

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 394 480**

51 Int. Cl.:

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

C07C 229/08 (2006.01)

A61K 31/422 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2006 E 06716026 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **07.11.2007 EP 1851214**

54 Título: **Derivado de isoxazolina y nuevo procedimiento para su preparación**

30 Prioridad:

26.02.2005 KR 20050016203

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

01.02.2013

73 Titular/es:

**LG LIFE SCIENCES LTD. (100.0%)
LG TWIN TOWER, EAST TOWER, 20, YOIDO-
DONG, YOUNGDUNGPO-GU
SEOUL 150-010, KR**

72 Inventor/es:

**SHIN, HYUN IK ;
CHOI, HYEONG WOOK;
HEO, TAE HO;
LEE, KYU WOONG;
LEE, JAE HOON y
PARK, KI SOOK**

74 Agente/Representante:

AZNÁREZ URBIETA, Pablo

ES 2 394 480 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

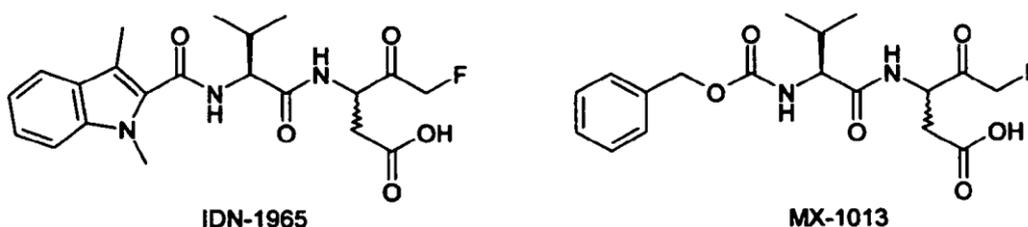
Derivado de isoxazolina y nuevo procedimiento para su preparación.

CAMPO TÉCNICO

- 5 La presente invención se refiere a un derivado de isoxazolina que tiene una fracción hemiacetal de ácido carboxílico cíclico para su uso como inhibidor de caspasas, a un procedimiento para preparar dicho derivado, a una composición farmacéutica que lo contiene y a la utilización del mismo.

ANTECEDENTES DE LA INVENCÓN

- 10 El concepto "inhibidor de caspasas" se refiere a un compuesto que puede inhibir la actividad caspasa, regulando así la inflamación o la apoptosis causada por la función de las caspasas. Entre los inhibidores caspasa, se conocen inhibidores irreversibles que muestran una actividad de inhibición más eficaz, ya que inactivan de forma irreversible una enzima de control de la apoptosis (Wu J. y col., *Methods: A Companion to Methods in Enzymology* 1999, 17, 320). Los siguientes compuestos son conocidos como inhibidores irreversibles y tienen en común una parte ácido 3-amino-5-fluor-4-oxopentanoico.



- 15 Las enfermedades que pueden ser tratadas o aliviadas mediante la administración de los compuestos arriba mostrados incluyen: artritis reumatoide, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad injerto contra huésped, septicemia, osteoartritis, osteoporosis, leucemia mielógena aguda y crónica, meningitis, salpingitis, shock séptico, colangitis, colitis, encefalitis, endocarditis, glomerulonefritis, hepatitis, miocarditis, pancreatitis, diabetes mellitus de tipo I, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, cirrosis hepática, etc.

20 Referencias:

- Demencia: *Arch Neurol*, marzo de 2003; 60(3): 369-76, Caspase gene expression in the brain as a function of the clinical progression of Alzheimer disease. Pompl PN, Yemul S, Xiang Z, Ho L, Haroutunian V, Purohit D, Mohs R, Pasinetti GM.;
- Accidente cerebrovascular: *Proc Natl Acad Sci USA*, 12 de noviembre de 2002; 99(23): 15188-93, Caspase activation and neuroprotection in caspase-3-deficient mice after in vivo cerebral ischemia and in vitro oxygen glucose deprivation. Le DA, Wu Y, Huang Z, Matsushita K, Plesnila N, Augustinack JC, Hyman BT, Yuan J, Kuida K, Flavell RA, Moskowitz MA.;
- 25 Discapacidad cerebral debida al SIDA: *J Neurosci*, 15 de mayo de 2002; 22(10): 4015-24, Caspase cascades in human immunodeficiency virus-associated neurodegeneration. Garden GA, Budd SL, Tsai E, Hanson L, Kaul M, D'Emilia DM, Friedlander RM, Yuan J, Masliah E, Lipton SA.;
- 30 Diabetes: *Diabetes*, junio de 2002; 51(6): 1938-48, Hyperglycemia-induced apoptosis in mouse myocardium: mitochondrial cytochrome C-mediated caspase-3 activation pathway. Cai L, Li W, Wang G, Guo L, Jiang Y, Kang YJ.;
- Úlcera gástrica: *J Physiol Pharmacol*, diciembre de 1998; 49(4): 489-500, Role of basic fibroblast growth factor in the suppression of apoptotic caspase-3 during chronic gastric ulcer healing. Slomiany BL, Piotrowski J, Slomiany A.;
- 35 Lesión cerebral por hepatitis: *J Viral Hepat*, marzo de 2003; 10(2): 81-6, Cerebral dysfunction in chronic hepatitis C infection. Forton DM, Taylor-Robinson SD, Thomas HC.;
- Fallo hepático fulminante: *Gastroenterology*, agosto de 2000; 119(2): 446-60, Tumor necrosis factor alpha in the pathogenesis of human and murine fulminant hepatic failure. Streetz K, Leifeld L, Grundmann D, Ramakers J, Eckert K, Spengler U, Brenner D, Manns M, Trautwein C.;
- 40 Septicemia: *Nat Immunol*, diciembre de 2000; 1(6): 496-501, Caspase inhibitors improve survival in sepsis: a critical role of the lymphocyte. Hotchkiss RS, Chang KC, Swanson PE, Tinsley KW, Hui JJ, Klender P, Xanthoudakis S, Roy S, Black C, Grimm E, Aspiotis R, Han Y, Nicholson DW, Karl IE.;
- Rechazo de trasplantes de órganos: *Xenotransplantation*, mayo de 2001; 8(2): 115-24, In vitro prevention of cell-mediated xeno-graft rejection via the Fas/FasL-pathway in CrmA-transduced porcine kidney cells. Fujino M, Li XK, Suda

T, Hashimoto M, Okabe K, Yaginuma H, Mikoshiba K, Guo L, Okuyama T, Enosawa S, Amemiya H, Amano T, Suzuki S.;

Artritis reumatoide: Prog Med Chem 2002; 39: 1-72, Caspase inhibitors as antiinflammatory and antiapoptotic agents. Graczyk PP.;

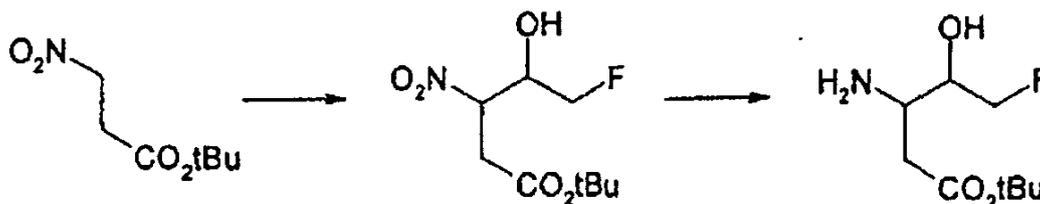
- 5 Enfermedades cardíacas isquémicas: Am J Physiol Heart Circ Physiol, septiembre de 2002; 283(3): H990-5, Hypoxia-induced cleavage of caspase-3 and DFF45/ICAD in human failed cardiomyocytes. Todor A, Sharov VG, Tanhehco EJ, Silverman N, Bernabei A, Sabbah HN.;

10 Antiinflamatorios: J Immunol, 15 de marzo de 2003; 170(6): 3386-91, A broad-spectrum caspase inhibitor attenuates allergic airway inflammation in murine asthma model. Iwata A, Nishio K, Winn RK, Chi EY, Henderson WR Jr, Harlan JM.;

15 Cirrosis hepática: i) J Pharmacol Exp Ther., marzo de 2004; 308(3): 1191-6, The caspase inhibitor Idn-6556 attenuates hepatic injury and fibrosis in the bile duct ligated mouse. Canbay A., Fledstein A., Baskin-Bey E., Bronk FS, Gores GJ.; ii) Hepatology, febrero de 2004; 39(2): 273-8, Apoptosis: the nexus of liver injury and fibrosis. Canbay A, Friedman S, Gores GJ.; iii) Hepatology, noviembre de 2003; 38(5): 1188-98, Kupffer cell engulfment of apoptotic bodies stimulates death ligand and cytokine expression. Canbay A, Feldstein AE, Higuchi H, Werneburg N, Grambihier A, Bronk SF, Gores GJ.]

Por otro lado, en la técnica es conocido un proceso para la preparación de la fracción ácido 3-amino-5-fluor-4-oxopentanoico inhibidor de caspasa tal como el correspondiente al siguiente Esquema de Reacción 1 (Revesz y col., Tetrahedron Lett. 1994, 35, 9693):

20 Esquema de Reacción 1



El documento WO 01/21599 da a conocer compuestos de isoxazolina inhibidores de caspasas.

