

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 373 557**

51 Int. Cl.:

<b>C07C 237/20</b>	(2006.01)	<b>A61K 31/34</b>	(2006.01)
<b>C07C 237/22</b>	(2006.01)	<b>A61P 15/10</b>	(2006.01)
<b>C07C 275/24</b>	(2006.01)	<b>A61P 29/00</b>	(2006.01)
<b>C07C 271/18</b>	(2006.01)	<b>A61P 3/10</b>	(2006.01)
<b>C07C 311/04</b>	(2006.01)		
<b>C07C 311/17</b>	(2006.01)		
<b>C07D 307/42</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/18</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/17</b>	(2006.01)		
<b>A61K 31/325</b>	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05076535 .3**

96 Fecha de presentación: **25.05.2001**

97 Número de publicación de la solicitud: **1642888**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **05.04.2006**

54 Título: **COMPUESTOS PARA MODULAR EL RECEPTOR RAGE.**

30 Prioridad:  
**30.05.2000 US 207343 P**  
**05.03.2001 US 799317**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**06.02.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**06.02.2012**

73 Titular/es:  
**TRANSTECH PHARMA INC.**  
**SUITE 110, 4170 MENDENHALL OAKS PARKWAY**  
**HIGH POINT, NC 27265, US**

72 Inventor/es:  
**Mjalli, Adnan;**  
**Gopaldaswamy, Ramesh;**  
**Avor, Kwasi;**  
**Wysong, Christopher y**  
**Patron, Andrew**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 373 557 T3

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 para modular el receptor RAGE

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a compuestos para su uso como medicamentos para inhibir la interacción de RAGE con sus ligandos fisiológicos, estos compuestos son moduladores del receptor para los productos finales avanzados de la glicación (RAGE) e inhiben la interacción de RAGE con sus ligandos tales como los productos finales avanzados de la glicación (AGEs), S100/calgranulin/EN-RAGE,  $\beta$ -amiloide y amphoterin. Estos compuestos se pueden usar para el manejo, tratamiento, control, o como un tratamiento complementario de las enfermedades originadas por RAGE.

**10 Antecedentes de la invención**

La incubación de proteínas o lípidos con azúcares aldosa da por resultado la glicación no enzimática y la oxidación de grupos amino sobre las proteínas para formar los aductos Amadori. En el tiempo, los aductos experimentan redistribuciones adicionales, deshidrataciones y entrecruzamientos con otras proteínas para formar los complejos conocidos como productos finales avanzados de la glicación (AGEs). Los factores que promueven la formación de AGEs incluían la rotación de la proteína retardada (por ej., como en las amiloidosis), la acumulación de macromoléculas que tienen alto contenido de lisina, y altos niveles de glucosa en sangre (por ej., como en la diabetes) (Hori et al., J. Biol. Chem. 270: 25752-761, (1995)). Los AGEs se han implicado en una variedad de trastornos que incluyen las complicaciones asociadas con la diabetes y el envejecimiento normal.

15 Los AGEs despliegan la unión específica y saturable a los receptores de la superficie celular sobre las células endoteliales de la microvasculatura, los monocitos y macrófagos, las células del músculo liso, las células mesangiales, y las neuronas. El receptor para los productos finales avanzados de la glicación (RAGE) es un miembro de la súper familia de las inmunoglobulinas de moléculas de superficie celular. El dominio extracelular (N-terminal) de RAGE incluye tres regiones del tipo inmunoglobulina, un dominio del tipo V (variable) seguido de dos dominios del tipo C (constante) (Neeper et al., J. Biol. Chem. 267:14998-15004 (1992)). Un único dominio de expansión de la transmembrana y una cola citosólica muy cargada, corta siguen el dominio extracelular. El dominio extracelular, N-terminal se puede aislar por proteólisis de RAGE para generar RAGE soluble (RAGEs) compuesto de los dominios V y C.

RAGE se expresa en la mayoría de los tejidos, y en particular, se encuentra en las neuronas corticales durante la embriogénesis (Hori et al., J. Biol. Chem. 270:25752-761 (1995)). Niveles aumentados de RAGE también se encuentran en los tejidos envejecidos (Schleicher et al., J. Clin. Invest. 99 (3): 457-468 (1997)), y la retina diabética, vasculatura y riñón (Schmidt et al., Nature Med. 1:1002-1004 (1995)). La activación de RAGE en diferentes tejidos y órganos conduce a un número de consecuencias patofisiológicas. RAGE ha estado implicado en una variedad de afecciones que incluyen: inflamación aguda y crónica (Hofmann et al., Cell 97:889-901 (1999)), el desarrollo de complicaciones diabéticas tardías tales como aumento de la permeabilidad vascular (Wautier et al., J. Clin. Invest. 97:238-243 (1995)), nefropatía (Teillet et al., J. Am. Soc. Nephrol. 11:1488-1497 (2000)), aterosclerosis (Vlassara et al., The Finnish Medical Society DUODECIM, Ann. Med. 28:419-426 (1996)), y retinopatía (Hammes et al., Diabetologia 42:603-607 (1999)). RAGE además ha estado implicado en la enfermedad de Alzheimer (Yan et al., Nature 382: 685-691, (1996)), disfunción eréctil, y en invasión tumoral y metástasis (Taguchi et al., Nature 405: 354-357, (2000)). Los documentos WO98/33492 y WO99/25690 desvelan el uso de varios compuestos en el tratamiento de las patologías relacionadas con AGE.

Además de los AGEs, otros compuestos pueden unirse a, y modular los RAGE. En desarrollo normal, RAGE interactúa con amphoterin, un polipéptido que media la excrescencia de neuritas en las neuronas embrionarias cultivadas (Hori et al., 1995). RAGE además ha demostrado interactuar con EN-RAGE, una proteína que tiene similitud sustancial con calgranulin (Hofmann et al., Cell 97:889-901 (1999)). RAGE además ha demostrado interactuar con  $\beta$ -amiloide (Yan et al., Nature 389:589-595, (1997); Yan et al., Nature 382:685-691 (1996); Yan et al., Proc. Natl.Acad. Sci., 94:5296-5301 (1997)).

La unión de ligandos tales como AGEs, S100/calgranulin/EN-RAGE,  $\beta$ -amiloide, CML ( $N^{\epsilon}$ -carboximetil lisina), y amphoterin al RAGE ha demostrado que modifica la expresión de una variedad de genes. Por ejemplo, en muchos tipos de células la interacción entre RAGE y sus ligandos genera tensión oxidativa, lo cual da por resultado la activación del factor de transcripción sensible radical libre NF- $\kappa$ B, y la activación de los genes regulados por NF- $\kappa$ B, tales como las citoquinas IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , y similares. Además, otras varias vías reguladoras, tales como las que involucran las p21ras, MAP quinasas, ERK1 y ERK2, han demostrado ser activadas por la unión de los AGEs y otros ligandos a RAGE. En realidad, la transcripción de RAGE en si misma está regulada al menos en parte por NF- $\kappa$ B. De este modo, un espiral ascendente, y a menudo perjudicial, es alimentado por un bucle de retroalimentación positiva iniciado por la unión del ligando. Por lo tanto, antagonizar la unión de los ligandos fisiológicos a RAGE, es nuestro objetivo para la regulación por disminución de los cambios patofisiológicos producidos por las concentraciones excesivas de AGEs y otros ligandos para RAGE.

Composiciones similares a las de la presente invención se han formulado en varios otros contextos tal como en el documento WO 95 35279 a Merrell Pharma Inc el cual desvela los derivados de alquildiamina sustituida que son útiles como antagonistas de taquiquinina, que se usan para el tratamiento de asma, tos y bronquitis. El documento WO 97 22618 a Vertex Pharma desvela la composiciones para composiciones similares para inhibir la actividad de ICE y las enfermedades mediadas por la interleuquina-1 El documento WO 96 32385 a Hoechst Marion Roussel desvela los derivados de piperazina y su uso como antagonistas del receptor de taquiquinina que son útiles en el tratamiento de asma, tos y bronquitis. El documento GB 2 005 674 a ERBA Carlo SPA desvela las composiciones de N-(β-alcoxi-etil)-N-(4-fenoxibencil)-dicloro-acetamida y los procedimientos para su preparación para uso farmacéutico y veterinario. El documento 95 09838 a Merrell Dow Pharma desvela las composiciones para inhibir o prevenir los depósitos de proteína amiloide en el cerebro, en particular en los pacientes con la enfermedad de Alzheimer y síndrome de Down de mediana edad. El documento WO 99 50230 a Vertex Pharma desvela los compuestos y las composiciones farmacéuticas para inhibir las proteasas, éstas se pueden usar para inhibir los virus en particular el virus de la hepatitis C.

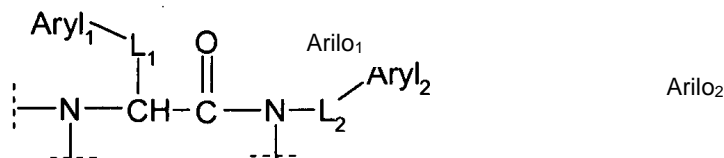
De este modo, existe la necesidad de desarrollar compuestos que antagonicen la unión de ligandos fisiológicos al receptor RAGE.

### Sumario de la invención

La presente invención proporciona compuestos para su uso como medicamentos según lo que se reivindica en las reivindicaciones 1 a 3, y el uso de los compuestos en la preparación de medicamentos según lo que se reivindica en las reivindicaciones 4 a 6. Los compuestos de la invención son útiles como moduladores de la interacción del receptor para los productos finales avanzados de la glicación (RAGE) con sus ligandos. Los medicamentos producidos a partir de estos compuestos inhiben la interacción de RAGE con sus ligandos fisiológicos tales como los productos finales avanzados de la glicación (AGEs), S100/calgranulin/EN-RAGE, β-amiloide, y amphoterin, y de este modo son útiles para el manejo, tratamiento, control, y/o como tratamiento complementario de las enfermedades en seres humanos originadas por RAGE. Estas enfermedades o estados de enfermedad incluyen inflamación aguda y crónica, el desarrollo de complicaciones diabéticas tardías tales como aumento de la permeabilidad vascular, neuropatía, aterosclerosis, y retinopatía, el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, la disfunción eréctil, y la invasión tumoral y metástasis.

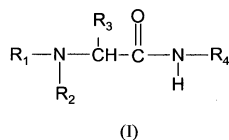
### Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona un compuesto para su uso como medicamento para inhibir la interacción de RAGE con sus ligandos fisiológicos que comprenden al menos un resto de la fórmula



en la que L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub> son cada uno de ellos un grupo hidrocarburo de 1 a 6 carbonos o un enlace directo, y arilo<sub>1</sub> y arilo<sub>2</sub> son arilo, en los que cada uno de arilo<sub>1</sub> y arilo<sub>2</sub> están sustituidos por al menos un grupo lipófilo. En una realización preferida, el grupo lipófilo se selecciona de alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alquilarilo C<sub>1-6</sub>, o alcoxiarilo C<sub>1-6</sub>. Hemos hallado que estos compuestos son útiles en la inhibición de la interacción de RAGE con sus ligandos fisiológicos, como se discutirá en detalle a continuación. Otras características de la invención son las que se establecen en las reivindicaciones.

La discusión detallada dada a continuación se refiere a los compuestos de fórmula (I) los cuales son el objeto de la patente europea EP 1284959.

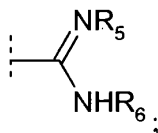


en la que

R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> se seleccionan independientemente de

- a) -H;
- b) -alquilo C<sub>1-6</sub>;

- c) -arilo;  
 d) -alquilarilo C<sub>1-6</sub>;  
 e) -C(O)-O-alquilo C<sub>1-6</sub>;  
 f) -C(O)-O-alquilo C<sub>1-6</sub>;  
 5 g) -C(O)-NH-alquilo C<sub>1-6</sub>;  
 h) -C(O)-NH-alquilarilo C<sub>1-6</sub>;  
 i) SO<sub>2</sub>-alquilo C<sub>1-6</sub>;  
 j) SO<sub>2</sub>-alquilarilo C<sub>1-6</sub>;  
 k) -SO<sub>2</sub>-arilo;  
 10 l) SO<sub>2</sub>-NH-alquilo C<sub>1-6</sub>;  
 m) SO<sub>2</sub>-NH-alquilarilo C<sub>1-6</sub>;  
 n)



- o) -C(O)-alquilo C<sub>1-6</sub>; y  
 15 p) -C(O)-alquilarilo C<sub>1-6</sub>;

R<sub>3</sub> se selecciona de

- a) -alquilo C<sub>1-6</sub>;  
 b) -arilo; y  
 c) -alquilarilo C<sub>1-6</sub>;

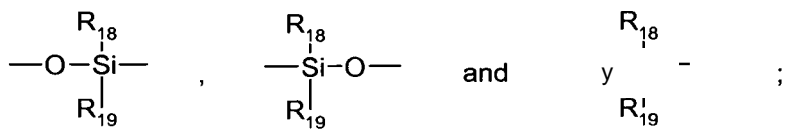
20 R<sub>4</sub> se selecciona de

- a) -alquilarilo C<sub>1-6</sub>;  
 b) -alcoxiarilo C<sub>1-6</sub>; y  
 c) -arilo;

25 R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquilarilo C<sub>1-6</sub>, y arilo; y en el que

el o los grupos arilo y/o alquilo en R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, R<sub>5</sub>, R<sub>6</sub>, R<sub>7</sub>, R<sub>8</sub>, R<sub>9</sub>, R<sub>10</sub>, R<sub>18</sub>, R<sub>19</sub>, y R<sub>20</sub> pueden estar opcionalmente sustituidos 1 a 4 veces con un grupo sustituyente, en el que dicho grupos o grupos sustituyentes o el término sustituido se refiere a los grupos seleccionados del grupo que consiste en:

- a) -H;  
 30 b) -Y-alquilo C<sub>1-6</sub>;  
 -Y-arilo;  
 -Y-alquilarilo C<sub>1-6</sub>;  
 -Y-alquilo C<sub>1-6</sub>-NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>; y  
 -Y-alquilo C<sub>1-6</sub>-W-R<sub>20</sub>;  
 35 en los que Y y W se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -CH<sub>2</sub>-, -O-, -N(H), -S-, SO<sub>2</sub>-, -CON(H)-, -NHC(O)-, -NHCON(H)-, -NHSO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>N(H)-, -C(O)-O-, -NHCO<sub>2</sub>NH-, O-CO-



y

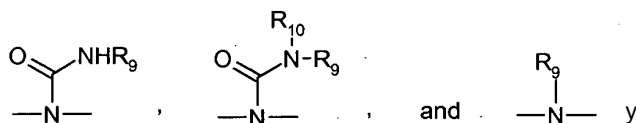
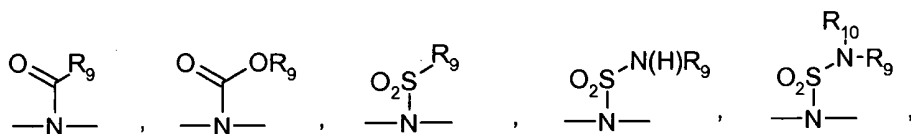
c) halógeno, hidroxilo, ciano, carbamoilo, o carboxilo; y

5  $R_{18}$  y  $R_{19}$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en arilo, alquilo  $C_{1-6}$ , alquilarilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$  y alcoxiarilo  $C_{1-6}$ ;

$R_{20}$  se selecciona del grupo que consiste en arilo, alquilo  $C_{1-6}$ , y alquilarilo  $C_{1-6}$ ;

$R_7$ ,  $R_8$ ,  $R_9$  y  $R_{10}$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, arilo, alquilo  $C_{1-6}$ , y alquilarilo  $C_{1-6}$ , y en el que

10  $R_7$  y  $R_8$  se pueden tomar juntos para formar un anillo que tiene la fórmula  $-(CH_2)_m-X-(CH_2)_n$  enlazado al átomo de nitrógeno al cual  $R_7$  y  $R_8$  están unidos, y/o  $R_5$  y  $R_6$  pueden, independientemente, tomarse juntos para formar un anillo que tiene la fórmula  $-(CH_2)_m-X-(CH_2)_n$  enlazado a los átomos de nitrógeno a los cuales  $R_5$  y  $R_6$  están unidos, en el que m y n son independientemente 1, 2, 3 o 4; X se selecciona del grupo que consiste en  $-CH_2-$ ,  $-O-$ ,  $-S-$ ,  $-S(O_2)-$ ,  $-C(O)-$ ,  $-CON(H)-$ ,  $-NHC(O)-$ ,  $-NHCON(H)-$ ,  $-NHSO_2-$ ,  $-SO_2N(H)-$ ,  $-C(O)-O-$ ,  $-O-C(O)-$ ,  $-NHSO_2NH$



15

o una sal, solvato o profármaco farmacéuticamente aceptable de los mismos.

