmente sustituidos; o R⁴ es H, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o



5 donde P es C o N y el anillo E junto con P forman un anillo monocíclico o fusionado de 5-12 átomos opcionalmente sustituido;

R⁶ y R⁷ son independientemente H, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o -(CR₂)_l-R⁵;

cada R es H, o alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆;

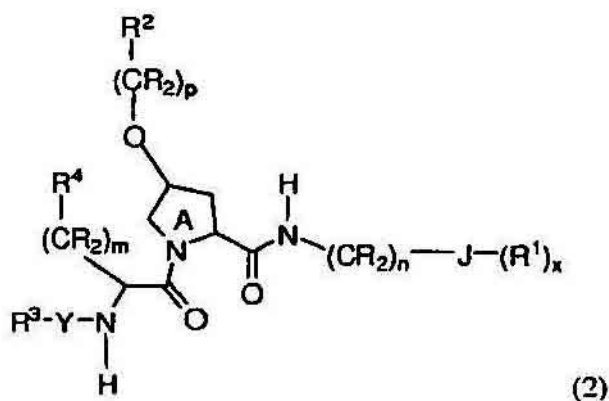
l es 0-6;

10 k, m, n y p son independientemente 1-6;

x es 0-4;

siempre que R⁴ sea piperidinilo cuando NH-Y-R³ juntos forman NH₂; y además siempre que R⁵ sea piperidinilo cuando B es (CR₂)_k-R⁵.

15 **[0031]** En otras realizaciones, la invención proporciona un compuesto de Fórmula (2):



donde R² y J son independientemente un arilo de 6 átomos opcionalmente sustituido;

R³ es alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o -(CR₂)_l-R⁵; o NH-Y-R³ juntos forman NH₂;

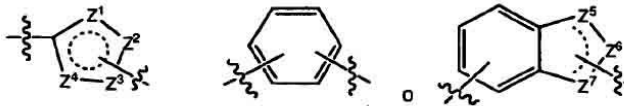
cada R en (CR₂) es H o alquilo C₁₋₆; y

20 m, n y p son independientemente 1-2.

[0032] Alternativamente, k, m, n y p en las Fórmulas (1) y (2) anteriores pueden ser independientemente 0-6. En ejemplos particulares, k en la Fórmula (1) es 2-3 y J es un heteroarilo, como tiofenilo. En otras realizaciones alternativas, Y en las Fórmulas (1) y (2) pueden ser -CO-.

25

[0033] En cada una de las fórmulas anteriores, J también puede seleccionarse entre el grupo compuesto por:



donde uno o más Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ y Z⁷ son un heteroátomo seleccionado entre N, NR, O o S donde R es H o alquilo C₁₋₆ y los demás átomos Z¹-Z⁷ son CH.

30

[0034] En algún ejemplo, al menos dos de Z¹, Z², Z³, Z⁴, Z⁵, Z⁶ y Z⁷ son un heteroátomo seleccionado entre N, NR, O o S, donde R es H o alquilo C₁₋₆ y los demás átomos Z¹-Z⁷ son CH.

[0035] En las Fórmulas (1) y (2) anteriores, donde cada resto opcionalmente sustituido puede estar sustituido con halo, =O, amino, guanidinilo, amidino, un alcoxilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido; alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente halogenado o puede opcionalmente tener un

35

carbono que puede estar reemplazado o sustituido con N, O o S; CO_2R^8 , $-\text{O}-(\text{CR}_2)_1$, $\text{C}(\text{O})-\text{R}^8$; $-(\text{CR}_2)_1-\text{R}^8$, $-(\text{CR}_2)_1-\text{C}(\text{O})-\text{R}^8$ o $-(\text{CR}_2)_1\text{SO}_2-\text{R}^8$; o una combinación de los mismos, donde cada R^8 es H, alquilo C_{1-6} o un anillo carbocíclico, anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido.

5 **[0036]** La presente invención también incluye todas las variaciones isotópicas adecuadas de los compuestos de la invención o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Una variación isotópica de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se define como aquella en la que al menos un átomo está sustituido por un átomo que tiene el mismo número atómico aunque una masa atómica diferente de la masa atómica que normalmente tiene en la naturaleza. Entre los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a los compuestos de la invención y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se incluyen, pero sin limitaciones, isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno y oxígeno, como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S , ^{18}F y ^{36}Cl . Determinadas variaciones isotópicas de los compuestos de la invención y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, por ejemplo, aquellos en los que se incorpora un isótopo radiactivo, como ^3H o ^{14}C , son útiles en estudios de distribución tisular de fármacos y/o sustratos. En ejemplos en particular, pueden ser útiles los isótopos ^3H y ^{14}C debido a su fácil preparación y detectabilidad. En otros ejemplos, la sustitución con isótopos como ^2H puede permitir determinadas ventajas terapéuticas que den lugar a una mayor estabilidad metabólica, como el aumento de la semivida *in vivo* o la reducción de los requerimientos de dosis. Las variaciones isotópicas de los compuestos de la invención o de las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, pueden prepararse generalmente mediante procedimientos que utilizan variaciones isotópicas apropiadas de los reactivos adecuados.

20 **[0037]** Los compuestos y composiciones de la invención pueden ser útiles para modular una proteasa activadora de canales. Entre los ejemplos de proteasas activadoras de canales que pueden ser moduladas usando los compuestos y composiciones de la invención se incluyen prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (p. ej., TMPRSS11B y TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A o elastasa de neutrófilos. Los compuestos de esta invención también pueden inhibir la actividad de proteasas que estimulan la actividad de los canales de iones, como el canal epitelial de sodio y pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades asociadas a PAC.

Farmacología y utilidad

30 **[0038]** Los compuestos de la invención modulan la actividad de proteasas activadores de canales, especialmente de serina proteasa similares a la tripsina, como prostasina, y por esto, son útiles para el tratamiento de enfermedades o trastornos en los que la prostasina, por ejemplo, contribuya a la patología y/o sintomatología de la enfermedad.

35 **[0039]** Entre las enfermedades mediadas por la inhibición de una proteasa activadora de canales, especialmente mediante una serina proteasa similar a la tripsina como la prostasina, se incluyen enfermedades asociadas con la regulación de los volúmenes de líquidos que atraviesan las membranas epiteliales. Por ejemplo, el volumen de líquido de la superficie de las vías respiratorias es un regulador clave del aclaramiento mucociliar y el mantenimiento de la salud pulmonar. La inhibición de una proteasa activadora de canales promoverá la acumulación de líquidos en el lado de la mucosa del epitelio de las vías respiratorias, promoviendo de este modo el aclaramiento de moco y previniendo la acumulación de moco y de esputo en los tejidos respiratorios (incluyendo las vías respiratorias pulmonares). Entre estas enfermedades se incluyen enfermedades respiratorias, como fibrosis quística, disquinesia ciliar primaria, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, infecciones de las vías respiratorias (aguda y crónica; vírica y bacteriana) y carcinoma pulmonar. Las enfermedades mediadas por la inhibición de la proteasa activadora de canales también incluyen enfermedades distintas a las enfermedades respiratorias que se asocian con una regulación de líquidos análoga a través de un epitelio, implicando quizás una fisiología anómala de los líquidos superficiales protectores sobre su superficie, por ejemplo, xerostomía (boca seca) o queratoconjuntivitis seca (ojos secos). Adicionalmente, la regulación PAC del ENaC en el riñón podría usarse para promover la diuresis e inducir, de este modo, un efecto hipertensor.

45 **[0040]** En la enfermedad pulmonar obstructiva crónica se incluye la bronquitis crónica o disnea asociada con la misma, enfisema, así como exacerbación de la hiperreactividad de las vías respiratorias consecuente con otra farmacoterapia, en especial otra farmacoterapia inhalada. La invención también es aplicable al tratamiento de la bronquitis de cualquier tipo o génesis incluyendo, por ejemplo, bronquitis aguda, araquidónica, catarral, seudomembranosa, crónica o fitinoide.

50 **[0041]** En el asma se incluyen asma intrínseco (no alérgico) y asma extrínseco (alérgico), asma leve, asma moderado, asma grave, asma bronquítica, asma inducida por el ejercicio, asma laboral y asma inducida tras una

infección bacteriana. El asma también abarca una afección denominada "síndrome de sibilancias en lactantes", que afecta a sujetos menores de 4 ó 5 años que muestran síntomas de sibilancias y diagnosticados o diagnosticables como "lactantes con sibilancias", una categoría de paciente establecida de interés médico principal que, a menudo, se identifican como asmáticos incipientes o en fase inicial.

5 **[0042]** La idoneidad de un inhibidor de la proteasa activadora de canales, como un inhibidor de prostasina, para el tratamiento de una enfermedad mediada por la inhibición de una proteasa activadora de canales, puede comprobarse mediante la determinación del efecto inhibitorio del inhibidor de la proteasa activadora de canales según los ensayos descritos a continuación y siguiendo procedimientos conocidos en la técnica.

10 **[0043]** Según lo dicho anteriormente, la presente invención además proporciona compuestos para prevenir o tratar cualquiera de las enfermedades o trastornos descritos anteriormente en un sujeto que necesita dicho tratamiento, estos compuestos se administran a dicho sujeto en una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula (1) o (2), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Para cualquier de los usos
15 anteriores, la dosis requerida variará dependiendo del modo de administración, de la afección tratada en particular y del efecto deseado (véase, "Administración y composiciones farmacéuticas", a continuación).

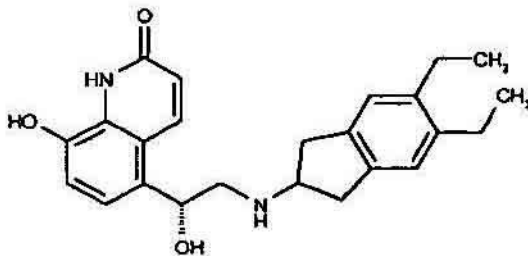
Administración y composiciones farmacéuticas

20 **[0044]** En general, los compuestos de la invención se administrarán en cantidades terapéuticamente eficaces mediante cualquier de los modos normales y aceptables conocidos en la técnica, tanto uno por uno como en combinación con uno o más agentes terapéuticos.

25 **[0045]** Los inhibidores de proteasas activadoras de canales de la invención también son útiles como coagentes terapéuticos para su uso en combinación con otro agente terapéutico. Por ejemplo, puede usarse un inhibidor de proteasas activadoras de canales en combinación con un antiinflamatorio, broncodilatador, antihistamínico o antitusivos, antibiótico o agente terapéutico ADNasa. El inhibidor de proteasas activadoras de canales y otro agente terapéutico pueden estar en la misma, o diferente, composición farmacéutica. El inhibidor de proteasas activadora de canales puede mezclarse con el otro agente terapéutico en una composición farmacéutica
30 fija, o puede administrarse por separado, antes, simultáneamente o después del otro agente terapéutico. La combinación puede ser especialmente útil para el tratamiento de la fibrosis quística o de enfermedades obstructivas o inflamatorias de las vías respiratorias, como las mencionadas anteriormente en este documento, por ejemplo, como potenciadores de la actividad terapéutica de dichos fármacos o como medio para reducir la dosis requerida o los posibles efectos adversos de dichos fármacos.

35 **[0046]** Entre los agentes terapéuticos antiinflamatorios adecuados se incluyen esteroides, especialmente glucocorticoesteroides como budesonida, dipropionato de beclometasona, propionato de fluticasona, ciclesonida o furoato de mometasona, o esteroides descritos en las solicitud de patentes internacionales WO 02/88167, WO 02/12266, WO 02/100879, WO 02/00679 (por ejemplo, los ejemplos 3, 11, 14, 17, 19, 26, 34, 37, 39, 51, 60, 67, 72, 73, 90, 99 y 101), WO 03/35668, WO 03/48181, WO 03/62259, WO 03/64445, WO 03/72592, WO 04/39827 y WO 04/66920; antagonistas del receptor de glucocorticoides no esteroideos, como los descritos en los documentos DE 10261874, WO 00/00531, WO 02/10143, WO 03/82280, WO 03/82787, WO 03/86294, WO 03/104195. WO 03/101932, WO 04/05229, WO 04/18429, WO 04/19935 y WO 04/26248; antagonistas de LTD4 como montelukast y zafirlukast; inhibidores de PDE4 como cilomilast (ARIFLO[®] de GlaxoSmithKline), ROFLUMILAST[®] (Byk Gulden), V-
45 11294A (Napp), BAY19-8004 (Bayer), SCH-351591 (Schering-Plough), AROFYLLINE[®] (Almirall Prodesfarma), PD189659/PD168787 (Parke-Davis), AWD-12-281 (Asta Medica), CDC-801 (Celgene), SeICID(TM) CC-10004 (Celgene), VM554/UM565 (Vernalis), T-440 (Tanabe), KW-4490 (Kyowa Hakko Kogyo) y los incluidos en los documentos WO 92/19594, WO 93/19749, WO 93/19750, WO 93/19751, WO 98/18796, WO 99/16766, WO 01/13953, WO 03/104204, WO 03/104205, WO 03/39544, WO 04/000814, WO 04/000839, WO 04/005258. WO
50 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465, WO 04/018431, WO 04/018449, WO 04/018450, WO 04/018451, WO 04/018457, WO 04/018465. WO 04/019944, WO 04/019945, WO 04/045607 y WO 04/037805, y antagonistas del receptor A_{2B} de adenosina como los incluidos en el documento WO 02/42298.

55 **[0047]** Entre los agentes terapéuticos broncodilatadores adecuados se incluyen agonistas del adrenoceptor beta-2, como albuterol (salbutamol), metaproterenol, terbutalina, salmeterol, fenoterol, procaterol, formoterol, carmoterol o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y compuestos (en forma libre, de sal o solvato) de la Fórmula (1) como se describe en el documento WO 00/75114, un compuesto de fórmula:



compuestos de Fórmula (1) del documento WO 04/16601 (en forma libre, de sal o solvato) y compuestos de los documentos EP 1440966, JP 05025045, WO 93/18007, WO 99/64035, US 2002/0055651, WO 01/42193, WO 01/83462, WO 02/66422, WO 02/70490, WO 02/76933, WO 03/24439, WO 03/42160, WO 03/42164, WO 03/72539, 5 WO 03/91204, WO 03/99764, WO 04/16578, WO 04/22547, WO 04/32921, WO 04/33412, WO 04/37768, WO 04/37773, WO 04/37807, WO 04/39762, WO 04/39766, WO 04/45618 WO 04/46083 y WO 04/80964 o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 **[0048]** Entre los agentes terapéuticos broncodilatadores adecuados también se incluyen agentes anticolinérgicos o antimuscarínicos, en especial bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, sales de tiotropio y CHF 4226 (Chiesi), y gluopirrolato, aunque también los descritos en los documentos EP 424021, US 3714357, US 5171744, WO 01/04118, WO 02/00652, WO 02/51841, WO 02/53564, WO 03/00840, WO 03/33495, WO 03/53966, WO 03/87094, WO 04/018422 y WO 04/05285.

15 **[0049]** Entre los agentes terapéuticos dobles antiinflamatorios y broncodilatadores adecuados se incluyen agonistas dobles del adrenoceptor beta-2/antagonistas muscarínicos como los descritos en los documentos US 2004/0167167, WO 04/74246 y WO 04/74812.

20 **[0050]** Entre los agentes terapéuticos antihistamínicos adecuados se incluyen clorhidrato de cetirizina, acetaminofeno, fumarato de clemastina, prometazina, loratadina, desloratadina, clorhidratos de difenhidramina y fexofenadina, activastina, astemizol, azelastina, ebastina, epinastina, mizolastina y tefenadina así como los incluidos en los documentos JP 2004107299, WO 03/099807 y WO 04/026841.

25 **[0051]** Entre los antibióticos adecuados se incluyen antibióticos macrólidos, por ejemplo, tobramicina (TOBIT™).

[0052] Entre los agentes terapéuticos ADNasas adecuados se incluyen dornasa alfa (PULMOZYME™), una solución altamente purificada de desoxirribonucleasa I humana recombinante (ADNasahr) que escinde el ADN de forma selectiva. La dornasa alfa se usa para tratar la fibrosis quística.

30 **[0053]** Otras combinaciones útiles de inhibidores de proteasas activadoras de canales con agentes terapéuticos antiinflamatorios son aquellas con antagonistas de receptores de quimiocinas, p. ej. CCR-1, CCR-2, CCR-3, CCR-4, CCR-5, CCR-6, CCR-7, CCR-8, CCR-9 y CCR10, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, especialmente antagonistas de CCR-5 como los antagonistas de Schering-Plough SC-351125, SCH-55700 y SCH-35 **D**, antagonistas de Takeda como el cloruro de N-[[4-[[[6,7-dihidro-2-(4-metil-fenil)-5H-benzo-cicloheptan-8-il]carbonil]amino]fenil]-metil]tetrahidro-N,N-dimetil-2H-piran-4-amonio (TAK-770) y antagonistas de CCR-5 descritos en los documentos US 6166037, WO 00/66558, WO 00/66559, WO 04/018425 y WO 04/026873 completos.