SUMARIO DE LA INVENCION

- 25 Los presentes inventores han continuado estudiando un compuesto que puede ser utilizado como un eficaz inhibidor de caspasas y un procedimiento para su preparación.

Como resultado, han descubierto que el derivado de isoxazolina con una fracción hemiacetal de ácido carboxílico cíclico de acuerdo con la presente invención presenta una buena actividad como inhibidor de caspasas y se puede preparar con una alta pureza empleando una transformación dinámica inducida por cristalización, para completar la presente invención.

- 30 Por consiguiente, un objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto de la fórmula (1) mostrada más abajo con la estructura isoxazolina y fracciones hemiacetal de ácido carboxílico cíclico, y un nuevo procedimiento para la preparación eficaz de dicho compuesto.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un derivado amina de la fórmula (4) mostrada más abajo, un producto intermedio para el compuesto de la fórmula (1) mostrada más abajo y un procedimiento para su preparación.

- 35 Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica para tratar la inflamación o para prevenir la apoptosis que comprende el compuesto de la fórmula (1) mostrada más abajo, así como excipientes farmacéuticamente aceptables.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar un uso del compuesto de la fórmula (1) mostrada más abajo para la preparación de un medicamento para tratar la inflamación o prevenir la apoptosis.

- 40 Otro objeto de la presente invención es proporcionar una forma cristalina del compuesto de la fórmula (1) mostrada más abajo, de alta estabilidad.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Fig. 1: espectro de difracción de rayos X de la forma cristalina del compuesto de fórmula (1) (R^1 = isoquinolinilo, R^2 = isopropilo) de acuerdo con la presente invención.

5 Fig. 2: gráfico que muestra los resultados de la prueba de estabilidad de la forma cristalina y la forma amorfa de compuesto de fórmula (1) (R^1 = isoquinolinilo, R^2 = isopropilo) de acuerdo con la presente invención.

DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

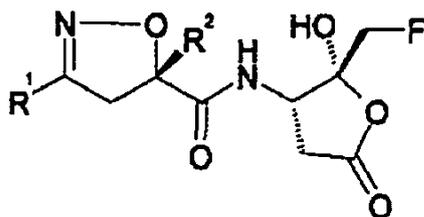
Términos importantes utilizados en la presente invención se definen tal como se indica a continuación.

En las fórmulas y esquemas de reacción utilizados en la presente invención, alquilo se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado de 1 a 8 átomos de carbono o a un grupo cicloalquilo de 3 a 10 átomos de carbono.

10 Un grupo aromático se refiere a hidrocarburos insaturados de 5 a 15 miembros en forma cíclica simple o fusionada, refiriéndose los grupos heteroaromáticos a grupos aromáticos que tienen de 1 a 5 heteroátomos seleccionados de entre el grupo consistente en oxígeno, azufre y nitrógeno.

15 Además, uno o más hidrógenos de los alquilo y arilo pueden sustituirse por otros sustituyentes. Por ejemplo, los sustituyentes se pueden seleccionar entre acilo, amino, carboalcoxi, carboxi, carboxiamino, ciano, halo, hidroxi, nitro, tiol, alquilo, cicloalquilo, alcoxi, ariloxi, sulfoxi, guanido, etc.

La presente invención se refiere a un derivado de isoxazolina que tiene una fracción hemiacetal de ácido carboxílico cíclico de la siguiente fórmula (1) a utilizar como inhibidor de caspasas:



(1)

donde

20 R^1 es alquilo o un grupo aromático, un grupo heteroaromático y sus derivados parcialmente reducidos, y

R^2 es alquilo.

Preferentemente

R^1 es isoquinolinilo, quinolinilo o naftilo y

R^2 es metilo, etilo, propilo o butilo.

25 De forma especialmente preferente R^1 es isoquinolinilo y R^2 es isopropilo.

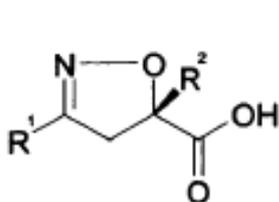
El compuesto de fórmula (1) donde R^1 es isoquinolinilo y R^2 es isopropilo puede existir en una forma cristalina que tiene el siguiente patrón de difracción de rayos X

D (X)	Intensidad relativa (I/I ₀)	Ángulo 2θ
9,665	0,555	9,15
7,284	0,397	12,15
5,825	0,260	15,21
5,563	0,228	15,93
5,372	0,302	16,50
4,840	1,000	18,33
4,695	0,477	18,90

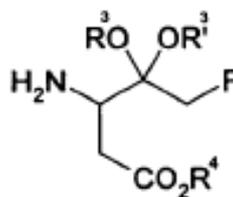
D (X)	Intensidad relativa (I/I ₀)	Ángulo 2θ
4,341	0,454	20,46
3,663	0,230	24,30
3,414	0,219	26,10

Además, la presente invención se refiere a un proceso para preparar el compuesto de fórmula (I), que comprende:

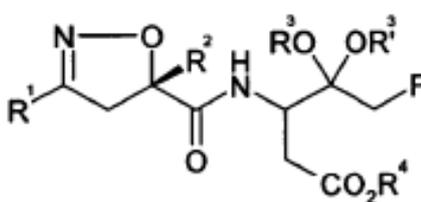
- a) activar el compuesto de la fórmula (2) siguiente y someterlo después a reacción con un compuesto de fórmula (4) para producir un compuesto de fórmula (13);
- 5 b) hidrolizar el compuesto de fórmula (13) para producir un compuesto de fórmula (14);
- c) desproteger el compuesto de fórmula (14); y
- d) llevar a cabo la transformación dinámica inducida por cristalización;



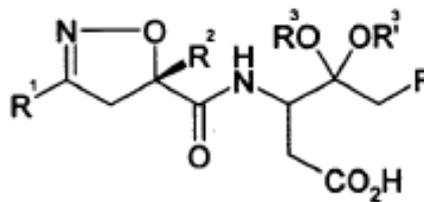
(2)



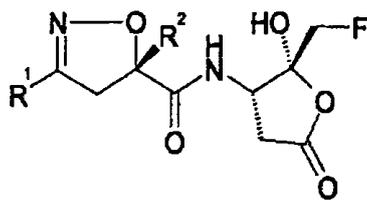
(4)



(13)



(14)



(1)

10

donde

R¹ es alquilo o un grupo aromático, un grupo heteroaromático, y sus derivados parcialmente reducidos,

R² es alquilo,

15 R³ y R³ son, en cada caso, alquilo o R³ y R³, junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman un heterociclo y

R⁴ es alquilo.

Preferentemente,

R¹ es isoquinolinilo, quinolinilo o naftilo,

R² es metilo, etilo, propilo o butilo,

R³ y R³ son, en cada caso, metilo, etilo o propilo, o R³ y R³, junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman dioxolano o dioxano y

R⁴ es metilo, etilo, propilo o butilo.

- 5 Cada paso del proceso de preparación del compuesto de la fórmula (1) arriba indicada se puede describir más detalladamente, como se indica posteriormente.

Como reactivo de activación para activar el compuesto de fórmula (2) en el paso (a) citado se utiliza preferentemente un reactivo seleccionado de entre el grupo consistente en cloruro de oxalilo, cloruro de trimetilacetilo, tricloruro de fosforilo y cloruro de tionilo.

- 10 También es preferente llevar a cabo la reacción del paso (a) en presencia de una base seleccionada de entre el grupo consistente en trietilamina, tri(n-butil)amina, diisopropiletilamina, piridina, 4-dimetilaminopiridina y 4-(4-metilpiperidin-1-il)piridina, preferentemente la base se utiliza en una cantidad de 1,0 a 10,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (2).

- 15 Además, la reacción del paso (a) se lleva a cabo preferentemente en uno o más disolventes seleccionados de entre el grupo consistente en diclorometano, cloroformo, tetrahidrofurano, dimetoxietano, dioxano y acetato de etilo.

Por otro lado, el compuesto de fórmula (4) se utiliza en el paso (a) preferiblemente en una cantidad de 1,0 a 3,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (2).

- 20 Preferentemente, la hidrólisis del paso (b) se lleva a cabo en presencia de una base seleccionada de entre el grupo consistente en hidróxido de litio (preferentemente anhidro o monohidrato cristalino), hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de calcio, utilizándose la base preferiblemente en una cantidad de 0,1 a 10,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (13).

Además, la reacción del paso (b) se lleva a cabo preferentemente en uno o más disolventes seleccionados de entre el grupo consistente en metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, tetrahidrofurano, dimetoxietano, dioxano y diclorometano, o en una mezcla de disolventes seleccionados de entre este grupo y agua.

- 25 Preferentemente, la reacción de desprotección del paso (c) se lleva a cabo en presencia de un ácido seleccionado de entre el grupo consistente en ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido trifluoroacético, utilizándose el ácido preferiblemente en una cantidad de 0,1 a 20,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (14).

Además, la reacción de desprotección del paso (c) se lleva a cabo preferentemente en ausencia de disolventes o en presencia de un disolvente seleccionado entre diclorometano o cloroformo.

