

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 405 055**

51 Int. Cl.:

C07D 213/64 (2006.01)

C07C 257/14 (2006.01)

C07C 271/24 (2006.01)

C07C 323/41 (2006.01)

C07D 213/70 (2006.01)

C07C 257/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.03.2004 E 04720317 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2013 EP 1608617**

54 Título: **Agonistas muscarínicos**

30 Prioridad:

21.03.2003 US 456911 P

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

30.05.2013

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
LILLY CORPORATE CENTER
INDIANAPOLIS, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**ALLEN, JENNIFER REBECCA;
HITCHCOCK, STEPHEN ANDREW;
TURNER, WILLIAM WILSON, JUNIOR y
LIU, BIN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 405 055 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).

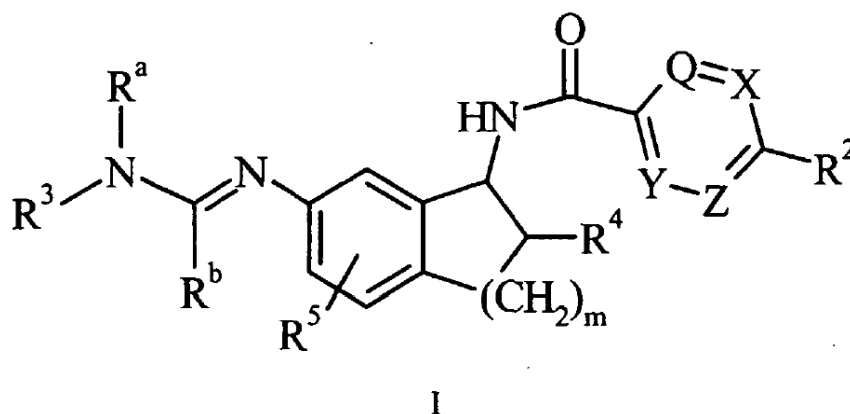
DESCRIPCIÓN

Agonistas muscarínicos.

La presente invención se refiere al campo de la química farmacéutica y orgánica y proporciona compuestos que son activos como receptores muscarínicos.

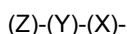
- 5 Los compuestos de la presente invención son agonistas muscarínicos. De modo más específico, los compuestos de la presente invención son agonistas selectivos del receptor muscarínico M-1. Como tales, son útiles para tratar diversos trastornos del sistema nervioso central y otros sistemas corporales. Estos trastornos incluyen trastornos cognitivos, ADHD, obesidad, enfermedad de Alzheimer, psicosis, que incluye esquizofrenia, y para aliviar la presión intraocular, como la que aparece en el glaucoma.
- 10 Se han descrito ciertos compuestos similares al indano como útiles para tratar trastornos asociados con el mal funcionamiento del sistema colinérgico muscarínico en las publicaciones PCT n° WO 97/25983, publicada el 24 de julio de 1997, y WO 99/04778, publicada el 4 de febrero de 1999.

La presente invención proporciona compuestos de fórmula I:



en la que:

- 15 Q, X, Y y Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en CR¹ y N, con la condición de que no más de dos de Q, X, Y y Z sean N, y al menos dos de Q, X, Y y Z sean CH; o Y es CH, Z es CH, y el resto "Q=X" representa "S" para formar un anillo de tiofeno;
- R¹ se selecciona independientemente cada vez que aparece del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alcoxi C₁-C₄, y alquilo C₁-C₄;
- 20 R² se selecciona del grupo que consiste en halógeno; alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄; cicloalquilo C₃-C₈; ciano; trifluorometilo; piridinilo opcionalmente sustituido con uno a dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄; tienilo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄; fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo y ciano; y pirrolilo opcionalmente sustituido con uno a dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄;
- 25 R³ es un radical de fórmula:



en la que X se selecciona del grupo que consiste en



- 30 y un alcanodiilo C₁-C₄ de cadena lineal opcionalmente sustituido con metilo, dimetilo geminal, o fenilo;

Y se selecciona del grupo que consiste en O y S; y

Z se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆; cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido con uno a tres

5 sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo, ciano, y nitro; fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo, ciano, y nitro; naftilo opcionalmente con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo, ciano, y nitro; heteroarilo opcionalmente con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, y alquilo C₁-C₄; y heterociclo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, y alquilo C₁-C₄;

R^a se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y metilo;

10 R⁴ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, y flúor;

R⁵ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alcoxi C₁-C₄, y alquilo C₁-C₄;

R^b se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo, y etilo; y

m es uno o dos;

o sus sales de adición farmacéuticamente aceptables.

15 La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I y un diluyente farmacéuticamente aceptable.

20 Debido a que los compuestos de fórmula I son agonistas del receptor muscarínico M-1, los compuestos de fórmula I son útiles para el tratamiento de diversos trastornos asociados con los receptores muscarínicos, incluyendo trastornos cognitivos (incluyendo trastorno cognitivo relacionado con el envejecimiento, deterioro cognitivo suave, deterioro cognitivo asociado con esquizofrenia, y deterioro cognitivo inducido por quimioterapia), ADHD, trastornos del estado de ánimo (incluyendo depresión, manía, trastornos bipolares), psicosis (en particular esquizofrenia), demencia (incluyendo enfermedad de Alzheimer, demencia inducida por SIDA, demencia vascular, y demencia que carece de histología distintiva), enfermedad de Parkinson, y corea de Huntington. Además, los presentes compuestos son útiles para tratar la colitis crónica, incluyendo la enfermedad de Crohn. Además, los presentes compuestos son útiles para el tratamiento del dolor (incluyendo el dolor agudo y el dolor crónico), la xerostemia (boca seca), la enfermedad de los cuerpos de Lewis (incluyendo la enfermedad de los cuerpos de Lewis difusa), la afasia (incluyendo afasia primaria y síndromes de afasia primaria), y los síndromes hipotensivos.

30 En otra realización, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I, o una composición farmacéutica de este, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos asociados con los receptores muscarínicos. La presente invención también proporciona un compuesto de fórmula I para su uso en terapia.

Tal como se emplean en la presente, los siguientes términos y expresiones tienen los significados indicados:

El término "halo" o "halógeno" se refiere a un átomo de cloro, flúor, bromo o yodo.

35 La expresión "alquilo C₁-C₄" se refiere a una cadena de alquilo lineal o ramificada que tiene de uno a cuatro átomos de carbono, cuyos ejemplos incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, y t-butilo. La expresión "alcanodilo C₁-C₄" se refiere a una cadena de alcanodilo lineal o ramificada que tiene de uno a cuatro átomos de carbono en total, cuyos ejemplos incluyen metileno, etileno, tetrametileno, 1-metilpropan-1,3-diilo, 2-metilpropan-1,3-diilo, y butan-2,3-diilo. La expresión "cicloalquilo C₃-C₈" se refiere a ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, y ciclooctilo.

40 La expresión "alcoxi C₁-C₄" se refiere a una cadena de alquilo lineal o ramificada que tiene de uno a cuatro átomos de carbono unida a un átomo de oxígeno, cuyos ejemplos incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, sec-butoxi, y t-butoxi.

45 El término "heteroarilo" significa un anillo de cinco o seis miembros insaturado estable que contiene de 1 a 2 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. Los ejemplos de heteroarilo incluyen piridinilo, pirimidinilo, pirazinilo, pirrolilo, oxazolilo, isoxazolilo, imidazolilo, tiazolilo, piridazinilo, furilo, tienilo, y similares. Los grupos heteroarilo preferidos son tienilo, piridinilo, y furilo.

El término "heterociclo" significa un anillo de cinco o seis miembros saturado estable que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. Los ejemplos de heterociclo incluyen pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, tetrahidrofurilo, morfolino, y similares.