40 **[0054]** En el tratamiento de una enfermedad mediada por la inhibición de prostasina, puede administrarse un inhibidor de proteasas activadoras de canales de la invención, en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, por cualquier vía apropiada, por ejemplo, por vía oral, p. ej., en forma de comprimido, cápsula o líquido, por vía parenteral, por ejemplo en forma de una solución o suspensión inyectable, o por vía intranasal, por ejemplo en forma de aerosol u otra formulación atomizable usando un dispositivo de administración intranasal apropiado, p. ej., un espray nasal como los conocidos en la técnica, o mediante inhalación, especialmente 45 para su uso con un nebulizador.

[0055] El inhibidor de proteasas activadoras de canales puede administrarse en una composición farmacéutica junto con un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones pueden ser, por

ejemplo, polvos secos, comprimidos, cápsulas y líquidos, aunque también soluciones para inyección, soluciones para infusión o suspensiones para inhalación, que pueden prepararse usando otros componentes y técnicas de formulación conocidos en la técnica.

5 **[0056]** La posología del inhibidor de proteasas activadoras de canales en forma libre o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable puede depender de diversos factores, como la actividad y duración de la acción del principio activo, la gravedad de la afección que se va a tratar, el modo de administración, la especie, sexo, origen étnico, edad y peso del sujeto y/o su estado individual. Se estima que una dosis diaria típica para su administración, por ejemplo para administración oral a un animal de sangre caliente, en concreto un ser humano con un peso
10 aproximado de 75 kg, es de aproximadamente 0,7 mg a aproximadamente 1.400 mg, más en particular de aproximadamente 5 mg a aproximadamente 200 mg. Esta dosis puede administrarse, por ejemplo, en una única dosis o en varias dosis, por ejemplo, de 5 a 200 mg.

[0057] Cuando la composición comprende una formulación en aerosol, puede contener, por ejemplo, un
15 propulsor hidrofluoroalcano (HFA), como HFA134a o HFA227, o una mezcla de estos, y puede contener uno o más codisolventes conocidos en la técnica, como etanol (hasta el 20% en peso) y/o uno o más tensioactivos, como ácido oleico o triolato de sorbitán, y/o uno o más agentes de carga, como lactosa. Cuando la composición comprende una formulación en polvo seco, puede contener por ejemplo, el inhibidor de proteasas activadoras de canales que tiene
20 un diámetro de partícula de hasta 10 micrómetros, opcionalmente junto con un diluyente o vehículo, como lactosa, de la distribución de tamaño de partícula deseado y un compuesto que ayude a proteger frente a productos que deterioran el rendimiento debido a la humedad, p. ej., estearato de magnesio. Cuando la composición comprende una formulación nebulizada, puede contener, por ejemplo, el inhibidor de proteasas activadoras de canales disuelto, o suspendido, en un vehículo que contiene agua, un codisolvente como etanol o propilenglicol y un estabilizante, que puede ser un tensioactivo.

25 **[0058]** En realizaciones especiales, la invención proporciona compuestos de Fórmulas (1) o (2) en forma inhalable, p. ej., en un aerosol u otra composición atomizable o en forma particulada inhalable, p. ej., micronizada. La invención también proporciona un medicamento inhalable que comprende compuestos de la invención en forma inhalable; un producto farmacéutico que comprende compuestos de la invención en forma inhalable en asociación
30 con un dispositivo de inhalación; y un dispositivo de inhalación que comprende compuestos de la invención en forma inhalable.

Procesos para obtener los compuestos de la invención

35 **[0059]** Los compuestos de la invención pueden prepararse siguiendo los procedimientos explicados en los Ejemplos.

[0060] En las reacciones descritas, los grupos funcionales reactivos, cuando se desea que estén en el producto final (p. ej., grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxilo), pueden protegerse usando grupos protectores
40 conocidos en la técnica, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Pueden usarse grupos protectores convencionales de acuerdo con la práctica convencional, véase, por ejemplo, T. W. Greene y P. G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley and Sons, 1991.

[0061] Los compuestos de la invención también pueden prepararse como una sal de adición de ácido
45 farmacéuticamente aceptable mediante la reacción con la forma base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, una sal de adición de base farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención puede prepararse mediante la reacción de la forma de ácido libre del compuesto con una base inorgánica u orgánica farmacéuticamente aceptable. Alternativamente, las formas de sales de los compuestos de la invención pueden prepararse usando sales de las materias primas o de los compuestos
50 intermedios.

[0062] Las formas de ácido libre o de base libre de los compuestos de la invención pueden prepararse a partir de la forma de sal de adición de base o de la sal de adición de ácido correspondiente, respectivamente. Por ejemplo, un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de ácido puede convertirse en la base libre correspondiente tratándolo con una base adecuada (p. ej., solución de hidróxido de amoníaco o hidróxido sódico).
55 Un compuesto de la invención en una forma de sal de adición de base puede convertirse en el ácido libre correspondiente tratándolo con un ácido adecuado (p. ej., ácido clorhídrico).

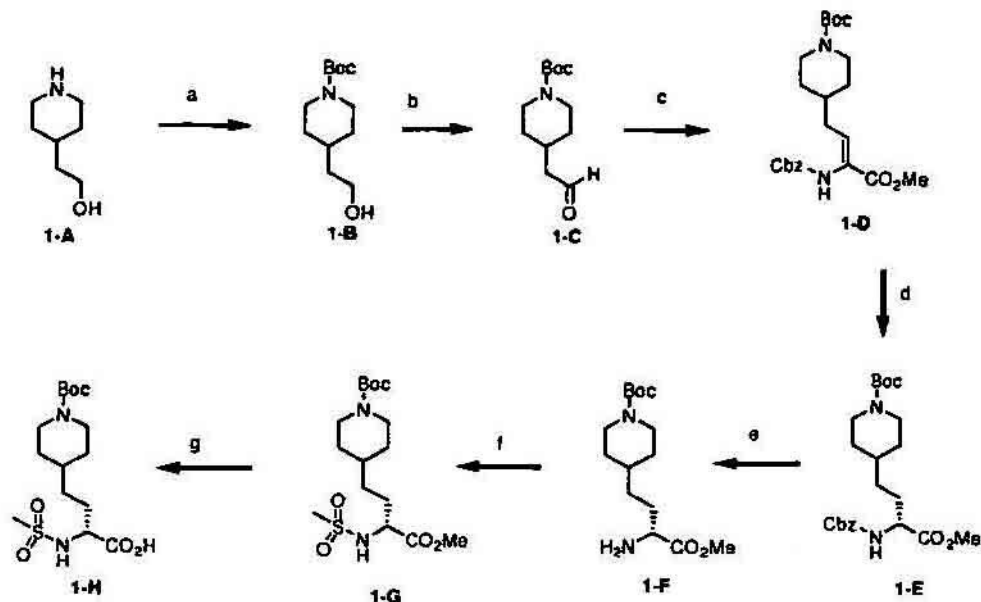
[0063] Los compuestos de la invención en forma no oxidada pueden prepararse a partir de N-óxidos de los

compuestos de la invención tratando con un agente reductor (p. ej., azufre, dióxido de azufre, trifenilfosfina, borohidruro de litio, borohidruro sódico, tricloruro de fósforo, tribromuro o similares) en un solvente orgánico inerte adecuado (p. ej., acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso o similares) de 0 a 80°C.

- 5 **[0064]** Los derivados profármaco de los compuestos de la invención pueden prepararse mediante procedimientos conocidos para los expertos en la materia (p. ej., para más detalles véase Saulnier y col., (1994), Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, Vol. 4, p. 1985). Por ejemplo, pueden prepararse profármacos apropiados mediante la reacción de un compuesto no derivatizado de la invención con un agente de carbamitación adecuado (p. ej., 1,1-aciloxialquilcarbanocloridato, carbonato de para-nitrofenilo o similares).
- 10 **[0065]** Los derivados protegidos de los compuestos de la invención pueden obtenerse por medios conocidos por los expertos en la materia. Una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación puede encontrarse en T. W. Greene, "Protecting Groups in Organic Chemistry", 3ª edición, John Wiley and hijos, Inc., 1999.
- 15 **[0066]** Los compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente, o formarse durante el proceso de la invención, como solvatos (p. ej., hidratos). Los hidratos de los compuestos de la presente invención pueden prepararse convenientemente mediante recristalización a partir de una mezcla de solventes acuoso/orgánico, usando solventes orgánicos como dioxina, tetrahidrofurano o metanol.
- 20 **[0067]** Los compuestos de la invención pueden prepararse como sus estereoisómeros individuales mediante la reacción de una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diastereoisómeros, separando los diastereoisómeros y recuperando los enantiómeros ópticamente puros. Aunque la resolución de enantiómeros puede llevarse a cabo usando derivados diastereoisómeros covalentes de los compuestos de la invención, se prefieren los complejos disociables (p. ej., sales
- 25 diastereoméricas cristalinas). Los diastereoisómeros tienen propiedades físicas diferentes (p. ej., puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y pueden separarse fácilmente aprovechando estas diferencias. Los diastereoisómeros pueden separarse mediante cromatografía o mediante técnicas de separación/resolución en función de las diferencias de solubilidad. A continuación se recupera el enantiómero ópticamente puro, junto con el agente de resolución, por cualquier de los medios prácticos que no den lugar a racemización. Una descripción más
- 30 detallada de las técnicas aplicables a la resolución de estereoisómeros de los compuestos a partir de su mezcla racémica puede encontrarse en Jean Jacques, Andre Collet y Samuel H. Wilen, "Enantiomers, Racemates and Resolutions", John Wiley And Sons, Inc., 1981.
- [0068]** En resumen, los compuestos de la invención pueden prepararse como se explica en los Ejemplos, y
- 35 las Fórmulas (1) y (2) pueden obtenerse mediante un procedimiento, que implica:
- (a) convertir opcionalmente un compuesto de la invención en una sal farmacéuticamente aceptable;
 - (b) convertir opcionalmente una forma de sal de un compuesto de la invención en una forma no sal;
 - (c) convertir opcionalmente una forma no oxidada de un compuesto de la invención en un N-óxido farmacéuticamente aceptable;
 - 40 (d) convertir opcionalmente una forma N-óxido de un compuesto de la invención en su forma no oxidada;
 - (e) resolver opcionalmente un isómero individual de un compuesto de la invención a partir de una mezcla de isómeros;
 - (f) convertir opcionalmente un compuesto no derivatizado de la invención en un derivado profármaco
 - 45 farmacéuticamente aceptable y
 - (g) convertir opcionalmente un derivado profármaco de un compuesto de la invención en su forma no derivatizada.
- [0069]** En la medida en que la producción de las materias primas no se describe especialmente, los
- 50 compuestos son conocidos o pueden prepararse de forma análoga a partir de procedimientos conocidos en la técnica o como se describe a partir de aquí en este documento en los Ejemplos. Un experto en la materia apreciará que las transformaciones anteriores son sólo representativas de procedimientos para la preparación de los compuestos de la presente invención y que pueden usarse de forma similar otros procedimientos bien conocidos. La presente invención se explica adicionalmente, pero sin limitaciones, mediante los siguientes Ejemplos que ilustran la
- 55 preparación de los compuestos de la invención.

Compuesto de referencia 1

[0070]



1-B: Se disuelve etanol 4-piperidina (1-A) (5 g, 39,7 nmoles) en THF (120 ml). Se añade trietilamina (5,6 ml, 40 nmoles) y la solución se enfría a 0°C. Se añade Boc₂O (9,59 g, 44 mmoles) y la reacción se agita durante toda la noche a temperatura ambiente. El solvente se elimina al vacío y el residuo sin procesar se disuelve en acetato de etilo (120 ml). La solución se lava con HCl 0,1 N (3x100 ml) y salmuera (1x100 ml), se seca con MgSO₄, se filtra y se evapora el solvente al vacío para obtener 1-B como un aceite transparente.

1-C: Se añade ácido tricloroisocianúrico (2,66 g, 11,46 mmol) a una solución del alcohol 1-B (2,39 g, 10,42 mmoles) en DCM, y la solución se agita y mantiene a 0°C, tras la adición de una cantidad catalítica de TEMPO. Tras la adición, la mezcla se lleva a temperatura ambiente y se agita durante una hora y, a continuación, se filtra sobre Celite®. La fase orgánica se lava con Na₂CO₃ acuoso saturado, seguido de HCl 1M y salmuera. La capa orgánica se seca (MgSO₄) y se evapora el solvente para obtener 1-C.

RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 89,72 (1H, s), 4,07-4,01 (2H, m), 2,70-2,57 (2H, m), 3,35-3,31 (2H, m), 2,05-1,94 (1 H, m), 1,64-1,46 (2H, m), 1,39 (9H, s), 1,30-1,02 (2H, m).

1-D: A una solución de éster de trimetil Cbz-α-fosfonglicina (2,8 g, 8,45 mmoles) en THF a -78°C se le añade 1,1,3,3-tetrametil-guanidina (1,022 ml, 8,14 mmoles). Después de 10 minutos, se añade el aldehído 1-C (1,76 g, 7,76 mmoles). A continuación, la solución se coloca en un baño con hielo a 0°C durante 1 hora y, después, se dejó que alcanzara la temperatura ambiente y se agita durante otra hora. La solución se diluye con EtOAc, se lava con NaHSO₄ 1 M, se seca (MgSO₃) y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice con un gradiente de 0 a 100% de acetato de etilo/hexano para obtener 1-D como un sólido blanco. EM *m/z* 333,2 (M + 1), RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,35-7,33 (5H, m), 6,63 (1H, t, *J* = 8Hz), 6,30 (1H, sa), 5,12 (2H, s), 4,10-4,04 (2H, m), 3,73 (3H, s), 2,67-2,62 (2H, m), 2,14 (2H, t, *J* = 6,8 Hz), 1,63-1,46 (3H, m), 1,43 (9H, s), 1,14-1,06 (2H, m).

1-E: Un recipiente de Parr se cargó con 1-D (1 g, 2,31 mmoles) y MeOH (100 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. La solución se somete a 3 ciclos de vacío y burbujeo de nitrógeno, y se añade el catalizador (R,R)-Etil-DuPHOS-Rh(COD) triflato (30 mg, 0,04 mmoles). La mezcla se coloca a una presión de 60 psi de gas hidrógeno a temperatura ambiente durante 24 h. La conversión de 1-E es completa después de 24 h con >99% e.e., el solvente se elimina al vacío y el producto sin procesar se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (hexanos/EtOAc).

1-F: El producto intermedio 1-E se disuelve en MeOH. La solución se gasea con nitrógeno y se añade Pd/Carbono (5% en peso, Degussa). La mezcla se coloca a una presión de 50 psi de gas hidrógeno a temperatura ambiente y se agita durante 24 h. La mezcla se gaseó con nitrógeno y se filtró a través de Celite®. La masa se lava con MeOH y la solución orgánica combinada se concentra al vacío. Se añaden hexanos y, a continuación se evapora al azeótropo el metanol restante para obtener 1-F como un aceite que, a continuación se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM *m/z* 201,4 (M + 1 - Boc), RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 4,06-3,97 (2H, m), 3,63 (3H, s), 3,36-3,31 (1H, m), 2,63-2,50 (2H, m), 1,70-1,61 (1H, m), 1,61-1,43 (3H, m), 1,36 (3H, s), 1,55 (6H, s), 1,34-1,15 (3H, m), 1,02-1,97 (2H, m).

3-B: El compuesto 3-A (2 g, 9,28 mmoles) se combina con CBr_4 (4,46 g, 13,47 mmoles) y trifetilfosfina (3,28 g, 12,54 mmoles) en THF (0,2 M) y la solución se agita durante toda la noche. A continuación, la mezcla de reacción se filtra y el solvente se evapora. Una porción grande el óxido de trifetilfosfina se precipita mediante la adición lenta de la mezcla sin procesar a un volumen grande de éter. Tras la filtración y concentración, el residuo se purifica mediante

5 cromatografía (gradiente de EtOAc:hexanos) para obtener el compuesto 3-B. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 4,05-3,99 (1H, m), 3,83-3,78 (1H, m), 3,27-3,34 (2H, m), 2,84-2,77 (1H, m), 2,66-2,59 (1H, m), 1,91-1,74 (2H, m), 1,67-1,56 (1H, m), 1,42 (9H, s), 1,32-1,20 (2H, m).

3-C: Una mezcla de 3-B (1 g, 3,6 mmoles) y KCN (281 mg, 4,3 mmoles) en DMF anhídrido (20 ml) se agita a reflujo durante toda la noche. El residuo se disuelve en EtOAc (50 ml), se lava sucesivamente con NaHSO_4 1N (2x50 ml) y

10 sal muera (2x50 ml) y se seca sobre MgSO_4 . El solvente se evapora y el material sin procesar se purifica por cromatografía (gradiente EtOAc:hexanos) para obtener en compuesto 3-C como un aceite. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 3,78-3,67 (1H, m), 3,67-3,64 (1H, m), 2,81-2,71 (1H, m), 2,71-2,50 (1H, m), 2,24-2,09 (2H, m), 1,79-1,66 (2H, m), 1,56-1,48 (1H, m), 1,39-1,13 (11H, m).