- 30 La reacción de transformación dinámica inducida por cristalización del paso (d) se puede llevar a cabo añadiendo el compuesto de fórmula (1) como simiente, o se puede llevar a cabo en presencia de simiente y una cantidad catalítica de una base, siendo la base preferentemente una amina seleccionada de entre el grupo consistente en trietilamina, tri(n-butil)amina, diisopropiletilamina, diisopropilamina, piridina, 4-dimetilaminopiridina, 4-(4-metilpiperidin-1-il)piridina, 1-feniletilamina ópticamente activa y 1-naftiletilamina ópticamente activa.

- 35 En el paso (d), dicha amina se utiliza preferentemente en una cantidad de 0,001 a 1,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (14), de forma especialmente preferente de 0,03 a 0,5 equivalentes. Si la cantidad de amina utilizada es demasiado pequeña, la velocidad de reacción se ralentiza y, si la cantidad es demasiado alta, el rendimiento del compuesto de fórmula (1) disminuye.

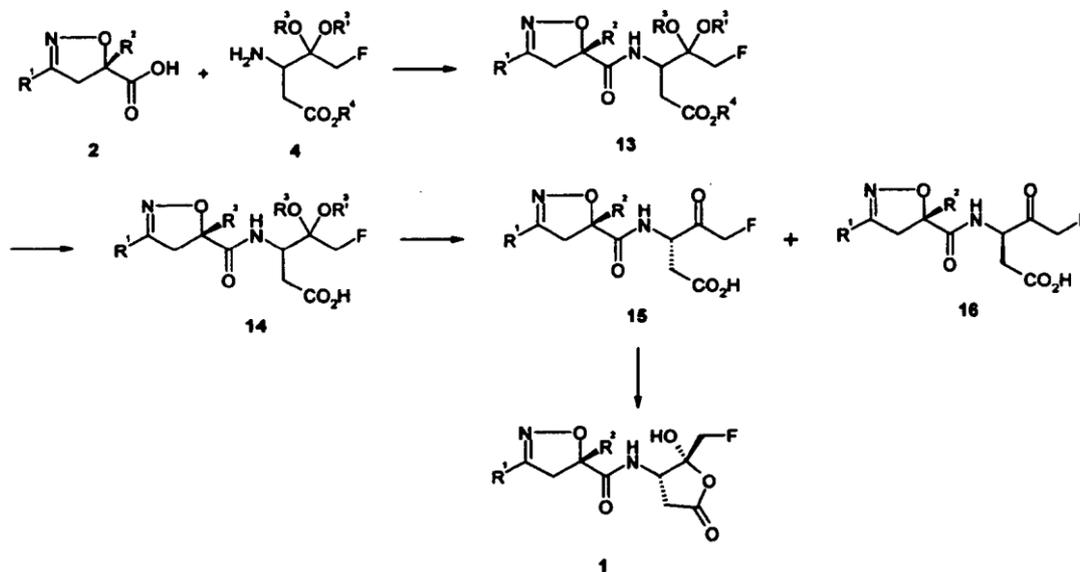
- 40 Además, la reacción de transformación dinámica inducida por cristalización del paso (d) se lleva a cabo preferentemente en uno o más disolventes seleccionados de entre el grupo consistente en tolueno, benceno, diclorobenceno, tetrahidrofurano, dimetoxietano, dioxano, acetato de etilo, diclorometano, acetonitrilo, metil t-butil éter y dietil éter.

Posteriormente se explica con mayor detalle el proceso para preparar el compuesto de fórmula (1) de acuerdo con la invención con referencia al Esquema de Reacción 2.

- 45 El derivado de isoxazolina de fórmula (2), que tiene alta actividad óptica, se prepara de acuerdo con el proceso dado a conocer en el documento PCT/KR2004/002060, presentado el 17 de agosto de 2004 por este solicitante, y después se combina con el compuesto de fórmula (4) para producir el compuesto de fórmula (13). Después, el compuesto de fórmula (13) se somete a hidrólisis de éster para producir el compuesto de fórmula (14) y se lleva a cabo la reacción de desprotección de la fracción cetil del compuesto de fórmula (14) para obtener una mezcla de los compuestos de fórmulas (15) y (16), la cual se transforma efectivamente en el compuesto de fórmula (1) mediante cristalización
- 50 dinámica selectiva.

En particular, si la mezcla de los compuestos de fórmulas (15) y (16) se disuelve en un disolvente orgánico y después se añade la simiente del compuesto de fórmula (1) a la solución, únicamente el compuesto de fórmula (15) de la mezcla se transforma en el compuesto de fórmula (1), siendo aislado en forma de un sólido.

Esquema de Reacción 2



5

donde

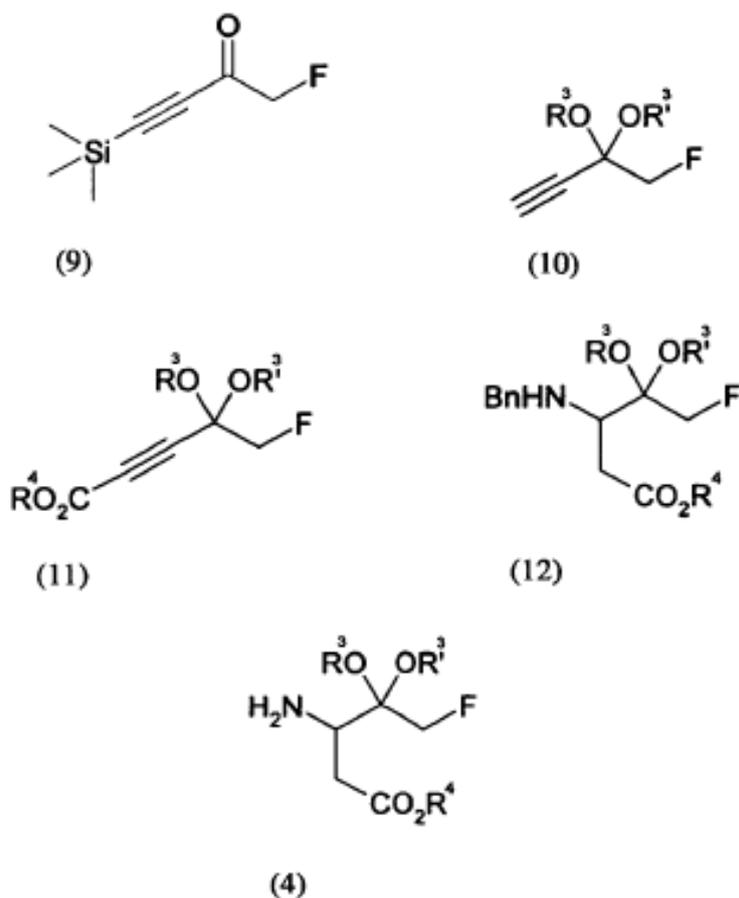
R¹ es alquilo o arilo,

R² es alquilo,

10 R³ y R^{3'} son, en cada caso, alquilo, o R³ y R^{3'}, junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman un heterociclo y

R⁴ es alquilo.

Además, cuando la mezcla de los compuestos de fórmulas (15) y (16) se trata con una cantidad catalítica de una base junto con la simiente, tanto el compuesto de fórmula (15) como el compuesto de fórmula (16) se transforman en el compuesto de fórmula (1), produciendo el compuesto de fórmula (1) con mayor rendimiento (Esquema de Reacción 3).
 15 El compuesto de fórmula (15) está en equilibrio con el compuesto de fórmula (16) debido a la base presente en la solución. Además, el compuesto de fórmula (15) está en equilibrio con los compuestos de fórmulas (17) y (1) y el compuesto de fórmula (16) está en equilibrio con los compuestos de fórmulas (18) y (19). Entre éstos, el compuesto de fórmula (1), que tiene buenas propiedades de cristalización, precipita selectivamente y, por consiguiente, el equilibrio de todos los compuestos se desplaza hacia el compuesto de fórmula (1), produciéndose así selectivamente sólo el
 20 compuesto de fórmula (1) con un alto rendimiento a partir de la mezcla de los compuestos de fórmulas (15) y (16).



donde

5 R^3 y $R^{3'}$ son, en cada caso, alquilo o R^3 y $R^{3'}$, junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman un heterociclo y

R^4 es alquilo.

Preferentemente,

10 R^3 y $R^{3'}$ son, en cada caso, metilo, etilo o propilo o R^3 y $R^{3'}$, junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman dioxolano o dioxano y

R^4 es metilo, etilo, propilo o butilo.

Posteriormente se describe más específicamente el proceso arriba indicado para preparar el compuesto de fórmula (4).

15 Preferentemente, en el paso (a) el compuesto de fórmula (9) se protege utilizando trimetilortoformiato o trietilortoformiato, llevándose a cabo la reacción de desprotección en presencia de una base seleccionada de entre hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio y bicarbonato de sodio. Además, preferentemente la base indicada en la reacción de desprotección se utiliza en una cantidad de 1,0 a 2,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (9).

20 Además, la reacción de protección del paso (a) se lleva a cabo preferentemente en un disolvente metanol o etanol, y la reacción de desprotección se lleva a cabo en uno o más disolventes seleccionados de entre el grupo consistente en metanol, etanol, diclorometano, cloroformo y agua.

25 Además, la reacción del paso (b) se lleva a cabo preferentemente utilizando cloroformiato de etilo o cloroformiato de metilo en presencia de una base seleccionada de entre n-butil-litio, diisopropilamina-litio o hexametildisilazida de litio, utilizándose la base en una cantidad de 0,5 a 3,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (10), y utilizándose el cloroformiato de etilo o de metilo en una cantidad de 0,5 a 3,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (10).