50 Los compuestos de la presente invención forman sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables con una

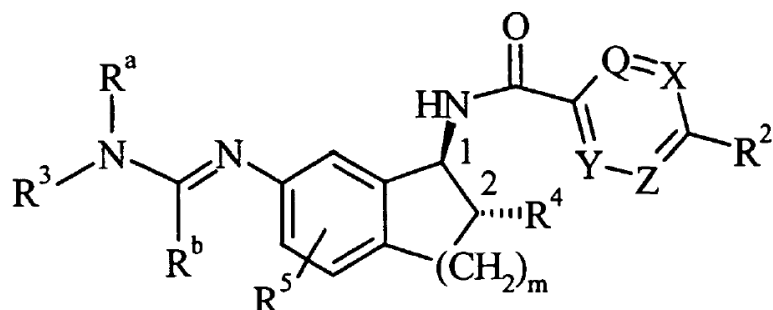
amplia variedad de ácidos orgánicos e inorgánicos, e incluyen las sales fisiológicamente aceptables que a menudo se emplean en la química farmacéutica. Estas sales también son parte de la presente invención. Una "sal de adición farmacéuticamente aceptable" se forma a partir de un ácido farmacéuticamente aceptable, tal como se conoce en la técnica. Estas sales incluyen las sales farmacéuticamente aceptables listadas en Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2-19 (1977), que son conocidas por los expertos en la técnica. Los ácidos inorgánicos típicos usados para formar estas sales incluyen el ácido clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, nítrico, sulfúrico, fosfórico, hipofosfórico, metafosfórico, pirofosfórico, y similares. También pueden usarse sales derivadas de ácidos orgánicos, tales como ácidos alifáticos mono- y dicarboxílicos, ácidos alcanóicos sustituidos con fenilo, ácidos hidroxialcanóicos e hidroxialcandioicos, ácidos aromáticos, y ácidos sulfónicos alifáticos y aromáticos. Así, estas sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, acetato, fenilacetato, trifluoroacetato, acrilato, ascorbato, benzoato, clorobenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, metilbenzoato, o-acetoxibenzoato, isobutirato, fenilbutirato, α -hidroxibutirato, butin-1,4-dicarboxilato, hexin-1,4-dicarboxilato, caprato, caprilato, cinamato, citrato, formiato, fumarato, glicolato, heptanoato, hipurato, lactato, malato, maleato, hidroximaleato, malonato, mandelato, mesilato, nicotinato, isonicotinato, oxalato, ftalato, teraftalato, propiolato, propionato, fenilpropionato, salicilato, sebacato, succinato, suberato, bencensulfonato, p-bromobencensulfonato, clorobencensulfonato, etilsulfonato, 2-hidroxietilsulfonato, metilsulfonato, naftalen-1-sulfonato, naftalen-2-sulfonato, naftalen-1,5-sulfonato, p-toluensulfonato, xilensulfonato, tartrato, y similares.

La presente invención incluye los estereoisómeros y los tautómeros de los compuestos de fórmula I. En la presente se emplean las denominaciones de Cahn-Prelog-Ingold de (R)- y (S)-isómeros, y la denominación cis y trans para la estereoquímica relativa para indicar los isómeros específicos y la estereoquímica relativa específica.

Al igual que en cualquier grupo de compuestos farmacéuticamente activos, se prefieren algunos grupos para su aplicación de uso final. Los siguientes párrafos definen las clases preferidas.

a) Cuando R^4 no es hidrógeno, se prefieren los compuestos que tienen una estereoquímica trans en la posición 1 y 2.

b) Cuando R^4 no es hidrógeno, se prefieren más los compuestos que tienen una estereoquímica trans en la posición 1 y 2 que aparecen a continuación:



c) R^3 es metilo.

d) R^5 es hidrógeno.

e) R^4 es hidroxilo.

f) m es uno.

g) R^a es metilo, R^5 es hidrógeno, R^4 es hidroxilo, y m es uno.

h) Q, X, Y y Z son cada uno CR^1 , con la condición de que al menos dos de Q, X, Y y Z sean CH.

i) R^1 es hidrógeno.

j) R^1 es halógeno.

k) R^1 es flúor.

l) Q, X, Y y Z son cada uno CH.

m) Uno de Q, X, Y y Z es CF y los otros son CH.

n) Q es CF, y X, Y y Z son cada uno CH.

p) R² es fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo, y ciano.

q) R² es fenilo.

r) X en el radical R³ es alcanodiilo C₁-C₄ de cadena lineal.

5 s) Y en el radical R³ es O.

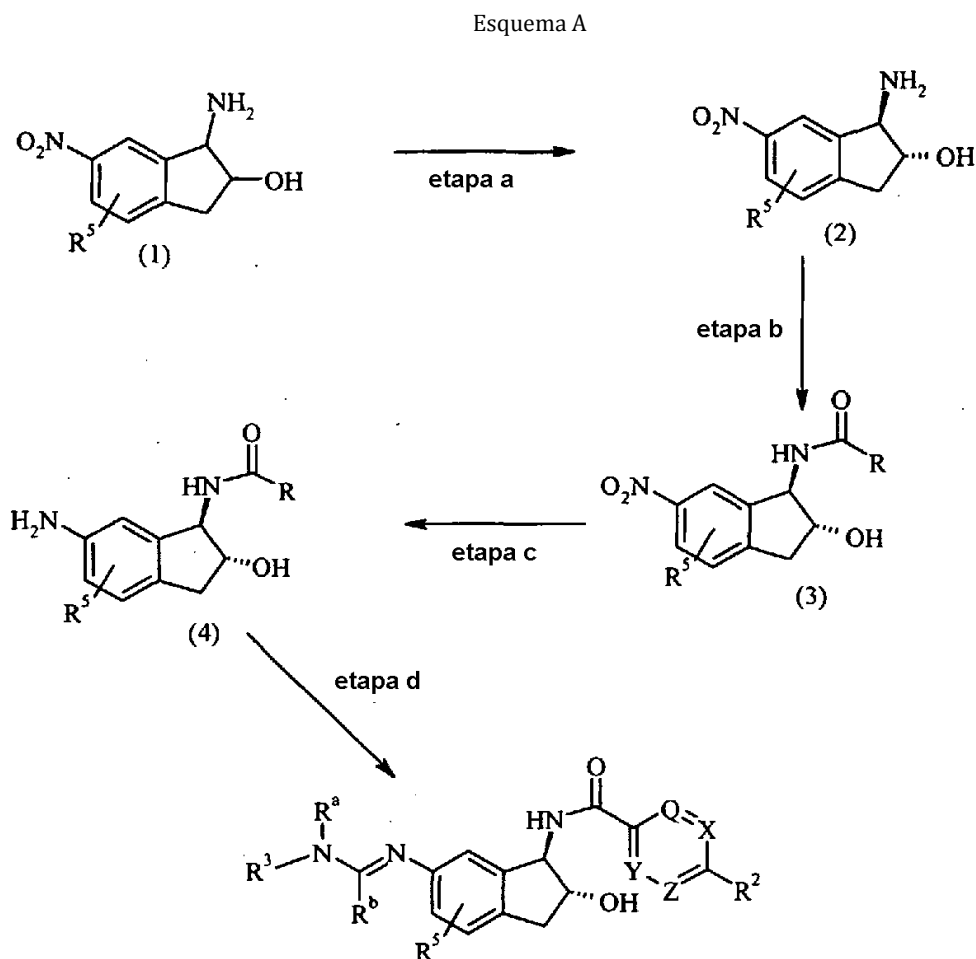
t) Y en el radical R³ es S.

u) Z en el radical R³ es alquilo C₁-C₄.

v) Z en el radical R³ es fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo, ciano y nitro.

10 Los anteriores párrafos pueden combinarse para definir otras clases preferidas de compuestos.

Los compuestos de fórmula I en la que R⁴ es hidroxilo se preparan mediante procedimientos descritos en el esquema A. En el esquema A, todos los sustituyentes, a menos que se indique lo contrario, son como se ha definido previamente, y todos los reactivos son muy conocidos y apreciados en la técnica.



Fórmula I en la que
R¹ es hidroxilo, y m es 1

15

En el esquema A, etapa a, el compuesto de fórmula (1) se resuelve para producir un compuesto de fórmula (2) sustancialmente puro. El compuesto de fórmula (1) puede prepararse con facilidad mediante procedimientos muy conocidos y apreciados en la técnica, tales como los que se encuentran en las publicaciones PCT n° WO 97/25983, publicada el 24 de julio de 1997, y WO 99/04778, publicada el 4 de febrero de 1999. Tal como se emplea en la presente, la expresión "sustancialmente puro" se refiere a pureza enantiomérica. La estereoquímica deseada en los compuestos de fórmula I finales puede ser introducida de modo conveniente en el esquema A, etapa a, mediante la

20

resolución de los compuestos de fórmula (1). El posterior procesamiento de los compuestos resueltos de fórmula (1), a través de las etapas b, c, d, y la etapa opcional e, descrita a continuación, producirá compuestos de fórmula I sustancialmente puros. Pueden prepararse compuestos de fórmula I sustancialmente puros que sean más del 80 %, preferiblemente más del 90 %, más preferiblemente más del 95 %, y lo más preferiblemente más del 97 % enantioméricamente puros. El compuesto de fórmula (1) puede resolverse mediante cromatografía quiral o mediante cristalización fraccionada de las sales de adición de ácidos diastereoméricas. Se espera que una amplia diversidad de dichas sales sean adecuada para este objetivo. En la práctica, se ha descubierto que los isómeros del ácido mandélico son particularmente útiles.