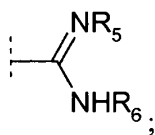
20 En los compuestos de fórmula (I), los diversos grupos funcionales representados deben entenderse que tienen un punto de unión en el grupo funcional que tiene el guión. En otras palabras, en el caso de alquilarilo  $C_{1-6}$ , debe entenderse que el punto de unión es el grupo alquilo; un ejemplo sería bencilo. En el caso de un grupo tal como  $-C(O)-NH$ -alquilarilo  $C_{1-6}$ , el punto de unión es el carbono carbonilo.

Los compuestos de fórmula (I) incluyen aquéllos en los que:

$R_1$  es hidrógeno;

$R_2$  se selecciona de

- 25 a)  $-H$ ;
- b)  $-alquilo C_{1-6}$ ;
- c)  $-alquilarilo C_{1-6}$ ;
- d)  $-C(O)-O$ -alquilo  $C_{1-6}$ ;
- e)  $-C(O)-NH$ -alquilo  $C_{1-6}$ ;
- f)  $-C(O)-NH$ -alquilarilo  $C_{1-6}$ ;
- 30 g)  $SO_2$ -alquilo  $C_{1-6}$ ;
- h)  $SO_2$ -alquilarilo  $C_{1-6}$ ;
- i)  $SO_2-NH$ -alquilo  $C_{1-6}$ ; y
- j)



k) -C(O)-alquilo C<sub>1-6</sub>;

l) -C(O)-alquilarilo C<sub>1-6</sub>;

R<sub>3</sub> se selecciona de

5 a) -alquilarilo C<sub>1-4</sub>; y

R<sub>4</sub> se selecciona de

a) -alquilarilo C<sub>1-6</sub>; y

b) -arilo;

10 y en los que el grupo arilo en R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> está opcionalmente sustituido 1 a 4 veces con un grupo sustituyente, en el que dicho grupo o grupos sustituyentes, o el término sustituido se refiere a los grupos seleccionados del grupo que consiste en:

a) -H;

b) -Y-alquilo C<sub>1-6</sub>;

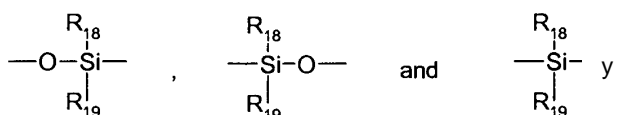
-Y-arilo;

15 -Y-alquilarilo C<sub>1-6</sub>;

-Y-alquilo C<sub>1-6</sub>-NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>; y

-Y-alquilo C<sub>1-6</sub>-W-R<sub>20</sub>;

en los que Y y W se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -CH<sub>2</sub>-, -O-, -N(H)-, -S-, SO<sub>2</sub>-, -CON(H)-, -NHC(O)-, -NHCON(H)-, -NHSO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>N(H)-, -C(O)-O-, -NHSO<sub>2</sub>NH-, O-CO-,



20

y

c) halógeno, hidroxilo, carbamoilo, y carboxilo;

R<sub>18</sub> y R<sub>19</sub> se seleccionan del grupo que consiste en arilo, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquilarilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub> y alcoxiarilo C<sub>1-6</sub>;

25 R<sub>20</sub> se selecciona del grupo que consiste en arilo, alquilo C<sub>1-6</sub>, o alquilarilo C<sub>1-6</sub>; y en el que

R<sub>7</sub> y R<sub>8</sub> se seleccionan del grupo que consiste en hidrógeno, arilo, alquilo C<sub>1-6</sub>, o alquilarilo C<sub>1-6</sub>; y en el que

30 R<sub>7</sub> y R<sub>8</sub> se pueden tomar juntos para formar un anillo que tiene la fórmula (CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-X-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> enlazado al átomo de nitrógeno al cual R<sub>7</sub> y R<sub>8</sub> están unidos, y/o R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> pueden, independientemente, tomarse juntos para formar un anillo que tiene la fórmula -(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-X-(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> enlazado a los átomos de nitrógeno a los cuales R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> están unidos, en el que m y n son como se definieron anteriormente.

Los grupos R<sub>3</sub> anteriores pueden incluir alquilarilo C<sub>1-3</sub>, dicho arilo opcionalmente sustituido con sustituido 1 a 4 veces con un grupo sustituyente, en el que dicho grupo o grupos sustituyentes o el término sustituido se refiere a los grupos seleccionados del grupo que consiste en:

35 -Y-alquilo C<sub>1-6</sub>;

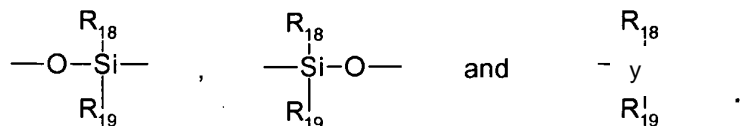
-Y-arilo;

-Y-alquilarilo C<sub>-1-6</sub>;

-Y-alquilo C<sub>-1-6</sub>-NR<sub>7</sub>R<sub>8</sub>; y

-Y-alquilo C<sub>-1-6</sub>-W-R<sub>20</sub>;

5 en el que Y y W se seleccionan independientemente del grupo que consiste en -CH<sub>2</sub>-, -O-, -N(H)-, -S-, SO<sub>2</sub>-, -CON(H)-, -NHC(O)-, -NHCON(H)-, -NHSO<sub>2</sub>-, -SO<sub>2</sub>N(H)- -C(O)-O-, -NHSO<sub>2</sub>NH-, -O-CO-



Arilo puede ser fenilo o naftilo, opcionalmente sustituido con alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, alquilarilo C<sub>1-6</sub>, o alcoxiarilo C<sub>1-6</sub>.

10 Se debe entender que la fórmula (1) incluye los enantiómeros individuales de los compuestos representados por la fórmula (I) anterior como también cualquier mezcla total o parcialmente racémica de los mismos y puede incluir los enantiómeros individuales de los compuestos representados por la fórmula anterior como mezclas con diastereoisómeros de los mismos en los cuales se invierten uno o más estereocentros.

Los compuestos de la presente invención los cuales son los preferidos por su actividad biológica alta se mencionan por nombre a continuación en la tabla 1.

**Tabla 1**

Ejemplo	Nombre químico
1	Diclorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-(2-naftilo)-2-aminopropiónico
2	Clorhidrato 4-metoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-(2-naftilo)-2-aminopropiónico
3	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-(4-benciloxifenil)-2-ter-butoxicarbonilaminopropiónico
4	Diclorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-(4-benciloxifenil)-2-aminopropiónico
5	Diclorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-(2-naftilo)-2-metilaminopropiónico
6	4-metoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-(4-benciloxifenil)-2-ter-butoxicarbonilaminopropiónico
7	4-ter-butoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-(4-benciloxifenil)-2-ter-butoxicarbonilaminopropiónico
8	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-isobutoxianilina amida del ácido (R)-3-(4-benciloxifenil)-2-ter-butoxicarbonilaminopropiónico
9	Diclorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-isobutoxianilina amida del ácido (R)-3-(4-benciloxifenil)-2-aminopropiónico
10	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-fenil-2-ter-butoxicarbonilaminopropiónico
11	Diclorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-2-fenilo-2-aminopropiónico
12	Diclorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-(2-naftilo)-2-guanidínilpropiónico
13	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-(4-benciloxifenil)-2-isopropilaminopropiónico

14	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-bencilaminopropiónico
15	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina metanosulfonilaminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-
16	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina fenilsulfonilaminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-
17	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina etilcarbamoilaminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-
18	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina butilcarbamoilaminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-ter-
19	4-dietilaminoetoxi-2-dietilaminoetoxianilina butoxicarbonilaminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-ter-
20	Triclorhidrato 4-dietilaminoetoxi-2-dietilaminoetoxianilina aminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-
21	4-(3-dietilamino-1-propoxi-2-(3-dietilamino-1-propoxi)anilina ter-butoxicarbonilaminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-
22	Triclorhidrato 4-(3-dietilamino-1-propoxi)-2-(3-dietilamino-1-propoxianilina aminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-
23	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-(2-furilmetoxi)anilina butoxicarbonilaminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-ter-
24	Diclorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-(2-furilmetoxi)anilina 2-aminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-
25	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina amida del ácido (R)-3-(2-naftilo)-2-acetilaminopropiónico				
26	4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina acetilaminopropiónico	amida	del	ácido	(R)-3-(4-benciloxifenil)-2-

Tal como se usa en la presente, el término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo de cadena recta o ramificada que tiene el número de átomos de carbono especificado. Los ejemplos de "alquilo" como se usa en la presente incluyen, aunque sin quedar limitados a, metilo, n-butilo, n-pentilo, isobutilo, e isopropilo, y similares.

- 5 Tal como se usa en la presente, el término "alquilenos" se refiere a un radical hidrocarburo divalente de cadena recta o ramificada que tiene desde uno a diez átomos de carbono, opcionalmente sustituidos con sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en alquilo inferior, alcoxi inferior, alquilsulfanilo inferior, alquilsulfenilo inferior, alquilsulfonilo inferior, oxo, hidroxilo, mercapto, amino opcionalmente sustituido con alquilo, carboxi, carbamoilo opcionalmente sustituido con alquilo, aminosulfonilo opcionalmente sustituido con alquilo, nitro, ciano, halógeno, o perfluoroalquilo inferior, múltiples grados de sustitución se permiten. Los ejemplos de "alquilenos" tal como se usa en la presente, incluyen, aunque sin quedar limitado a, metileno, etileno, y similares.

- 15 Tal como se usa en la presente, el término "arilo" se refiere a un anillo aromático de cinco a siete miembros, o a un sistema anular de benceno opcionalmente sustituido, que contiene opcionalmente uno o más heteroátomos de nitrógeno, oxígeno, o azufre, donde los N-óxidos o monóxidos de azufre y dióxidos de azufre son sustituciones permitidas. Este anillo puede estar fusionado a uno o más anillos aromáticos de cinco a siete miembros que contienen opcionalmente uno o más heteroátomos de nitrógeno, oxígeno o azufre. Los grupos arilo preferidos incluyen fenilo, bifenilo, 2-naftilo, 1-naftilo, fenantrilo, 1-antraceno, piridilo, furilo, furanilo, tiofenilo, indolilo, isotiazolilo, imidazolilo, bencimidazolilo, tetrazolilo, pirazinilo, pirimidilo, quinolilo, isoquinolilo, benfofurilo, isobenzofurilo, benzotienilo, bencindolilo, pirazolilo, isoindolilo, purinilo, carbazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, oxazolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, y similares. A este respecto, los grupos arilo especialmente preferidos incluyen fenilo, 2-naftilo, 1-naftilo, bifenilo, y sistemas anulares similares, opcionalmente sustituidos con ter-butoxi, benciloxi, n-butiloxi, isopropiloxi, y fenoxi.

Tal como se usa en la presente, el término "opcionalmente" significa que el o los eventos descritos a continuación pueden o no producirse, e incluye ambos eventos, los que se producen y los eventos que no se producen.

- 25 Tal como se usa en la presente, el término "sustituido" se refiere a la sustitución con el sustituyente o los



sustituyentes nombrados, múltiples grados de sustitución se permiten a menos que se especifique lo contrario.

Tal como se usa en la presente, los términos de la estructura química “contener” “que contiene” se refieren a sustituciones en línea en cualquier posición a lo largo del sustituyente definido anteriormente en uno o más de cualquiera de O, S, SO, SO<sub>2</sub>, N, o N-alquilo, incluyendo, por ejemplo, -CH<sub>2</sub>-OCH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-SO<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>3</sub>, etc.

5

Tal como se usa en la presente, el término “solvato” es un complejo de estequiometría variable que se forma mediante un soluto (por ej., un compuesto de fórmula (I) y un solvente. Estos solventes, a los fines de la invención, no pueden interferir con la actividad biológica del soluto. Los solventes pueden ser, a modo de ejemplo, agua, etano, o ácido acético.

10 Tal como se usa en la presente, el término “éster biohidrolizable” es un éster de una sustancia de fármaco (por ej., un compuesto de fórmula (I)) el cual o bien a) no interfiere con la actividad biológica de la sustancia principal pero confiere sobre esa sustancia propiedades ventajosas in vivo como son la duración de la acción, el inicio de la acción, y similares, o b) es biológicamente inactivo pero el sujeto lo convierte fácilmente in vivo al principio biológicamente activo. La ventaja es que, por ejemplo, el éster biohidrolizable se absorbe por vía oral desde el

15 de ejemplo ésteres de alquilo inferior (por ej., C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), ésteres de alcoxiaciloxialquilo inferior, ésteres de alcoxiaciloxi, ésteres de alquilo acilamino alquilo, y ésteres de colina.