3-D: A una solución de 3-C (750 mg, 3,34 mmol) en THF (20 ml) se le añade DIBAL (solución 1M en THF, 5 ml) a -

15 78°C. Se deja que la mezcla alcance la temperatura ambiente y se agita a esta temperatura durante 1 h. La mezcla se enfría a 0°C y se añaden sucesivamente agua (0,2 ml), NaOH ac. al 15% (0,2 ml) y agua (0,5 ml). Tras la adición de MgSO_4 , la mezcla se agita enérgicamente y se filtra. La evaporación de los solventes produce e compuesto 3-D como un aceite incoloro. Este compuesto se usa en la etapa siguiente sin purificación adicional. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 3,78-3,67 (1H, m), 3,67-3,64 (1H, m), 2,81-2,71 (1H, m), 2,71-2,50 (1H, m), 2,24-2,09 (2H, m), 1,79-1,66 (2H, m), 1,56-1,48 (1H, m), 1,39-1,13 (11H, m).

3-E: Este compuesto se prepara a partir de 3-D utilizando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 1-D.

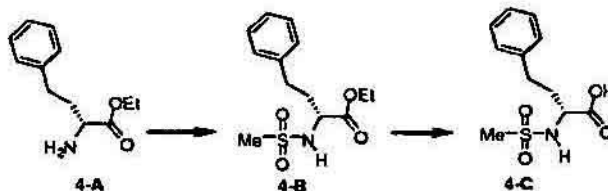
3-F: Este compuesto se prepara a partir de 3-E utilizando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 1-F.

25 3-G: Este compuesto se prepara a partir de 3-F utilizando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 1-G.

3-H: Este compuesto se prepara a partir de 3-G utilizando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 1-H

30 Compuesto de referencia 4

[0074]



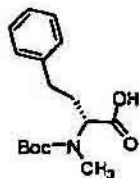
4-B: Se disuelven clorhidrato del éster de etilo de D-homofenilalanina (5,00 g, 20,5 mmoles) y DIEA (8,7 ml, 51,25 mmoles) en THF (100 ml) y se agitan a temperatura ambiente. Se añade cloruro de mesilo (1,67 ml, 21,52 mmoles) gota a gota y la reacción se agita durante 6h a temperatura ambiente. El THF se evapora, y el residuo sin procesar se disuelve en EtOAc (100 ml), se lava con agua (100 ml), HCl 1N (2 x100 ml) y salmuera (100 ml), y se seca (MgSO_4). El solvente se elimina al vacío y el material sin procesar se purifica por cromatografía ultrarrápida (hexanos:EtOAc) para obtener el éster de etilo

40 4-C: El éster de etilo 4-B se disuelve en dioxano (50 ml) y se agita a temperatura ambiente. Se añade $\text{LiOH}\cdot\text{H}_2\text{O}$ (1,00 mg, 24 mmoles) disuelto en agua (20 ml) y la reacción se agita hasta que haya desaparecido el éster de etilo (mediante TLC y EMCL). El solvente se elimina al vacío y el material sin procesar se separa con EtOAc (50 ml) y HCl 1N (50 ml). La capa acuosa se extrae con EtOAc (2x50 ml) y las fases orgánicas mezcladas se lavan con NaHSO_4 1M (2x50 ml) y salmuera (50 ml) y se secan con MgSO_4 .

45 [0075] El solvente se evapora y el material sin elaborar se purifica mediante cromatografía ultrarrápida (gradiente EtOAc:hexanos) para obtener el compuesto 4 de referencia como un polvo blanco.

Compuesto de referencia 5

50 [0076]

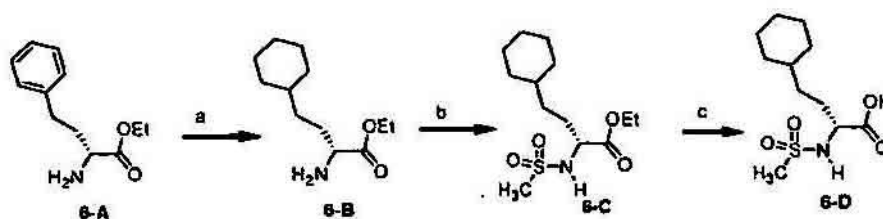


[0077] Se disuelve Boc-D-homofenilalanina (1,0 g, 3,58 mmoles) en THF (10 ml) y se añade agua (18 μ l, 0,72 mmoles) a una suspensión de NaH (dispersión en aceite mineral al 60%, 10,0 mmoles) en tetrahidrofurano (12 ml) 5 gota a gota durante un periodo de 20 min. mientras se mantiene una temperatura interna de 20°C. La mezcla se agita a la misma temperatura durante 10 min. y se añade sulfato de dimetilo (1,05 ml, 6,44 mmoles) durante un periodo de 20 min. mientras se mantiene una temperatura de 20°C. La reacción se agita durante 2 h antes de inactivarla con hidróxido amónico al 30% (6 ml) durante un periodo de 10 min., mientras que se mantiene una temperatura interna de 30°C. Se continuación la agitación durante una 1 h más (para asegurar una completa 10 destrucción del sulfato de dimetilo). La mezcla se diluye con EtOAc (20 ml) y agua (20 ml). La capa orgánica se separa, se lava con agua (10 ml), se seca (MgSO₄) y se evapora al vacío para obtener el compuesto de referencia 5 como un sólido blanco.

Compuesto de referencia 6

15

[0078]



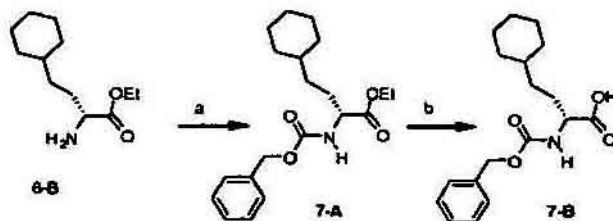
6-B: Se disuelve clorhidrato del éter de etilo de D-homofenilalanina (6A) (25,0 g, 102,5 mmoles) en EtOH acuoso al 10% (500 ml). Se añade una cantidad catalítica de Rh/C al 5% y la reacción se coloca bajo una atmósfera de H₂ 20 (1.000 psi), se agita y calienta a 50°C. Después de 18 h, la reacción se enfría a temperatura ambiente, se retira el aporte de gas H₂ y el recipiente se lleva a presión atmosférica. El catalizador se filtra a través de Celite® y el solvente se elimina al vacío para obtener clorhidrato de éter de etilo de D-homociclohexilalanina como un polvo blanco.

6-C: Este compuesto se prepara a partir de 6-B utilizando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 4-B.

25 6-D: Este compuesto se prepara a partir de 6-C utilizando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 4-C.

Compuesto de referencia 7

30 **[0079]**



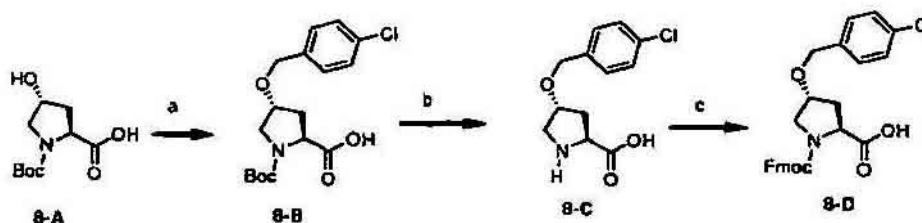
7-A: Se añaden clorhidrato de éster de etilo de D-homociclohexilalanina (3,83 g, 18,0 mmoles) y N-(benciloxicarboniloxi)succinimida (Cbz-OSu) (4,49 g, 18,0 mmoles) en un matraz de fondo redondo que contiene

THF (60 ml) y agua (20 ml). La mezcla se agita a temperatura ambiente y se añade Et₃N (10,1 ml, 72,0 mmoles) y la reacción se agita durante la noche a temperatura ambiente. La solución transparente se diluye con EtOAc (200 ml) y se lava con HCl 1N (3x100 ml) y salmuera (1x100 ml) y se seca con MgSO₄. El solvente se evapora al vacío para obtener el producto deseado como un sólido blanco que se usa sin purificación adicional.

- 5 7-B: Este compuesto se prepara a partir de 7-A utilizando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 4-C.

Compuesto de referencia 8

10 [0080]



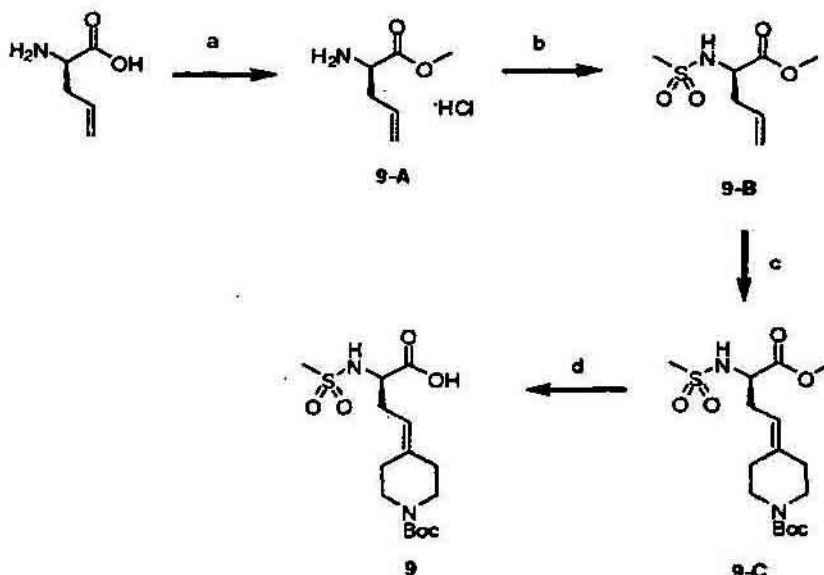
8-B: Se disuelve KOH en polvo fino (19,4 g, 0,346 moles) en DMSO y se agita a temperatura ambiente durante 20 min. y, a continuación, se enfría a 0°C. Se disuelve N-Boc-*trans*-4-hidroxi-L-prolina (Boc-Hip-OH, 8-A) (10 g, 43.3 mmol) en DMSO (10 ml) y se añade, y la mezcla de reacción se agita durante 10 min. más a 0°C. A continuación, se añade cloruro de 4-clorobencilo (33 g, 0,204 moles) y la mezcla de reacción se agita a 0°C durante 15 min. más. Después de esto, se retira el baño de hielo y se deja que la mezcla de reacción alcance la temperatura ambiente y se agita durante 4 h. La mezcla de reacción se vierte dentro de agua (300 ml) y el recipiente de reacción se lava con una alícuota adicional de agua (300 ml). La capa acuosa mezclada se extrae con éter (2x300 ml) y se elimina. La capa acuosa se acidifica hasta pH 2,3 con H₃PO₄ al 87% y, a continuación, se extrae con éter (3x300 ml). Los extractos de éter mezclados se lavan con agua (2x 400 ml) y salmuera (2x400 ml) y, a continuación, se secan sobre MgSO₄, se filtran y concentran al vacío. El residuo se purifica mediante cromatografía en gel de sílice con EtOAc/hexanos (gradiente de 0 a 100%) para obtener el compuesto 8-B como un aceite transparente. EM *m/z* 256,1 (M + 1 - Boc); RMN ¹H (DMSO-D₆, 400 MHz) δ 7,39-7,31 (4H, m), 4,52-4,40 (2H, m), 4,16-4,10 (2H, m), 3,48-3,41 (2H, m), 2,40-2,30 (1H, m), 2,03-1,94 (1H, m), 1,39-1,34 (9H, m).

- 15 8-C: Se añade una solución de TFA en diclorometano (50/50) a 8-B y la mezcla se agita hasta la completa eliminación del Boc. A continuación, la mezcla de reacción se concentra al vacío y el residuo sin procesar se usa en la siguiente etapa sin purificación adicional. EM *m/z* 256,1 (M + 1); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,32 (1H, s ancho), 7,16-6,93 (4H, m), 4,41-4,12 (4H, m), 4,10-3,75 (2H, m), 3,70-3,53 (1H, m), 3,51-3,30 (1H, m), 2,38-2,24 (1H, m), 2,06-1,88 (1H, m).

- 20 8-D: El producto intermedio 8-C se disuelve en 200 ml de una solución de 1,4-dioxano/H₂O (1:1). Se añade NaHCO₃ (17,9 g, 0,213 moles) seguido de Fmoc-Cl (12 g, 46,3 mmoles). La mezcla se agita durante toda la noche. A continuación, la solución se acidifica con HCl 1N, y el precipitado se filtra y seca (MgSO₄) para obtener 8-D con un sólido blanco. RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,11 (1 H, s ancho), 7,77-7,66 (2H, m), 7,58-7,52 (2H, m), 7,42-7,21 (8H, m), 4,54-4,26 (4H, m), 4,24 (1 H, t, *J*=7,2 Hz), 4,23-4,10 (1H, m), 3,69-3,61 (2H, m), 3,50-2,38 (1H, m), 2,24-2,12 (1H, m).

Compuesto de referencia 9

[0081]



[0082] Los reactivos y las condiciones para el esquema de reacción anterior son: (a) SOCl_2 (3,0 equiv.), MeOH, 0°C , 100%; (b) cloruro de mesilo (1,2 equiv.), Et_3N (3,0 equiv.), cat. DMAP, THF, 23°C , 79%; (c) catalizador de metatesis Hoveyda-Grubbs (8 moles %), *N*-Boc-4-metilenpiperidina (3,0 equiv.), DCM, 40°C , 51%; (d) LiOH, dioxanos, H_2O , 23°C , 100%.

9-A: Se resuspende D-allilglicina (5,03 g, 43,73 mmoles, 1,0 equiv.) en una suspensión de metanol (70 ml) en un baño de agua con hielo. Se añade cloruro de tionilo (9,6 ml, 131,19 mmoles, 3,0 equiv.) gota a gota durante 10 minutos. La reacción se lleva a temperatura ambiente y se evalúa su finalización mediante EM/CL. El solvente se evapora y el sólido blanco resultante 9-A se usa directamente en la siguiente etapa.

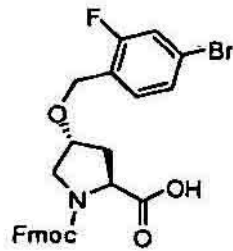
9-B: Se disuelven clorhidrato de éster de metilo de D-allilglicina (9-A, 7,20 g, 43,73 mmoles), Et_3N (18 ml, 131,19 mmoles, 3,0 equiv.) y DMAP (10 mg, catalítico) en THF (110 ml) y se agitan a temperatura ambiente. Se añade cloruro de mesilo (4,0 ml, 52,48 mmoles, 1,2 equiv.) gota a gota y la reacción se agita durante 6 h a temperatura ambiente. El THF se evapora, y el residuo sin procesar se disuelve en EtOAc (100 ml), se lava con agua (100 ml), HCl 1N (2 x100 ml) y salmuera (100 ml), y se seca (MgSO_4). El solvente se elimina al vacío y el material sin procesar se purifica por cromatografía ultrarrápida (hexanos:EtOAc) para obtener el compuesto 9-B como un aceite amarillo.

9-C: Se añade diclorometano anhidro (10 ml, 0,1 M) mediante una jeringa a 9-B (2,15 g, 10,37 mmoles, 1,0 equiv.) y catalizador de metatesis Hoveyda-Grubbs de 2ª generación [dicloruro de (1,3-Bis-(2,4,6-trimetilfenil)-2-imidazohidnilideno)dicloro(*o*-isopropoxifenilmetileno)rutenio II) (510 mg, 0,815 mmoles, 8 moles %)] bajo una atmósfera de nitrógeno. Se añade *N*-Boc-4-metilenpiperidina (6 ml, 31,11 mmoles, 3,0 eq.) mediante una jeringa y la reacción se ajusta con un condensador de reflujo y se calienta a 40°C durante 12 horas. Después de que la reacción esté finalizada mediante EM/CL, la mezcla de reacción se purifica directamente mediante purificación automática en gel de sílice (acetato de etilo en hexanos de 0-100%) para obtener el compuesto 9-C como un aceite de color verde oscuro. EM *m/z* 277,2 (M-Boc + 1).

[0083] Compuesto de referencia 9: La saponificación de 9-C se consigue usando el procedimiento previamente descrito para la preparación del compuesto de referencia 4.