Por ejemplo, el compuesto de fórmula (1) se pone en contacto con el ácido seleccionado. En general, puede usarse de aproximadamente 0,4 equivalentes molares a un gran exceso del ácido seleccionado, siendo preferido de aproximadamente 0,4 a 1,5 equivalentes molares, y siendo más preferido de aproximadamente 0,5 a 1,1 equivalentes molares. La resolución se realiza generalmente cristalizando la sal de adición de ácidos de una disolución. En particular, son útiles disolventes tales como alcoholes inferiores, incluyendo el metanol. Puede resultar ventajoso emplear cantidades pequeñas de agua con el disolvente o disolventes seleccionados para realizar la resolución en un volumen razonable. El uso de un antidisolvente también puede ser ventajoso. Tal como se emplea en la presente, el término "antidisolvente" se refiere a un disolvente en que la sal es significativamente menos soluble comparada con el otro disolvente o disolventes seleccionados. Preferiblemente, cuando se emplea un antidisolvente, este es miscible con el otro disolvente o disolventes seleccionados. Los antidisolventes adecuados incluyen éteres, tales como dietil éter, metil t-butil éter, y similares, y acetatos de alquilo inferior, tales como acetato de metilo, acetato de etilo, acetato de isopropilo, acetato de propilo, acetato de isobutilo, acetato de sec-butilo, acetato de butilo, acetato de amilo, acetato de isoamilo, y similares, y alcanos, tales como pentano, hexano, heptano, ciclohexano, y similares. Cuando se emplea la mezcla racémica, debe ponerse atención en usar un antidisolvente para evitar la cristalización de la sal diastereómera no deseada.

Generalmente, la cristalización se realiza a una temperatura inicial de aproximadamente 40 °C a la temperatura de reflujo del disolvente o disolventes seleccionados. La mezcla después se enfría para producir la sal. Puede resultar ventajoso el sembrado. Preferiblemente, la disolución de cristalización se enfría lentamente. La cristalización se enfría, de manera más conveniente, hasta una temperatura desde la temperatura ambiente a aproximadamente -20 °C. La sal puede recogerse usando técnicas que son muy conocidas en la técnica, incluyendo filtración, decantación, centrifugación, evaporación, secado, y similares. El compuesto de fórmula (2) puede usarse directamente como la sal de adición de ácidos del ácido seleccionado. Como alternativa, antes de su uso, el compuesto de fórmula (2) puede aislarse como otra sal de adición de ácidos después de un intercambio de ácidos, o puede aislarse como la base mediante una extracción bajo condiciones básicas, tal como se conoce y se aprecia en la técnica.

Tal como será evidente para los expertos en la técnica, el compuesto de fórmula (2) representado está en la configuración trans en las posiciones 1 y 2 del núcleo de indano. Los compuestos cis pueden prepararse con facilidad a partir de estos compuestos trans mediante la protección de la amina, la inversión del centro hidroxilo, seguido de una desprotección según sea necesario. Existen numerosos procedimientos que permiten la inversión de los centros hidroxilo, tales como mediante una reacción de Mitsunobu con ácidos carboxílicos adecuados, incluyendo ácido acético y ácido benzoico, seguido de una hidrólisis. Como alternativa, un aminoindanol resuelto de modo apropiado puede nitrarse selectivamente para producir un compuesto de fórmula (2). Por ejemplo, el aminoindanol resuelto puede ponerse en contacto con un agente nitrante, tal como ácido nítrico o nitrato de sodio. Esta reacción puede realizarse en presencia de un ácido fuerte, tal como ácido trifluoroacético o ácido sulfúrico. Después, la reacción puede neutralizarse con una base apropiada, tal como hidróxido de sodio. Los procedimientos de nitración son muy conocidos en la técnica; véase, por ejemplo, *Organic Chemistry*, Morrison y Boyd, 5ª ed. (Allyn & Bacon, Inc.).

El esquema de reacción A, etapa b, muestra la formación de un compuesto de fórmula (3). Debe entenderse que el compuesto de fórmula (3) puede ser un compuesto en el que R es un grupo según se desee en el producto final de fórmula I, según se definió anteriormente. R también puede combinarse con el carbonilo para formar un grupo protector, tal como t-BOC, que después puede retirarse antes de la incorporación de un grupo R según se desee en el producto final de fórmula I. La selección y el uso de grupos protectores adecuados es muy conocida y apreciada en la técnica (*Protecting Groups in Organic Synthesis*, Theodora Greene (Wiley-Interscience)).

Por ejemplo, cuando R es un grupo según se desea en el producto final, la reacción de acoplamiento mostrada en la etapa b se realiza usando el ácido apropiado o el haluro de ácido derivado de él. Los ácidos apropiados incluyen diversos ácidos benzoicos sustituidos y sus haluros de ácido, ácidos heteroarílicos y sus haluros de ácido, y diversos ácidos biarilcarboxílicos y sus haluros de ácido. Los ejemplos incluyen ácido bifenilcarboxílico y ácido 3-fluorobifenil-4-carboxílico.

Por ejemplo, el compuesto de fórmula (2) se pone en contacto con un ácido apropiado para producir un compuesto de fórmula (3). Estas reacciones de acoplamiento son habituales en la síntesis peptídica y pueden emplearse los

procedimientos sintéticos usados en ella. Por ejemplo, pueden usarse reactivos de acoplamiento muy conocidos, tales como reactivos unidos a resinas y carbodiimidas con o sin el uso de aditivos muy conocidos, tales como N-hidroxisuccinimida, 1-hidroxibenzotriazol, etc., para facilitar esta acilación. La reacción se realiza de forma convencional en un diluyente polar aprótico inerte, tal como dimetilformamida (DMF), cloruro de metileno (diclorometano), cloroformo, acetonitrilo, tetrahidrofurano (THF), y similares. Generalmente, la reacción se realiza a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 60 °C, y generalmente requiere de aproximadamente 1 a aproximadamente 24 horas. Tras completar la reacción, el producto de fórmula (3) se recupera por procedimientos convencionales que incluyen la extracción, la precipitación, la cromatografía, la filtración, la trituración, la cristalización, y similares.

Como alternativa, por ejemplo, el compuesto de fórmula (2) se pone en contacto con un haluro de ácido de un ácido apropiado para producir un compuesto de fórmula (3). Estos haluros de ácido están disponibles en el mercado o pueden prepararse con facilidad a partir de los correspondientes ácidos mediante procedimientos muy conocidos en la técnica, tales como mediante la acción de tricloruro de fósforo, tribromuro de fósforo, oxicluro de fósforo, pentacloruro de fósforo, cloruro de tionilo, bromuro de tionilo, o cloruro de oxalilo, con o sin una pequeña cantidad de dimetilformamida, en un disolvente inerte tal como tolueno, cloruro de metileno, o cloroformo, y a una temperatura de aproximadamente 0-80 °C. La reacción generalmente se desarrolla durante un periodo de tiempo de varía de 1 hora a 24 horas. El haluro de ácido puede aislarse y purificarse, o a menudo puede usarse directamente, es decir, con o sin el aislamiento y/o la purificación. Las reacciones de acoplamiento en general emplean una base adecuada para captar el ácido generado durante la reacción. Las bases adecuadas incluyen, como ejemplo, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, piridina, trietilamina, N,N-diisopropiletilamina, N-metilmorfolina, y similares. La reacción se realiza, de modo convencional, en un disolvente, tal como cloruro de metileno, cloroformo, tetrahidrofurano y similares, o bajo condiciones de Schotten-Baumann en una mezcla de disolventes, tales como cloruro de metileno, acetato de etilo, tolueno y agua. Generalmente, la reacción de acoplamiento se realiza a una temperatura de aproximadamente -20 °C a aproximadamente 80 °C, y generalmente requiere de aproximadamente 1 a aproximadamente 24 horas. Tras completar la reacción, el producto de fórmula (3) se recupera por procedimientos convencionales que incluyen la extracción, la precipitación, la cromatografía, la filtración, la trituración, la cristalización, y similares.