20 Tal como se usa en la presente, el término “amida biohidrolizable” es una amida de una sustancia de fármaco (por ej., un compuesto de fórmula general (I)) el cual o bien a) no interfiere con la actividad biológica de la sustancia principal pero confiere sobre esa sustancia propiedades ventajosas in vivo como son la duración de la acción, el inicio de la acción, y similares, o b) es biológicamente inactivo pero el sujeto lo convierte fácilmente in vivo al principio biológicamente activo. La ventaja es que, por ejemplo, la amida biohidrolizable se absorbe por vía oral desde el intestino y se transforma en (I) plasma. Muchos ejemplos de este tipo se conocen en la técnica e incluyen a modo de ejemplo amidas de alquilo inferior, amidas del ácido α-amino, amidas de alcoxiacilo, y amidas de alquilaminoalquilcarbonilo.

25

Tal como se usa en la presente, el término “profármaco” incluye amidas biohidrolizables y ésteres biohidrolizables y además abarca a) compuestos en los cuales la funcionalidad biohidrolizable en este profármaco está comprendida en el compuesto de fórmula (I): por ejemplo, lactama formado por un grupo carboxílico en R<sub>2</sub> y una amina en R<sub>4</sub>, y b) compuestos que pueden oxidarse o reducirse biológicamente en un grupo funcional dado para dar las sustancias del fármaco de fórmula (I). Los ejemplos de estos grupos funcionales incluyen, aunque sin quedar limitados a, 1,4-dihidropiridina, NH-alquilcarbonil-1,4-dihidropiridina, 1,4-ciclohexadieno, ter-butilo, y similares.

30

La expresión “cantidad eficaz para uso farmacológico” significa que la cantidad de un profármaco o agente farmacéutico que permitirá la respuesta biológica o médica de un tejido, animal o humano el cual está siendo investigado por un investigador o un profesional clínico. Esta cantidad puede ser una cantidad eficaz para uso terapéutico.

35

Siempre que los términos “alquilo” o “arilo” o cualquiera de sus raíces prefijas aparecen en un nombre de un sustituyente (por ej., arilalcoxiariloxi) debe interpretarse como que incluye aquellas limitaciones que se dieron anteriormente para “alquilo” y “arilo”. Los sustituyentes alquilo deben ser reconocidos como que son funcionalmente equivalentes a los que tienen uno o más grados de instauración. Los números designados de átomos de carbono (por ej., C<sub>1-6</sub>) se refieren independientemente al número de átomos de carbono en un resto alquilo o la porción alquilo de un sustituyente más grande en el cual el término “alquilo” aparece como su raíz prefija. De manera similar, el término “alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>” y “alquino C<sub>2</sub>-C<sub>8</sub>” se refieren a los grupos que tienen desde 2 a 8 átomos de carbono y al menos un enlace doble carbono-carbono o un enlace triple carbono-carbono, respectivamente. El término “inferior”, por ejemplo con relación a “alquilo inferior” se refiere a un grupo alquilo C<sub>1-6</sub>.

40

45 Tal como se usa en la presente, el término “oxo” se refiere al sustituyente =O.

Tal como se usa en la presente, el término “halógeno” o “halo” incluye yodo, bromo, cloro y flúor.

Tal como se usa en la presente, el término “mercapto” se refiere al sustituyente -SH.

Tal como se usa en la presente, el término “carboxi” se refiere al sustituyente -COOH.

Tal como se usa en la presente, el término “ciano” se refiere al sustituyente -CN.

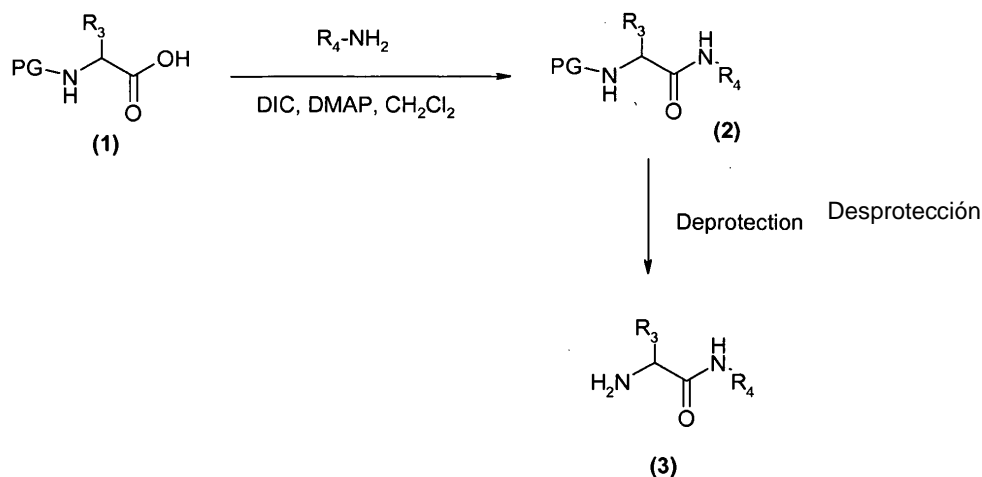
50 Tal como se usa en la presente, el término “aminosulfonilo” se refiere al sustituyente -SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>.

Tal como se usa en la presente, el término “carbamoilo” se refiere al sustituyente -C(O)NH<sub>2</sub>.

Un alfa-aminoácido protegido en forma adecuada (1), donde PG es un grupo protector amina tal como tert-butoxicarbonilo, se trata con una amina en presencia de un reactivo de acoplamiento tal como, aunque sin quedar limitados a, diisopropil carbodiimida (DIC) para formar la amida (2). El grupo α-amino en (2) se desprotege a

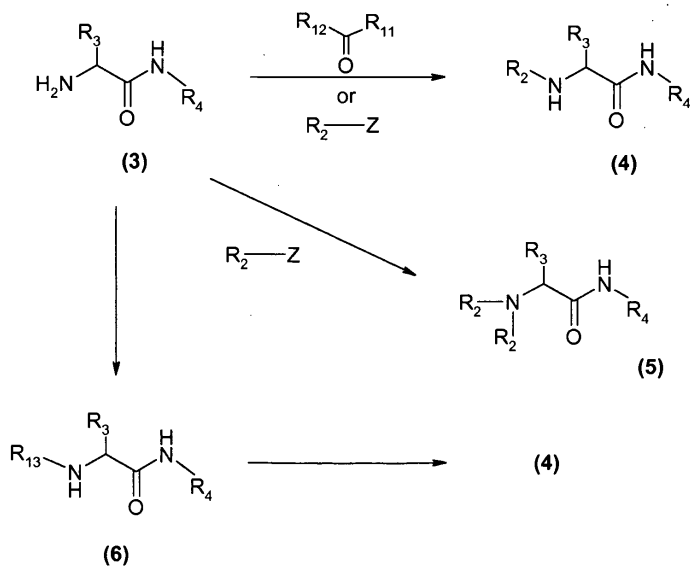
- 5 continuación, empleando un ácido fuerte tal como cloruro de hidrógeno para el caso donde PG es tert-butoxicarbonilo, para dar la amina libre (3) o bien en forma de base libre o en forma de una sal (Esquema 1). Un alfa-aminoácido protegido en forma adecuada (1), donde PG es un grupo protector amina tal como tert-butoxicarbonilo, se trata con una amina en presencia de un reactivo de acoplamiento tal como, aunque sin quedar limitados a, diisopropil carbodiimida (DIC) para formar la amida (2). El grupo  $\alpha$ -amino en (2) se desprotege a continuación, empleando un ácido fuerte tal como cloruro de hidrógeno para el caso donde PG es tert-butoxicarbonilo, para dar la amina libre (3) o bien en forma de base libre o en forma de una sal (Esquema 1).

## Esquema 1



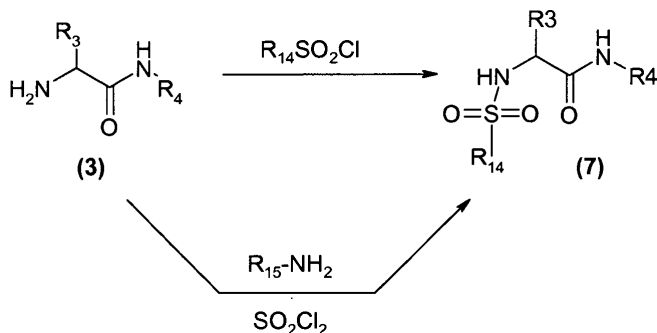
- 10 Para derivar posteriormente el grupo amino del compuesto (3), el compuesto amino libre, o la sal adecuada del mismo, se puede tratar con un aldehído o cetona  $\text{R}_{12}\text{C(O)R}_{11}$  en presencia de un agente reductor tal como cianoborohidruro de sodio o triacetoxiborohidruro de sodio para dar el compuesto (4), donde  $\text{R}_{12}$  y  $\text{R}_{11}$  se definen de modo que  $\text{R}_2$  en (4) se ajusta a las especificaciones para la fórmula (I). En forma alternativa, el compuesto amina (3) puede ser tratado con base de amina terciaria tal como DEA y una cantidad equivalente molar (o leve exceso) de un agente alquilante de la estructura general  $\text{R}_2\text{-Z}$ , donde Z es un grupo nucleóforo tal como bromo, para formar el compuesto amina secundaria (4) (Esquema 2). La amina (3) puede ser tratada con base de amina terciaria tal como DEA y 2 equivalentes molares (o leve exceso) de un agente alquilante de la estructura general  $\text{R}_2\text{-Z}$ , donde Z es un grupo nucleóforo tal como bromo, para formar el compuesto amina (5). En forma alternativa, el compuesto amina (3) se puede tratar con un compuesto olefínico deficiente en electrones tal como, aunque sin quedar limitados a, acrilato de etilo para dar el intermediario aducto (6). El compuesto (6) puede ser manipulado, empleando los procedimientos conocidos en la técnica tal como reducción de hidruro, para transformar este aducto a los compuestos de la estructura general (4).
- 15
- 20

## Esquema 2



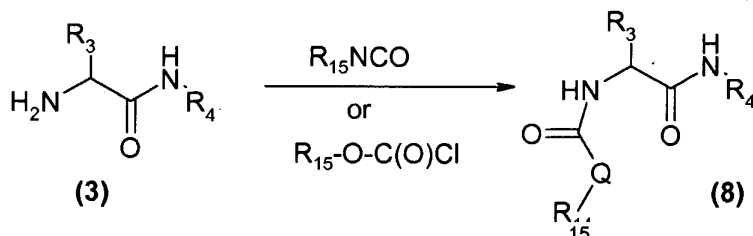
5 Para derivar posteriormente el grupo amino del compuesto (3), el compuesto amino libre, o la sal adecuada del mismo, se puede tratar con un cloruro de sulfonilo tal como cloruro de bencenosulfonilo para formar la sulfonamida (7) (Esquema 3), donde  $R_{14}$  es alquilo  $C_{1-6}$ , alquilarilo  $C_{1-6}$ , o arilo. En forma alternativa, una amina  $R_{15}\text{-NH}_2$  se puede tratar con cloruro de sulfurilo y el intermedio se puede tratar posteriormente con (2) para dar la sulfonilurea (7) donde  $R_{15}$  es  $\text{-NH-alquilo } C_{1-6}$  o  $\text{-NH-alquilarilo } C_{1-6}$ .

## Esquema 3



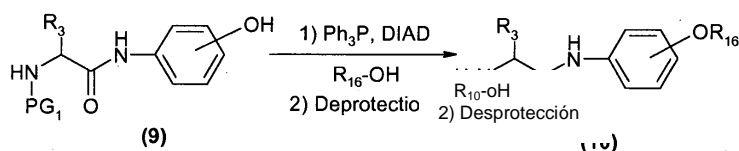
10 Para derivar posteriormente el grupo amino del compuesto (3), el compuesto amino libre, o la sal adecuada del mismo, se puede tratar con un isocianato  $R_{15}\text{NCO}$  en presencia o ausencia de una base de amina terciaria tal como TEA para formar la urea (8) (Esquema 4), donde  $R_{15}$  es alquilo  $C_{1-6}$  o alquilarilo  $C_{1-6}$  y Q es NH. En forma alternativa, el compuesto (3) se puede tratar con  $R_{15}\text{O-C(O)Cl}$  y una base de amina terciaria tal como TEA para dar el compuesto (8) donde  $R_{15}$  es alquilo  $C_{1-6}$  o alquilarilo  $C_{1-6}$  y Q es O.

## Esquema 4



15 El compuesto (9) se puede tratar con trifetilfosfina, o bien diisopropil azodicarboxilato (DIAD) o dietil azodicarboxilato (DEAD) y un alcohol  $R_{16}\text{-OH}$  para formar el compuesto (10) (Esquema 5), después de la eliminación del grupo protector PG.  $R_{16}$  es -alquilo  $C_{1-6}$ , -alquilarilo  $C_{1-6}$ , alquilo  $C_{1-6}\text{OSi}(\text{alquilo } C_{1-6})_3$ , alquilo  $C_{1-6}\text{OSi}(\text{alquilarilo } C_{1-6})_3$ , o alquilo  $C_{1-6}\text{-NR}_8\text{R}_9$  (con la condición de que ni  $R_8$  ni  $R_9$  sean hidrógeno). PG puede ser, por ejemplo, tert-butoxicarbonilo, benciloxicarbonilo, y similares.

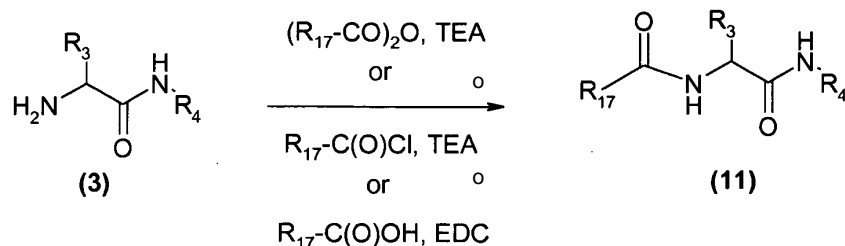
## Esquema 5



25 El compuesto (3) o una sal adecuada del mismo se puede tratar con un anhídrido ácido  $(R_{17}\text{-CO})_2\text{O}$  y una base tal como TEA en presencia o ausencia de piridina o DMAP para dar el compuesto (11) (Esquema 6). El sustituyente  $R_{17}$  puede ser elegido de modo que el grupo  $R_{17}\text{-C(O)-}$  sea como el que se especifica para  $R_2$  en la fórmula (I). En forma alternativa, el compuesto (3) puede ser tratado con el cloruro ácido  $R_{17}\text{-COCl}$  y una base de amina terciaria tal como TEA en presencia o ausencia de piridina o DMAP para dar el compuesto (11). En forma alternativa, el compuesto (3) puede ser tratado con el ácido carboxílico  $R_{17}\text{CO}_2\text{H}$  y un reactivo de carbodiimida (es decir, un

“reactivo de acoplamiento”) tal como EDC, DIC, o DCC en presencia o ausencia de HOBT para dar el compuesto (11).