Además, la reacción del paso (b) se lleva a cabo preferentemente en un disolvente seleccionado de entre el grupo consistente en tetrahidrofurano, etil éter y metil t-butil éter.

La reacción de reducción del paso (c) se lleva a cabo preferentemente utilizando ácido acético y borohidruro de sodio, empleándose el borohidruro de sodio en una cantidad de 1,0 a 5,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (11) y el ácido acético en una cantidad de 1,0 a 20,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (11).

Además, dicha bencilamina se utiliza en el paso (c) preferentemente en una cantidad de 1,0 a 10,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (11).

Por otro lado, la reacción de reducción del paso (c) se lleva a cabo preferentemente en ausencia de disolvente o en presencia de un disolvente seleccionado de entre acetato de etilo, tetrahidrofurano, etil éter y metil t-butil éter, pudiéndose llevar a cabo como una reacción en un solo recipiente si así se desea.

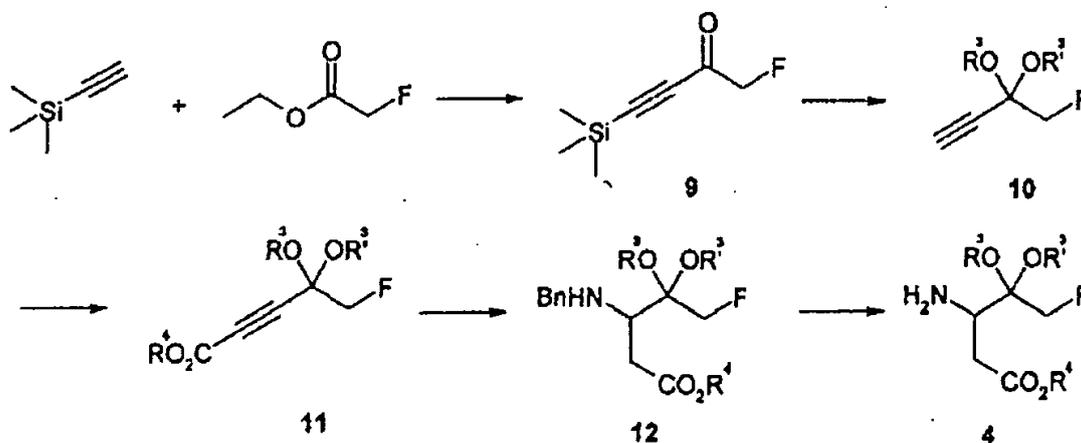
Preferentemente, la reacción del paso (d) se lleva a cabo en presencia de un catalizador metálico, de forma especialmente preferente de un catalizador de la familia del paladio o del níquel de Raney. Específicamente se puede utilizar un catalizador de la familia del paladio con un 1 a un 20% en peso de paladio (Pd) o un catalizador de la familia del níquel de Raney con un 1% en peso o más de níquel de Raney, soportado en un vehículo seleccionado de entre el grupo consistente en carbono, sílice y alúmina, en una cantidad del 0,01 al 10% en peso en base al componente metálico con respecto al compuesto de fórmula (12).

Además, la reacción del paso (d) se lleva a cabo preferentemente en uno o más disolventes seleccionados de entre el grupo consistente en metanol, etanol, n-propanol, isopropanol, tetrahidrofurano, dimetoxietano, dioxano, acetato de etilo y diclorometano.

Además, la reacción de hidrogenación del paso (d) se lleva a cabo preferentemente a una temperatura de 0 a 50°C y bajo una presión de hidrógeno de 1 a 100 atm.

Los presentes inventores han desarrollado un nuevo proceso para preparar el compuesto de fórmula (4), un producto intermedio para el compuesto de fórmula (1), con un mayor rendimiento, tal como se ilustra en el siguiente Esquema de Reacción 4.

25 Esquema de Reacción 4



donde

R^3 y $\text{R}^{3'}$ son, en cada caso, alquilo o R^3 y $\text{R}^{3'}$, junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman un heterociclo y

30 R^4 es alquilo.

Además, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica para tratar la inflamación o prevenir la apoptosis, la cual comprende el compuesto de la fórmula (1) arriba indicada, así como excipientes farmacéuticamente aceptables, específicamente a una composición farmacéutica para tratar la demencia, accidentes cerebrovasculares, discapacidad cerebral debida al SIDA, diabetes, úlcera gástrica, lesiones cerebrales por el virus de la hepatitis, enfermedades hepáticas por el virus de la hepatitis, hepatitis aguda, fallo hepático fulminante, cirrosis hepática, septicemia, rechazo de trasplantes de órganos, artritis reumatoide o necrosis celular cardíaca debida a enfermedades cardíacas isquémicas.

Además, la presente invención se refiere a un uso del compuesto de la fórmula (1) arriba definida para la producción de un medicamento para tratar la inflamación o prevenir la apoptosis, específicamente de un medicamento para tratar la

demencia, accidentes cerebrovasculares, discapacidad cerebral debida al SIDA, diabetes, úlcera gástrica, lesiones cerebrales por el virus de la hepatitis, enfermedades hepáticas por el virus de la hepatitis, hepatitis aguda, fallo hepático fulminante, cirrosis hepática, septicemia, rechazo de trasplantes de órganos, artritis reumatoide o necrosis celular cardíaca debida a enfermedades cardíacas isquémicas.

5 El compuesto de fórmula (1) de acuerdo con la presente invención se puede formular en diferentes formas farmacéuticas para su administración. Para preparar la composición farmacéutica según la presente invención, una cantidad eficaz del compuesto de fórmula (1) se mezcla con un excipiente farmacéuticamente aceptable que puede adoptar múltiples formas en función de la formulación a preparar.

10 El compuesto de fórmula (1) se puede formular como inyección parenteral o como una preparación percutánea u oral, dependiendo de la administración prevista. Resulta especialmente ventajoso formular la composición en una forma de dosis unitaria para facilitar la administración y uniformizar la dosis.

15 Para la preparación oral se puede utilizar cualquier excipiente farmacéutico usual. Por ejemplo, para preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones se puede utilizar agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares; o para preparaciones sólidas tales como polvos, píldoras, cápsulas y pastillas se pueden utilizar almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y similares. Debido a su facilidad de administración, las pastillas y cápsulas son las formas de dosis unitarias más ventajosas. También es deseable formular las pastillas y píldoras en una preparación con revestimiento entérico.

20 Para la preparación parenteral se utiliza normalmente agua estéril como excipiente, aunque también se pueden utilizar otros ingredientes como solubilizantes. Las inyecciones, por ejemplo una suspensión acuosa u oleosa esterilizada para inyección, se pueden preparar de acuerdo con el procedimiento conocido, utilizando un agente dispersante, humectante o de suspensión adecuado. Los disolventes que pueden ser utilizados para preparar inyecciones incluyen agua, líquido de Ringer y solución isotónica de NaCl, y también se puede utilizar convenientemente aceite de fijación esterilizado como disolvente o medio de suspensión. Para este fin se puede utilizar cualquier aceite de fijación no estimulante, incluyendo mono- y diglicéridos. También se pueden utilizar ácidos grasos, como ácido oleico, para las inyecciones.

25 Para la preparación percutánea, el excipiente puede incluir un agente intensificador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con aditivos adecuados que no provocan irritaciones significativas de la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a través de la piel y/o pueden servir de ayuda en la preparación de una composición deseada. Estas preparaciones percutáneas se administran de diversos modos, por ejemplo como parche transdérmico, loción o pomada.

30 Cuando el compuesto de fórmula (1) se utiliza para fines clínicos, preferentemente se le administra al paciente en cuestión en una cantidad de entre 0,1 y 100 mg por kg de peso corporal al día. La dosis diaria total se puede administrar de una sola vez o en varias tomas. No obstante, la dosis de administración específica para un paciente individual puede variar con el compuesto específico utilizado, el peso corporal, el sexo, la condición higiénica o la dieta del paciente en cuestión, el tiempo o método de administración, la velocidad de excreción, la relación de mezcla del agente, la gravedad de la enfermedad a tratar, etc.

35 La presente invención se describe más detalladamente a continuación con referencia a los siguientes ejemplos, pero no se ha de considerar que el alcance de la presente invención está limitado en modo alguno por los mismos.