El esquema de reacción A, etapa c, muestra la reducción de un grupo nitro para producir un compuesto de fórmula (4). Estas reducciones pueden realizarse mediante diversos procedimientos que son muy conocidos en la técnica.

Por ejemplo, un compuesto de fórmula (3) puede hidrogenarse sobre un catalizador, tal como paladio sobre carbono, para producir un compuesto de fórmula (4). Estas hidrogenaciones en general se realizan en un disolvente y son adecuados diversos disolventes, por ejemplo, metanol, etanol, isopropanol, tetrahidrofurano, o acetato de etilo o sus mezclas. La hidrogenación puede realizarse a una presión de hidrógeno inicial de 137-1241 kPa (20-180 psi). La reacción generalmente se realiza a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 60 °C. La reacción generalmente requiere de 1 hora a 3 días. El producto puede aislarse y purificarse mediante técnicas muy conocidas en la técnica, tales como la filtración, la extracción, la evaporación, la trituración, la precipitación, la cromatografía, y la recristalización.

En el esquema A, etapa d, un compuesto de fórmula (4) se pone en contacto con un agente formador de amidina apropiado para producir un compuesto de fórmula I. Los agentes formadores de amidina apropiados incluyen triflato de 1-metiltio-1-metil-N-(4-fluorobencil)-N-metilimonio y yoduro de 1-metiltio-1-metil-N-(4-fluorobencil)-N-metilimonio. Los expertos en la técnica reconocerán que los agentes formadores de amidina apropiados pueden prepararse con antelación o *in situ* si se desea.

Por ejemplo, un compuesto de fórmula (4) se pone en contacto con aproximadamente 1-3 equivalentes de un agente formador de amidina apropiado. La reacción en general se realiza en un disolvente seco, tal como cloruro de metileno, tolueno, o tetrahidrofurano, a una temperatura de aproximadamente -20 °C a 50 °C. La reacción se realiza usando una base apropiada, tal como piridina, colidina, o trietilamina. La reacción requiere generalmente de 1 a 18 horas. El producto puede aislarse y purificarse mediante técnicas muy conocidas en la técnica, tales como extinción, filtración, extracción, evaporación, trituración, precipitación, cromatografía, y recristalización.

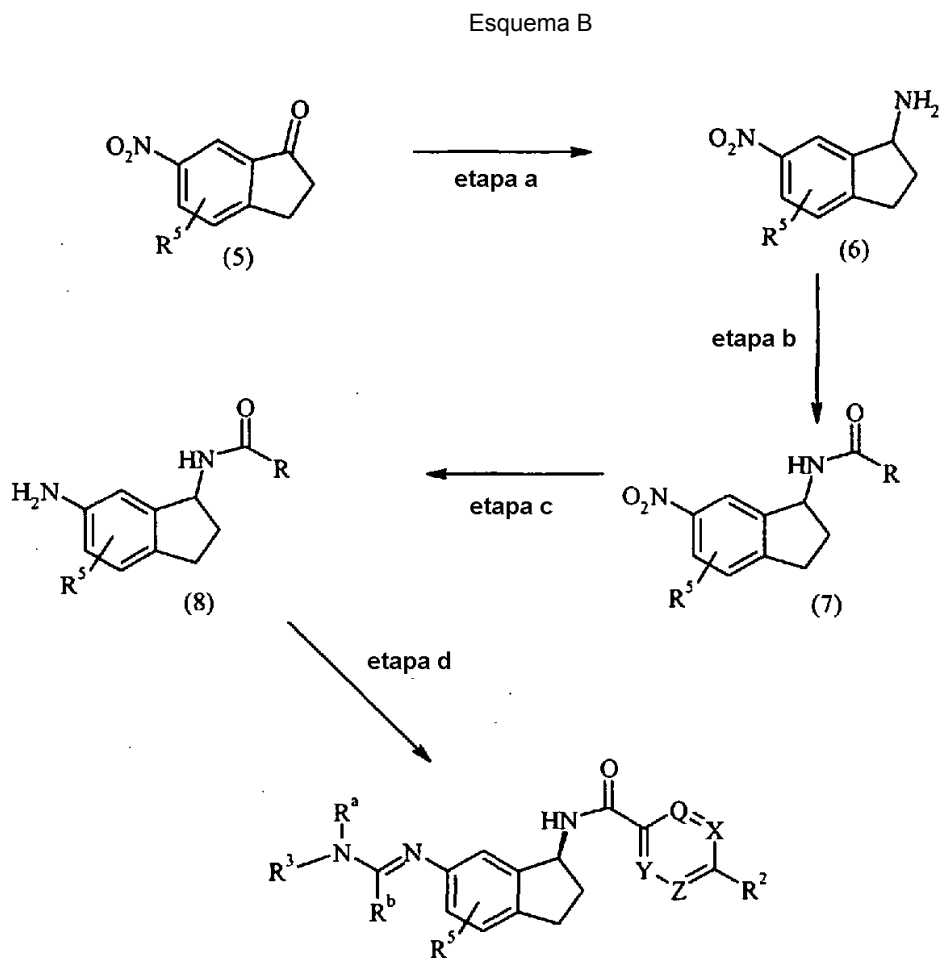
Tal como se apreciará con facilidad, cuando R es un grupo protector introducido en la etapa b, el grupo protector puede retirarse después de la etapa d, y la amina resultante puede acoplarse con un ácido o haluro de ácido apropiado según se ha descrito también anteriormente en la etapa b, para producir un compuesto de fórmula I.

Algunos compuestos de fórmula I son intermedios para otros compuestos finales de fórmula I. Por ejemplo, cuando R² es yodo, puede usarse otro reactivo, por ejemplo, 2-(tributilestanil)tiofeno o 2-(tributilestanil)piridina, para desplazar al yodo como un grupo saliente y sustituirlo por un grupo R² diferente según se desee en el producto final.

En el esquema A, etapa opcional e que no se muestra, se forma una sal de adición de ácidos de un compuesto de fórmula I usando un ácido farmacéuticamente aceptable. La formación de sales de adición de ácidos es muy

conocida y apreciada en la técnica.

Los compuestos de fórmula I, en la que R^4 es hidrógeno, se preparan a partir de compuestos de fórmula (3), o a partir de compuestos amino-protectados de fórmula (2) mediante desoxigenación. Estas reacciones de desoxigenación se realizan con facilidad usando procedimientos muy conocidos en la técnica descritos, por ejemplo, en Larock, Comprehensive Organic Transformations, pp. 44-52 (1999). Como alternativa, los compuestos de fórmula I, en la que R^4 es hidrógeno, se preparan mediante procedimientos descritos en el esquema B. En el esquema B, todos los sustituyentes, a menos que se indique lo contrario, son como se han definido previamente, y todos los reactivos son conocidos y apreciados en la técnica.



Fórmula I en la que
 R^4 es hidrógeno, y m es 1

El esquema de reacción B, etapa a, muestra la aminación reductora de un compuesto de fórmula (5) para producir un compuesto de fórmula (6). Estas aminaciones reductoras se realizan bajo diversas condiciones. La reacción mostrada en el esquema B, etapa a, puede realizarse usando amoníaco o una amina protegida, tal como bencilamina, dibencilamina y similares, seguido de una desprotección para producir el compuesto de fórmula (6).

Por ejemplo, un compuesto de fórmula (5) se hace reaccionar con un exceso de amoníaco y cianoborohidruro de sodio para producir un compuesto de fórmula (6). Tal como se conoce en la técnica, puede resultar ventajoso controlar y ajustar el pH durante esas reacciones. La reacción se realiza en un disolvente, tal como metanol, etanol, isopropanol, y agua o sus mezclas. Generalmente, la reacción se realiza a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 60 °C, y generalmente requiere de aproximadamente 1 a aproximadamente 24 horas. Tras finalizar la reacción, el producto de fórmula (6) se recupera mediante procedimientos convencionales, que incluyen la extracción, la precipitación, la cromatografía, la filtración, la trituración, la cristalización, y similares.

El esquema de reacción B, etapas b, c, d, y la etapa opcional e, se realiza mediante los procedimientos descritos en el esquema A, etapas b, c, d, y la etapa opcional e, para producir un compuesto de fórmula I.

Los compuestos de fórmula I, en la que R^4 es flúor, se preparan a partir de compuestos de fórmula (3) o a partir de

compuestos amino-protectados de fórmula (2) mediante procedimientos de halogenación muy conocidos en la técnica descritos, por ejemplo, en Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, pp. 689-701 (1999).