### Esquema 6

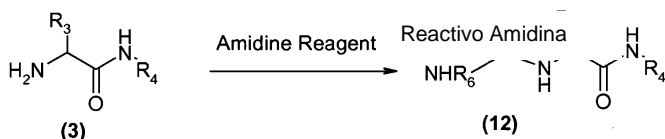


5

El compuesto (3) o una sal adecuada del mismo se puede tratar (Esquema 7) con un reactivo de amidina activada tal como N,N'-bis-BOC-1-guanilpirazol o 3,5-dimetilpirazol-1-carboxamidina nitrato en presencia de una base orgánica terciaria tal como TEA para generar el compuesto de guanidina. Los grupos protectores del sustituyente guanidina se pueden eliminar. Por ejemplo, donde se emplea N,N'-bis-BOC-1-guanilpirazol, los grupos BOC del aducto se pueden eliminar con un ácido fuerte tal como cloruro de hidrógeno para dar el compuesto de guanidina libre (12), donde R<sub>6</sub> y R<sub>8</sub> son como se definen para la fórmula (I).

10

### Esquema 7



### Parte Experimental General

Los datos LC-MS se obtuvieron usando elución de gradiente sobre un controlador Waters 600 equipado con un detector de longitud de onda 2487 dual y un automuestreador HTS PAL de Leap Technologies usando una columna YMC Combiscreen ODS-A 50x4.6 mm. Se corrió un gradiente de tres minutos desde 25% B (97,5% de acetonitrilo, 2,5% de agua, 0,05% de TFA), y 75% A (97,5% de agua, 2,5% de acetonitrilo, 0,05% de TFA) hasta 100% B. El EM fue un instrumento Micromass ZMD. Todos los datos se obtuvieron en el modo positivo a menos que se observe lo contrario. Los datos <sup>1</sup>H RMN se obtuvieron sobre un espectrómetro Varian de 300 MHz.

20

[0045] Las abreviaturas usadas en los ejemplos son las siguientes:

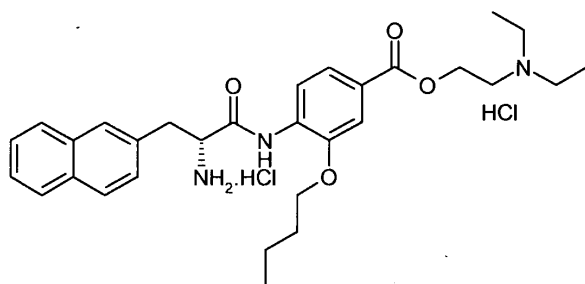
APCI =	Ionización química por presión atmosférica
BOC =	ter-butoxicarbonilo
BOP =	(1-benzotriazoliloxi)tris(dimetilamino)fosfonio hexafluorofosfato
25 d =	día
DIAD =	diisopropil azodicarboxilato
DCC =	diciclohexilcarbodiimida
DCM =	diclorometano
DIEA =	diisopropiletilamina
30 DMF =	N, N-dimetilformamida
DMPU=	1,3-dimetilpropileno urea
DMSO=	dimetilsulfóxido
EDC =	Clorhidrato 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)-carbodiimida
EDTA =	Ácido etilendiamina tetraacético

	ELISA =	Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas
	ESI =	ionización por electroaspersión
	éter =	éter dietílico
	EtOAc =	acetato de etilo
5	FBS =	suero bovino fetal
	g =	gramos
	h =	hora
	HBTU=	O-benzotriazol-l-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio hexafluorofosfato
	HMPA=	triamida hexametilfosfórica
10	HOBt =	1-hidroxibenzotriazol
	Hz =	hertz
	i.v. =	intravenosa
	kD =	kilodalton
	L =	litro
15	LAH =	hidruro de litio aluminio
	LDA =	diisopropilamida de litio
	LPS =	lipopolisacárido
	M =	molar
	m/z =	relación masa a carga
20	mbar =	milibar
	MeOH =	metanol
	mg =	miligramo
	min =	minuto
	ml =	mililitro
25	mM =	milimolar
	mmol =	milimoles
	mol =	mol
	Pf =	punto de fusión
	EM =	espectrometría de masa
30	N =	normal
	NMM =	N-metilmorfolina, 4-metilmorfolina
	RMN =	Espectroscopia de resonancia magnética nuclear
	p.o =	por oral
	PBS =	solución salina tamponada con fosfato
35	PMA =	forbol miristato acetato
	ppm =	partes por millón
	psi =	libras por pulgada cuadrada (Pa)

	R <sub>f</sub> =	movilidad TLC relativa
	Ta =	temperatura ambiente
	s.c. =	subcutánea
	SPA =	ensayo de proximidad de centelleo
5	TEA =	triethylamina
	TFA =	ácido trifluoroacético
	THF =	tetrahidrofurano
	THP =	tetrahidropiraniolo
	TLC =	Cromatografía de capa delgada
10	T <sub>r</sub> =	tiempo de retención

Los siguientes compuestos se sintetizan de acuerdo con los esquemas.

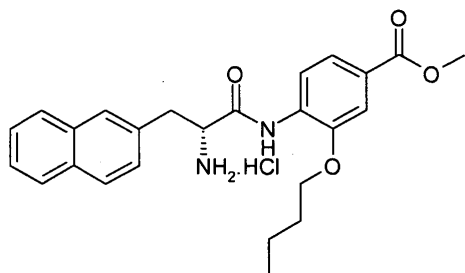
### Ejemplo 1



15 A una solución de BOC-2-naftil-(D)-alanina (3,15 g) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (40 ml), HOBT (1,35 g) y DCC (2,2 g) se añadieron a ta bajo atmósfera de nitrógeno. Después de 2 horas se añadieron Net<sub>3</sub> (2,79 ml) y clorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina (3,8 g) seguido de DMAP (122 mg). La mezcla de reacción se agita a continuación a ta durante 3 días y se filtra para eliminar dicitohexilurea. El filtrado se concentra y se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice para dar 4,8 g del intermedio amida 1A. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>): 8,50 (d, 1H), 8,27 (br s, 1H), 7,55 - 7,85 (m, 5H), 7,25-7,45 (m, 5H), 5,15 (br s, 1H), 4,60 (br s, 1H), 4,38 (t, 2H), 3,6-3,9 (m, 2H), 3,30 (d, 2H), 2,82 (t, 2H), 2,60 (q, 4H), 1,2 -1,8 (m, 10H), 1,10 (t, 6H). EM: m/z 606 (M+H)<sup>+</sup>

20 Se agitan 120 mg del intermedio 1A obtenido anteriormente en 4M de HCl en dioxano (2 ml) durante 3 horas. A continuación se elimina el solvente al vacío y el residuo obtenido se trata con éter y se agita. El éter se decanta y el lavado del éter se repite dos veces más. A continuación el producto se seca al vacío para da un sólido de color amarillo pálido (90 mg). Ejemplo 1. LC: T<sub>r</sub> 1,53; EM: 506 (M+H)<sup>+</sup>

### 25 Ejemplo 2



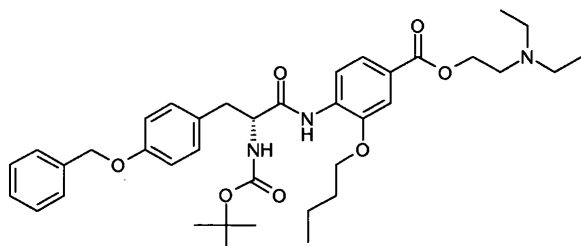
30 El ejemplo 1 (115 mg) se disuelve en metanol anhidro (5 ml) y se trata con 1 M de KOH en metanol (25 μl). La mezcla de reacción se agita durante toda la noche a ta y se añaden 2 gotas de ácido acético y se agita. A continuación se elimina el solvente al vacío y el residuo obtenido se purifica por cromatografía de gel de sílice para dar el intermedio metil éster 2A (65 mg).

RMN (acetona-d<sub>6</sub>): 9,10 (br s, 1 H), 8,42 (d, 2H), 7,20 - 7,80 (m, 7H), 6,78 (br d, 1 h), 4,50 (br m, 1 H), 4,0 (br m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,20 (dd, 1 H), 2,9 - 3,2 (m, 4H), 1,22 (q, 2H), 1,20 (s, 9H), 0,90 (t, 3H). EM: m/z 521 (M+H)<sup>+</sup>

El intermedio 2A se disuelve en 4M de HCl en dioxano (2 ml) y se agita a ta durante 3 horas. El producto se aísla como para el ejemplo 1 para dar el ejemplo 2 en forma de un sólido de color blanco sedoso (50 mg).

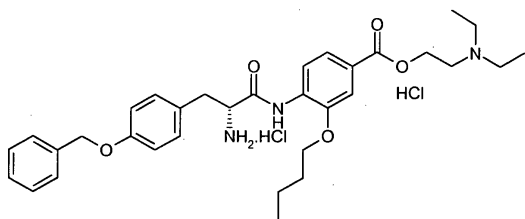
5 EM: m/z 421 (M+H)<sup>+</sup>

### Ejemplo 3



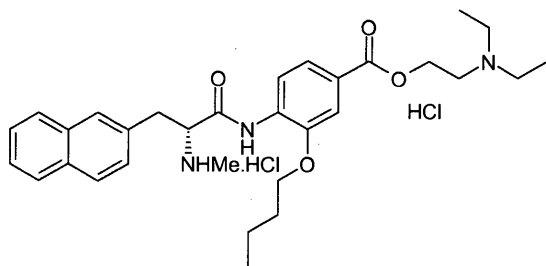
10 A una solución de BOC-D-Tyr(Bzl)-OH (1,11 g) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (15 ml), se añadieron HOBt (406 mg) y DCC (681 mg) a ta. Después de 2 horas se añadieron TEA (840 μl) y clorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina (1,04 g) seguido de DMAP (36 mg). La mezcla de reacción se agita a continuación a ta durante 3 días y se filtra para eliminar dicitclohexilurea. El filtrado se concentra y se purifica sobre cromatografía de columna de gel de sílice para dar 1,2 g del ejemplo 3. LC: T<sub>r</sub> 2,18; EM: m/z 662 (M+H)<sup>+</sup>

### Ejemplo 4



15 Se agitan 165 mg del ejemplo 3 en 4M de HCl en dioxano (2 ml) durante 3 horas. Se aísla el producto como para el ejemplo 1 para dar el ejemplo 4 en forma de un sólido de color amarillo pálido (105 mg). LC: T<sub>r</sub> 1,75; EM: m/z 562 (M+H)<sup>+</sup>

### Ejemplo 5



20 Se disuelve BOC-(2-naftil)-D-alanina (946 mg) en THF anhidro a ta, añadido con yoduro de metilo (1,5 ml) y se enfría hasta 0°C. Se agrega lentamente NaH sólido (400 mg; 60% de dispersión en aceite) y la reacción se deja proceder durante toda la noche con calentamiento gradual hasta ta. Después de 24 horas la mezcla de reacción se diluye con una mezcla de EtOAc y agua fría y se filtra. El contenido se agita a continuación en un embudo separador y las capas se separan. A continuación la capa acuosa se extrae con EtOAc. Los extractos orgánicos se combinan, se lavan con agua y salmuera y se secan sobre sulfato de sodio anhidro. Se elimina el solvente al vacío y el residuo obtenido se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice para dar el intermedio ácido 5A (630 mg).

EM: m/z 230 (M+H)<sup>+</sup>

30 A una solución del intermedio 5A obtenido como se indicó anteriormente (616 mg) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (10 ml), se añadieron HOBt (303 mg) y DCC (463 mg) a ta bajo atmósfera de nitrógeno. Después de 2 horas se añadieron trietilamina (651 μl) y clorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina (645 mg) seguido de DMAP (36 mg). La

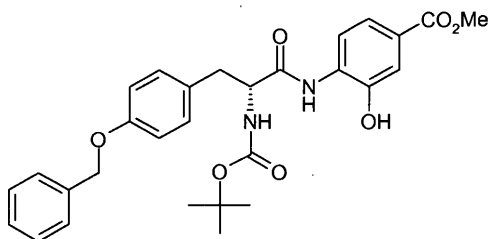
mezcla de reacción se agita a continuación a ta durante 4 días y se filtra para eliminar dicitohexilurea. El filtrado se concentra y se purifica sobre cromatografía de columna de gel de sílice para dar el intermedio 5B (220 mg).

LC:  $T_r$  2,45 min; EM: m/z 620 (M+H)+

5 A continuación el intermedio 5B se disuelve en 4M de HCl en dioxano (4 ml) durante 3 horas. El producto se aísla como para el ejemplo 1 para dar el ejemplo 5 (160 mg).

EM: m/z 520 (M+H)+

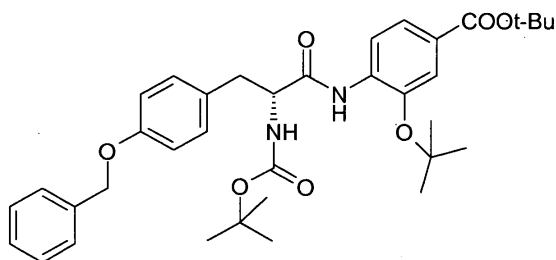
### Ejemplo 6



10 Se suspende BOC-D-Tyr(Bzl)-OH (4,46g, 12,0 mmoles) en 50 ml de DCM y a esto se añade DCC (2,72g, 13,20 mmoles) y HOBt (1,62g, 12,01 mmoles) y la mezcla se agita bajo nitrógeno durante 2 horas. Se añade trietilamina seguido de metil éster del ácido 4-amino-3-hidroxi-benzoico (2,67g, 13,20 mmoles). La mezcla se agita durante 4 días. La mezcla de reacción se filtra y el residuo sólido se lava con DCM. A continuación el filtrado se lava con 5% de solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2 x 50 ml) seguido de una solución de salmuera. El extracto orgánico se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra y se purifica por cromatografía flash sobre gel de sílice eluido con EtOAc/hexanos (50:50) para obtener el ejemplo 6 en forma de un sólido (5,0 g).

EM: m/z 521 (M+H)+

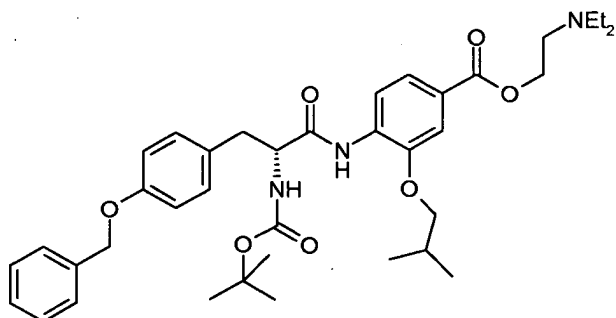
### Ejemplo 7



20 El compuesto del ejemplo 6 se saponifica para dar el ácido carboxílico mediante el procedimiento general empleado en la preparación del intermedio 2A, para dar el intermedio 7A.