Compuesto de referencia 10

[0084]

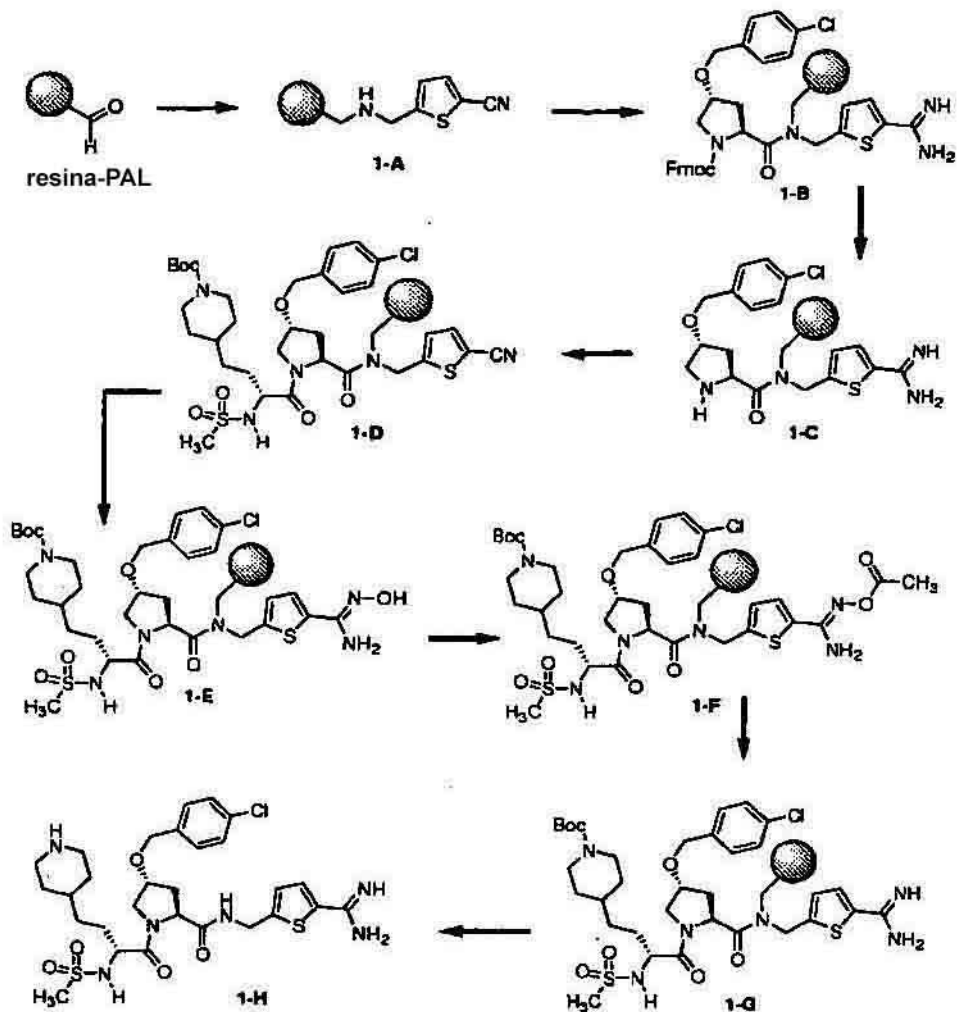


[0085] El compuesto de referencia 10 se prepara utilizando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del compuesto de referencia 8.

5

Ejemplo 1

[0086]



10 1-A: Carga de la resina PAL: se añade 5-ciano-2-metilaminotiofeno (3 equiv.) a una solución de la resina (1 meq/g)

en DMF en presencia de AcOH (8 equiv.). La mezcla se agita durante una hora antes añadiendo NaH(AcO)₃ (3 equiv.) y se deja que la mezcla reaccione durante toda la noche. A continuación, la resina se lava con DMF (x2), DCM (x2), MeOH (x2) y DCM (x2).

5 1-B: Se añade el aminoácido protegido Fmoc 8-D (3 equiv.) a 200 mg la resina 1-A en DMF en presencia de HOBt (3,5 equiv.) y DIC (3,5 equiv.). La mezcla se agita durante 3 horas. La resina se lava con DMF (x2), DCM (x2), MeOH (x2) y DCM (x2).

1-C: La resina se agita en una solución de piperidina en DMF al 20% en DMF durante 30 min. y se lava con DMF (x2) y DCM (x2).

1-D: El aminoácido se conjuga con la resina 1-C usando el mismo procedimiento de 1-B.

10 1-E: Se añade una solución de clorhidrato de hidroxilamina (40 equiv.) y DIEA (4 equiv.) en DMF a la resina 1-D y la mezcla se incuba durante toda la noche. La resina se lava con DMF (x2), DCM (x2), MeOH (x2) y DCM (x2).

1-F: Se añade anhídrido acético (10 equiv) a una solución de la resina 1-E en DCM. La mezcla se agita durante 2 horas y, a continuación se lava con DCM (X2), DMF (x2) y DCM (x2)

15 1-G: La resina 1-F se lava con THF anhidro (x2) antes de añadir una solución de Sml₂ (0,1M en THF) bajo atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agita durante 2 horas, y la resina se lava con DMF (x2), MeOH (x2), DMF (x2) y DCM (x2).

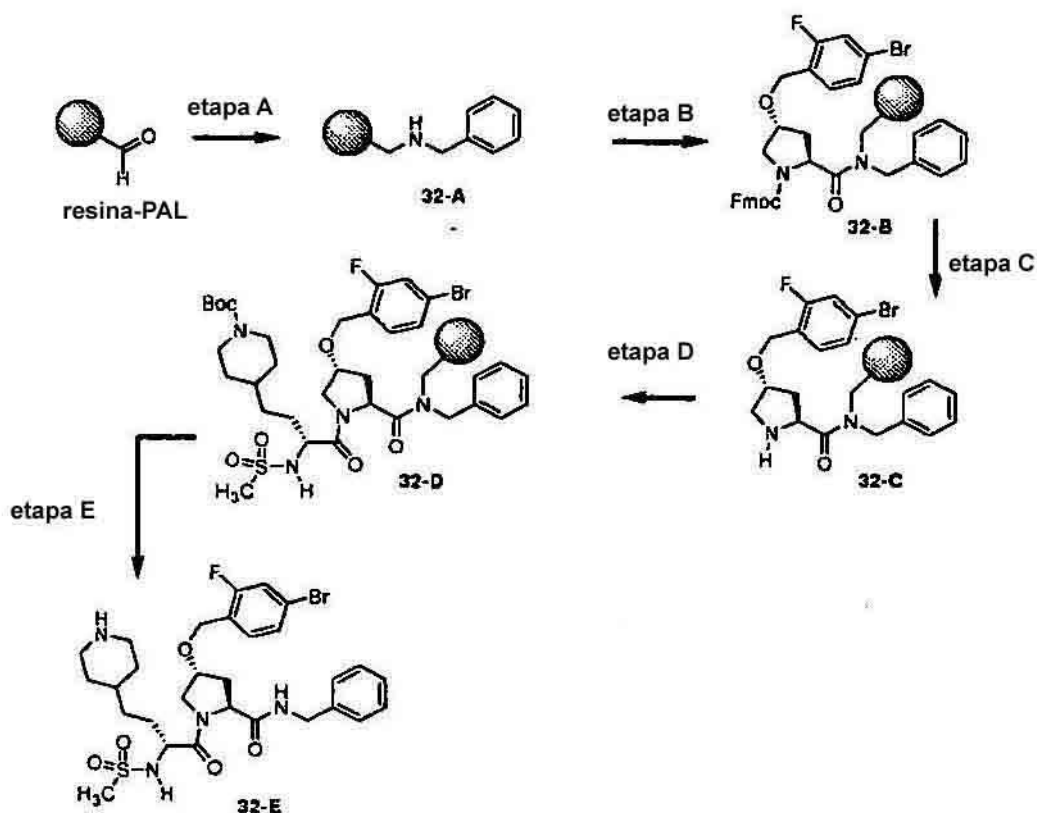
20 1-H: El compuesto final 1-H se obtiene tras la escisión de la resina en presencia de una solución de TFA/DCM/H₂O(45:45:10). El filtrado se concentra al vacío, se disuelve en acetonitrilo y se purifica mediante HPLC en fase inversa (gradiente de H₂O-ACN). Tras la liofilización, se obtiene la sal de TFA de 1-H como un polvo blanco. EM *m/z* 639,5 (M + 1); RMN ¹H (CD₃CN, 400 MHz) δ 9,30 (1H, s), 7,89 (1H, s), 7,72 (1H, d, *J*=4 Hz), 7,36-7,26 (4H, m), 7,09 (1H, d, *J*=4 Hz), 6,06 (1H, d, *J*=8Hz), 4,60-4,41 (5H, m), 4,33-4,21 (1H, m), 4,11-4,05 (1H, m), 3,82-3,65 (2H, m), 3,29-3,27 (2H, m), 2,86 (3H, s), 2,86-2,76 (2H, m), 2,46-2,36 (1H, m), 2,15-2,07 (1H, m), 1,75-1,68 (2H, m), 1,63-1,46 (2H, m), 1,46-1,31 (2H, m), 1,31-1,37 (3H, m).

25 Ejemplos 2-31

[0087] Los ejemplos 2-31 se sintetizan usando procedimientos análogos a los descritos en la síntesis del Ejemplo 1.

30 Ejemplo 32

[0088]



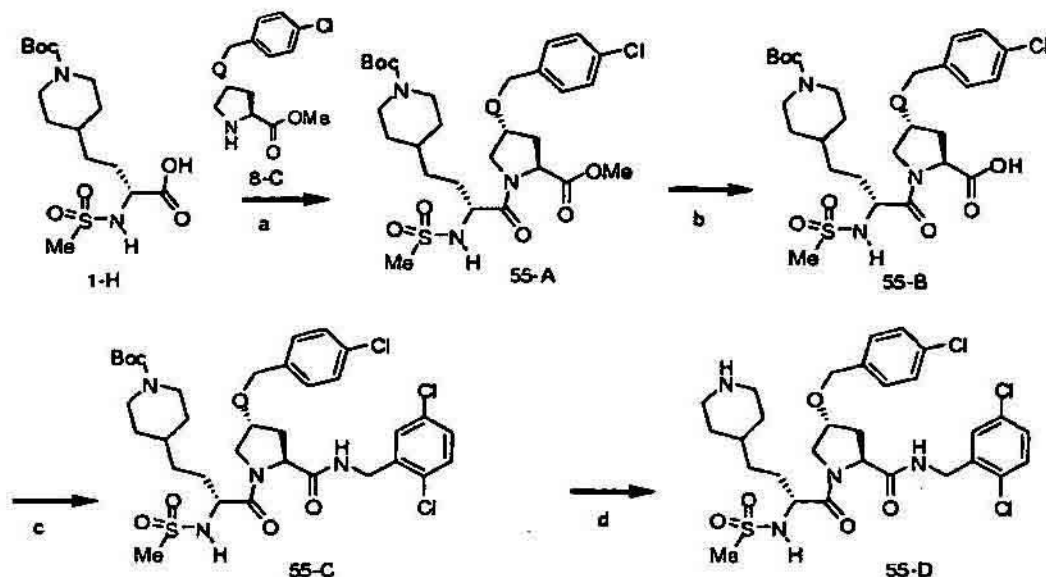
[0089] El reactivo 32-A se prepara a partir de bencilamina y Pal-resina usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 1-A. El producto intermedio 32-B se prepara a partir de 32-A inmovilizado
 5 usando procedimientos análogos a los descritos para la preparación del ejemplo 1-B. Los productos intermedios 32-C y 32-D se preparan a partir de 32-B y 32-C unidos a un soporte, respectivamente, siguiendo procedimientos análogos a los descritos para los ejemplos 1-C y 1-D, respectivamente. El compuesto final 32-E se prepara mediante la escisión de 32-D de la resina siguiendo procedimientos análogos a los usados para la preparación del ejemplo 1-H.

Ejemplos 33-54

[0090] Los ejemplos 33-54 se sintetizan usando procedimientos análogos a los descritos para la síntesis del
 15 Ejemplo 32.

Ejemplo 55

[0091]



55-A: Se añade el compuesto 1-H (1,9 g, 5,2 mmol) a una solución de la sal HCl de éster de metilo 8-C (1,6 g, 5,2 mmoles), PyBOP (3,79 g, 7,28 mmoles) y DIEA (2,7 ml, 15,6 moles) en DCM (50 ml). La mezcla se agita durante toda la noche, a continuación se lava con una solución de NaHSO₄ 1M (2x50 ml), NaHCO₃ saturado (2x50 ml) y salmuera (1x50 ml). La fase orgánica se seca en MgSO₄ y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante cromatografía ultrarrápida (Hexanos:EtOAc) y se obtiene el compuesto 55-A como un sólido blanco. EM *m/z* 616,2 (M+1).

55-B: Se disuelve el éster de metilo 55-A (2,2 g, 3,72 mmoles) en dioxanos (20 ml) y se agita a temperatura ambiente. Se añade LiOH·H₂O (467 mg, 11,12 mmoles) disuelto en agua (50 ml) y la reacción se agita hasta que haya desaparecido el éster de etilo (mediante TLC y EMCL). La solución se acidifica mediante la adición de NaHSO₄ 1M y se extrae con EtOAc (2x50 ml). Las fases orgánicas mezcladas se lavan con salmuera (50 ml) y se secan con MgSO₄. El solvente se evapora para obtener el compuesto 55-B como un polvo blanco. EM *m/z* 602,2 (M + 1); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 7,33 (2H, d, *J*=8,4 Hz), 7,22 (2H, d, *J*=8,4 Hz), 5,87 (1H, d, *J*=9,6 Hz), 4,43-4,57 (4H, m), 4,39-4,32 (1H, m), 3,95-4,17 (4H, m), 3,87-3,93 (1H, m), 3,60-3,64 (1H, m), 2,89 (3H, s), 2,58-2,64 (2H, m), 2,45-3,51 (1H, m), 2,15-2,51 (1H, m), 1,48-1,70 (3H, m), 1,44 (9H, s), 1,22-1,35 (2H, m), 0,95-1,10 (2H, m).

55-C: A una solución del compuesto 55-B (60 mg, 0,1 mmoles) en diclorometano (10 ml) se añade HATU (55 mg, 0,14 mmoles), DIEA (0,035 ml, 0,2 mmoles) y 2,4-diclorobencilamina (23 mg, 0,13 mmoles). La mezcla se agita durante toda la noche a temperatura ambiente, a continuación, se lava sucesivamente con NaHSO₄ 1M (10 ml), NaHCO₃ saturado (10 ml) y salmuera (10 ml). La solución se seca en MgSO₄, se filtra, evapora y se usa directamente en la siguiente etapa. ES *m/z* 659,2 (M + 1 -Boc).

55-D: A la solución de 55-C en DCM se añade lentamente una solución de TFA al 50% en DCM. La mezcla se agita durante 30 minutos, a continuación, los solventes se evaporan y el residuo se disuelve en acetonitrilo y se purifica mediante HPLC en fase inversa.

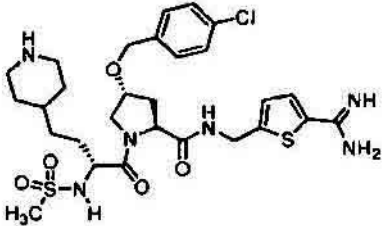
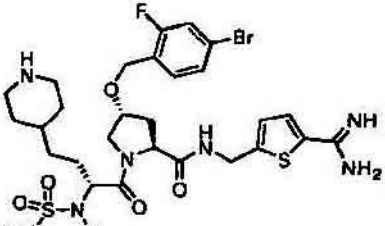
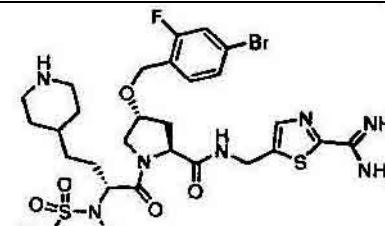
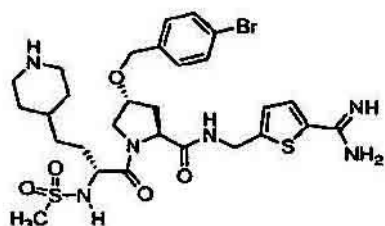
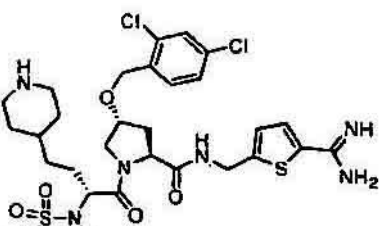
Tras la liofilización de los solventes, se obtiene la sal TFA del compuesto 55-D como un polvo blanco. EM *m/z* 659,2 (M + 1); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 9,30 (1H, sa), 8,56 (1H, sa), 7,31 (1H, d, *J*=2 Hz), 7,07-7,27 (6H, m), 5,88 (1H, d, *J*=8,4 Hz), 4,26-4,57 (6H, m), 3,93-4,02 (1H, m), 3,77-3,86 (1H, m), 3,47-3,86 (1H, m), 3,21-3,34 (5H, m), 2,74 (3H, s), 2,49-2,88 (4H, m), 2,17-2,36 (2H, m), 1,18-1,73 (9H, m).

Ejemplos 55-70

[0092] Los ejemplos 56-70 se sintetizan usando procedimientos análogos a los descritos para la síntesis del Ejemplo 55.

[0093] En la Tabla 1 se muestran los compuestos de Fórmula (1), como se describe en los Ejemplos 1-70.