La presente invención se ilustra más a fondo mediante los siguientes ejemplos y preparaciones. Estos ejemplos y preparaciones son sólo ilustrativos y no pretenden limitar la invención de ninguna manera.

- 5 Los términos y las expresiones usados en los ejemplos y las preparaciones tienen su significado normal a menos que se indique lo contrario. Por ejemplo, "°C" se refiere a grados Celsius; "M" se refiere a molar o molaridad; "mmol" se refiere a milimol o milimoles; "g" se refiere a gramo o gramos; "ml" se refiere a mililitro o mililitros; "p.f." se refiere a punto de fusión; "salmuera" se refiere a una disolución de cloruro de sodio acuosa saturada; etc. En la RMN de ¹H, todos los desplazamientos químicos se indican en δ, a menos que se indique lo contrario.

10 Procedimientos de acoplamiento

Procedimiento A: Ácido 2'-clorobifenil-4-carboxílico

- 15 Se combinan metil-4-bromobenzoato (1,0 g, 4,65 mmol), ácido 2-clorofenilborónico (799 mg, 5,1 mmol), Pd(OAc)₂ (51 mg, 0,46 mmol) y carbonato de sodio (1,5 g, 13,9 mmol) en DMF (20 ml) y agua (2,0 ml) con agitación. Se purga la mezcla de reacción con argón, se añade trifenilfosfina (61 mg, 0,23 mmol) y se vuelve a purgar con argón. Se coloca la reacción sellada en un baño de aceite mantenido a 80 °C y se deja en agitación durante 1 hora. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo y se filtra a través de un lecho corto de Celite con más acetato de etilo. Se lavan los filtrados orgánicos con agua, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan. Una purificación mediante una cromatografía de resolución rápida en columna produce el éster metílico del ácido 2'-clorobifenil-4-carboxílico como un sólido amarillo. Se disuelve el éster purificado en THF (0,25 M) y se añade un volumen igual de NaOH 1 M. Se agita con fuerza a temperatura ambiente durante 15 horas. Tras la finalización, se acidifica la reacción con HCl concentrado y se extrae con acetato de etilo. La evaporación del disolvente produce 762 mg (67 %) del compuesto del título. MS (ES): *m/z* 231,1 (M-H).
- 20

Los siguientes compuestos se preparan fundamentalmente como se describió anteriormente.

ácido 6-(2-clorofenil)piridin-3-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 233,9 (M+H)
ácido 6-(2,4-difluorofenil)piridin-3-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 235,9 (M+H)
éster metílico del ácido 6-fenilpiridin-3-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 214,1 (M+H)
ácido 6-(2-metilfenil)piridin-3-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 214,0 (M+H)
ácido 2'-trifluorometilbifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 265,2 (M-H)
ácido 2-metilbifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 211,3 (M-H)
ácido 3-fluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 215,1 (M-H)
ácido 2',6'-diclorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 264,9 (M-H)
ácido 2',6'-difluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 233,1 (M-H)
ácido 2'-metoxibifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 227,0 (M-H)
ácido 3,4'-difluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 233,1 (M-H)
ácido 3,2'-difluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 233,1 (M-H)
ácido 3-clorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 231,1 (M-H)
ácido 4-(tien-2-il)fenil-1-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 203,1 (M-H)
ácido 4'-fluorobifenil-4-carboxílico (hidrólisis en dioxano a 60 °C)	MS (ES): <i>m/z</i> 214,9 (M-H)
ácido 3'-fluorobifenil-4-carboxílico (hidrólisis en dioxano)	MS (ES): <i>m/z</i> 215,0 (M-H)
ácido 3'-cianobifenil-4-carboxílico (hidrólisis con LiOH en dioxano)	MS (ES): <i>m/z</i> 222,0 (M-H)

25 Procedimiento B: Ácido 5-fenilpirazin-2-carboxílico

Se combinan el éster metílico del ácido 5-cloropirazin-2-carboxílico (626 mg, 3,64 mmol), ácido fenilborónico (666 mg, 5,45 mmol), fluoruro de cesio (55 mg, 0,36 mmol) y Na₂CO₃ (964 mg, 9,09 mmol) en DMF (5 ml) y agua (5 ml) con agitación. Se coloca la mezcla de reacción heterogénea expuesta al aire en un baño de aceite mantenido a 80 °C. Después de 5 minutos de calentamiento se añade Pd(OAc)₂ (81 mg, 0,36 mmol) en una porción y se agita hasta que la reacción se vuelve negra. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo, y se filtra a través de un lecho corto de Celite con más acetato de etilo. Se lavan los filtrados orgánicos con agua, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan. Una purificación mediante una cromatografía de resolución rápida en columna produce el éster metílico del ácido 2-fenilpirimidin-5-carboxílico como un sólido amarillo. Se disuelve el éster purificado en THF (0,25 M) y se añade un volumen igual de NaOH 1 M. Se agita con fuerza a temperatura ambiente durante 15 horas. Tras la finalización, se acidifica la reacción con HCl concentrado y se extrae con acetato de etilo. La evaporación del disolvente produce 63 mg (8 %) del compuesto del título. RMN de ¹H (DMSO): 9,37 (s, 1H), 9,21 (s, 1H), 8,23-8,21 (m, 2H), 7,57-7,77 (m, 3H).

Los siguientes compuestos se preparan fundamentalmente como se describió anteriormente.

ácido 2'-fluoro-6'-trifluorometilbifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 283,1 (M-H)
ácido 3,2',4'-trifluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 251,1 (M-H)
ácido 4'-fluoro-2'-metioxibifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 245,1 (M-H)
ácido 3-cloro-2',4'-difluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 267,1 (M-H)
ácido 4'-fluoro-2'-metilbifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 229,0 (M-H)
ácido 4'-trifluorometilbifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 265,1 (M-H)
ácido 2-fluoro-4-(tienil-2-il)fenil-1-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 221,1 (M-H)

15 Procedimiento C: Ácido 3',4'-difluorobifenil-4-carboxílico

Se combinan el ácido 3,4-difluorobencenborónico (1,0 g, 5,2 mmol), metil-4-bromobenzoato (0,241 g, 1,73 mmol), Pd(OAc)₂ (0,019 g, 0,086 mmol), bromuro de tetrabutilamonio (0,111 g, 0,345 mmol) y fosfato de potasio (0,733 g, 3,454 mmol). Se purga el recipiente de reacción con argón y se añade DMF anhidra (20 ml) a la mezcla de reacción. Se calienta el recipiente de reacción sellado hasta 120 °C con agitación hasta la finalización. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo, y se filtra a través de un lecho corto de Celite con más acetato de etilo. Se lavan los filtrados orgánicos con agua, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan. Una purificación mediante una cromatografía de resolución rápida en columna produce el éster metílico del ácido 3',4'-difluorobifenil-4-carboxílico como un sólido amarillo. Se disuelve el éster purificado en dioxano (45 ml) y se añade un volumen igual de NaOH acuoso 1 M. Se calienta el recipiente de reacción hasta 60 °C con agitación hasta la finalización. Se elimina el disolvente mediante evaporación. Se disuelve el residuo en diclorometano y se lava con ácido clorhídrico acuoso 1 N. Se secan las capas orgánicas sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan para producir 0,048 g (12 %) del compuesto del título. MS (ES): *m/z* 235 (M+H).

Los siguientes compuestos se preparan fundamentalmente como se describió anteriormente.