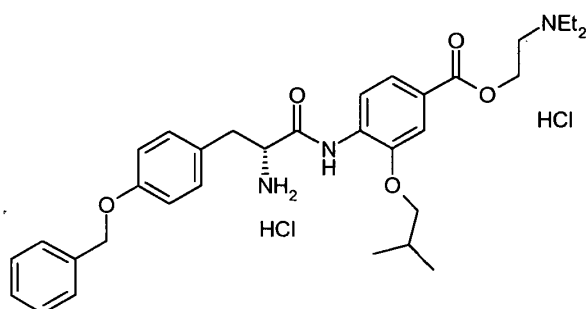
25 El intermedio 7A (0,050g, 0,099 mM) en 3 ml de DCM se añaden 2 gotas de BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O y H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. A continuación la solución se transfiere hasta -78°C y se burbujea gas isobutileno durante 3 min. y a continuación se deja calentar hasta ta y se agita durante 12 horas. La solución se extrae con NaCHO<sub>3</sub> saturado (2 x 10 ml), se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentra hasta un aceite el cual se purifica sobre gel de sílice con EtOAc/hexanos (30:70) para obtener el ejemplo 7 en forma de un sólido de color blanco (0,055 g). EM: m/z 619 (M+H)+



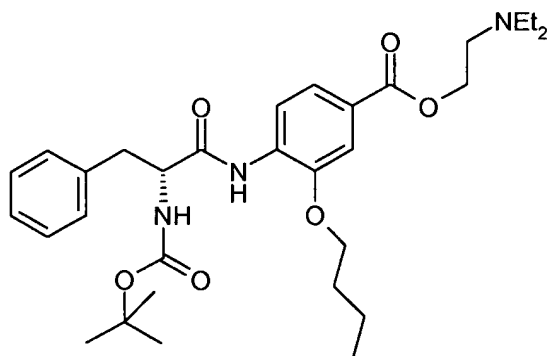
**Ejemplo 8**

Al ejemplo 6 (0,05 g, 0,096 mmoles) en 1 ml de THF se añaden 6  $\mu$ l de alcohol isobutílico y trifenilfosfina (0,025g, 0,096 mmoles) seguido de la adición gota a gota de diisopropil azodicarboxilato (0,019g, 0,096 mmoles) a 0°C. La reacción se deja entibiar hasta ta y se agita durante 18 horas. El solvente se elimina a presión reducida y el aceite obtenido se purifica por cromatografía flash sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano (30:70) para dar el intermedio 8A en forma de un aceite (43,6 mg, 79%). El intermedio 8A se hidroliza con una solución 1 M de KOH en dioxano a 80°C para proporcionar el intermedio ácido 8B (0,015 g).

El intermedio 8B (0,015 g, 0,026 mmoles) se disuelve en 1 ml de DCM y se añade HBTU (0,020 g, 0,054 mmoles) La mezcla se agita durante 1 hora y se añaden 100  $\mu$ l de TEA seguido de N,N-dietiletanolamina (0,021 g, 0,180 mmoles). La solución resultante se agita durante 18 horas. Después de concentrar a presión reducida, el producto bruto se purifica sobre gel de sílice eluido con EtOAc/hexano (50/50) para proporcionar el ejemplo 8 en forma de un sólido (0,014 g). LC: T<sub>r</sub> 2,20 min; EM: m/z 662 (M+H)<sup>+</sup>

**Ejemplo 9**

El ejemplo 8 (7 mg) se trata con HCl 4N/dioxano como se describe o el intermedio 1A. El producto (5 mg) se aísla como para el ejemplo 1 para dar el ejemplo 9. EM: m/z 552 (M+H)<sup>+</sup>

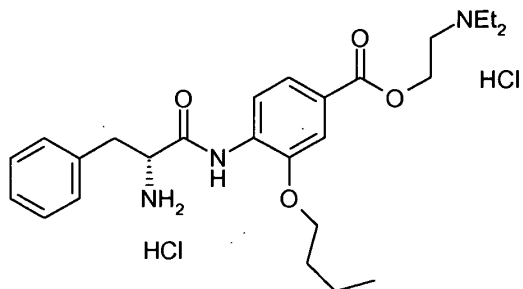
**Ejemplo 10**

A una solución de BOC-D-fenilalanina (1,33 g) en DCM (15 ml), se añadieron HOBt (743 mg) y DCC (1,24 g) a ta. Después de 2 horas se añadieron TEA (1,2 ml) y clorhidrato 4-dietilaminoetoxicarbonil-2-butoxianilina (1,73 g)

seguido de DMAP (60 mg). La mezcla de reacción se agita a continuación a ta durante 3 días y se filtra para eliminar dicitohexilurea. El filtrado se concentra y se purifica sobre cromatografía de columna de gel de sílice para dar 1,9 g del ejemplo 10. LC:  $T_r$  2,05 min; EM: m/z 556 (M+H)<sup>+</sup>

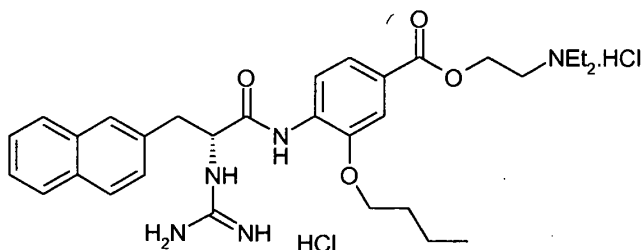
### Ejemplo 11

5



El ejemplo 10 (47 mg) se agita en 4M de HCl en dioxano (2 ml) durante 3 horas. Se aísla el producto como para el ejemplo 1 para dar el ejemplo 11 en forma de un sólido de color amarillo pálido (38 mg). C:  $T_r$  0,83 min; EM: m/z 456 (M+H)<sup>+</sup>

### 10 Ejemplo 12



15

El ejemplo 1 (80 mg) se disuelve en acetonitrilo anhidro (3 ml) y se trata con DIEA (60  $\mu$ l) y N,N'-bis-BOC-1-guanilpirazol (60 mg). A continuación la mezcla resultante se somete a reflujo durante toda la noche. La mezcla de reacción se enfría a ta y se diluye con EtOAc (5 ml). La mezcla se lava con agua y salmuera y se seca sobre sulfato de sodio anhidro. Se elimina el solvente al vacío y el residuo obtenido se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice para dar el intermedio del producto guanadino BOC-prottegido 12A (12 mg).

RMN: (acetona- $d_6$ ) 8,8 (br s, 1 H), 8,20 (d, 1 H), 7,2 - 7,8 (m, 9H), 4,95 (dd, 1 H), 4,2 (br s, 2H), 3,65 - 3,85 (m, 4H), 3,0 - 3,3 (m, 4H), 1,25 (s, 9H), 1,20 (m, 4H), 1,15 (s, 9H), 0,95 (3, 3H)

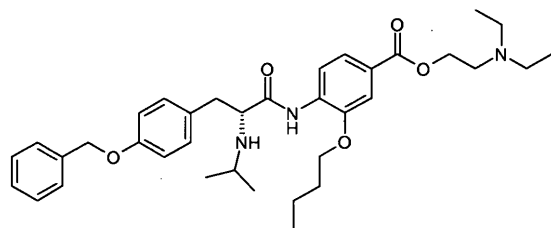
20

EM: m/z 748 (M+H)<sup>+</sup>

El intermedio 12A (12 mg) se trata con HCl 4M/dioxano (0,5 ml) para eliminar el grupo BOC como se describe para el intermediario 1A, dando el Ejemplo 12 (4 mg).

EM: m/z 549 (M+H)<sup>+</sup>

### Ejemplo 13

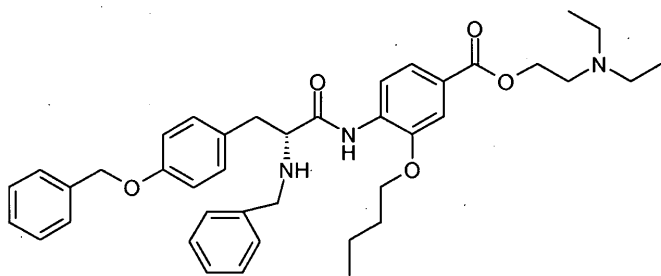


25

Se disuelven 53 mg (0,084 mmoles) del ejemplo 4 en 5 ml de metanol. A esto se añaden 10  $\mu$ l de acetona. Después de 40 min., se añaden 0,10 ml de 1M de cianoborohidruro de sodio en THF. La reacción se agita durante toda la noche, el solvente se elimina al vacío y el compuesto bruto se purifica por cromatografía flash sobre gel de sílice (4:1 hexano: EtOAc, 10% de TEA) para dar 22 mg del ejemplo 14.

5 LC:  $T_r$  1,77 min; EM: m/z 603 (M+H)<sup>+</sup>

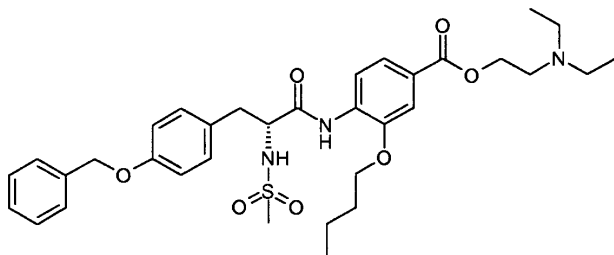
#### Ejemplo 14



10 Se disuelven 106 mg (0,168 mmoles) del ejemplo 4 en 5 ml de metanol. A esto se añaden 60  $\mu$ l de benzaldehído, con agitación. Después de 12 horas., se añaden 0,50 ml de 1M de cianoborohidruro de sodio en THF. La reacción se agita durante toda la noche, el solvente se elimina al vacío y el compuesto bruto se purifica por cromatografía flash sobre gel de sílice (4:1 hexano: EtOAc, 10% de TEA) para dar 48,3 mg del ejemplo 14.

LC:  $T_r$  1,83 min; EM: m/z 653 (M+H)<sup>+</sup>

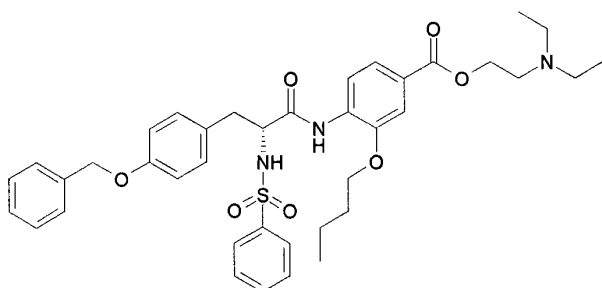
#### Ejemplo 15



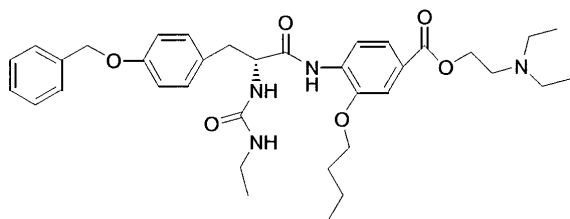
15 Se suspenden 12 mg (0,019 mmoles) del ejemplo 4 en 3,5 ml de DCM seco. A esto se añaden 10  $\mu$ l de cloruro de metanosulfonilo (0,13 mmoles). La reacción se agita durante toda la noche, a continuación se añaden 10  $\mu$ l adicionales de cloruro de metanosulfonilo y a continuación la reacción se deja agitar durante 24 horas adicionales. El solvente se elimina al vacío para dar 12,2 mg del ejemplo 15.

20 LC:  $T_r$  1,99 min; EM: m/z 640 (M+H)<sup>+</sup>

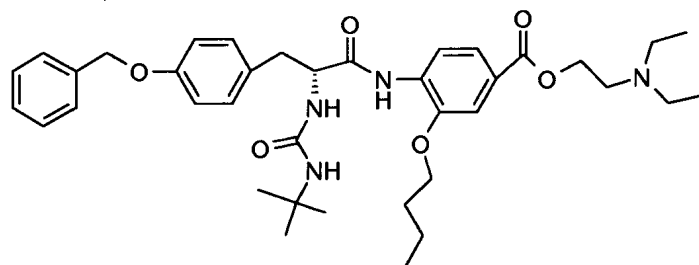
#### Ejemplo 16



25 Se suspenden 15 mg (0,024 mmoles) del ejemplo 4 en 4,0 ml de DCM seco. A esto se añaden 10  $\mu$ l (0,078 mmoles) de cloruro de benzenosulfonilo. La reacción se agita durante toda la noche, a continuación se añaden 10  $\mu$ l adicionales de cloruro de benzenosulfonilo y a continuación la reacción se deja agitar durante 24 horas adicionales. El solvente se elimina al vacío para dar 16,8 mg del ejemplo 16. LC:  $T_r$  2,05 min; EM: m/z 702 (M+H)<sup>+</sup>

**Ejemplo 17**

5 Se suspenden 25 mg (0,040 mmoles) del ejemplo 4 en 5 ml de DCM seco. A esto se añaden 50  $\mu$ l de isocianato de etilo (0,63 mmoles). La reacción se agita durante toda la noche, y el solvente se elimina al vacío para dar 25,2 mg del ejemplo 17. LC:  $T_r$  1,99min; EM: m/z 633 (M+H)<sup>+</sup>

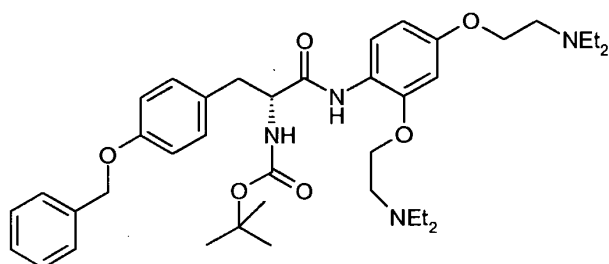
**Ejemplo 18**

10 Se suspenden 20 mg (0,032 mmoles) del ejemplo 4 en 5 ml de DCM seco. A esto se añaden 50  $\mu$ l de isocianato de ter-butilo (0,44 mmoles, 13,7 eq.). La reacción se agita durante toda la noche, a continuación se añaden 50  $\mu$ l adicionales de isocianato de ter-butilo y a continuación la reacción se deja agitar durante 24 horas adicionales. El solvente se elimina al vacío para dar 21,1 mg del ejemplo 18.