Ejemplo de Preparación 1

1-fluor-4-trimetilsilanil-3-butin-2-ona (9)

40 49,1 g (499 mmol) de trimetilsililacetileno se disolvieron en 250 ml de tetrahidrofurano anhidro y la temperatura interna se redujo a aproximadamente -55°C. Después se añadieron 210 ml (525 mmol) de *n*-BuLi 2,5M en *n*-hexano a lo largo de aproximadamente 25 minutos, manteniendo la temperatura interna por debajo de -30°C. Después de agitar la mezcla durante aproximadamente 40 minutos, se añadieron 52,9 g (499 mmol) de fluoroacetato de etilo a la mezcla de reacción a lo largo de 5 minutos, manteniendo al mismo tiempo la temperatura interior por debajo de -25°C, y luego se añadieron 45 74,4 g (524 mmol) de BF₃·OEt a lo largo de 15 minutos manteniendo al mismo tiempo la temperatura interior entre -55°C y -65°C. Una vez finalizada la adición, la mezcla de reacción se agitó a 20°C durante 2 horas y se añadieron 250 ml de una disolución acuosa de cloruro de amonio al 10% para terminar la reacción. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con 200 ml de acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con 250 ml de salmuera y se concentró bajo presión reducida. El residuo se destiló en vacío a 10 mbar y 68°C para obtener el compuesto de fórmula 50 (9) (67,3 g, 85%) en forma de un aceite claro.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃): 4,90 (d, J = 47,1 Hz, 2H), 0,26 (s, 9H)

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃): 181,0 (d, J = 21,5 Hz), 104,0, 98,1, 84,8 (d, J = 187 Hz)

Ejemplo de Preparación 2**4-fluor-3,3-dimetoxi-1-butino (10, R³, R³ = metilo)**

33,6 g (316 mmol) de ortoformiato de trimetilo y 6,0 g (31,5 mmol) de *p*-TsOH-H₂O junto con 50,0 g (316 mmol) del compuesto de fórmula (9) obtenido en el Ejemplo de Preparación 1 se introdujeron en 260 ml de metanol y se agitó a temperatura de reflujo (temperatura interior 60~64°C) durante aproximadamente 6 horas. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para eliminar aproximadamente 130 ml de disolvente, y se diluyó con 260 ml de cloruro de metileno. Luego se añadieron 130 ml de una disolución acuosa de bicarbonato de sodio al 10% y se separaron las capas. La capa acuosa se extrajo utilizando 130 ml de cloruro de metileno. La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida para obtener 4-fluor-3,3-dimetoxi-1-trimetilsililbutino (59,0 g, 92%) como un producto intermedio, un compuesto precursor del compuesto buscado (10). Este compuesto se utilizó en la siguiente reacción sin ninguna purificación adicional.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃): 4,38 (d, J = 47,1 Hz, 2H), 3,40 (s, 6H), 0,20 (s, 9H)

59,0 g (289 mmol) de 4-fluor-3,3-dimetoxi-1-trimetilsililbutino, un compuesto precursor del compuesto buscado (10), obtenido tal como se indica más arriba, se disolvieron en 280 ml de cloruro de metileno, se trataron con 59 mg (0,183 mmol) de bromuro de tetra-*n*-butil-amonio y 347 ml (347 mmol) de una disolución acuosa de hidróxido de sodio 1N, y la mezcla se agitó durante aproximadamente 2 horas. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con 110 ml de cloruro de metileno. La capa orgánica combinada se lavó con 110 ml de salmuera y se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto buscado (10, R³, R³ = metilo; 40,9 g, rendimiento cuantitativo). Este compuesto se utilizó en la siguiente reacción sin ninguna purificación adicional.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃): 4,42 (d, J = 47,1 Hz, 2H), 3,42 (s, 6H), 2,64 (s, 1H)

¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃): 96,1 (d, J = 20,3 Hz), 82,9 (d, J = 180 Hz), 77,5, 75,5, 51,0

Ejemplo de Preparación 3**5-fluor-4,4-dimetoxi-2-pentinoato de etilo (11, R³, R³ = metilo, R⁴ = etilo)**

Una solución de 40,9 g (405 mmol) de diisopropilamina en 270 ml de tetrahidrofurano se enfrió a 0°C y se añadieron 112 g (405 mmol) de *n*-BuLi 2,5M en *n*-hexano a lo largo de aproximadamente 1 hora manteniendo la temperatura interna por debajo de 14°C. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante aproximadamente 30 minutos y después se ajustó la temperatura a -78°C. Una solución de 41,0 g (311 mol) del compuesto obtenido en el Ejemplo de Preparación 2 (10, R³, R³ = metilo) arriba descrito disuelto en 160 ml de tetrahidrofurano se añadió a la mezcla de reacción a lo largo de aproximadamente 2 horas manteniendo la temperatura interna por debajo de -40°C, y después se añadieron 60,4 g (557 mmol) de cloroformiato de etilo a lo largo de aproximadamente 1 hora manteniendo la temperatura interna por debajo de -40°C. Después, la mezcla de reacción se agitó a 0°C durante aproximadamente 2 horas. Luego se añadieron 250 ml de una disolución acuosa de cloruro de amonio al 10% a la mezcla de reacción para terminar la reacción, y se separó la capa orgánica. La capa acuosa se extrajo con 100 ml de acetato de etilo y la capa orgánica combinada se lavó con 100 ml de salmuera y se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto crudo buscado (11, R³, R³ = metilo, R⁴ = etilo; 95,0 g, rendimiento calculado: 70%). Este compuesto se utilizó en la siguiente reacción sin ninguna purificación adicional.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃): 4,45 (d, J = 46,5 Hz, 2H), 4,25 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 3,43 (s, 6H), 1,31 (t, J = 7,3 Hz, 3H)

Ejemplo de Preparación 4**3-(bencilamino)-5-fluor-4,4-dimetoxipentanoato de etilo (12, R³, R³ = metilo, R⁴ = etilo)**

88 g (431 mmol) del compuesto crudo obtenido en el Ejemplo de Preparación 3 (11, R³, R³ = metilo, R⁴ = etilo) arriba descrito se disolvieron en 430 ml de metil *t*-butil éter (MTBE) y la temperatura se ajustó a 0°C. Después se añadieron 31,4 g (293 mmol) de bencilamina a la mezcla de reacción, que se agitó a 20°C durante aproximadamente 1 hora y se diluyó con 450 ml de metil *t*-butil éter. La temperatura de la mezcla de reacción se ajustó de nuevo a 0°C, se añadieron 33 g (873 mmol) de NaBH₄ a la mezcla de reacción y después se añadieron 259 g (4.320 mmol) de ácido acético a lo largo de aproximadamente 30 minutos. La mezcla de reacción se mantuvo a 0°C y se añadieron lentamente 880 ml (2.640 mmol) de una disolución acuosa de hidróxido de sodio 3N a lo largo de aproximadamente 2 horas. La capa orgánica se separó y la capa orgánica separada se lavó con 880 ml de una disolución acuosa de cloruro de amonio al 10%, y después se añadieron 880 ml de una disolución acuosa de ácido clorhídrico 1N. La capa acuosa se separó, se lavó con 400 ml de metil *t*-butil éter, se basificó con 246 ml de una disolución acuosa de hidróxido de sodio 10N y se extrajo con 700 ml x 2 de metil *t*-butil éter. La capa orgánica combinada se lavó con 400 ml de salmuera y se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto buscado [12, R³, R³ = metilo, R⁴ = etilo; 60,0 g, 44% y 65% del compuesto de fórmula (10)]. Este compuesto se utilizó en la siguiente reacción sin ninguna purificación adicional.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 7,35-7,21 (m, 5H), 4,53 (2dd, J = 46,8, 10,4 Hz, 2H), 4,13 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 3,80 (2d, J = 12,8 Hz, 2H), 3,53 (dd, J = 8,4,4,0 Hz, 1H), 3,30 (s, 3H), 3,22 (s, 3H), 2,79 (dd, J = 15,6, 3,6 Hz, 1H), 2,40 (ddd, J = 15,6, 8,0, 1,6 Hz, 1H), 1,25 (t, J = 7,2 Hz, 3H)

Ejemplo 1

5 3-amino-5-fluor-4,4-dimetoxipentanoato de etilo (4, R³, R³ = metilo, R⁴ = etilo)

18,3 g (58,5 mmol) del compuesto obtenido en el Ejemplo de Preparación 4 (12, R³, R³ = metilo, R⁴ = etilo) arriba descrito se disolvieron en 180 ml de etanol y se llevó a cabo una desbencilación utilizando un catalizador de paladio/carbono activado al 5% (5% Pd/C) con una presión de hidrógeno de 50 psi durante aproximadamente 4 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de 5,0 g de Celite y se lavó con 90 ml de etanol, y el filtrado se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto buscado (4, 12,8 g, 98%). Este compuesto se utilizó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃): 4,53 (2dd, J = 46,5, 10,4 Hz, 2H), 4,14 (q, J = 7,3 Hz, 2H), 3,57 (dd, J = 11,0, 1,9 Hz, 1H), 3,29 (d, J = 11,7 Hz, 6H), 2,73 (dd, J = 16,5, 2,5 Hz, 1H), 2,36 (ddd, J = 16,5, 10,4, 2,5 Hz, 1H), 1,25 (t, J = 7,3 Hz, 3H)

Ejemplo de Preparación 5

15 5-fluor-3-[(R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidroisoxazol-5-carbonil]-amino]-4,4-dimetoxipentanoato de etilo (13, R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo, R³, R³ = metilo, R⁴ etilo)

15,5 g (54,5 mmol) de ácido (5R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolcarboxílico (2, R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo) se disolvieron en 150 ml de cloruro de metileno, la temperatura se ajustó a 0°C y después se añadieron 7,1 ml (81,7 mmol) de cloruro de oxalilo y 0,2 ml (2,6 mmol) de DMF manteniendo la temperatura interna por debajo de 12°C. La mezcla de reacción se agitó a 20°C durante aproximadamente 2 horas y se concentró bajo presión reducida. La mezcla de reacción se disolvió en 150 ml de cloruro de metileno, la temperatura se ajustó a 0°C, se añadió trietilamina y después se añadió lentamente, a lo largo de 20 minutos, una solución de 12,8 g (57,4 mmol) del compuesto obtenido en el Ejemplo 1 (4, R³, R³ = metilo, R⁴ = etilo) disuelto en 30 ml de cloruro de metileno. La mezcla de reacción se agitó a 25°C durante 1,5 horas y se añadió una solución mixta formada por 120 ml de una disolución acuosa de bicarbonato de sodio al 10% y 60 ml de una disolución acuosa de hidróxido de sodio 1N para terminar la reacción. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con 150 ml x 3 de cloruro de metileno. La capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto buscado (13, R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo, R³, R³ = metilo, R⁴ = etilo; 30,1 g, rendimiento cuantitativo). Este compuesto se utilizó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional.

¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃): 9,12 (q, 1H), 8,53 (m, 1H), 7,85-7,25 (m, 4H), 4,80 (m, 1H), 4,54-4,34 (m, 2H), 4,14 (q, J = 7,4 Hz, 2H), 3,99 (2d, J = 18,4 Hz, 1H), 3,81 (m, 1H), 3,78 (2d, J = 8,6 Hz, 1H), 3,33 (d, 3H), 3,20 (d, 3H), 2,75 (m, 3H), 2,53 (m, 1H), 2,39 (hepteto, J = 6,7 Hz, 1H), 1,27 (t, J = 7,4 Hz, 1,5H), 1,07 (m, 6H), 0,97 (t, J = 7,4 Hz, 1,5H)

Ejemplo de Preparación 6

35 Ácido 5-fluor-3-[(R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidroisoxazol-5-carbonil]amino]-4,4-dimetoxipentanoico (14, R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo, R³, R³ = metilo)

30,1 g (61,6 mmol) del compuesto obtenido en el Ejemplo de Preparación 5 (13, R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo, R³, R³ = metilo, R⁴ = etilo) arriba descrito junto con 7,76 g (185 mmol) de monohidrato de hidróxido de litio se disolvieron en un disolvente mixto formado por 168 ml de tetrahidrofurano y 42 ml de agua, y la mezcla se agitó a aproximadamente 40°C durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para eliminar el tetrahidrofurano del disolvente, se añadieron 180 ml de una disolución acuosa de hidróxido de sodio 1N y la mezcla se lavó con 120 ml x 2 de tolueno. La capa acuosa se acidificó con 66 ml de una disolución acuosa de ácido clorhídrico 6N y se extrajo con 150 ml x 3 de cloruro de metileno, y la capa orgánica combinada se concentró bajo presión reducida para obtener el compuesto buscado (14, R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo, R³, R³ = metilo; 25,4 g, 89%). Este compuesto se utilizó en el siguiente paso sin ninguna purificación adicional.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 9,10-8,92 (m, 1H), 8,52 (m, 1H), 7,86-7,13 (m, 4H), 4,77 (m, 1H), 4,54-4,34 (m, 2H), 3,95 (2d, J = 8,0 Hz, 1H), 3,75 (2d, J = 18,4 Hz, 1H), 3,35-3,16 (2d, 6H), 2,78 (2dd, J = 16,0, 4,4 Hz 1H), 2,54 (m, 1H), 2,39 (m, 1H), 2,35 (s, 1H), 1,06 (m, 6H)

Ejemplo 2**(4S-5S)-5-fluorometil-5-hidroxi-4-(((5R)-5-isopropil-3-(1-isoquinolinil)-4,5-dihidro-5-isoxazolil]carbonil)amino)-2-dihidrofuranona****(1, R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo)**

5 17,0 g (36,9 mmol) del compuesto obtenido en el Ejemplo de Preparación 6 (14, R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo, R³, R³ = metilo) y 6,6 ml (110 mmol) de ácido acético se disolvieron en 123 ml (738 mmol) de una disolución acuosa de ácido clorhídrico 6N y se agitaron durante aproximadamente 4 horas. La temperatura interna de la mezcla de reacción se ajustó a 0°C y se añadieron 150 ml de acetato de etilo. Luego se añadieron lentamente 220 ml (660 mmol) de una disolución acuosa de hidróxido de sodio 3N para ajustar el pH a un valor de aproximadamente 3. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con 150 ml x 2 de acetato de etilo. La fase orgánica combinada se lavó con 100 ml de salmuera y se concentró bajo presión reducida. El residuo se diluyó con 50 ml de tolueno y se concentró de nuevo bajo presión reducida para obtener una mezcla de los compuestos de fórmulas (15) y (16) (R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo) (15,4 g, rendimiento cuantitativo, pureza química: 87,0%).

15 ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆): 8,99 (m, 1H), 8,65 (m, 1H), 8,19-7,78 (m, 4H), 5,15 (m, 1,5H), 4,77 (m, 1H), 4,42 (m, 0,5H), 3,91 (2d, J = 17,6 Hz, 1H), 3,74 (m, 1H), 2,99 (m, 0,2H), 2,82 (m, 1H), 2,63 (m, 0,8H), 2,33 (m, 1H), 0,97 (m, 6H)

A 146 ml de tolueno se añadieron 14,6 g (35,2 mmol) de la mezcla de los compuestos de fórmulas (15) y (16) (R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo) (pureza química: 87,0%), y la mezcla se calentó hasta 100°C para disolverla por completo. Después se añadieron 14 mg de semente del compuesto buscado (1, R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo), la temperatura se redujo lentamente a 20°C y la mezcla de reacción se agitó para producir un sólido. Luego se añadieron 20 0,25 ml (1,8 mmol) de diisopropilamina y la mezcla se agitó a 20°C durante aproximadamente 2 semanas para confirmar que la proporción entre el compuesto de fórmula (15) y el compuesto de fórmula (16) (R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo) era 92,8:7,2 mediante HPLC. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para eliminar el tolueno, luego se añadieron 88 ml de acetato de etilo y la mezcla se calentó hasta 65°C para disolverla por completo. A continuación se añadieron 88 ml de hexano normal, la temperatura se redujo lentamente y la mezcla se agitó a 25 aproximadamente 20°C durante 2 días. El sólido resultante se filtró y se lavó con una solución mixta formada por 15 ml de acetato de etilo y 15 ml de hexano normal. Después de secar el sólido con nitrógeno se obtuvo el compuesto buscado, un sólido blanco (1, R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo) con un rendimiento de un 54,7% del compuesto de fórmula (2) (8,0 g, pureza química: 98,6%).

30 Los datos de RMN de sólidos de la forma cristalina se obtuvieron utilizando VACP MAS (*variable amplitude cross polarization magic angle spinning* - polarización cruzada de amplitud variable rotación de ángulo mágico) con una velocidad de rotación de 9 kHz.

¹H-RMN (CDCl₃): 9,02 (bs, 1H), 8,54 (d, J = 5,5 Hz, 1H), 7,85 (d, J = 7,95 Hz, 1H), 7,70 (m, 3H), 7,60 (bs, 1H), 4,86 (bs, 1H), 4,2-5,2 (bs, 2H), 4,05 (b, J = 19,0 Hz, 1H), 3,78 (b, J = 19,0 Hz, 1H), 2,7-3,1 (bm, 2H), 2,40 (m, 1H), 1,08 (dd, J = 6,7, 4,9 Hz, 6H)

35 ¹³C-RMN (CDCl₃): 173,8, 172,4, 160,2, 147,6, 141,7, 136,8, 130,7, 129,0, 127,4, 127,3, 126,8, 122,9, 92,3, 82,7 (d, J = 215 Hz), 48,9 (b), 44,6, 34,4, 33,9, 17,7, 16,3

¹³C-RMN (sólido): 176,4, 171,8, 160,3, 150,2, 139,5, 137,5, 132,3 (2C), 127,7 (3C), 123,0, 104,3, 94,1, 86,4, 48,8, 42,9, 32,7 (2C), 19,6, 15,4

Masas (ESI): 416,14 (M+1)

40 $[\alpha]_D^{25} = + 3,2$ (c = 1,0, acetonitrilo)

Ejemplo Experimental 1**Prueba de Estabilidad**

45 Como muestra la Fig. 2, como resultado de la prueba de estabilidad realizada a la forma amorfa y la forma cristalina del compuesto de fórmula (1) (R¹ = 1-isoquinolinilo, R² = isopropilo), se observó que el 50% de la forma amorfa se había destruido después de 28 días bajo condiciones rigurosas (60°C), pero que la cantidad cuantitativa de la forma cristalina no había disminuido en absoluto bajo las mismas condiciones (60°C) después de 28 días. Por consiguiente, se ha de entender que la forma cristalina tiene mayor estabilidad que la forma amorfa, suficiente para ser utilizada para la composición de un agente inhibidor o un agente terapéutico.