ácido 6-(2-fluorofenil)piridin-3-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 218,0 (M+H)
ácido 3',5'-dimetilbifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 225,0 (M-H)
ácido 3',5'-difluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 233,0 (M-H)
ácido 3',5'-diclorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 267,1 (M ⁺)
ácido 3'-clorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 230,9 (M-H)
ácido 2',3'-difluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 264,9 (M-H)
ácido 4'-clorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 230,9 (M-H)

30 Procedimiento D: Ácido 2',4',6'-trimetilbifenil-4-carboxílico

Se combinan 1-yodo-2,4,6-trimetilbenceno (2,966 g, 12,05 mmol), ácido 4-carboxifenilborónico (1,0 g, 6,026 mmol), Pd(OAc)₂ (0,0067 g, 0,005 mmol), bromuro de tetrabutilamonio (0,388 g, 1,206 mmol) y fosfato de potasio (2,557 g, 12,05 mmol). Se purga el recipiente de reacción con argón y se añade DMF anhidra (20 ml) a la mezcla de reacción. Se calienta el recipiente de reacción sellado hasta 120 °C con agitación hasta la finalización, según se determina mediante TLC. Se enfría la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente. Se añade yoduro de metilo (1,0 ml, 36,63 mmol) a la mezcla de reacción con agitación continua hasta la finalización. Se diluye la reacción con acetato de etilo y se filtra a través de un lecho corto de Celite con más acetato de etilo. Se lavan los filtrados orgánicos con agua, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan. Una purificación mediante una cromatografía de resolución rápida en columna produce el éster metílico del ácido 2',4',6'-trimetilbifenil-4-carboxílico como un sólido amarillo. Se disuelve el éster purificado en dioxano (45 ml) y agua (5 ml) que contiene 5 eq. de LiOH con agitación a 60 °C. Tras la finalización se evapora el disolvente, se acidifica la mezcla de reacción con ácido clorhídrico, y se extrae con acetato de etilo. Se secan las capas orgánicas sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan para producir 0,023 g (16 %) del compuesto del título. MS (ES): *m/z* 239,1 (M-H).

Los siguientes compuestos se preparan fundamentalmente como se describió anteriormente.

ácido 2',4',6'-trifluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 251,0 (M-H)
ácido 2'-fluoro-4'-trifluorometilbifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 283,0 (M-H)

15

Procedimiento E: Ácido 2',4'-difluorobifenil-4-carboxílico

Se combinan el ácido 4-carbometoxifenilborónico (1,021 g, 5,67 mmol), 1-bromo-2,4-difluorobenceno (1,000 g, 5,181 mmol), Pd(OAc)₂ (0,113 g, 0,50 mmol), trifenilfosfina (0,149 g, 0,505 mmol) y carbonato de sodio (1,664 g, 0,568 mmol). Se purga el recipiente de reacción con argón. Se añade DMF (20 ml) y agua con agitación. Se coloca la reacción sellada en un baño de aceite a 80 °C y se deja en agitación durante 24 horas. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo y se filtra a través de un lecho corto de Celite con más acetato de etilo. Se lavan los filtrados orgánicos con agua, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan. Una purificación mediante una cromatografía de resolución rápida en columna produce el éster metílico del ácido 2',4'-difluorobifenil-4-carboxílico como un sólido amarillo. Se disuelve el éster purificado en dioxano (5 ml) y se añade NaOH 5 M (1 ml). Se agita con fuerza a 50 °C durante 15 horas. Tras la finalización se acidifica la reacción con HCl concentrado, y se extrae con acetato de etilo. La evaporación del disolvente produce 300 mg (24,7 %) del compuesto del título. MS (ES): *m/z* 233,0 (M-H).

20

Procedimiento F: Ácido 6-(2,6-difluorofenil)piridin-3-carboxílico

Se disuelve el éster metílico del ácido 6-cloropiridin-3-carboxílico (6,86 g, 40 mmol) en tolueno (100 ml) y se calienta hasta 90 °C. Se añade oxibromuro de fósforo (25 g, 87 mmol) en varias porciones y se continúa el calentamiento durante 3 horas. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente y se vierte sobre agua helada. Se extrae la reacción con acetato de etilo y se lavan los extractos orgánicos de nuevo con agua y después con NaHCO₃. Se reúnen los extractos orgánicos, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan para producir un sólido de color naranja (8,1 g, 94 %) que se una mezcla 8:1 del éster metílico del ácido 6-bromopiridin-3-carboxílico:éster metílico del ácido 6-cloropiridin-3-carboxílico mediante RMN de ¹H.

30

Se combina la mezcla obtenida anteriormente (0,225 g, 1,04 mmol) con hexametildiestaño (0,375 g, 1,15 mmol), Pd(OAc)₂ (21 mg, 0,09 mmol) y trifenilfosfina (25 mg, 0,09 mmol) en tolueno (5 ml). Se purga con N₂ y se agita a 80 °C durante 18 horas. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente. Se añade una disolución de 1-bromo-2,6-difluorobenceno (250 mg, 1,29 mmol) en tolueno (1 ml), seguido de Pd(OAc)₂ (21 mg, 0,09 mmol) y trifenilfosfina (25 mg, 0,09 mmol). Se purga con N₂ y se agita a 80 °C durante 18 horas más. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente. Se evapora el disolvente y se purifica mediante una cromatografía en columna (sílice, acetato de etilo al 10 % en hexano) para producir 50 mg (rendimiento del 20 %) del éster etílico del ácido 6-(2,6-difluorofenil)piridin-3-carboxílico. Se hidroliza el éster con una disolución de hidróxido de sodio 1 N (0,22 ml, 0,22 mmol) en metanol (3 ml) a temperatura ambiente durante 3 días. Se eliminan los compuestos volátiles al vacío y se combina el residuo con una disolución de ácido clorhídrico 1 N. Se recoge el sólido blanco mediante filtración, se lava con agua, y se seca al vacío para producir 30 mg (rendimiento del 63 %) del compuesto del título. MS (ES): *m/z* 235,9 (M+H).

35

Procedimiento G: Ácido 3-fluorobifenil-4-carboxílico

Se combina 2-fluoro-4-bromobenzoato de metilo (1,25 g, 5,36 mmol), ácido fenilborónico (1,30 g, 10,72 mmol) y CsF (2,02 g, 13,40 mmol) en DMF (25 ml) y agua (3,0 ml) con agitación. Se coloca la mezcla de reacción heterogénea expuesta al aire en un baño de aceite mantenido a 80 °C. Después de 5 minutos de calentamiento se añade

40

45

50

Pd(OAc)₂ (120 mg, 0,536 mmol) en una porción y se agita hasta que la reacción se vuelve negra. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo, y se filtra a través de un lecho corto de Celite con más acetato de etilo. Se lavan los filtrados orgánicos con agua, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan. Una purificación mediante una cromatografía de resolución rápida en columna produce el éster metílico del ácido 3-fluorobifenil-4-carboxílico como un sólido. Se disuelve el éster purificado en THF (0,25 M) y se añade un volumen igual de NaOH 1 M. Se agita con fuerza a temperatura ambiente durante 15 horas. Tras la finalización, se acidifica la reacción con HCl concentrado y se extrae con acetato de etilo. La evaporación del disolvente produce 965 mg (84 %) del compuesto del título. MS (ES): *m/z* 214,9 (M-H).

Los siguientes compuestos se preparan fundamentalmente como se describió anteriormente.

ácido 3-fluoro-2'-metilbifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 229,0 (M-H)
ácido 2'-cloro-3-fluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 205,1 (M-H)
ácido 3-fluoro-2'-trifluorometilbifenil-4-carboxílico	MS (ES): <i>m/z</i> 283,1 (M-H)

10

Procedimiento H: Ácido 2-fluoro-6-fenilpiridin-3-carboxílico

Se disuelve 2,6-difluoropiridina (5,0 ml, 5,51 mmol) en THF anhidro (30 ml) y se enfría hasta -40 °C. Se añade una disolución de fenil-litio (1,8 M en hexanos, 30,6 ml) gota a gota a lo largo de 5 minutos. Se agita la reacción de color morado resultante a -40 °C durante 30 minutos y se lleva a la temperatura ambiente. Se extingue la reacción con agua y se extrae la disolución con acetato de etilo varias veces. Se reúnen los extractos orgánicos, se secan sobre MgO₄, se filtran y se evaporan sobre gel de sílice. Una purificación mediante una cromatografía de resolución rápida en columna produce 2-fluoro-6-fenilpiridina, 1,0 g (12 %), como un aceite amarillo.

15

Se enfría una disolución de LDA (3,46 mmol) en THF anhidro (6 ml) hasta -78 °C. Se introduce con una cánula 2-fluoro-6-fenilpiridina en THF anhidro (6 ml) en la disolución de LDA enfriada. Se agita a -78 °C durante 30 minutos, y después se burbujea dióxido de carbono gaseoso a través de la disolución durante 10 minutos. Se deja que la reacción alcance la temperatura ambiente y se purga con argón. Se extrae la reacción con NaOH 1 M y se desechan los extractos orgánicos. Se acidifica la capa acuosa con HCl concentrado y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se seca sobre MgSO₄, se filtra y se evapora para producir el compuesto del título como un sólido de color amarillo claro (405 mg, 65 %). MS (ES): *m/z* 216,1 (M-H).