LC:  $T_r$  1,97min; EM: m/z 661 (M+H)<sup>+</sup>

**Ejemplo 19**

15



20 A una solución de BOC-D-Tyr(Bzl)-OH (279 mg) y clorhidrato de 4-aminoresorcinol (135 mg) en acetonitrilo (2 ml) a ta, se añadieron en sucesión HBTU (285 mg) y piridina (145 ml). La mezcla resultante se agita durante toda la noche. La mezcla de reacción rojiza profunda se diluye con EtOAc/agua (5 ml/3 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrae posteriormente con EtOAc (5 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con agua y salmuera y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La solución se filtra y el solvente se elimina al vacío. El producto bruto resultante se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice usando metanol/CHCl<sub>3</sub>/hexano (1:20:20) como eluyente para dar 300 mg del intermedio amida 19A.

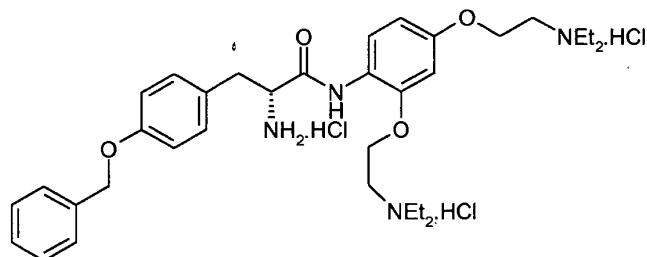
LC:  $T_r$  2,17 min; EM: m/z 479 (M+H)<sup>+</sup>

25 Se disuelven 120 mg del intermedio 19A en THF (2 ml) a ta y se añaden con trifenilfosfina (197 mg), y N,N-dietilaminoetanol (100  $\mu$ l). La solución resultante se enfría hasta 0°C y se trata con diisopropil azodicarboxilato (DIAD) (152 mg). La reacción se deja proceder durante toda la noche con calentamiento gradual hasta ta. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc/agua (5 ml/3 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrae

posteriormente con EtOAc (5 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con agua y salmuera y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La solución se filtra y el solvente se elimina al vacío. El producto bruto resultante se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice usando Net<sub>3</sub>/ metanol/CHCl<sub>3</sub>/hexano (1:2:40:40) como eluyente para dar 100 mg del ejemplo 19.

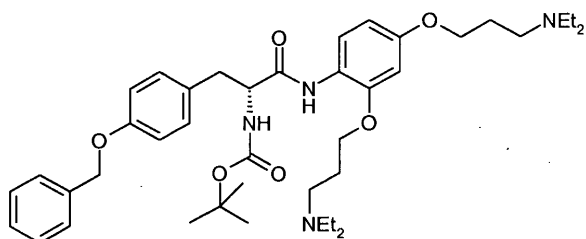
5 LC: T<sub>r</sub> 1,80 min; EM: m/z 677 (M+H)<sup>+</sup>

#### Ejemplo 20



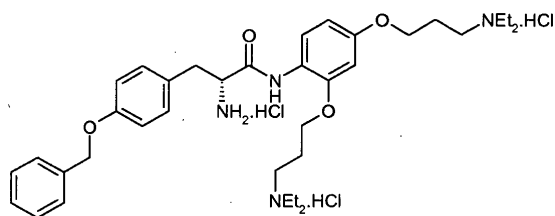
Se agitan 50 mg del ejemplo 19 en 4M de HCl en dioxano (1 ml) durante 3 horas. Se aísla el producto como para el ejemplo 1 para dar el ejemplo 21 en forma de un sólido de color amarillo pálido (35 mg). EM: m/z 576 (M+H)<sup>+</sup>

10 **Ejemplo 21**



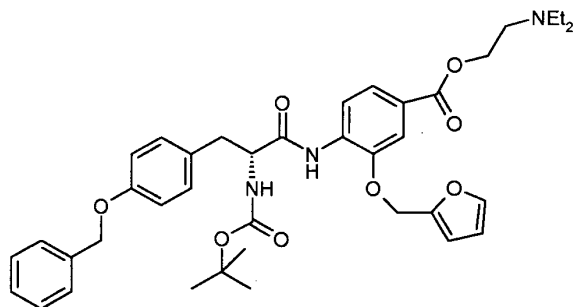
Se disuelven 120 mg del ejemplo 19 en THF (2 ml) a ta y se añaden con trifetilfosfina (197 mg), y N,N-dietilaminoetanol (115 l). La solución resultante se enfría hasta 0°C y se añade con diisopropil azodicarboxilato (DIAD) (152 mg). La reacción se deja proceder durante toda la noche con calentamiento gradual hasta ta. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc/agua (5 ml/3 ml) y las capas se separaron. La capa acuosa se extrae posteriormente con EtOAc (5 ml). Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con agua y salmuera y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La solución se filtra y el solvente se elimina al vacío. El producto bruto resultante se purifica por cromatografía de columna de gel de sílice usando trietilamina/ metanol/CHCl<sub>3</sub>/hexano (1:2:40:40) como eluyente para dar 50 mg del ejemplo 21. LC: T<sub>r</sub> 1,84 min; EM: m/z 705 (M+H)<sup>+</sup>

20 **Ejemplo 22**



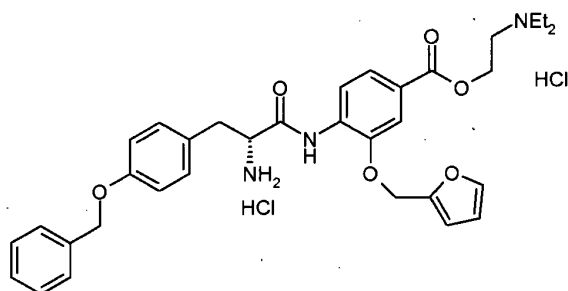
Se agitan 30 mg del ejemplo 21 en 4M de HCl en dioxano (1 ml) durante 3 horas. Se aísla el producto como para el ejemplo 1 para dar el ejemplo 22 en forma de un sólido de color amarillo pálido (20 mg). EM: m/z 604 (M+H)<sup>+</sup>

25

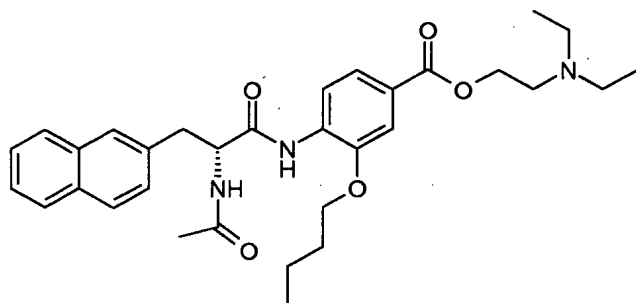
**Ejemplo 23**

Al ejemplo 6 (0,05g, 0,096 mmoles) en 1 ml de THF se añaden 6  $\mu$ l de alcohol furfurilo y trifenilfosfina (0,025g, 0,096 mmoles) seguido de la adición gota a gota de diisopropil azodicarboxilato (0,019g, 0,096 mmoles) a 0°C. La reacción se deja entibiar hasta ta y se agita durante 18 horas. El solvente se elimina a presión reducida y el aceite obtenido se purifica por cromatografía flash sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano (30:70) para dar el intermedio éter arilo 23A en forma de un aceite (43,0 mg). El intermedio 23A se hidroliza al ácido carboxílico usando solución 1M de KOH en dioxano a 80°C. El ácido obtenido (0,02g, 0,036 mmoles) se disuelve en 1 ml de DCM y se añade HBTU (0,015g, 0,039 mmoles). La mezcla se agita durante 1 hora y se añaden 36  $\mu$ l de TEA seguido de N,N-dietiletanolamina (0,015g, 0,130 mmoles). La solución resultante se agita durante 18 horas. Después de concentrar a presión reducida, el producto bruto se purifica sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc/hexano (1:1) para obtener el ejemplo 23 en forma de un sólido (0,015g).

EM: m/z 686 (M+H)<sup>+</sup>

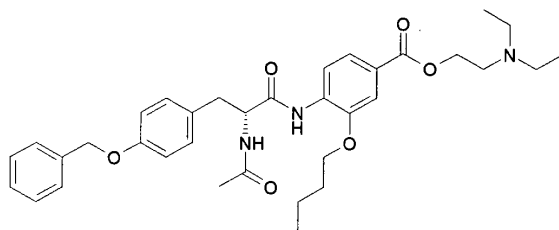
**Ejemplo 24**

El ejemplo 23 (7 mg) se trata con HCl 4N/dioxano como se describe para el intermedio 1A, y el producto se aísla como para el ejemplo 1 para obtener el ejemplo 24 (4 mg). LC: T<sub>r</sub> 1,87 min; EM: m/z 586 (M+H)<sup>+</sup>

**Ejemplo 25**

Se disuelven 20 mg del ejemplo 1 en piridina (100  $\mu$ l) y se trata con anhídrido acético (100  $\mu$ l) a ta y se agita durante 1 hora. La mezcla de reacción se añade con una mezcla de hielo/agua y se extrae con EtOAc. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con 5% de CuSO<sub>4</sub> acuoso, agua y salmuera y se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. La solución se filtra y el solvente se elimina al vacío para proporcionar el ejemplo 25 en forma de un sólido de color blanco pálido (15 mg). LC: T<sub>r</sub> 1,90 min; EM: m/z 548 (M+H)<sup>+</sup>

25

**Ejemplo 26**

Se disuelven 30 mg del ejemplo 4 en piridina (200  $\mu$ l) y se trata con anhídrido acético (150  $\mu$ l) a  $t_a$  y se agita durante 1 hora. La mezcla de reacción se trata con una mezcla de hielo/agua y se extrae con EtOAc. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron con 5% de  $\text{CuSO}_4$  acuoso, agua y salmuera y se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . El solvente se elimina al vacío para proporcionar el ejemplo 26 en forma de un sólido de color blanco pálido (25 mg).

LC:  $T_r$  1,97 min; EM:  $m/z$  604 (M+H)<sup>+</sup>

En los esquemas anteriores, "PG" representa un grupo protector amino. La expresión "grupo protector amino" tal como se usa en la presente memoria se refiere a los sustituyentes del grupo amino normalmente empleado para bloquear o proteger la funcionalidad amino mientras se hacen reaccionar otros grupos sobre el compuesto. Los ejemplos de estos grupos protectores amino incluyen el grupo formilo, el grupo tritilo, el grupo ftalimido, el grupo tricloroacetilo, los grupos cloroacetilo, bromoacetilo y yodoacetilo, los grupos bloqueadores del tipo uretano tales como benciloxicarbonilo, 4-fenilbenciloxicarbonilo, 2-metilbenciloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, 4-fluorobenciloxicarbonilo, 4-clorobenciloxicarbonilo, 3-clorobenciloxicarbonilo, 2-clorobenciloxicarbonilo, 2,4-diclorobenciloxicarbonilo, 4-bromobenciloxicarbonilo, 3-bromobenciloxicarbonilo, 4-nitrobenciloxicarbonilo, 4-cianobenciloxi-carbonilo, 2-(4-xenil)iso-propoxicarbonilo, 1,1-difenilet-1-iloxicarbonilo, 1,1-difenilprop-1-iloxicarbonilo, 2-fenilprop-2-iloxicarbonilo, 2-(p-toluil)prop-2-iloxicarbonilo, ciclopentaniloxicarbonilo, 1-metilciclopentaniloxicarbonilo, ciclohexaniloxicarbonilo, 1-metilciclohexaniloxicarbonilo, 2-metilciclohexaniloxicarbonilo, 2-(4-toluil)etoxicarbonilo, 2-(metilsulfonil)etoxicarbonilo, 2-(trifenilfosfino) etoxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo ("Fmoc"), t-butoxicarbonilo ("BOC"), 2-(trimetilsilil)etoxicarbonilo, aliloxicarbonilo, 1-(trimetilsililmetil)prop-1-eniloxicarbonilo, 5-bencisoxalilmetoxicarbonilo, 4-acetoxibenciloxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, 2-etinil-2-propoxicarbonilo, ciclopropilmetoxicarbonilo, 4-(deciloxi)benciloxicarbonilo, isoborniloxicarbonilo, 1-piperidiloxicarbonilo y similares; el grupo benzoilmetilsulfonilo, el grupo 2-(nitro) fenilsulfenilo, el grupo difenilfosfina óxido y los grupos amino protectores similares. La especie del grupo protector amino empleada no es crítica en la medida que el grupo amino derivado sea estable a la condición de las reacciones subsiguientes sobre otras posiciones del compuesto de fórmula (I) y se pueda eliminar en el punto deseado sin perturbar el resto de la molécula. Los grupos amino protectores preferidos son el aliloxicarbonilo, el t-butoxicarbonilo, 9-fluorenilmetoxicarbonilo, y los grupos tritilo. Los grupos amino protectores similares usado en la técnica de la cefalosporina, penicilina y péptido también están comprendidos en los términos anteriores. Otros ejemplos de grupos a los que se hace referencia mediante los términos anteriores se describen en J. W. Barton, "Protective Groups In Organic Chemistry", J. G. W. McOmie, Ed., Plenum Press, New York, N.Y., 1973, Capítulo 2, y T. W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley and Sons, New York, N.Y., 1981, Capítulo 7. El término relacionado "amino protegido" define un grupo amino sustituido con un grupo amino protector mencionado anteriormente.

En el Esquema 1, se pueden usar otros procedimientos para acoplar o acilar el aminoácido protegido al compuesto de fórmula  $\text{R}^4\text{NH}_2$ , por ejemplo DCC/HBT, HBTU, y BOP y otros procedimientos, incluyendo, aunque sin quedar limitados a los mencionados en: Fernando Albericio and Louis A. Carpino "Coupling Reagents and Activation" in Methods in Enzymology vol. 289 (Gregg B. Fields ed), páginas 104-126, Academic Press, San Diego, 1997.

**I. Ensayo biológico**

El siguiente procedimiento de ensayo se usa para identificar los compuestos de fórmula (I) que son eficaces en la unión con RAGE, y por lo tanto son útiles como moduladores, preferentemente antagonistas de RAGE. Este procedimiento además se describe y reivindica en la solicitud de prioridad estadounidense 09/799.152, para WO 01/92892.

**Procedimiento de ensayo general**

Se cargaron S100b,  $\beta$ -amiloide y CML (500 ng/100  $\mu$ l/pocillo en 100 mM de bicarbonato de sodio /buffer de carbonato de sodio (pH 9,8) en los pocillos de una placa microtítulo de 96 pocillos de fondo plano NUNC Maxisorp. La placa se incubó a 4°C durante toda la noche. Los pocillos se aspiran y se tratan con 50 mM de solución salina de buffer de imidazol (pH 7,2) (con 1mM de  $\text{CaCl}_2/\text{MgCl}_2$ ) que contiene 1% de albúmina de suero bovino (BSA) (300  $\mu$ l/pocillo) durante dos horas a 37°C. Los pocillos se aspiran y se lavan 3 veces (400  $\mu$ l/pocillo) con 155 mM de NaCl pH 7,2 solución salina de buffer y se embeben 10 segundos entre cada lavado.