Ejemplo Experimental 2**Efecto del tratamiento en la hepatitis aguda inducida por LPS en ratones**Paso 1: Preparación de muestras de sangre

5 Ratones Balb/c macho (6 semanas, Charles River Laboratory, Osaka, Japón) se criaron a 22°C bajo un 55% de humedad relativa, con cambio noche/día cada 12 horas. Los animales recibieron alimento y agua sin límite. Se disolvió un LPS (lipopolisacárido) y una D-galactosamina en concentraciones de 0,4 mg/ml y 280 mg/ml, respectivamente, en una solución salina libre de pirógenos, y se mezclaron en una relación 1:1. Después se inyectó la solución a los ratones en una cantidad de 5 ml/kg. Inmediatamente después de la inyección de LPS y D-galactosamina, a los animales de ensayo se les inyectó vehículo con el compuesto de ensayo disuelto (una mezcla consistente en PEG400:etanol: Tween 80 15:7,5:2,5 se diluye a 1/5 con solución salina) o el vehículo solo. Ocho horas después de la inyección del fármaco se extrajeron muestras de sangre de los corazones de los ratones.

Paso 2: Ensayo de actividad de aminotransferasa en plasma sanguíneo

15 La actividad de ALT en plasma sanguíneo de las muestras de sangre obtenidas en el Paso 1 se midió utilizando un *kit* de ensayo ALT (Asan pharmaceutical Company) de acuerdo con el protocolo del fabricante. Se observó que la administración de LPS y D-galactosamina incrementó rápidamente la actividad de ALT en el plasma sanguíneo, y el material de ensayo inhibió dicho incremento de la actividad enzimática de forma dosis-dependiente. En base a estos resultados, se calculó el valor ED₅₀ para cada material de ensayo utilizando el *software* Prism (GraphPad Co.).

Ejemplo Experimental 3**Efecto del tratamiento en la hepatitis aguda inducida por anticuerpos Fas en ratones**

20 Ratones Balb/c macho (6 semanas, Charles River Laboratory, Osaka, Japón) se criaron a 22°C bajo un 55% de humedad relativa, con cambio noche/día cada 12 horas. Los animales recibieron alimento y agua sin límite. El anticuerpo Fas se disolvió a una concentración de 30 µg/ml en una solución salina libre de pirógenos, y después se inyectó la solución a los ratones en una cantidad de 5 ml/kg. Inmediatamente después de la inyección del anticuerpo Fas, a los animales de ensayo se les inyectó un vehículo con el compuesto de ensayo disuelto (una mezcla consistente en PEG400:etanol:Tween 80 15:7,5:2,5 se diluye a 1/5 con solución salina) o el vehículo solo. Ocho horas después de la inyección del fármaco se extrajeron muestras de sangre de los corazones de los ratones. El valor ED₅₀ de la muestra de sangre obtenida se calculó utilizando el método de ensayo arriba descrito. La siguiente Tabla 1 muestra los resultados del ensayo del efecto farmacológico en el modelo de hepatitis aguda en función de la vía de administración del compuesto de fórmula (1) obtenido a partir de los Ejemplos 2 y 3 arriba descritos.

Tabla 1

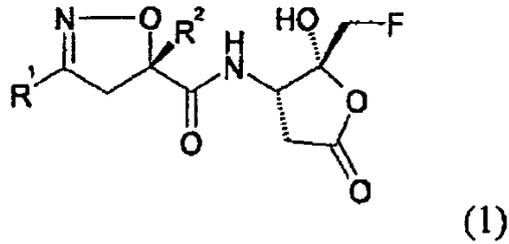
Modelo 1	Vía de administración	ED ₅₀ (mg/kg)	Intervalo de confianza 95% (mg/kg)
LPS/D-Gln	Administración intravenosa	0,015	0,002 ~ 0,111
	Administración oral	0,02	0,003 ~ 0,118
Anticuerpo Fas	Administración intravenosa	0,003	0,001 ~ 0,006
	Administración oral	0,018	0,013 ~ 0,026

APLICACIÓN INDUSTRIAL

35 El derivado de isoxazolina que contiene el hemicetal de ácido carboxílico cíclico de fórmula (1) de acuerdo con la presente invención tiene una excelente actividad de inhibición de caspasas y una excelente estabilidad. Además, el proceso de acuerdo con la presente invención produce únicamente un diastereoisómero de alta pureza utilizando una transformación dinámica inducida por cristalización. Además, si el derivado de amina que contiene el cetal de acuerdo con la presente invención se utiliza como un producto intermedio, el experto en la técnica puede preparar fácilmente el derivado de isoxazolina que contiene hemicetal de ácido carboxílico cíclico sin ninguna purificación adicional.

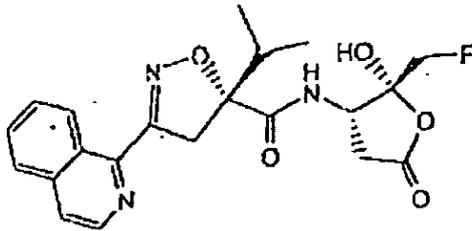
REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (1):

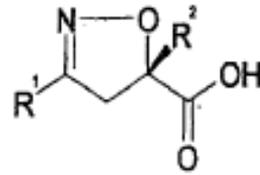


donde

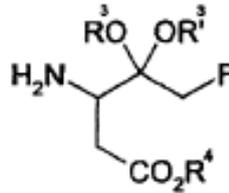
- 5 R¹ es alquilo o un grupo aromático, un grupo heteroaromático, y sus derivados parcialmente reducidos, y R² es alquilo.
2. Compuesto según la reivindicación 1, caracterizado porque R¹ es isoquinolinilo, quinolinilo o naftilo, y R² es metilo, etilo, propilo o butilo.
- 10 3. Compuesto según la reivindicación 2, caracterizado porque R¹ es isoquinolinilo y R² es isopropilo.
4. Compuesto según la reivindicación 3, con la siguiente estructura:



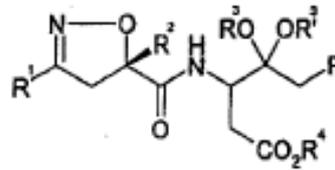
5. Proceso para preparar un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende:
- 15 (a) activar el compuesto de fórmula (2) y someterlo después a reacción con un compuesto de fórmula (4) para producir un compuesto de fórmula (13);
- (b) hidrolizar el compuesto de fórmula (13) para producir un compuesto de fórmula (14);
- (c) desproteger el compuesto de fórmula (14); y
- (d) llevar a cabo la transformación dinámica inducida por cristalización;



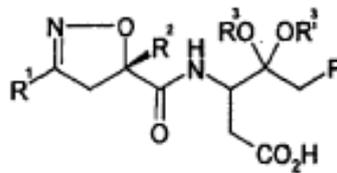
(2)



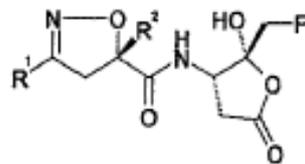
(4)



(13)



(14)



(1)

donde

- 5 R¹ es alquilo o un grupo aromático, un grupo heteroaromático, y sus derivados parcialmente reducidos, R² es alquilo,

R^3 y R'^3 son en cada caso alquilo, o R^3 y R'^3 , junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman un heterociclo, y

R^4 es alquilo.

6. Proceso según la reivindicación 5, donde

5 R^1 es isoquinolinilo, quinolinilo o naftilo,

R^2 es metilo, etilo, propilo o butilo,

R^3 y R'^3 son en cada caso metilo, etilo o propilo o R^3 y R'^3 , junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman dioxolano o dioxano, y

R^4 es metilo, etilo, propilo o butilo.

10 7. Proceso según la reivindicación 5 o 6, caracterizado porque el compuesto de fórmula (2) se activa en el paso (a) mediante un reactivo de activación seleccionado de entre el grupo consistente en cloruro de oxalilo, cloruro de trimetilacetilo, tricloruro de fosforilo y cloruro de tionilo.

15 8. Proceso según la reivindicación 5 o 6, caracterizado porque la reacción del paso (a) se lleva a cabo en presencia de una base seleccionada de entre el grupo consistente en trietilamina, tri(n-butil)amina, diisopropiletilamina, piridina, 4-dimetilaminopiridina y 4-(4-metilpiperidin-1-il)piridina.

9. Proceso según la reivindicación 5 o 6, caracterizado porque la hidrólisis del paso (b) se lleva a cabo en presencia de una base seleccionada de entre el grupo consistente en hidróxido de litio, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio e hidróxido de calcio.

20 10. Proceso según la reivindicación 5 o 6, caracterizado porque la reacción de desprotección del paso (c) se lleva a cabo en presencia de un ácido seleccionado de entre el grupo consistente en ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido trifluoroacético.

11. Proceso según la reivindicación 5 o 6, caracterizado porque la reacción de desprotección del paso (c) se lleva a cabo en ausencia de disolvente o en presencia de un disolvente seleccionado de entre diclorometano o cloroformo.

25 12. Procedimiento según la reivindicación 5 o 6, caracterizado porque la reacción de transformación dinámica inducida por cristalización del paso (d) se lleva a cabo añadiendo el compuesto de fórmula (1) como simiente.