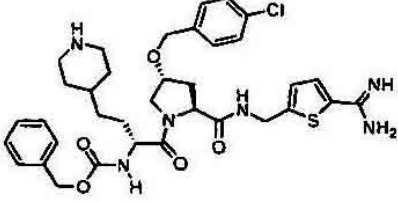
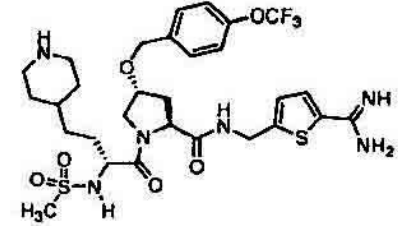
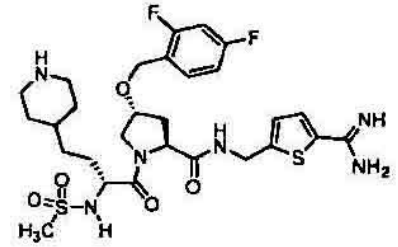
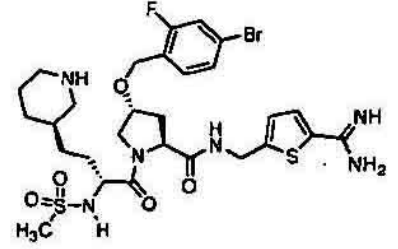
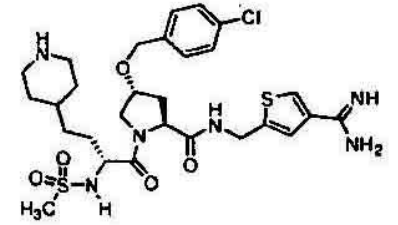
Tabla 1

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO- <i>d</i> ₆)
1		EM <i>m/z</i> 639,5 (M + 1); RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 9,30 (1H, s), 7,89 (1H, s), 7,72 (1H, d, <i>J</i> =4Hz), 7,36-7,26 (4H, m), 7,09 (1H, d, <i>J</i> =4 Hz), 6,06 (1H, d, <i>J</i> =8 Hz), 4,60-0,41 (5H, m), 4,33-4,21 (1H, m), 4,11-4,05 (1H, m), 3,82-3,65 (2H, m), 3,29-3,27 (2H, m), 2,86 (3H, s), 2,86-2,76 (2H, m), 2,46-2,36(1H, m), 2,15-2,07 (1H, m), 1,75-1,68 (2H, m), 1,63-1,46 (2H, m), 1,46-1,31 (2H, m), 1,31-1,27 (3H, m).
2		EM <i>m/z</i> 701,2 (M + 1); Calc. anal. para C ₃₄ H ₄₁ BrF ₁₀ N ₆ O ₁₁ S ₂ (3 TFA): C, 39,13; H, 3,96; N, 8,21; Encontrado: C, 39,24; H, 4,25; N, 8,21; RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 9,99 (1H, s), 7,95-7,74 (2H, m), 7,74 (1H, d, <i>J</i> =4 Hz), 7,42-7,32 (3H, m), 7,11 (1H, d, <i>J</i> =4Hz), 6,13 (1H, d, <i>J</i> =8,4 Hz), 4,59-4,35 (5H, m), 4,15-4,08 (1H, m), 4,15-4,02 (1H, m), 3,84-3,68 (2H, m), 3,31-3,28 (2H, m), 2,87-2,79 (5H, m), 2,45-2,38 (1H, m), 2,18-2,10 (1H, m), 1,76-1,69 (2H, m), 1,69-1,49 (2H, m), 1,49-1,39 (2H, m), 1,39-1,29 (3H, m).
3		EM <i>m/z</i> 352 [(M + 1)/2]
4		EM <i>m/z</i> 683,1 (M + 1); Calc. anal. para C ₃₄ H ₄₁ BrF ₉ N ₆ O ₁₁ S ₂ (3 TFA): C, 39,81; H, 4,13; N, 8,19; Encontrado: C, 40,48; H, 4,34; N, 8,46; RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 9,81 (1H, s), 7,92-7,77 (2H, m), 7,71 (1H, d, <i>J</i> =4Hz), 7,49 (2H, d, <i>J</i> =8,4 Hz), 7,23 (2H, d, <i>J</i> =8Hz), 7,08 (1H, d, <i>J</i> =4Hz), 6,16-6,02 (1H, m), 4,55-4,43 (5H, m), 4,28(1H, s), 4,12-4,05 (1H, m), 3,80-3,69 (2H, m), 3,27-3,24 (2H, m), 2,84-2,70 (5H, m), 2,42-2,33 (1H, m), 2,11-2,03 (1H, m), 1,76-1,62 (2H, m), 1,62-1,46 (2H, m), 1,46-1,39 (2H, m), 1,38-1,18 (3H, m).
5		EM <i>m/z</i> 673,2 (M + 1); RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 10,07 (1H, s), 7,72 (1H, d, <i>J</i> =4 Hz), 7,63-7,55 (2H, m), 7,52 (1H, d, <i>J</i> =2 Hz), 7,46 (2H, d, <i>J</i> =8 Hz), 7,37 (1H, dd, <i>J</i> =8 Hz, 2 Hz), 7,14 (1H, d, <i>J</i> =4Hz), 5,88(1 H, d, <i>J</i> =9,2 Hz), 4,68-4,50 (4H, m), 4,46 (1H, t, <i>J</i> =7,6 Hz), 4,38 (1H, s), 4,18-4,05 (1H, m), 3,86-3,73 (2H, m), 3,31-3,28 (2H, m), 2,85-2,76 (5H, m), 2,50-2,43 (1H, m), 2,22-2,12 (1H, m), 1,81-1,66 (2H, m), 1,65-1,48 (2H, m), 1,48-1,39 (2H, m), 1,39-1,23 (3H, m).

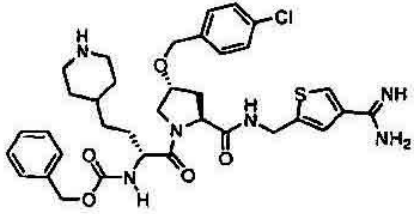
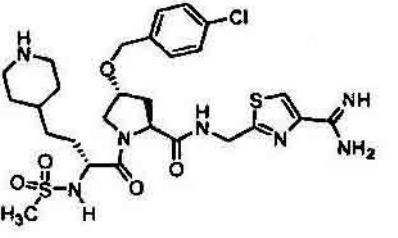
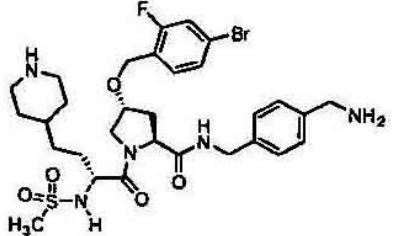
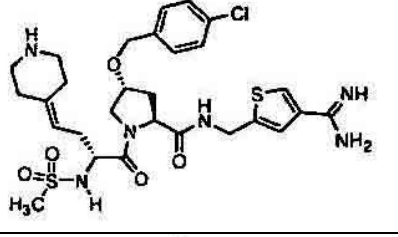
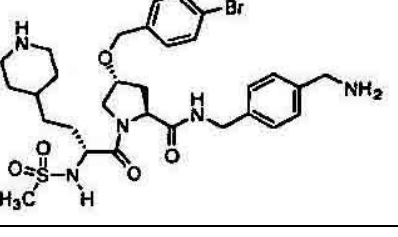
(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
6		EM <i>m/z</i> 657,2 (M + 1)
7		EM <i>m/z</i> 619,3 (M + 1); RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 10,01 (1H, s), 7,73 (1H, d, <i>J</i> =4 Hz), 7,69-7,55 (2H, m), 7,17-7,24 (4H, m), 7,12 (1H, d, <i>J</i> =4 Hz), 5,97 (1H, d, <i>J</i> =9,2 Hz), 4,56-4,40 (5H, m), 4,30 (1H, s), 4,14-4,09 (1H, m), 3,82-3,70 (2H, m), 3,30-3,24 (2H, m), 2,85-2,77 (5H, m), 2,43-2,34 (1H, m), 2,34 (3H, 2), 2,17-2,08 (1H, m), 1,79-1,71 (2H, m), 1,68-1,50 (2H, m), 1,50-1,39 (2H, m), 1,35-12,6 (3H, m).
8		EM <i>m/z</i> 672,7 (M + 1)
9		EM <i>m/z</i> 640,2 (M + 1)
10		EM <i>m/z</i> 673,1 (M + 1); Calc. anal. para C ₃₄ H ₄₃ Cl ₂ F ₉ N ₆ O ₁₂ S ₂ (3 TFA, 1 H ₂ O): C, 39,50; H, 4,19; N, 8,13; Encontrado: C, 39,54; H, 4,30; N, 7,89; RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 10,02 (1H, s), 7,70 (1H, d, <i>J</i> =4Hz), 7,51 (2H, d, <i>J</i> =8Hz), 7,23 (1H, dd, <i>J</i> =8 Hz, 2 Hz), 7,12 (1H, d, <i>J</i> =4Hz) 5,86-5,78 (1H, m), 4,59-4,39 (5H, m) 4,34-4,29 (1H, m), 4,13-4,02 (1H, m), 3,84-3,65 (2H, m), 3,34-3,23 (2H, m), 2,88-2,76 (5H, m), 2,45-2,36 (1H, m), 2,7-2,07 (1H, m), 1,81-1,67 (2H, m), 1,67-1,46 (2H, m), 1,46-1,36 (2H, m), 1,36-1,24 (3H, m).

(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
11		EM <i>m/z</i> 695,3 (M + 1); RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 9,82 (1H, s), 7,69 (1H, d, <i>J</i> =4 Hz), 7,53-7,45 (2H, m), 7,43-7,49 (9H, m), 7,10 (1H, d, <i>J</i> =4 Hz), 6,22-6,14 (1H, m); 5,06-4,87 (2H, m), 4,60-4,44 (5H, m), 4,32-4,18 (2H, m), 3,88-3,72 (2H, m), 3,35-3,24 (2H, m), 2,92-2,77 (2H, m), 2,45-2,34 (1H, m), 2,24-2,11 (1H, m), 1,86-1,51 (4H, m), 1,50-1,21 (5H, m).
12		EM <i>m/z</i> 689,2 (M + 1); RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 10,05 (1H, s), 7,86-7,81 (3H, m), 7,43 (1H, d, <i>J</i> = 4Hz), 7,43 (2H, d, <i>J</i> = 8Hz), 7,29 (2H, d, <i>J</i> = 8Hz), 7,11 (1H, d, <i>J</i> = 4 Hz), 6,13 (1H, d, <i>J</i> = 9,2 Hz), 4,61-4,43 (5H, m), 4,33(1H, s), 4,19-4,1 (1H, m), 3,86-3,70 (2H, m), 3,29-3,27(2H, m), 2,85 (3H, s), 2,89-2,80 (2H, m), 2,45-2,36 (1H, m), 2,19-2,09(1H, m), 1,81-1,64 (2H, m), 1,64-1,50 (2H, m), 1,50-1,43(2H, m), 1,43-1,30 (3H).
13		EM <i>m/z</i> 641,2 (M + 1); RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 9,79 (1H, s), 7,80 (1H, s), 7,73 (1H, d, <i>J</i> =4 Hz), 7,67-7,52 (2H, m), 7,51-7,38 (1H, m), 7,12 (1H, d, <i>J</i> =4Hz), 7,02-6,93 (2H, m), 6,03 (1H, d, <i>J</i> =9,2 Hz), 4,62-4,48 (4H, m), 4,43 (1H, t, <i>J</i> = 7,6 Hz), 4,34 (1H, s), 4,15-4,09 (1H, m), 3,86-3,82 (2H, m), 3,32-3,29 (2H, m), 2,86-2,80 (5H, m), 2,44-2,34 (1H, m), 2,19-2,10 (1H, m), 1,83-1,70 (2H, m), 1,70-1,50 (2H, m), 1,50-1,34 (2H, m), 1,34-1,25 (3H, m).
14		EM <i>m/z</i> 703,1 (M + 1)
15		EM <i>m/z</i> 639,2 (M + 1); RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 9,48 (1H, s), 8,15 (1H, s), 7,84 (1H, s), 7,62-7,59 (1H, m), 7,46-7,25 (6H, m), 6,05 (1H, d, <i>J</i> =8,8 Hz), 4,74-4,09 (5H, m), 4,32 (1H, m), 4,14-4,09 (1H, m), 3,87-3,70 (2H, m), 3,32-3,24 (2H, m), 2,91-2,78 (5H, m), 2,49-2,36 (1H, m), 2,16-2,08 (1H, m), 1,83-1,68 (2H, m), 1,67-1,51 (2H, m), 1,49-1,41 (2H, m), 1,38-1,29 (3H, m).

(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
16		EM <i>m/z</i> 695,3 (M + 1); RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 9,47 (1H, s), 8,12 (1H, s), 7,83 (1H, s), 7,70-7,67 (1H, m), 7,47 (1H, s), 7,40-7,25 (9H, m), 6,40 (1H, d, <i>J</i> =6,8 Hz), 5,03-4,76 (2H, m), 4,60-0,39 (5H, m), 4,32-4,18 (2H, m), 3,35-3,24 (2H, m), 2,91-2,75 (2H, m), 2,48-2,38 (1H, m), 2,17-2,05 (1H, m), 1,81-1,52 (4H, m), 1,52-1,97 (5H, m).
17		EM <i>m/z</i> 640,2 (M + 1); Calc. anal. para C ₃₄ H ₄₁ ClF ₉ N ₇ O ₁₁ S ₂ (3 TFA): C, 40,35; H, 4,21; N, 9,98; Encontrado: C, 40,39; H, 4,10; N, 10,00; RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 9,80 (1H, s), 8,43 (1H, s), 8,17-7,80 (2H, m), 7,72-7,61 (1H, m), 7,40-7,12 (4H, m), 5,87 (1H, d, <i>J</i> =9,2 Hz), 4,64-4,43 (5H, m), 4,34-4,25 (1H, m), 4,14-4,05 (1H, m), 3,86-3,70 (2H, m), 3,37-3,23 (2H, m), 2,90-2,77 (5H, m), 2,49-2,38 (1H, m), 2,18-2,05 (1H, m), 1,81-1,67 (2H, m), 1,66-1,49 (2H, m), 1,49-1,37 (2H, m), 1,35-1,19 (3H, m).
18		EM <i>m/z</i> 682,4 (M + 1)
19		EM <i>m/z</i> 637,2 (M + 1)
20		EM <i>m/z</i> 664,2 (M + 1); RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 7,55-7,26 (8H, m), 6,03-5,91 (1H, m), 4,58-4,40 (3H, m), 4,39-4,23 (3H, m), 4,09-4,04 (3H, m), 3,84-3,70 (2H, m), 3,34-3,27 (2H, m), 2,86-2,79 (5H, m), 2,46-2,38 (1H, m), 2,14-2,06 (1H, m), 1,83-1,67 (2H, m), 1,67-1,48 (2H, m), 1,42-1,25 (3H, m).

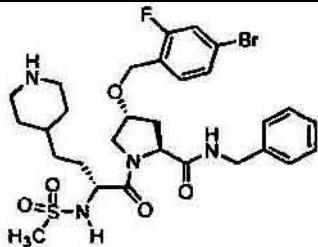
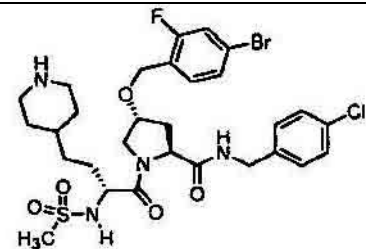
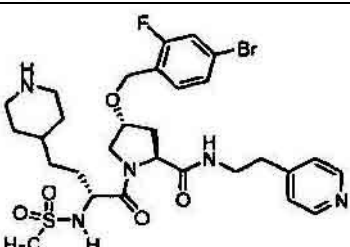
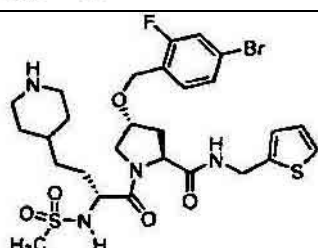
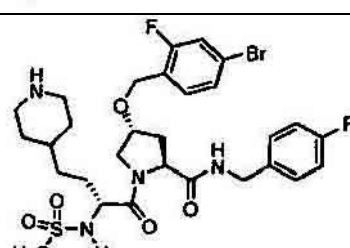
(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
21		EM <i>m/z</i> (M + 1)
22		EM <i>m/z</i> 611,3 (M + 1); Calc. anal. para C ₃₄ H ₅₂ F ₆ N ₆ O ₁₁ S ₂ (2 TFA, 2 H ₂ O): C, 43,93; H, 5,99; N, 9,61; Encontrado: C, 43,80; H, 5,60; N, 9,17; RMN ¹ H (CD ₃ CN, 400 MHz) δ 9,34 (1H, s), 7,87-7,81 (2H, m), 7,72 (1H, d, <i>J</i> =3,6 Hz), 7,60-7,34 (2H, m), 7,10 (1H, s, <i>J</i> =3,2 Hz), 6,07-5,98 (1H, m), 4,56-4,47 (2H, m), 4,37 (1H, t, <i>J</i> =7,6 Hz), 4,12-4,02 (2H, m), 3,79-3,61 (2H, m), 3,35-3,32 (2H, m), 3,27-3,18 (2H, m), 2,91-2,82 (5H, m), 2,36-2,26 (1H, m), 2,09-1,98 (1H, m), 1,84-1,81 (2H, m), 1,75-1,64 (6H, m), 1,58-1,10 (10H, m), 0,95-0,83 (2H, m).
23		EM <i>m/z</i> 661,3 (M + 1)
24		EM <i>m/z</i> (M+ 1)
25		EM <i>m/z</i> 683,2 (M + 1); RMN ¹ H (CD ₃ CN 400 MHz) δ 10,19 (1H, s), 7,93 (2H, d, <i>J</i> =8,4 Hz), 7,73 (1H, d, <i>J</i> =4Hz), 7,58 (2H, d, <i>J</i> =8,4 Hz), 7,52-7,40 (2H, m), 7,15 (1H, d, <i>J</i> =4Hz), 5,81-5,73 (1H, m), 4,74-4,61 (2H, m), 4,57 (2H, d, <i>J</i> =5,2 Hz), 4,46 (1H, t, <i>J</i> =7,6 Hz), 4,39-4,34 (1H, m), 4,15-4,06 (1H, m), 3,86-3,26 (2H, m), 3,35-3,26 (2H, m), 3,09 (3H, s), 2,89-2,77 (5H, m), 2,49-2,39 (1H, m), 2,22-2,11 (1 H, m), 1,82-1,70 (2H, m), 1,77-1,50 (2H, m), 1,50 (2H, m), 1,38-1,21 (3H, m).