## ES 2 373 557 T3

Los compuestos de ensayo se disuelven en agua nanopura (concentración: 10-100  $\mu\text{M}$ ). DMSO se puede usar como cosolvente. Se añaden 25  $\mu\text{l}$  de solución del compuesto de ensayo en 2% de DMSO, junto con 75  $\mu\text{l}$  de RAGEs ( $4,0 \times 10^{-4}$  mg/ml FAC) a cada pocillo y las muestras se incuban durante 1 hora a 37°C. Los pocillos se lavan 3 veces con 155 mM de NaCl pH 7,2 solución salina de buffer y se embeben 10 segundos entre cada lavado.

5 La unión no radioactiva se realiza añadiendo:

10  $\mu\text{l}$  de IgG antiratón F(ab')<sub>2</sub> de cabra biotilado. ( $8,0 \times 10^{-4}$  mg/ml, FAC)

10  $\mu\text{L}$  de Alk-phos-Sterptavidin ( $3 \times 10^{-3}$  mg/ml FAC) 10  $\mu\text{L}$  de anticuerpo policlonal para RAGEs (FAC  $6,0 \times 10^{-3}$  mg/ml) hasta 5 ml 50mM de solución salina de buffer de imidazol (pH 7,2) que contiene 0,2% de albúmina de suero bovino y 1 mM de CaCl<sub>2</sub>. La mezcla se incuba durante 30 minutos a 37°C. Se añade 100  $\mu\text{l}$  de complejo a cada pocillo y la incubación se deja proceder a ta durante 1 hora. Los pocillos se lavan 3 veces con buffer de lavado y se embeben 10 segundos entre cada lavado. Se añaden 100  $\mu\text{l}$  1 mg/ml (pNPP) en 1M de dietanolamina (pH ajustado hasta 9,8 con HCl). Se deja desarrollar el color en la oscuridad durante 1 hasta 2 horas a ta. La reacción se inactiva con 10  $\mu\text{l}$  de solución de detención (0,5 N NaOH en 50% de etanol) y la absorbancia se mide espectrofotométricamente con un lector de microplaca a 405 nm.

15 Los siguientes compuestos de formula 1 se sintetizaron de acuerdo con los esquemas y se ensayaron de acuerdo con el procedimiento de ensayo descrito anteriormente.

La IC<sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ ) del ensayo ELISA representa la concentración del compuesto en la cual la señal del 50% ha sido inhibida.

20 La inhibición del compuesto de la interacción de S-100b/RAGE en células Glioma por el ejemplo 1 (TTP5 1699) tuvieron una IC<sub>50</sub> de 3,3  $\mu\text{M}$ . De este modo, el ensayo basado en la célula mostró una correlación efectiva con la unión del valor de IC<sub>50</sub> de ELISA (1,75  $\mu\text{M}$ ).

Ensayo funcional IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )		
Ejemplo No.	Inhibición de NF- $\kappa$ B en células Glioma	Ensayo ELISA (S-100b)
1	3,3	1,75

sayo ELISA IC <sub>50</sub> ( $\mu\text{M}$ )			
Ejemplo No.	S-100b	Amiloide- $\beta$	carboximetil lisina (CML)
1	1,75	3,4	2,29
2	5,1	-	3,16
3	1,32	1,5	1,5
4	0,82	2,2	1,12
5	2,88	1,81	1,27
6	6,3	ND	ND
7	1-3	-	8
Continuación			
8	2,0	ND	ND
9	1,6	ND	ND
10	0,95	ND	ND
11	10-30	ND	ND
12	0,3-1,0	5	0,7
13	1	1	0,7
14	2,8	ND	ND



15	10-30	ND	ND
16	20-30	ND	ND
17	10	ND	ND
18	2,3	2	0,84
19	1,14	0,80	0,80
20	0,84	1	1
21	0,64	1,23	0,46
22	0,92	1,73	0,68
23	15,5	ND	ND
24	2,7	ND	ND
25	15	ND	ND
26	5,6	ND	ND
ND = Datos del ensayo ELISA no disponibles			

5 El término “composición farmacéutica” se usa en la presente memoria para denotar una composición que puede ser administrada a un huésped mamífero, por ej., por vía oral, tópica, parenteral, por spray para inhalación, o por vía rectal, en formulaciones de dosificación unitaria que contiene portadores, diluyentes, adyuvantes, vehículos no tóxicos convencionales, y similares. El término “parenteral” como se usa en la presente, incluye inyecciones subcutáneas, intravenosa, intramuscular, inyección intracisternal, o mediante técnicas de infusión.

10 Las composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de la invención pueden estar en forma adecuada para uso oral, por ejemplo, como comprimidos, pastillas, pastillas para chupar, suspensiones acuosas, u oleosas, polvos dispersables o gránulos, emulsiones, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. Las composiciones destinadas a uso oral pueden ser preparadas de acuerdo con cualquier procedimiento conocido, y estas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados del grupo que consiste en agentes endulzantes, agentes saborizantes, agentes colorantes, y agentes conservantes a fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente adecuadas y de buen sabor. Los comprimidos pueden contener el ingrediente activo mezclado con excipientes farmacéuticamente aceptables no tóxicos que son adecuados para la producción de comprimidos. 15 Estos excipientes pueden ser por ejemplo, diluyentes inertes, tales como carbonato de calcio, carbonato de sodio, lactosa, fosfato de calcio o fosfato de sodio; agentes de granulación o desintegrantes, por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico; agentes aglutinantes, por ejemplo, almidón, gelatina, o acacia; y agentes lubricantes, por ejemplo, estearato de magnesio, ácido esteárico o talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden ser recubiertos mediante técnicas conocidas para retardar la desintegración y absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar de este modo una acción sostenida durante un período más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo temporal tal como gliceril monoestearato o gliceril distearato. Además se pueden recubrir mediante las técnicas que se describen en las Patentes Estadounidenses Nos. 4.356.108; 4.166.452; y 4.265.874, que se incorporan a la presente por referencia, para formar comprimidos terapéuticos osmóticos para liberación controlada.

25 Las formulaciones para uso oral además pueden estar presentes como cápsulas de gelatina dura donde el ingrediente activo se mezcla con un diluyente inerte sólido, por ejemplo, carbonato de calcio, fosfato de calcio o caolín, o cápsulas de gelatina blanda en las cuales el ingrediente activo se mezcla con agua o un medio oleoso, por ejemplo, aceite de maní, parafina líquida o aceite de oliva.

30 Las suspensiones acuosas pueden contener los compuestos activos mezclados con excipientes adecuados para la producción de suspensiones acuosas. Estos excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, tragacanto de goma, y goma acacia; agentes de dispersión o humectantes pueden ser un fosfátido que se produce en forma natural tal como lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo, polioxietileno estearato, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo heptadecaetil-enoxicetanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol tal como polioxietileno sorbitol monooleato, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo polietileno sorbitán monooleato. Las suspensiones acuosas además pueden contener uno o más agentes colorantes, uno o más agentes saborizantes, y uno o más agentes endulzantes, tales como sacarosa o sacarina.

40 Las suspensiones oleosas se pueden formular suspendiendo el ingrediente activo en un aceite vegetal, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco, o en un aceite mineral tal como una

parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, por ejemplo cera de abejas, parafina dura o alcohol cetílico. Los agentes endulzantes tales como los que se establecieron anteriormente, y los agentes saborizantes se pueden agregar para proporcionar una preparación oral sabrosa. Estas composiciones pueden ser conservadas mediante la adición de un antioxidante tal como ácido ascórbico.

5 Los polvos dispersables y los gránulos adecuados para la preparación de una suspensión acuosa por la adición de agua proporcionan el compuesto activo mezclado con un agente de dispersión o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes de dispersión o humectantes adecuados y los agentes de suspensión se ejemplifican mediante los ya mencionados anteriormente. Además pueden estar presentes excipientes adicionales, por ejemplo, agentes endulzantes, saborizantes y colorantes.

10 Las composiciones farmacéuticas además pueden estar en la forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo una parafina líquida, o una mezcla de los mismos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas que se producen en forma natural, por ejemplo goma acacia o goma tragacanto, fosfátidos que se producen en forma natural, por ejemplo, soja, lecitina y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, sorbitán monooleato, y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, por ejemplo polioxietileno sorbitán monooleato. Las emulsiones además pueden contener agentes endulzantes y saborizantes.

Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes endulzantes, por ejemplo glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Estas formulaciones además pueden contener un emoliente, un conservantes y agentes saborizantes y colorantes. Las composiciones farmacéuticas pueden estar en la forma de una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. Esta suspensión se puede formular de acuerdo con los procedimientos conocidos usando los agentes de dispersión o humectantes adecuados y los agentes de suspensión descriptos anteriormente. La preparación inyectable estéril además puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente aceptable para uso parenteral no tóxico, por ejemplo en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear son agua, solución de Ringer, y solución de cloruro de sodio isotónico. Además, los aceites fijos estériles se emplean en forma conveniente como medio de suspensión o solvente. A este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo blando que use mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los aceites grasos tales como el ácido oleico encuentran su uso en la preparación de inyectables.

Las composiciones además pueden tener la forma de supositorios para administración rectal de los compuestos de la invención. Estas composiciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado el cual es sólido a temperaturas ordinarias pero líquido a la temperatura rectal y de este modo se ablandará en el recto para liberar el fármaco. Estos materiales incluyen manteca cacao y polietilenglicoles, por ejemplo.

Para uso tópico, se contemplan cremas, ungüentos, jaleas, soluciones de suspensiones, etc. que contienen los compuestos de la invención. A los fines de esta solicitud, las aplicaciones tópicas deben incluir enjuagues bucales y para hacer gárgaras.

Los compuestos de la presente invención además se pueden administrar en la forma de sistemas de administración de liposomas, tales como pequeñas vesículas unilamelares, vesículas unilamelares grandes, y vesículas multilamelares. Los liposomas se pueden formar a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina, o fosfatidilcolinas. Además se proporcionan mediante la presente invención los profármacos de la invención.

El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales no tóxicas de los compuestos de esta invención que en general se preparan haciendo reaccionar la base libre con un ácido orgánico o inorgánico adecuado o haciendo reaccionar el ácido con una base orgánica o inorgánica adecuada. Las sales representativas incluyen las siguientes sales: Acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, edetato de calcio, camsilato, carbonato, cloruro, clavulanato, citrato, diclorhidrato, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicollilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaftoato, yoduro, isetionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilbromuro, metilnitrito, metilsulfato, monopotasio maleato, mucato, napsllato, nitrato, N-metilglucamina, oxalato, pamoato (embonato), palmitato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, potasio, salicilato, sodio, estearato, subacetato, succinato, tannato, tartrato, teoclato, tosilato, trietioduro, trimetilamonio y valerato. Cuando un sustituyente ácido está presente, tal como  $-COOH$ , puede formarse la sal de amonio, morfolinio, sodio, potasio, bario, calcio, y similares, para su uso en forma de dosificación. Cuando un grupo básico está presente, tal como amino o un radical heteroarilo básico, tal como piridilo, una sal ácida, tal como clorhidrato, bromhidrato, fosfato, sulfato, trifluoroacetato, tricloroacetato, acetato, oxalato, piruvato, malonato, succinato, citrato, tartrato, fumarato, mandelato, benzoato, cinnamato, metanosulfonato, etanosulfonato, picrato y similares, e incluyen ácidos relacionados con las sales farmacéuticamente aceptables mencionadas en the Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2 (1977) págs. 1-19.

Los compuestos de la presente invención actúan en forma selectiva como moduladores de la unión de RAGE a un ligando endógeno único, es decir, moduladores selectivos de la interacción de  $\beta$ -amiloide – RAGE, y por lo tanto son especialmente ventajosos en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y demencias relacionadas.

5 Además, los compuestos de la presente invención actúan como moduladores de la interacción de RAGE con dos o más ligandos endógenos en preferencia a otros. Estos compuestos son ventajosos en el tratamiento de patologías relacionadas o no relacionadas mediadas por RAGE, es decir enfermedad de Alzheimer y cáncer.

10 Además, los compuestos de la presente invención actúan como moduladores de la unión de RAGE a uno y todos sus ligandos, evitando de este modo la generación de tensión oxidativa y la activación de los genes NF- $\kappa$ B regulados, tales como las citoquinas IL-1 y TNF- $\alpha$ . De este modo, al antagonizar la unión de los ligandos fisiológicos a RAGE se evitan las consecuencias patofisiológicas localizadas y útiles para el manejo o tratamiento de enfermedades, es decir, la interacción AGE-RAGE que conduce a las complicaciones diabéticas, la interacción S100/EN-RAGE/calgranulin-RAGE que conduce a las enfermedades inflamatorias, la interacción  $\beta$ -amiloide-RAGE que conduce a la enfermedad de Alzheimer, y la interacción amphoterin-RAGE que conduce al cáncer.

### I. RAGE y las complicaciones de diabetes

15 Como se observó anteriormente, los compuestos de la presente invención son útiles en el tratamiento de las complicaciones de diabetes. Se ha demostrado que la glicosilación no enzimática de las macromoléculas que finalmente dan por resultado la formación de productos finales avanzados de la glicación (AGEs) se intensifica en los sitios de inflamación, en la insuficiencia renal, en presencia de hiperglucemia y otras afecciones que están asociadas con la tensión oxidante sistémica o local (Dyer, D., et al., J. Clin. Invest., 91: 2463-2469 (1993); Reddy, S., et al., Biochem., 34:10872-10878 (1995); Dyer, D., et al., J. Biol. Chem., 266:11654-11660 (1991); Degenhardt, T., et al., Cell Mol. Biol., 44:1139-1145 (1998)). La acumulación de AGEs en la vasculatura puede producirse en forma focal, como la unión amiloide compuesta de AGE- $\beta_2$ -microglobulina hallada en pacientes con amiloidosis relacionada con diálisis (Miyata, T., et al., J. Clin. Invest., 92:1243-1252 (1993); Miyata, T., et al., J. Clin. Invest., 98:1088-1094 (1996)), o en general, como se ejemplifica por la vasculatura y los tejidos de los pacientes con diabetes (Schmidt, A-M., et al., Nature Med., 1:1002-1004 (1995)). La acumulación progresiva de AGEs en el tiempo en pacientes con diabetes sugiere que los mecanismos de aclaramiento endógeno no pueden funcionar en forma efectiva en los sitios de deposición de AGE. Estos AGEs acumulados tienen la capacidad de alterar las propiedades celulares mediante una cantidad de mecanismos. Si bien RAGE se expresa en niveles bajos en tejidos y vasculatura normales, en un ambiente donde los ligandos del receptor se acumulan, se ha demostrado que RAGE se torna regulado por aumento (Li, J. et al., J. Biol. Chem., 272:16498-16506 (1997); Li, J., et al., J. Biol. Chem., 273: 30870-30878 (1998); Tanaka, N., et al., J. Biol. Chem., 275:25781-25790(2000)). La expresión de RAGE se incrementa en el endotelio, las células del músculo liso y los fagocitos mononucleares de infiltración en la vasculatura diabética. Además, los estudios en el cultivo celular han demostrado que la interacción AGE-RAGE originó cambios en las propiedades celulares importantes en la homeostasis vascular.