20

Procedimiento I: Ácido 3,5-difluorobifenil-4-carboxílico

Se combina 1-bromo-3,5-difluorobenceno (0,863 ml, 7,50 mmol) y ácido fenilborónico (1,22 g, 10,00 mmol) y se somete a las condiciones descritas en el procedimiento G para producir 1,3 g de 3,5-difluorobifenilo.

Se disuelve el 3,5-difluorobifenilo bruto (1,3 g, 6,83 mmol) en THF (14 ml) y se enfría hasta -78 °C. Se prepara LiTMP a partir de la adición de BuLi (disolución 1,6 M en hexanos, 5,33 ml) a tetrametilpiperidina (1,4 ml, 1,25 equiv.) a -78 °C en THF (14 ml). Se introduce con una cánula el LiTMP enfriado en el 3,5-difluorobifenilo enfriado y se agita la reacción a -78 °C durante 1 hora. Se burbujea dióxido de carbono gaseoso a través de la disolución durante 5 minutos, se calienta la reacción hasta la temperatura ambiente, se vierte en 50 ml de NaOH 1 M, y se extrae con 50 ml de EtOAc. Se desecha la capa orgánica. Se acidifica la capa acuosa remanente con HCl concentrado y se extrae dos veces con EtOAc. Se secan los extractos orgánicos sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan para producir 1,22 g del compuesto del título como un sólido blanco (77 %). MS (ES): *m/z* 233,1 (M-H).

30

35

Procedimiento J: Ácido 3,2',6'-trifluorobifenil-4-carboxílico

Se combina 4-bromo-2-fluorobenzoato de metilo (3,66 g, 15,75 mmol), 4,4,5,5,4',4',5',5'-octametil-2,2'-bi-1,3,2-dioxaborolanilo (5,0 g, 19,68 mmol) y acetato de potasio (4,63 g, 47,19 mmol) en DMSO (40 ml) y se purga la disolución con argón. Se añade PdCl₂(1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno)₂ (10 % mol, 1,35 g) y de nuevo se purga la disolución con argón. Se calienta la reacción hasta 80 °C durante 3 horas y se enfría hasta la temperatura ambiente. Se lava la reacción con agua y se extrae con acetato de etilo y se concentra. Se redisuelve el aceite negro resultante en acetato de etilo:hexanos 1:2, se filtra a través de un lecho corto de gel de sílice, y se concentra para producir el éster metílico del ácido 2-fluoro-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)benzoico como un aceite amarillo.

40

Se disuelve el aceite amarillo resultante en acetona (100 ml) y se reúne con NaIO₄ (10,1 g, 47,25 mmol), NH₄OAc (3,63 g, 47,25 mmol) y agua (50 ml) a temperatura ambiente. Se agita a temperatura ambiente durante 18 horas, se traslada a un embudo de separación y se extrae con acetato de etilo varias veces. Se secan los extractos orgánicos sobre MgSO₄, se filtran y se concentran para producir 3,0 g del ácido 3-fluoro-4-carbometoxibencenborónico como un sólido blancuzco.

45

El ácido borónico obtenido anteriormente (800 mg, 4,04 mmol) y 2,6-difluorobromobenceno (1,17 g, 6,06 mmol) se acoplan según el procedimiento descrito en el procedimiento G para producir 380 mg del compuesto del título. MS (ES): m/z 251,1 (M-H).

Procedimiento K: Ácido 6-fenilpiridazin-3-carboxílico

- 5 Se disuelve 6-fenilpiridazin-3-ol (5,0 g, 29,06 mmol) en tolueno (100 ml) y se calienta hasta 90 °C. Se añade oxibromuro de fósforo (25 g, 87,19 mmol) en varias porciones y se calienta la reacción durante 30 minutos. Se enfría la disolución amarilla resultante hasta la temperatura ambiente, se vierte en agua helada, y se extrae con acetato de etilo. Después se lavan las capas orgánicas con agua y NaOH 1 M, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan para producir un sólido amarillo. Una recrystalización en CHCl₃ produce 2,17 g de 3-bromo-6-fenilpiridazina.
- 10 Se combina 3-bromo-6-fenilpiridazina (1,0 g, 4,25 mmol) con DMF (5 ml), MeOH (5 ml), trietilamina (1,18 ml, 8,50 mmol) y Pd(OAc)₂ (76 mg, 0,33 mmol) y la mezcla se somete al vacío. Se añade 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (235 mg, 0,42 mmol) y de nuevo se somete al vacío a la reacción. Se burbujea dióxido de carbono gaseoso a través de la disolución durante 5 minutos, y se coloca la reacción bajo 345 kPa (50 psi) de dióxido de carbono. Se calienta la disolución resultante a 50 °C durante 18 horas. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente, se diluye con agua, y se extrae con acetato de etilo. Se secan los extractos orgánicos sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan sobre gel de sílice, y se someten a una cromatografía de resolución rápida en columna.
- 15

Una hidrólisis usando las condiciones indicadas en el procedimiento A produce 80 mg del compuesto del título. RMN de ¹H (CDCl₃): 8,24 (d, 1H, J = 8,8 Hz), 8,18-8,15 (m, 2H), 8,0 (d, 1H, J = 9,2 Hz), 7,56-7,55 (m, 3H).

Procedimiento L: Ácido 6-(4-fluorofenil)piridin-3-carboxílico

- 20 Se combina el éster metílico del ácido 6-bromopiridin-3-carboxílico (1,03 g, 4,78 mmol), ácido 4-fluorofenilborónico (1,88 g, 13,41 mmol) y fluoruro de cesio (2,55 g, 16,78 mmol) en DMF (25 ml) y agua (4 ml) con agitación. Se coloca la mezcla de reacción heterogénea expuesta al aire en un baño de aceite mantenido a 80 °C. Después de 5 minutos de calentamiento se añade Pd(OAc)₂ (150 mg, 0,67 mmol) en una porción. Después de 17 horas se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente, se diluye con acetato de etilo, y se filtra a través de un lecho corto de Celite con más acetato de etilo. Se lavan los filtrados orgánicos con agua, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se evaporan. Una purificación mediante una cromatografía de resolución rápida en columna produce el éster metílico del ácido 6-(4-fluorofenil)piridin-3-carboxílico como un sólido amarillo. Se disuelve el éster purificado en THF (0,25 M) y se añade un volumen igual de NaOH 1 M. Se agita con fuerza a temperatura ambiente durante 15 horas. Tras la finalización, se acidifica la reacción con HCl concentrado y se recoge el precipitado blanco mediante filtración. Un secado al vacío produce 385 mg (37 %) del compuesto del título. MS (ES): m/z 218,1 (M+H).
- 25
- 30

El siguiente compuesto se prepara fundamentalmente como se describió anteriormente.

ácido 6-(tien-2-il)piridin-3-carboxílico	MS (ES): m/z 205,9 (M+H)
--	----------------------------

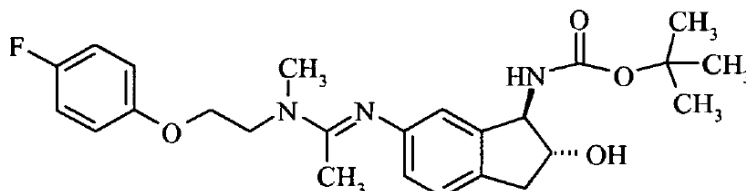
Procedimiento M: Ácido 6-(4-fluoro-2-metilfenil)piridin-3-carboxílico

- 35 Se combina el éster metílico del ácido 6-bromopiridin-3-carboxílico (387 mg, 1,79 mmol), ácido 4-fluoro-2-metilfenilborónico (338 mg, 2,19 mmol), Pd(OAc)₂ (40 mg, 0,18 mmol), fluoruro de cesio (27 mg, 0,18 mmol) y carbonato de sodio (570 mg, 5,38 mmol) en DMF (6 ml) y agua (6 ml) con agitación. Se purga la mezcla de reacción con N₂, se añade trifenilfosfina (47 mg, 0,18 mmol) y se vuelve a purgar con N₂. Se coloca la reacción sellada en un baño de aceite mantenido a 80 °C y se deja en agitación durante 17 horas. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente, y se hace pasar a través de un lecho corto de gel de sílice. Se lava la columna con diclorometano (100 ml), seguido de metanol acuoso (100 ml, 3 de metanol/1 de agua). Se reducen las fracciones reunidas al vacío y se suspende el sólido residual en agua (10 ml). Se filtra para retirar el sólido negro y se acidifica con una disolución de ácido clorhídrico 1 N hasta pH 4. Se forma un precipitado blanco, que se recoge mediante filtración y se seca para producir 306 mg (74 %) del compuesto del título. MS (ES): m/z 231,9 (M+H).
- 40

Los siguientes compuestos se preparan fundamentalmente como se describió anteriormente.