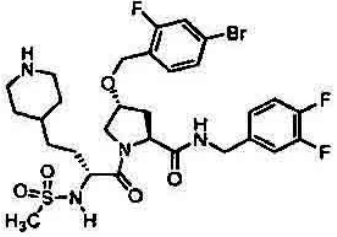
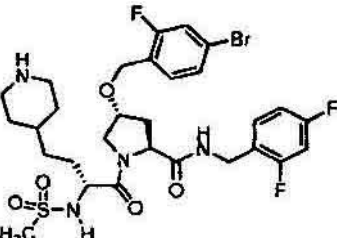
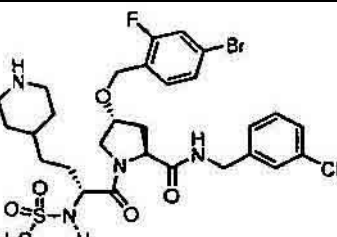
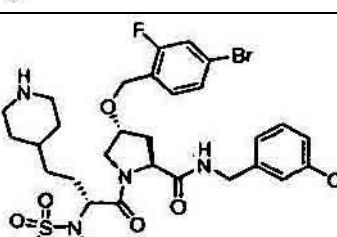
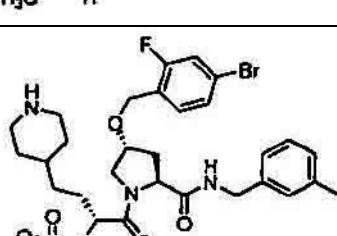
(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
26		EM <i>m/z</i> 638,2 (M + 1)
27		EM <i>m/z</i> (M + 1)
28		EM <i>m/z</i> (M + 1)
29		EM <i>m/z</i> (M + 1)
30		EM <i>m/z</i> 568,2 (M + 1)
31		EM <i>m/z</i> 688,5 (M + 1)

(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (m/z), análisis elemental y RMN ^1H 400 MHz (DMSO- d_6)
32		EM m/z 653,2 (M + 1)
33		EM m/z 687,3 (M + 1)
34		EM m/z 668,3 (M + 1)
35		EM m/z 659,3 (M + 1)
36		EM m/z 671,2 (M + 1)

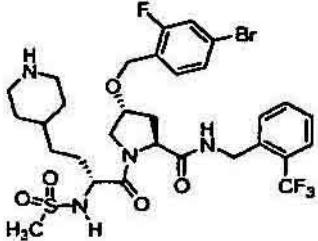
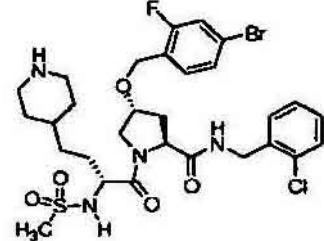
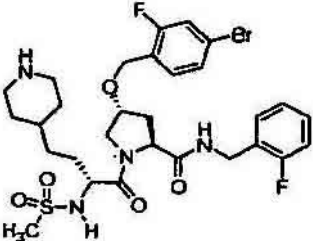
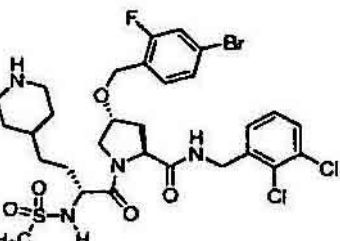
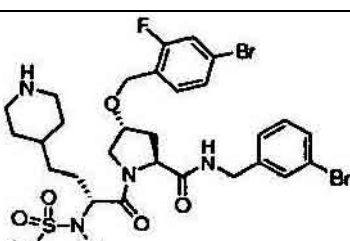
(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
37		EM <i>m/z</i> 689,2 (M + 1)
38		EM <i>m/z</i> 689,2 (M + 1)
39		EM <i>m/z</i> 687,2 (M + 1)
40		EM <i>m/z</i> 721,3 (M + 1)
41		EM <i>m/z</i> 667,3 (M + 1)

(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
42		EM <i>m/z</i> 683,3 (M + 1)
43		EM <i>m/z</i> 737,3 (M + 1)
44		EM <i>m/z</i> 731,2 (M + 1)
45		EM <i>m/z</i> 667,3 (M + 1)
46		EM <i>m/z</i> 737,3 (M + 1)

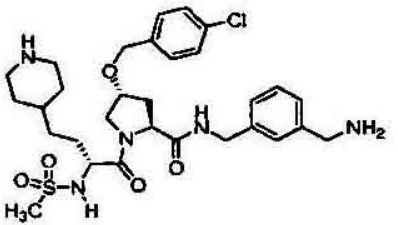
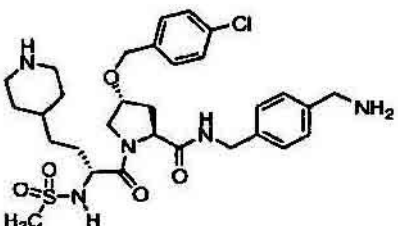
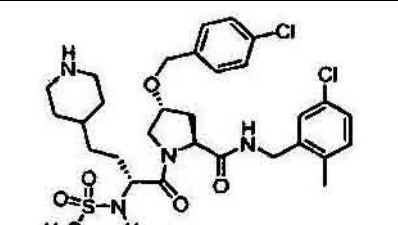
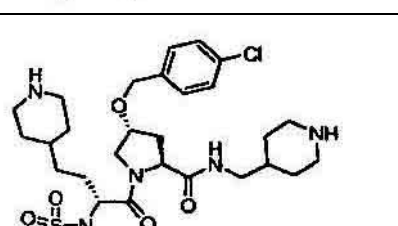
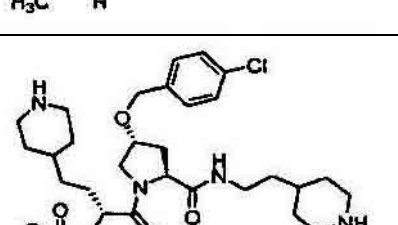
(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
47		EM <i>m/z</i> 721,3 (M + 1)
48		EM <i>m/z</i> 687,3 (M + 1)
49		EM <i>m/z</i> 671,3 (M + 1)
50		EM <i>m/z</i> 721,2 (M + 1)
51		EM <i>m/z</i> 731,2 (M + 1)

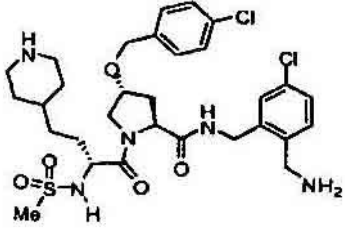
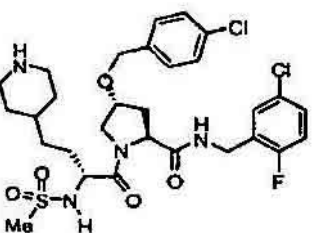
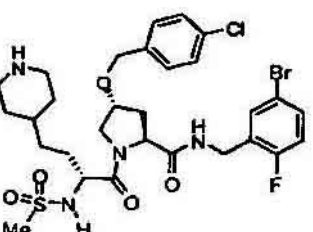
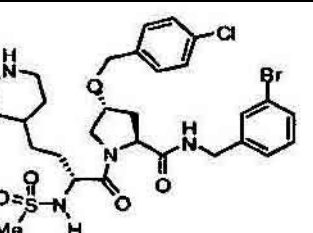
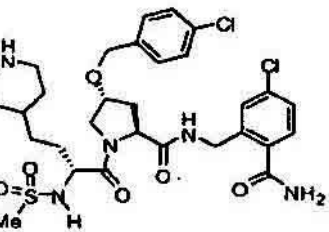
(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
52		EM <i>m/z</i> 705,3 (M + 1)
53		EM <i>m/z</i> 701,3 (M + 1)
54		EM <i>m/z</i> 701,3 (M + 1)
55		EM <i>m/z</i> 659,2 (M + 1) RMN ¹ H (CDCl ₃ , 400 MHz) δ 9,30 (1H, sa), 8,56 (1H, sa), 7,31 (1H, d, <i>J</i> =2Hz), 7,07-7,27 (6H, m), 5,88 (1H, d, <i>J</i> =8,4 Hz), 4,26-4,57 (6H, m), 3,93-4,02 (1H, m), 3,77-3,86 (1H, m), 3,47-3,86 (1H, m), 3,21-3,34 (5H, m) 2,74 (3H, s), 2,49-2,88 (4H, m), 2,17-2,36 (2H, m), 1,18-1,73 (9H, m).
56		EM <i>m/z</i> 625,2 (M + 1)

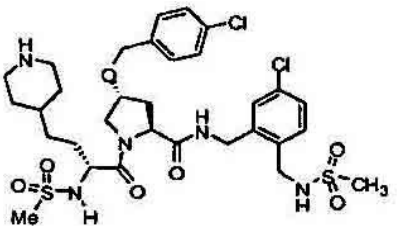
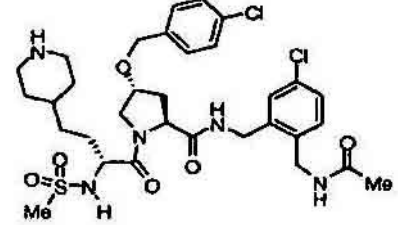
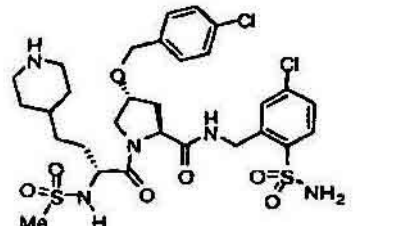
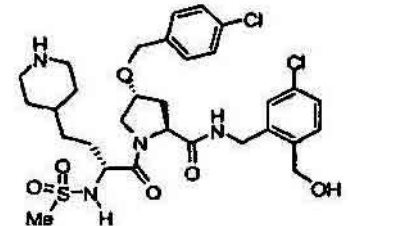
(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
57		EM <i>m/z</i> 620,2 (M + 1)
58		EM <i>m/z</i> 620,2 (M + 1)
59		EM <i>m/z</i> 639,2 (M + 1)
60		EM <i>m/z</i> 598,2 (M + 1)
61		EM <i>m/z</i> 612,2 (M + 1)

(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
62		EM <i>m/z</i> 654,3(M + 1)
63		EM <i>m/z</i> 643,2 (M + 1)
64		EM <i>m/z</i> 687,2 (M + 1)
65		EM <i>m/z</i> 669,2 (M + 1)
66		EM <i>m/z</i> 668,3 (M + 1)

(continúa)

	Estructura	Datos físicos EM (<i>m/z</i>), análisis elemental y RMN ¹ H 400 MHz (DMSO-d ₆)
67		EM <i>m/z</i> 732,3 (M + 1)
68		EM <i>m/z</i> 696,3 (M + 1)
69		EM <i>m/z</i> 704,2 (M + 1)
70		EM <i>m/z</i> 655,3 (M + 1)

Ensayos

- 5 **[0094]** La idoneidad de un inhibidor de proteasas activadoras de canales, como un inhibidor de prostasina, para el tratamiento de una enfermedad mediada por la inhibición de una proteasa activadora de canales puede comprobarse determinando el efecto inhibitorio del inhibidor de proteasas activadoras de canales sobre: (1) la proteasa activadora de canales nativa, aislada, purificada o recombinante, usando un formato de ensayo bioquímico adecuado, usando el procedimiento descrito en Shipway y col., *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2004; 324(2):953-63; y/o (2) la función de canal de iones/transporte de iones en células aisladas
- 10 adecuadas o epitelios confluentes, usando los procedimientos descritos en Bridges y col.; *American Journal of Physiology Lung Cell Molecular Physiology* 2001; 281(1):L16-23 y Donaldson y col.; *Journal of Biological Chemistry* 2002; 277(10):8338-45.

Ensayos bioquímicos

15

- [0095]** La prostasina humana recombinante, la matriptasa y la prostasina de cobaya se generaron según procedimientos descritos en Shipway y col., *Biochem. and Biophys. Res. Commun.* 2004; 324(2):953-63. Las

enzimas recombinantes se incuban en un tampón con electrolitos que contiene los compuestos del ensayo o el vehículo en una placa de ensayo de pocillos múltiples apropiada, como una placa de 96 o 384 pocillos. En un momento definido tras la mezcla de la enzima con el compuesto o vehículo, se añade un péptido fluorescente adecuado a la mezcla del ensayo. Cuando el sustrato es escindido por la enzima activa, aumenta la fluorescencia (determinada usando un lector de placas de fluorescencia adecuado) y puede cuantificarse la velocidad de recambio del sustrato (es decir, actividad enzimática) y, por tanto, el efecto inhibitor de cualquier compuesto del ensayo. La eficacia de los compuestos del ensayo se expresa como la concentración que induce una atenuación del 50% en la actividad enzimática (K_i).

10 **[0096]** En general, los compuestos de la invención pueden tener valores de K_i de 0,1 nM a 5 μ M. En algunos ejemplos, los compuestos de la invención pueden tener valores de K_i de 0,1 nM a 500 nM; de 0,1 nM a 50 nM; de 0,1 nM a 5 nM o de 0,1 nM a 0,5 nM. En ejemplos especiales, los compuestos de la invención pueden tener valores de K_i de 0,1 nM a 0,5 nM; de 0,5 nM a 5 nM; de 5 nM a 50 nM; de 50 nM a 500 nM o de 500 nM a 5 μ M. Aún en otros ejemplos, los compuestos pueden tener valores de K_i de menos de 0,1 mM y más de 5 μ M.

15

Transporte epitelial de iones

[0097] Las células del epitelio bronquial humano se cultivan según los procedimientos descritos en Danahay y col., Am. J. Physiol. Lung Cell Mol. Physiol. 2002; 282(2):L226-36. Cuando se diferencian de forma adecuada (días 14-21 tras establecer una interfaz apical-aire), las células epiteliales se tratan con el vehículo, aprotinina (200 μ g/ml) o el compuesto del ensayo durante 90 minutos. A continuación, los epitelios se colocan en cámaras como se describe en Danahay y col., *supra*, manteniendo la concentración de vehículo, aprotinina o compuesto del ensayo en el lado apical de los epitelios. A continuación, se mide la corriente de cortocircuito (ISC) mediante el pinzamiento del voltaje de los epitelios a cero milivoltios. La ISC sensible a amilorida se determina a continuación mediante la adición de amilorida (10 μ M) a la superficie apical de los epitelios. La potencia del compuesto del ensayo se expresa como la concentración que induce una inhibición del 50% del componente sensible a la aprotinina total de la ISC sensible a amilorida.

20 **[0098]** En general, los compuestos de la invención pueden tener valores de IC_{50} de 1 nM a 10 μ M. En algunos ejemplos, los compuestos de la invención pueden tener valores de IC_{50} de 1 nM a 1 μ M, o más particularmente, de 1 nM a 100 nM. Aún en otros ejemplos, los compuestos de la invención pueden tener valores de IC_{50} de 100 nM a 1 μ M o de 1 μ M a 10 μ M. Aún en otros ejemplos, los compuestos pueden tener valores de IC_{50} de menos de 1 mM o más de 10 μ M.

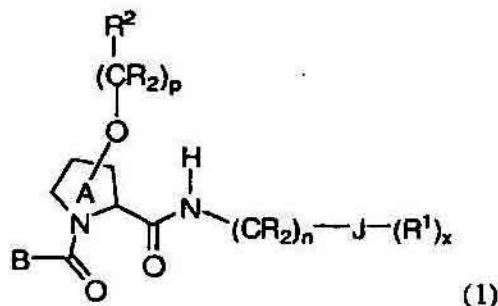
35 Diferencia de potencial traqueal (*in vivo*)

[0099] Se anestesia a cobayas, usando anestesia por inhalación a corto plazo, como halotano y N_2O . Mientras que están bajos los efectos de la anestesia a corto plazo, se inserta una aguja con sonda oral en la tráquea a través de la vía orofaríngea. Una vez dentro de la tráquea, se instila un pequeño volumen (50-200 μ l) de vehículo o compuesto de ensayo, en un diluyente acuoso adecuado, dentro de las vías respiratorias. A continuación, se deja que los animales se recuperen y puedan caminar por completo. Alternativamente, pueden administrarse a los animales compuestos del ensayo, usando un aerosol o una dosis de polvo seco. A un tiempo determinado tras la dosis, los animales se anestesian quirúrgicamente usando un anestésico adecuado, como quetamina y xilacina. Después se expone la tráquea y se inserta un electrodo de plástico y puente de agar en la luz de la tráquea. También se inserta un electrodo de referencia en las capas de músculo del cuello del animal. A continuación, se determina la diferencia de potencial de la tráquea, usando un voltímetro de alta impedancia adecuado como se describe en Takahashi y col., Toxicol Appl Pharmacol. 1995; 131(1):31-6. La potencia del compuesto del ensayo se expresa como la dosis que induce una reducción del 50% en el componente sensible de la diferencia de potencial de la tráquea.