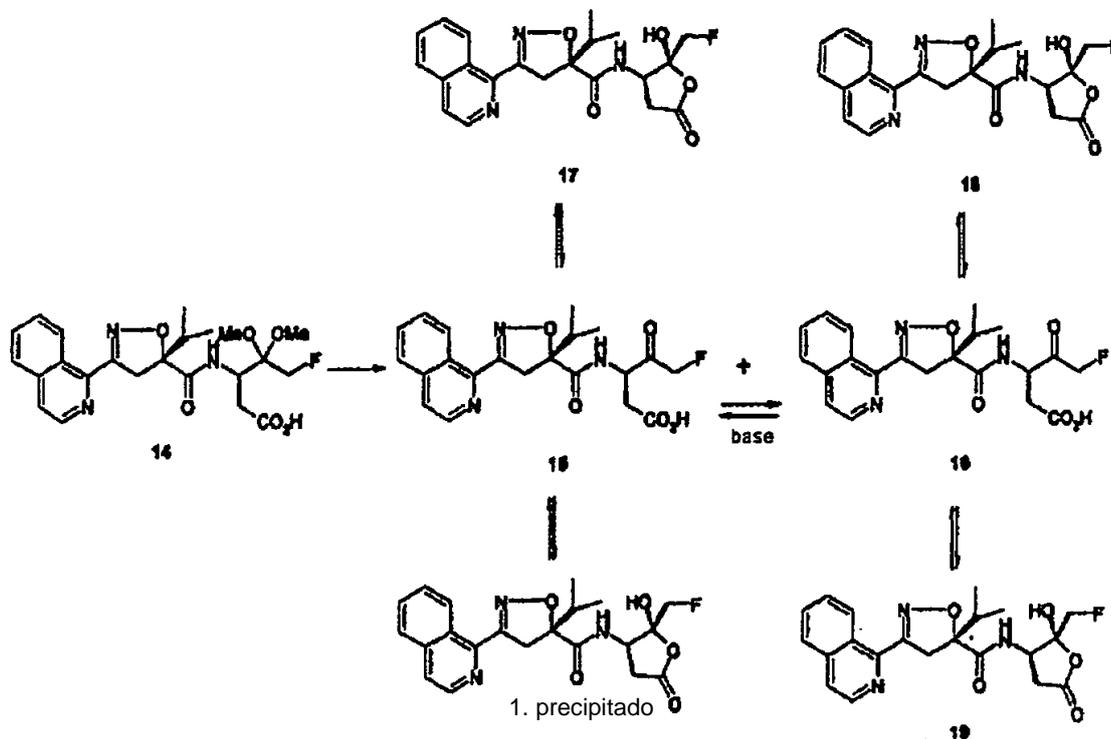
13. Proceso según la reivindicación 12, caracterizado porque la reacción de transformación dinámica inducida por cristalización del paso (d) se lleva a cabo en presencia de simiente y una cantidad catalítica de una base.

30 14. Proceso según la reivindicación 13, caracterizado porque la base es una amina seleccionada de entre el grupo consistente en trietilamina, tri(n-butil)amina, diisopropiletilamina, diisopropilamina, piridina, 4-dimetilaminopiridina, 4-(4-metilpiperidin-1-il)piridina, 1-feniletilamina ópticamente activa y 1-naftiletilamina ópticamente activa.

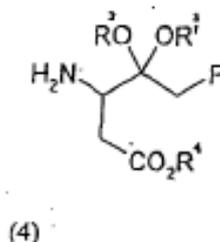
15. Proceso según la reivindicación 14, caracterizado porque la amina se utiliza en una cantidad de 0,001 a 1,0 equivalentes con respecto al compuesto de fórmula (14).

16. Proceso para preparar el compuesto según la reivindicación 4, que comprende los pasos descritos en el esquema de reacción 3:

Esquema de Reacción 3



17. Compuesto de fórmula (4):



donde

5 R^3 y $R^{3'}$ son en cada caso alquilo o R^3 y $R^{3'}$, junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman un heterociclo y

R^4 es alquilo.

18. Compuesto según la reivindicación 17, donde

10 R^3 y $R^{3'}$ son en cada caso metilo, etilo o propilo o R^3 y $R^{3'}$, junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman dioxolano o dioxano y

R^4 es metilo, etilo, propilo o butilo.

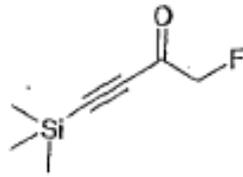
19. Proceso para preparar un compuesto de fórmula (4), que comprende:

(a) proteger y desproteger un compuesto de fórmula (9) para producir un compuesto de fórmula (10);

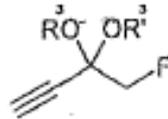
15 (b) llevar a cabo una reacción de acoplamiento carbono-carbono del compuesto de fórmula (10) para producir un compuesto de fórmula (11);

(c) someter a reacción el compuesto de fórmula (11) con bencilamina y reducirlo para producir un compuesto de fórmula (12); e

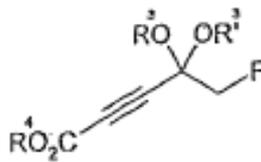
(d) hidrogenar el compuesto de fórmula (12);



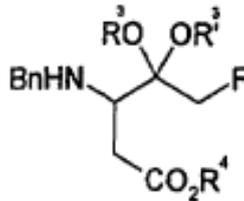
(9)



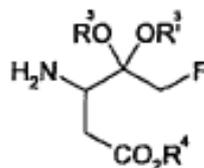
(10)



(11)



(12)



(4)

donde

5 R^3 y $R^{3'}$ son, en cada caso, alquilo o R^3 y $R^{3'}$, junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman un heterociclo, y

R^4 es alquilo.

20. Proceso según la reivindicación 19, donde

10 R^3 y $R^{3'}$ son, en cada caso, metilo, etilo o propilo o R^3 y $R^{3'}$, junto con el átomo de oxígeno al que están unidos, forman dioxolano o dioxano, y

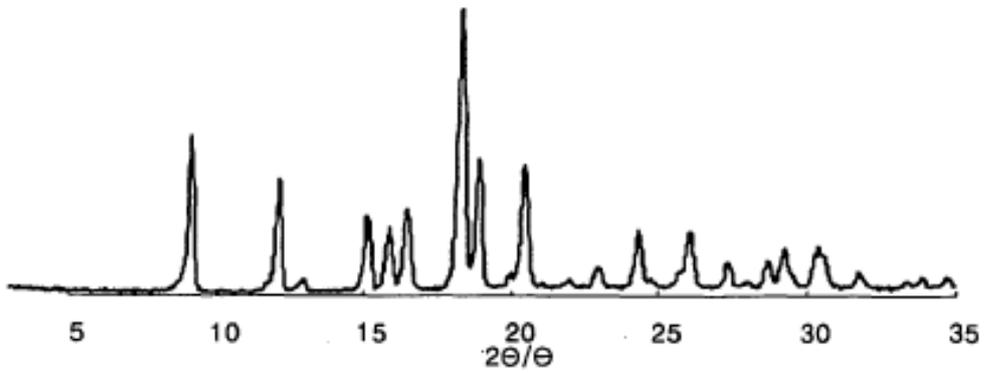
R^4 es metilo, etilo, propilo o butilo.

21. Proceso según la reivindicación 19 o 20, caracterizado porque la reacción de protección en el paso (a) se lleva a cabo utilizando trimetilortoformiato o trietilortoformiato.

22. Proceso según la reivindicación 19 o 20, caracterizado porque la reacción de desprotección del paso (a) se lleva a cabo en presencia de una base seleccionada de entre hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio y bicarbonato de sodio.
- 5 23. Proceso según la reivindicación 19 o 20, caracterizado porque la reacción del paso (b) se lleva a cabo utilizando cloroformiato de etilo o cloroformiato de metilo.
24. Proceso según la reivindicación 23, caracterizado porque la reacción del paso (b) se lleva a cabo en presencia de una base seleccionada de entre n-butil-litio, diisopropilamina-litio o hexametildisilazida de litio.
25. Proceso según la reivindicación 19 o 20, caracterizado porque la reacción de reducción del paso (c) se lleva a cabo utilizando ácido acético y borohidruro de sodio.
- 10 26. Proceso según la reivindicación 19 o 20, caracterizado porque la reacción del paso (d) se lleva a cabo en presencia de un catalizador metálico.
27. Proceso según la reivindicación 26, caracterizado porque el catalizador metálico es un catalizador de la familia del paladio o un catalizador de la familia del níquel de Raney.
- 15 28. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
29. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o composición según la reivindicación 28 para su uso en terapia.
30. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 o composición según la reivindicación 28 para el tratamiento de la inflamación o la prevención de la apoptosis.
- 20 31. Composición según la reivindicación 28 o compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para el tratamiento de la demencia, accidentes cerebrovasculares, discapacidad cerebral debida al SIDA, diabetes, úlcera gástrica, lesiones cerebrales por el virus de la hepatitis, enfermedades hepáticas por el virus de la hepatitis, hepatitis aguda, fallo hepático fulminante, cirrosis hepática, septicemia, rechazo de trasplantes de órganos, artritis reumatoide o necrosis celular cardíaca debida a enfermedades cardíacas isquémicas.
- 25 32. Compuesto según la reivindicación 4, caracterizado porque el compuesto es una forma cristalina que muestra el siguiente patrón de difracción de rayos X:

D (X)	Intensidad relativa (I/I ₀)	Ángulo 2θ
9,665	0,555	9,15
7,284	0,397	12,15
5,825	0,260	15,21
5,563	0,228	15,93
5,372	0,302	16,50
4,840	1,000	18,33
4,695	0,477	18,90
4,341	0,454	20,46
3,663	0,230	24,30
3,414	0,219	26,10

[Fig. 1]



[Fig. 2]