### 35 II. RAGE y disfunción celular en la amiloidosis

Además como se observó anteriormente, los compuestos de la presente invención son útiles en el tratamiento de la amiloidosis y la enfermedad de Alzheimer. RAGE parece ser un receptor de la superficie celular el cual se une al material fibrilar de la lámina  $\beta$  sin tomar en cuenta la composición de las subunidades (amiloide- $\beta$  péptido, A $\beta$ , amylin, amiloide A suero, péptido derivado de prion) (Yan, S. -D., et al., Nature, 382: 685-691 (1996); Yan, S-D., et al., Nat. Med., 6:643-651 (2000)). La deposición de amiloide ha demostrado que da por resultado una expresión mejorada de RAGE. Por ejemplo, en el cerebro de pacientes con la enfermedad de Alzheimer (AD), la expresión de RAGE aumenta en las neuronas y glía (Yan, S. -D., et al., Nature 382:685-691 (1996)). Las consecuencias de la interacción de A con RAGE parecen bastante diferentes sobre las neuronas en comparación con la microglía. Mientras que la microglía se activa como consecuencia de la interacción de A $\beta$ -RAGE, como se refleja por el aumento de motilidad y la expresión de citoquinas, la activación neuronal mediada por RAGE temprana es suplantada por la citotoxicidad en momentos posteriores. Otra prueba de un rol para RAGE en las interacciones celulares de A $\beta$  se refiere a la inhibición de la vasoconstricción cerebral inducida por A $\beta$  y la transferencia del péptido a través de la barrera hematoencefálica al parénquima cerebral cuando el receptor se bloqueó (Kumar, S., et al., Neurosci. Program, p141-#275.19 (2000)). La inhibición de la interacción RAGE-amiloide ha demostrado que disminuye la expresión de RAGE celular y los marcadores de tensión celular (como también la activación de NF- $\kappa$ B), y disminuye la deposición de amiloide Yan, S-D., et al., Nat. Med., 6:643-651 (2000)) sugiriendo un rol para la interacción de RAGE-amiloide tanto en la perturbación de las propiedades celulares en un ambiente enriquecido para amiloide (aun en etapas tempranas) como también en la acumulación de amiloide.

### III. RAGE y Propagación de la respuesta inmune/inflamatoria

55 Como se observó anteriormente, los compuestos de la presente invención son útiles para tratar la inflamación. Por ejemplo, S100/calgranulins han demostrado comprender una familia de polipéptidos de unión al calcio íntimamente relacionados caracterizados por dos regiones mano EF unidas mediante un péptido conector (Schafer, B. et al., TIBS, 21:134-140 (1996); Zimmer, D., et al., Brain Res. Bull., 37:417-429 (1995); Rammes, A., et al., J. Biol. Chem., 272:9496-9502.(1997); Lugerling, N., et al., Eur. J. Clin. Invest., 25:659-664 (1995)). Si bien carecen de péptidos de

señal, se ha conocido durante mucho tiempo que Las S100/calgranulins tienen acceso al espacio extracelular, especialmente en los sitios de respuestas crónicas inmunes/inflamatorias, como en la fibrosis cística y la artritis reumatoide. RAGE es un receptor para muchos miembros de la familia S100/calgranulin, que media sus efectos proinflamatorios sobre células tales como los linfocitos y los fagocitos mononucleares. Además, estudios sobre la respuesta de hipersensibilidad del tipo retardada, colitis en ratones desnudos IL-10, artritis inducida por colágeno, y modelos de encefalitis autoinmune experimentales sugieren que la interacción RAGE-ligando (presumiblemente con S100/calgranulins) tiene un rol proximal en la cascada inflamatoria.

#### IV. RAGE y Amphoterin

Como se observó anteriormente, los compuestos de la presente invención son útiles para tratar tumores y metástasis de tumores. Por ejemplo, amphoterin es una proteína de unión al ADN cromosómica no histona del grupo I de alta movilidad (Rauvala, H., et al., *J. Biol. Chem.*, 262:16625-16635 (1987); Parkikinen, J., et al., *J. Biol. Chem.* 268:19726-19738 (1993)) la cual ha demostrado interactuar con RAGE. Se ha demostrado que la amphoterin promueve el crecimiento de neuritas, como también es de utilidad como superficie para el ensamble de los complejos de proteasa en el sistema fibrinolítico (también conocido por contribuir a la movilidad celular). Además, se ha observado un efecto inhibitor del crecimiento del tumor local para bloquear RAGE en un modelo de tumor primario (C6 glioma), el modelo de metástasis de pulmón Lewis (Taguchi, A., et al., *Nature* 405:354-360 (2000)), y papilomas que surgen espontáneamente en ratones que expresan el transgen v-Ha-ras (Leder, A., et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 87:9178-9182 (1990)).

Amphoterin es una proteína de unión al ADN cromosómica no histona del grupo I de alta movilidad (Rauvala, H. and R. Pihlaskari. 1987. Isolation and some characteristics of an adhesive factor of brain that enhances neurite outgrowth in central neurons. *J. Biol. Chem.* 262:16625-16635. (Parkikinen, J., E. Raulo, J. Merenmies, R. Nolo, E. Kajander, M. Baumann, and H. Rauvala. 1993. Amphoterin, the 30 kDa protein in a family of HIMG1-type polypeptides. *J. Biol. Chem.* 268:19 726-19738).

#### V. RAGE y disfunción eréctil

La relajación de las células del músculo liso en las arteriolas y senos cavernosos da por resultado el aumento del flujo sanguíneo en el pene, elevando la presión en corpora cavernosa para culminar la erección del pene. El óxido nítrico se considera el principal estimulador de la relajación del músculo liso cavernoso (Véase Wingard CJ, Clinton W, Branam H, Stopper VS, Lewis RW, Mills TM, Chitale K. Antagonism of Rho-kinase stimulates rat penile erection via a nitric oxide-independent pathway *Nature Medicine* 2001 Jan;7(1):119-122). La activación de RAGE produce oxidantes (Véase Yan, S-D., Schmidt A-M., Anderson, G., Zhang, J., Brett, J., Zou, Y-S., Pinsky, D., and Stern, D. Enhanced cellular oxidant stress by the interaction of advanced glycation endproducts with their receptors/binding proteins. *J. Biol. Chem.* 269:9889-9887, 1994.) mediante una enzima del tipo NADH oxidasa, suprimiendo por lo tanto la circulación del óxido nítrico. Potencialmente al inhibir la activación de las vías de señalización de RAGE disminuyendo la producción intracelular de AGEs, la generación de oxidantes se verá atenuada. Los bloqueadores de RAGE pueden promover y facilitar la erección del pene bloqueando el acceso de los ligandos a RAGE.

La vía Rho-quinasa sensible al calcio puede cumplir un rol sinérgico en la vasoconstricción cavernosa para mantener la flaccidez del pene. El antagonismo de Rho-quinasa da por resultado el aumento de la presión en corpora cavernosa, iniciando la respuesta eréctil independientemente del óxido nítrico (Wingard et al.). Uno de los mecanismos de señalización activado por RAGE involucra la familia Rho-quinasa tal como cdc42 y rac (Véase Huttunen HJ, Fages C, Rauvala H. Receptor for advanced glycation end products (RAGE)-mediated neurite outgrowth and activation of NF-kappaB require the cytoplasmic domain of the receptor but different downstream signaling pathways. *J Biol Chem* 1999 Jul 9;274(28):19919-24). De este modo, al inhibir la activación de Rho-quinasa mediante la supresión de las vías de señalización de RAGE se intensificará y estimulará la erección del pene independientemente del óxido nítrico.

De este modo, la presente invención proporciona composiciones adecuadas para tratar una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en inflamación aguda y crónica, permeabilidad vascular, neuropatía, aterosclerosis, retinopatía, enfermedad de Alzheimer, disfunción eréctil, e invasión del tumor y/o metástasis, las cuales comprenden administrar a un sujeto que lo necesita un compuesto de la presente invención, preferentemente una cantidad eficaz para uso farmacológico, más preferentemente una cantidad eficaz para uso terapéutico. La presente invención proporciona compuestos adecuados para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades humanas mediadas por RAGE, comprendiendo el tratamiento el alivio de uno o más síntomas que surgen de ese trastorno, para una cura total de ese trastorno particular o la prevención del inicio del trastorno, mediante la administración a un humano que lo necesita de una cantidad eficaz para uso terapéutico de un compuesto de la presente invención.

Los factores que tendrán influencia en lo que constituye una cantidad eficaz dependerán del tamaño y el peso del sujeto, la biodegradabilidad del agente terapéutico, la actividad del agente terapéutico, como también su biodisponibilidad. Tal como se usa en la presente, la frase "un sujeto que lo necesita" incluyen sujetos mamíferos, preferentemente humanos, quienes o bien sufren de una o más de las enfermedades antes mencionadas o los estados de enfermedad o están en riesgo de sufrirlas. En consecuencia, los compuestos de la invención se pueden

usar para tratar un sujeto mamífero profilácticamente, o antes del inicio del diagnóstico de dichas enfermedades o estados de enfermedad.

En otro aspecto de la presente invención, los moduladores RAGE de la invención se usan en tratamientos terapéuticos adyuvantes o tratamientos terapéuticos combinados con otros agentes terapéuticos conocidos.

- 5 El término "tratamiento" tal como se usa en la presente, se refiere al espectro completo de tratamientos para un trastorno dado del cual está sufriendo el paciente, incluyendo el alivio de uno, la mayoría de todos los síntomas que surgen de ese trastorno, para una cura total para el trastorno particular o la prevención del inicio del trastorno.

El siguiente es un listado no exhaustivo de adyuvantes y agentes terapéuticos adicionales que se pueden usar en combinación con los moduladores RAGE de la presente invención.

10 Clasificaciones farmacológicas de agentes anticancerígenos:

1. Agentes alquilantes: ciclofosfamida, nitrosoureas, carboplatino, cisplatino, procarbazona
2. Antibióticos: belomicin, daunorubicin, doxorubicin
3. Antimetabolitos: metotrexato, citarabine, fluorouracilo
4. Alcaloides vegetales: vinblastina, vincristina, etoposide, paclitaxel,

15 5. Hormonas: tamoxifeno, octreotide acetato, finasteride, flutamida

6. Modificadores de la respuesta biológica: interferones, interleuquinas,

Clasificaciones farmacológicas de tratamiento para la artritis reumatoide (inflamación)

1. Analgésicos: aspirina
2. NSAIDs (fármacos antiinflamatorios no esteroideos): ibuprofeno, naproxeno, diclofenac
- 20 3. DMARDs (fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad): metotrexato, preparaciones de oro, hidroxicloroquina, sulfasalazina
4. Modificadores de la respuesta biológica, DMARDs: etanercept, infliximab glucocorticoides

Clasificaciones farmacológicas de tratamiento para la diabetes mellitus

1. Sulfonilureas: tolbutamida, tolazamida, gliburida, glipizida
- 25 2. Biguanidas: Metformina
3. Agentes orales varios: acarbose, troglitazone
4. Insulina

Clasificaciones farmacológicas de tratamiento para la enfermedad de Alzheimer

1. Inhibidor de colinesterasa: tacrina, donepezil
- 30 2. Antisicóticos: haloperidol, tioridazina
3. Antidepresivos: desipramina, fluoxetina, trazodone, paroxetina
4. Anticonvulsivos: carbamazepina, ácido valproico

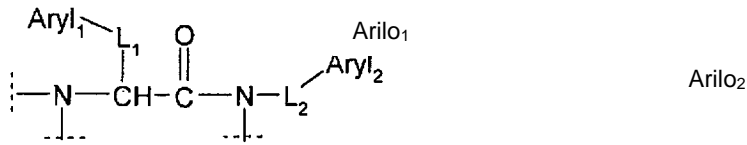
Hablando en general, el compuesto de la presente invención, se administra a un nivel de dosificación desde 0,01 hasta 500 mg/kg de peso corporal del sujeto que se trata, con un intervalo de dosificación preferido entre 0,01 y 200 mg/kg, más preferentemente 0,1 hasta 100mg/kg de peso corporal por día. La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales vehiculares para producir una única dosificación variará dependiendo del huésped tratado y el modo particular de administración. Las formas unitarias de dosificación contendrán en general entre desde aproximadamente 5 mg hasta aproximadamente 500 mg de ingrediente activo. Esta dosificación debe ser individualizada por el profesional actuante sobre la base de la afección clínica específica del sujeto que se trata. De este modo, se entenderá que el nivel de dosificación específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo, la dieta, el tiempo de administración, la vía de administración, la velocidad de excreción, la combinación del fármaco y la severidad de la enfermedad particular que se somete a terapia.

35

40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto para su uso como medicamento para inhibir la interacción del receptor para los productos finales avanzados de la glicación (RAGE) con sus ligandos fisiológicos, que comprende al menos un resto de la fórmula



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub> son cada uno un grupo hidrocarburo de 1 a 6 carbonos o un enlace directo, y arilo<sub>1</sub> y arilo<sub>2</sub> son arilo, en los que cada uno de arilo<sub>1</sub> y arilo<sub>2</sub> está sustituido por al menos un grupo lipófilo.

- 10 2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el grupo lipófilo se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilarilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o alcoxiarilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2 para tratar un estado de enfermedad seleccionado del grupo que consiste en permeabilidad vascular, nefropatía, aterosclerosis, retinopatía, enfermedad de Alzheimer, disfunción eréctil, e invasión tumoral y/o metástasis.
- 15 4. Uso para la fabricación de un medicamento para inhibir la interacción del receptor para los productos finales avanzados de la glicación (RAGE) con sus ligandos fisiológicos, de un compuesto que comprende al menos un resto de la fórmula



20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub> son cada uno un grupo hidrocarburo de 1 a 6 carbonos o un enlace directo, y arilo<sub>1</sub> y arilo<sub>2</sub> son arilo, en los que cada uno de arilo<sub>1</sub> y arilo<sub>2</sub> están sustituidos por al menos un grupo lipófilo.

5. Uso de acuerdo con la reivindicación 4, en el que el grupo lipófilo se selecciona de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquilarilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o alcoxiarilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>.
- 25 6. Un uso de acuerdo con la reivindicación 4 o la reivindicación 5 en la fabricación de un medicamento para tratar un estado de enfermedad seleccionado del grupo que consiste en permeabilidad vascular, nefropatía, aterosclerosis, retinopatía, enfermedad de Alzheimer, disfunción eréctil, e invasión tumoral y/o metástasis.