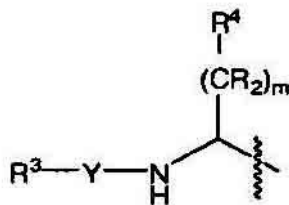
50

REIVINDICACIONES

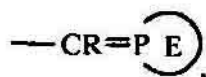
1. Un compuesto de Fórmula (1):



- 5 o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, donde
 O-(CR₂)_p-R² es un sustituyente en cualquier posición del anillo A;
 J es un anillo monocíclico o carbocíclico fusionado de 5-12 átomos, anillo heterocíclico que comprende N, O y/o S;
 anillo arilo o heteroarilo, siempre que J no sea triazolilo;
 B es



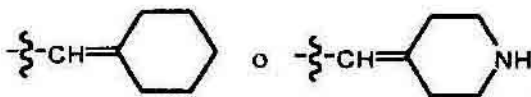
- 10 o (CR₂)_k-R⁵;
 Y es un enlace, -SO₂-, -NHCO- o -O-(CO)-;
 R¹ es halo, -(CR₂)_l-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-NRC(=NR)-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-C(=NR)-NR⁶R⁷, -C(O)-(CR₂)_l-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-NR-SO₂R⁶,
 15 -(CR₂)_l-NR-C(O)-R⁶, -(CR₂)_l-SO₂NR⁶R⁷ o -(CR₂)_l-OR⁶ o un alcoxi C₁₋₆, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆
 opcionalmente sustituido; o un anillo carbocíclico, anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido;
 R³ es alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o -(CR₂)_l-R⁵;
 alternatively, NH-Y-R³ juntos forman NH₂;
 R², R⁴ y R⁵ son independientemente un anillo, carbocíclico, anillo heterocíclico, arilo o heteroarilo de 5-12 átomos
 opcionalmente sustituidos; o R⁴ es H, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o



- 20 donde P es C o N y el anillo E junto con P forman un anillo monocíclico o fusionado de 5-12 átomos opcionalmente
 sustituido;
 R⁶ y R⁷ son independientemente H, alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o -(CR₂)_l-R⁵;
 cada R es H, o alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆;
 25 l es 0-6;
 k, m, n y p son independientemente 1-6;
 x es 0-4;
 siempre que R⁴ sea piperidinilo cuando NH-Y-R³ juntos forman NH₂; y
 además siempre que R⁵ sea piperidinilo cuando B es (CR₂)_k-R⁵.
 30
 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que J es tiofenilo, tiazolilo, fenilo, piridilo, indazolilo,
 piperidinilo y pirrolidinilo.
 3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹ es halo, alquilo C₁₋₆, CF₃, OCF₃, fenilo, -(CR₂)_l-
 35 NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-C(=NR)-NR⁶R⁷, -C(O)-(CR₂)_l-NR⁶R⁷, -(CR₂)_l-NR-SO₂R⁶, -(CR₂)_l-NR-C(O)-R⁶, -(CR₂)_l-SO₂NR⁶R⁷ o -
 (CR₂)_l-OR⁶; donde cada l es 0-1; y
 R, R⁶ y R⁷ son independientemente H o alquilo C₁₋₆.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R² es fenilo o ciclohexilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con halo, SO₂ (alquilo C₁₋₆) o un alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆ opcionalmente halogenado.

5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R⁴ es un piperidinilo, ciclohexilo, fenilo

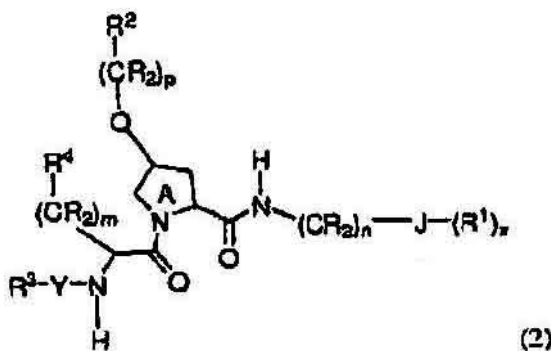


opcionalmente sustituido.

6. El compuesto de la reivindicación 1, en el que Y es un enlace, SO₂ u -O-(CO)-

10

7. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto tiene la Fórmula (2):



donde R² y J son independientemente un arilo de 6 átomos opcionalmente sustituido; R³ es alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o -(CR₂)-R⁵; o NH-Y-R³ juntos forman NH₂; cada R en (CR₂) es H o alquilo C₁₋₆, y m, n y p son independientemente 1-2, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

15

8. El compuesto de la reivindicación 7, en el que R² y J son independientemente un fenilo opcionalmente sustituido.

20

9. El compuesto de la reivindicación 7, en el que x es 1-3.

10. El compuesto de la reivindicación 7, en el que Y es SO₂.

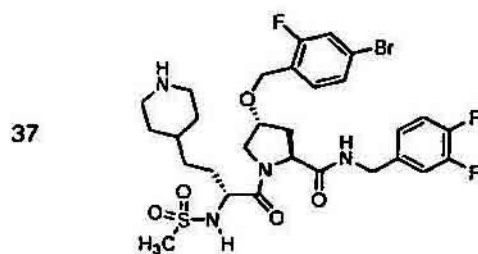
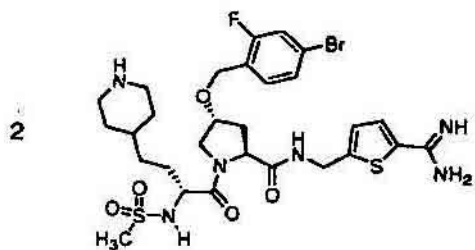
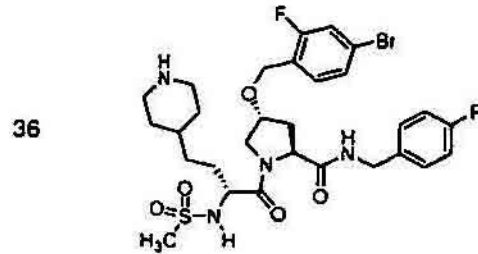
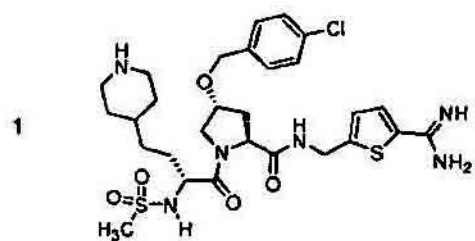
11. El compuesto de la reivindicación 7, en el que R³ es alquilo C₁₋₆ o un bencilo opcionalmente sustituido.

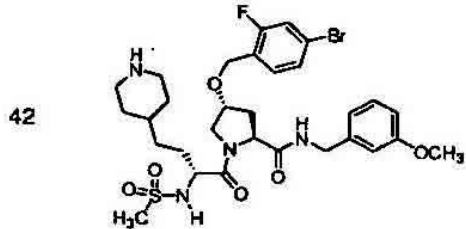
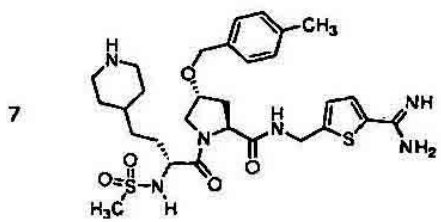
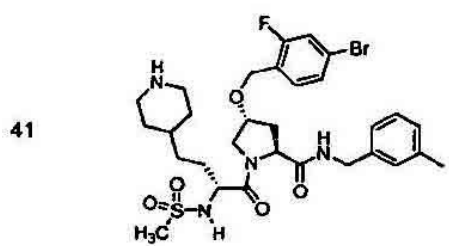
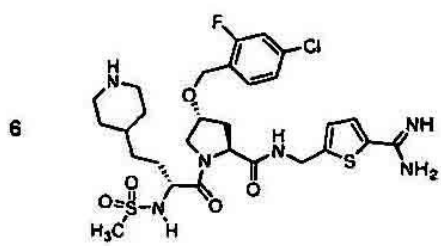
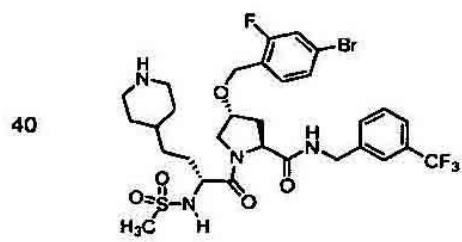
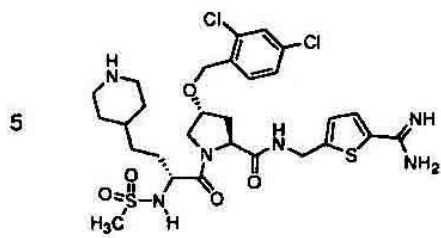
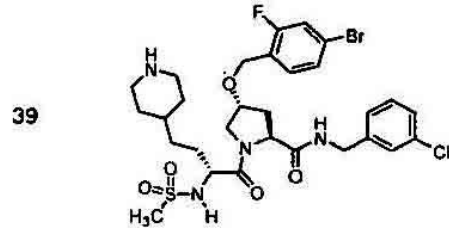
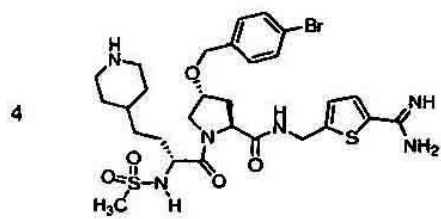
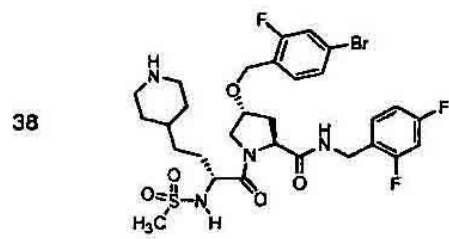
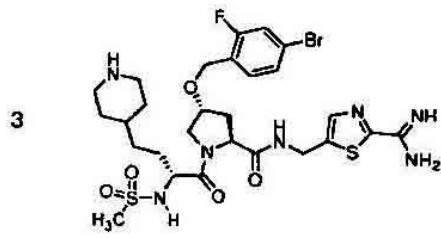
25

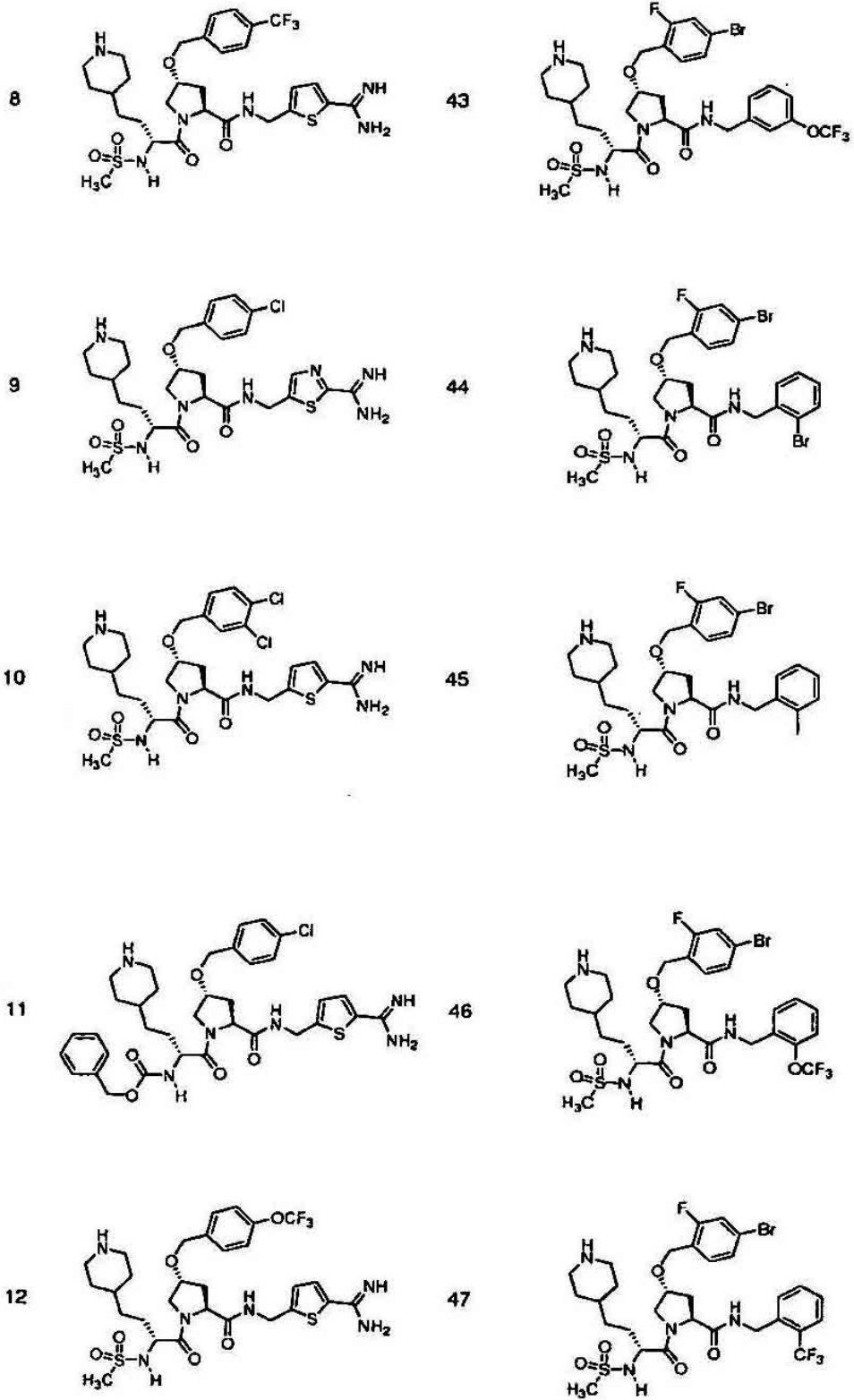
12. El compuesto de la reivindicación 7, en el que R⁴ es un piperidinilo opcionalmente sustituido.

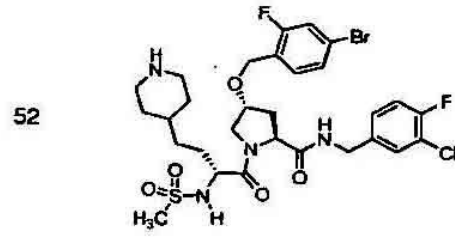
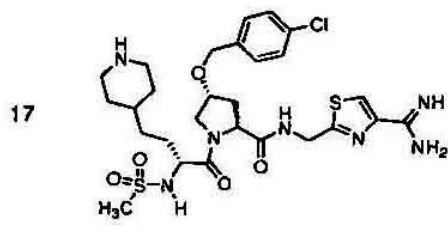
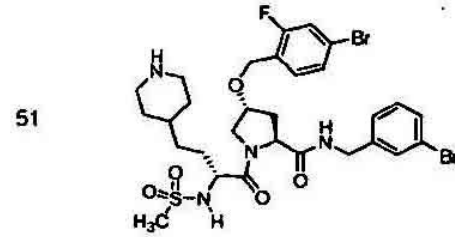
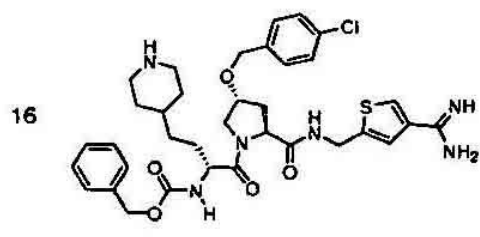
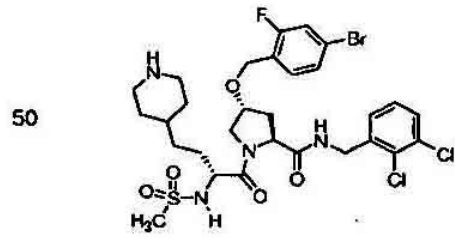
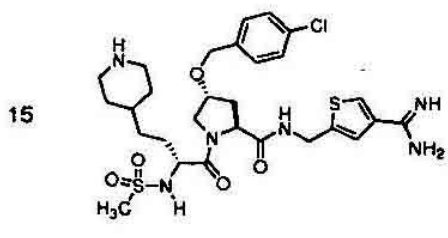
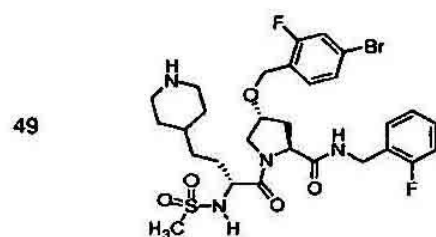
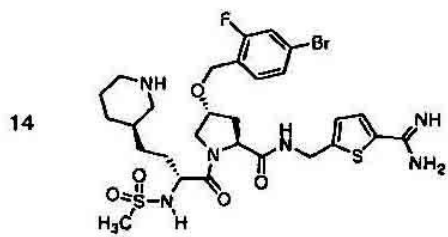
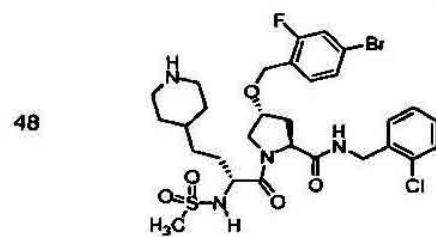
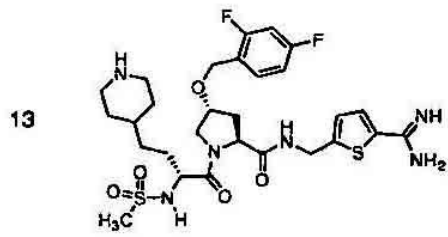
13. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se selecciona entre el grupo compuesto por:

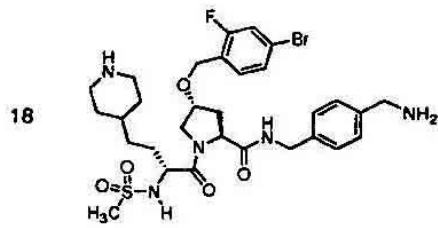
30



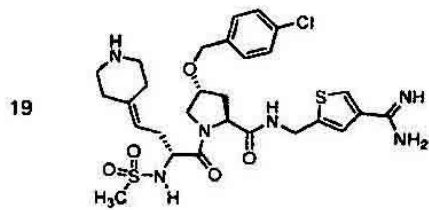
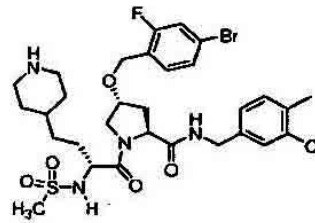




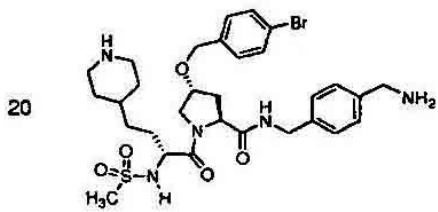
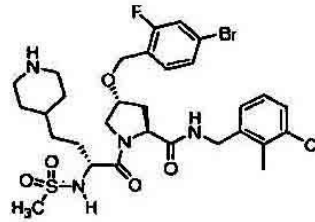




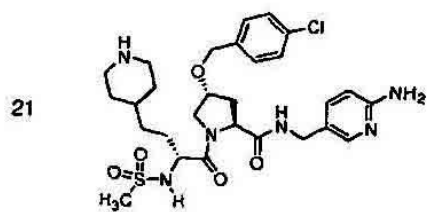
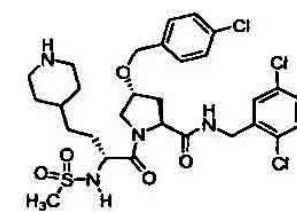
53



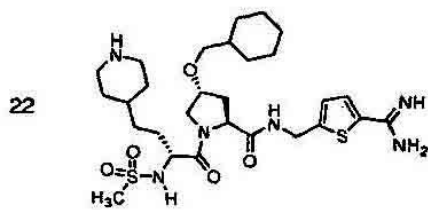
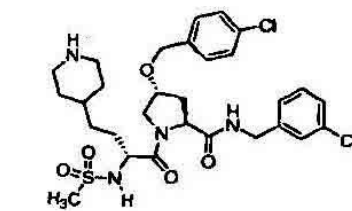
54



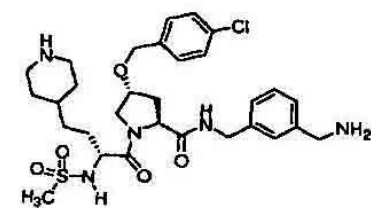
55

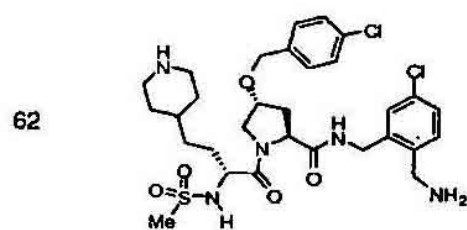
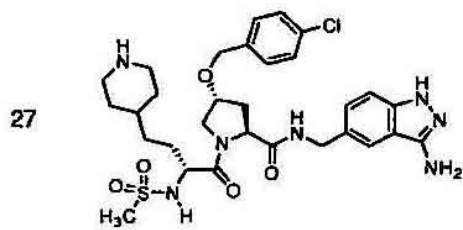
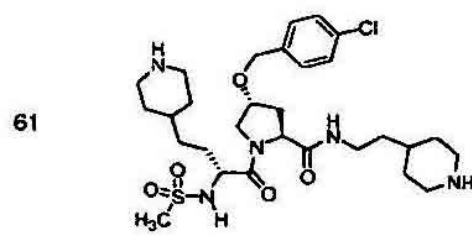
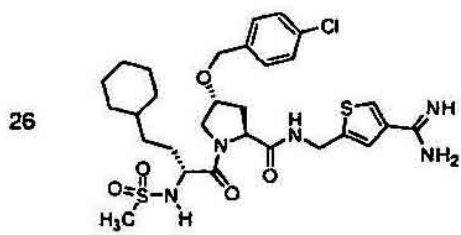
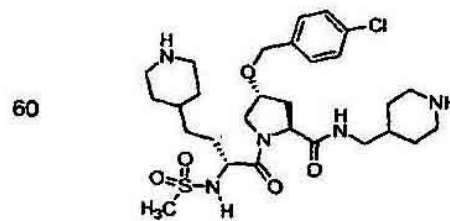
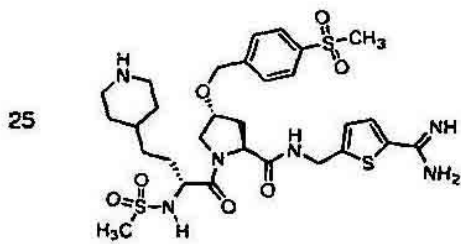
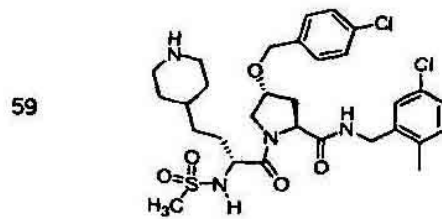
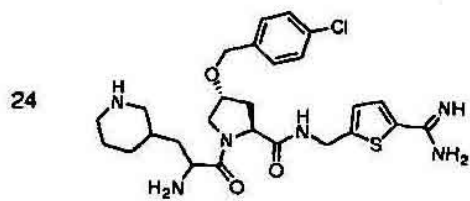
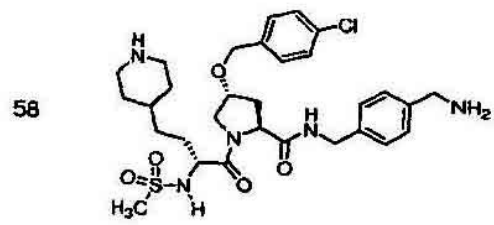
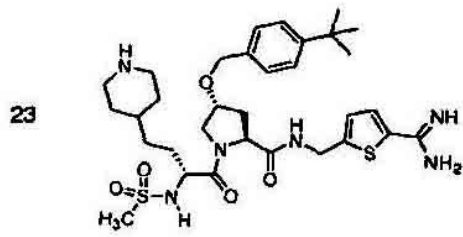


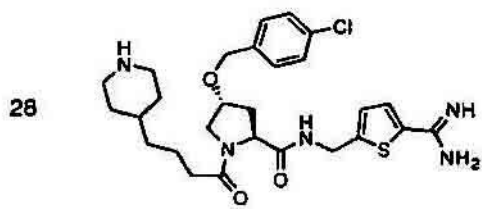
56



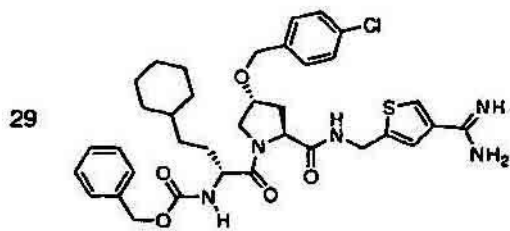
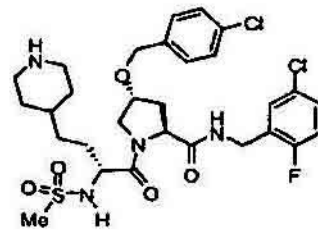
57



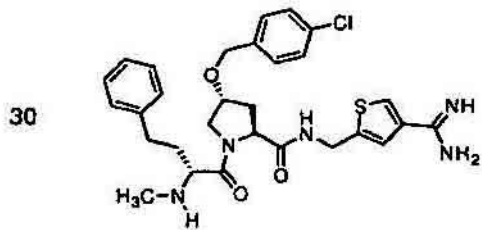
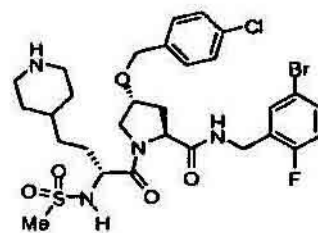




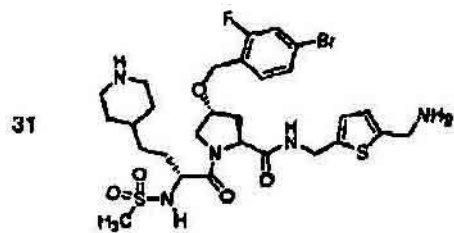
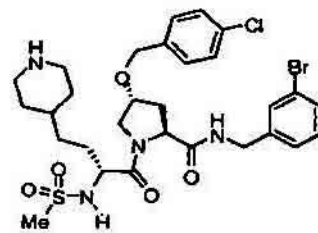
63



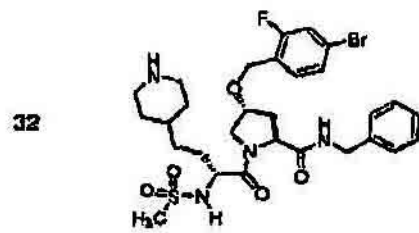
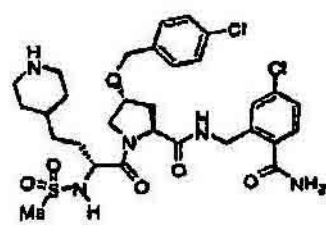
64



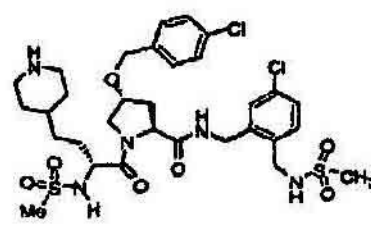
65

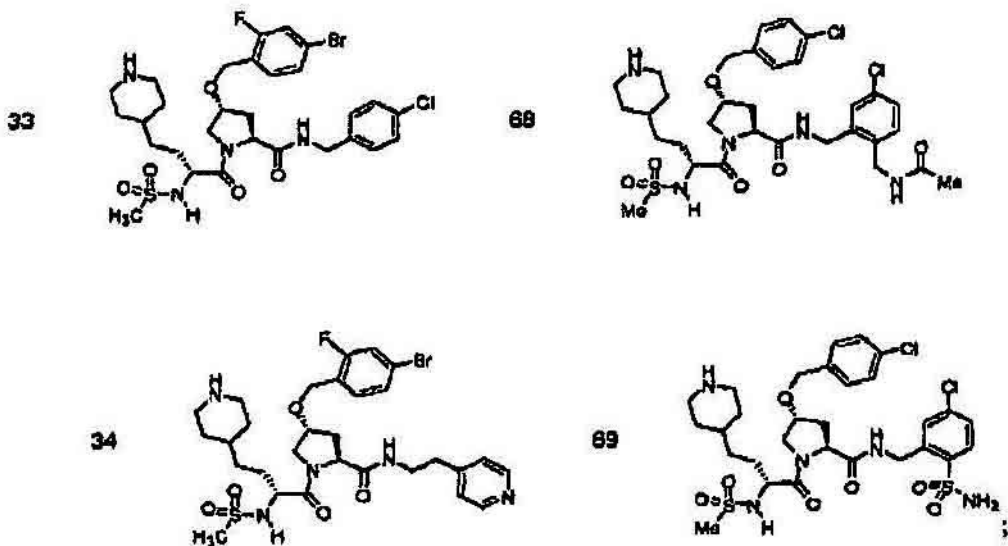


66

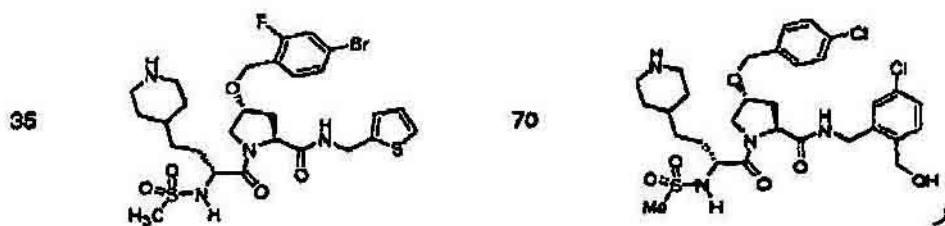


67



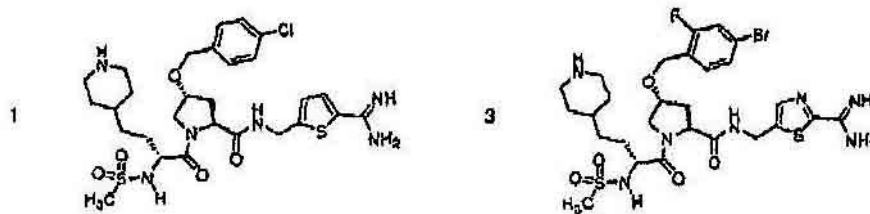


y



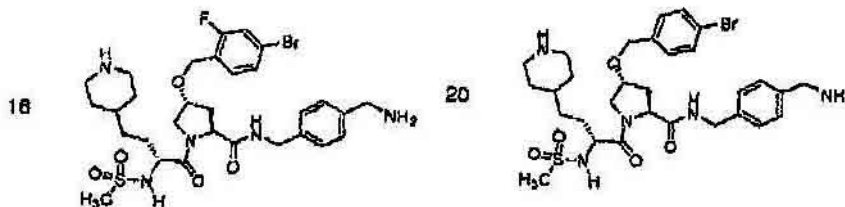
o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

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



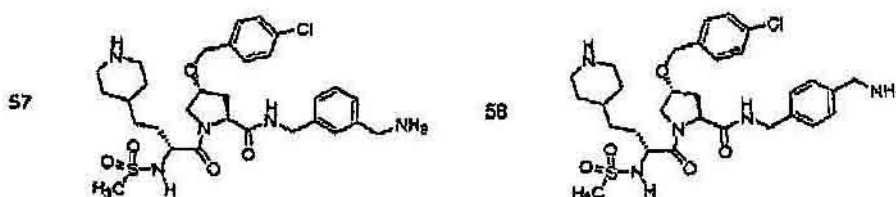
o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 15. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se selecciona entre el grupo compuesto por:



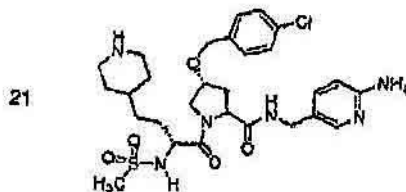
o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

16. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto se selecciona entre el grupo 5 compuesto por:



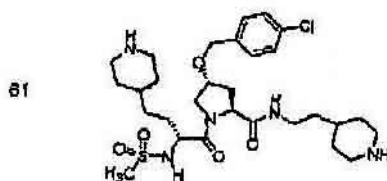
o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

17. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es



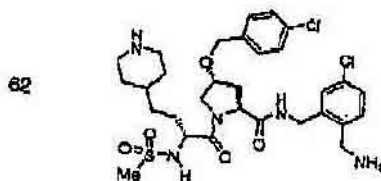
10 o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

18. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es



15 o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

19. El compuesto de la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es



o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

20. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-19.

21. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-19 para la inhibición de una proteasa activadora de canales en una célula o sistema tisular, o en un mamífero, en el que dicha proteasa activadora de canales es prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (p. ej., TMPRSS11B o TMPRSS11E), TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A y elastasa de neutrófilos.
- 5 22. Uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-19 en la fabricación de un medicamento para tratar una afección mediada por una proteasa activadora de canales en una célula o sistema tisular, o en un mamífero, y opcionalmente, en combinación con un segundo agente terapéutico, en el que dicha proteasa activadora de canales es prostasina, PRSS22, TMPRSS11 (p. ej., TMPRSS11B o TMPRSS11E),
- 10 TMPRSS2, TMPRSS3, TMPRSS4 (MTSP-2), matriptasa (MTSP-1), CAP2, CAP3, tripsina, catepsina A y elastasa de neutrófilos
23. El uso de la reivindicación 22 en el que dicha afección está asociada con el movimiento de líquidos a través de los epitelios transportadores de iones o la acumulación de moco y esputo en tejidos respiratorios, o una
- 15 combinación de ambos.
24. El uso de la reivindicación 22, en el que dicha afección es fibrosis quística, disquinesia ciliar primaria, carcinoma pulmonar, bronquitis crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma o una infección de las vías respiratorias.
- 20 25. El uso de la reivindicación 22, en el que dicho segundo agente terapéutico es un antiinflamatorio, broncodilatador, antihistamínico, antitusivo, antibiótico o ADNasa y se administra antes, simultáneamente o después del compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-19.
- 25 26. El compuesto de la reivindicación 21 o el uso de la 22, en el que dicha proteasa activadora de canales es prostasina.
27. El compuesto de la reivindicación 21 o el uso de la 22, en el que dicha célula o sistema tisular comprende células epiteliales bronquiales.