ácido 6-(2,4-difluorofenil)piridin-3-carboxílico	MS (ES): m/z 236,0 (M+H)
ácido 6-(2-fluorofenil)piridin-3-carboxílico	MS (ES): m/z 218,0 (M+H)
ácido 2'-fluorobifenil-4-carboxílico	MS (ES): m/z 215,1 (M-H)

ácido 2'-metilbifenil-4-carboxílico

MS (ES): *m/z* 211,2 (M-H)**Preparación 1-1: (R)-(6-(1-((4-fluorofenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del****éster terc-butílico del ácido carbámico**

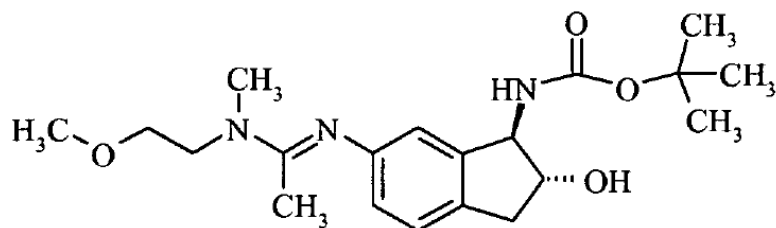
5 Se mezcla 4-fluorofenol (1,0 g, 8,9 mmol), t-butil-N-(2(R)-hidroxi)etil)carbamato (1,4 ml, 8,9 mmol) y trifetilfosfina (2,33 g, 8,9 mmol) en tetrahidrofurano (25 ml) y se enfría en un baño de hielo. Se añade una disolución de dietilazodicarboxilato (1,4 ml, 8,9 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) gota a gota y se agita a temperatura ambiente durante 18 horas. Se retira el disolvente al vacío. Se disuelve el residuo en éter y se lava con 3 porciones de una disolución de hidróxido de sodio 1 N. Se reduce al vacío y se suspende el aceite/sólido en hexano y acetato de etilo. Se retira el sólido mediante filtración y se reduce el filtrado al vacío. Se purifica el aceite resultante mediante una cromatografía usando acetato de etilo al 50 % en hexano para producir 0,94 g del éster terc-butílico del ácido (2-(4-fluorofenoxi)etil)carbámico como un aceite. MS (ES): *m/z* 255,1 (M+H).

15 Se disuelve el éster terc-butílico del ácido (2-(4-fluorofenoxi)etil)carbámico (435 mg, 2,28 mmol) en ácido trifluoroacético (5 ml) enfriado en un baño de hielo y agitado durante 30 minutos. Se reduce la disolución al vacío y se disuelve en piridina (10 ml) junto con anhídrido acético (1,1 ml, 11,0 mmol). Después de 18 horas se retira el disolvente al vacío. Se disuelve el residuo en diclorometano y se extrae primero con una disolución de bicarbonato de sodio saturada, seguida de una extracción con una disolución de HCl 1 N. Se seca y se reduce la capa orgánica para producir 272 mg de un sólido que es N-(2-(4-fluorofenoxi)etil)acetamida que se usa sin purificación en la siguiente etapa. Se mezcla la N-(2-(4-fluorofenoxi)etil)acetamida (240 mg, 1,22 mmol) con reactivo de Lawesson (296 mg, 0,73 mmol) en tolueno y se calienta a 80 °C durante 90 minutos. Se retira el disolvente al vacío para producir un aceite. Se disuelve el aceite en éter y se elimina el precipitado sólido mediante filtración. Se añade un exceso de yodometano (3 ml) y se deja a temperatura ambiente durante 17 horas. Se reduce al vacío para producir un aceite. Se disuelve el aceite en diclorometano y se lava con una disolución de bicarbonato de sodio saturada. Se seca y se reduce la disolución para producir 92 mg (0,405 mmol) del éster metílico del ácido N-(2-(4-fluorofenoxi)etil)tioacetimídico como un aceite. Se disuelve este producto en diclorometano y se añade el éster metílico del ácido trifluorometansulfónico (90,5 µl, 0,8 mmol). Después de 18 horas se elimina el disolvente para producir un aceite (129 mg). Se disuelve este aceite en piridina y se añade el éster terc-butílico del ácido (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)carbámico (87 mg, 0,33 mmol). Después de 24 horas se retira el disolvente al vacío para producir un aceite. Se disuelve el aceite en diclorometano y se lava con una disolución de bicarbonato de sodio saturada. Se seca la capa orgánica y se reduce al vacío para producir 88,9 mg del compuesto del título que se usa tal cual.

Las preparaciones 1-2 a 1-4 se preparan fundamentalmente como en la preparación 1-1 y se usan tal cual.

Preparación nº	Nombre del compuesto
1-2	(R)-(6-(1-((2-(3,4-difluorofenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del éster terc-butílico del ácido carbámico
1-3	(R)-(6-(1-((2-(4-fluoro-3-metilfenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del éster terc-butílico del ácido carbámico
1-4	(R)-(6-(1-((2-(2-fluorofenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del éster terc-butílico del ácido carbámico

Preparación 3-1: (R)-(6-(1-((2-metoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del éster terc-butílico del ácido carbámico

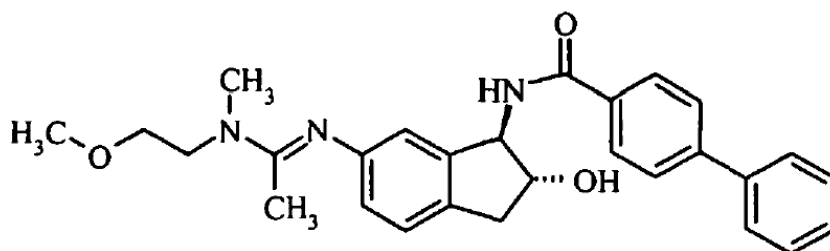


Se disuelve N-(2-metoxietil)metilamina (5,81 g, 65,18 mmol) en 40 ml de piridina a 0 °C y se añade anhídrido acético gota a gota. Después de 30 minutos se aumenta la temperatura de la reacción hasta la temperatura ambiente y se agita durante 24 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con HCl 5 N. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 4,23 g de N-(2-metoxietil)-N-metilacetamida bruta. Se disuelve este material bruto (4,23 g, 32,35 mmol) en 50 ml de tolueno y se añade reactivo de Lawesson (6,5197 g, 16,12 mmol) a la mezcla. Se calienta la reacción hasta 75 °C y se deja en agitación durante 18 horas. Se retira el disolvente al vacío. Se tritura tres veces el residuo con una mezcla de éter dietílico/pentano 1:1 decantando con cuidado los sólidos residuales. Se reúnen las capas decantadas y se retira el disolvente al vacío para producir 2,13 g de N-(2-metoxietil)-N-metilacetamida bruta. Se disuelve este material bruto (2,13 g, 14,47 mmol) en 50 ml de éter dietílico y se añade trifluorometansulfonato de metilo (2,49 g, 15,19 mmol) y se deja la reacción en agitación durante 21 horas. Se decanta el éter dietílico del aceite y se tritura el aceite con éter dietílico (3x). Se retira cualquier exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 2,92 g de la sal del ácido triflico de la (2-metoxietil)metil(1-metilsufaniletil)amina bruta como un aceite negro. Se disuelve este aceite negro (2,92 g, 9,38 mmol) en 50 ml de piridina y se añade el éster terc-butílico del ácido (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)carbámico (2,46 g, 9,31 mmol) y se deja la reacción en agitación a temperatura ambiente durante 23 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío. Se purifica el residuo mediante una cromatografía Biotage (de MeOH al 10 %/EtOAc a MeOH al 25 %/EtOAc) para producir 1,304 g del producto del título (rendimiento del 37 %). MS (ES): *m/z* 378,2 (M+H).

La preparación 3-2 se prepara fundamentalmente como la preparación 3-1.

Preparación nº	Nombre del compuesto	MS (ES): <i>m/z</i>
3-2	(R)-(6-(1-((2-propoxietil)dimetilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del éster terc-butílico del ácido carbámico	406,3 (M+H)

Ejemplo 1-1: (R)-(6-(1-((2-metoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-



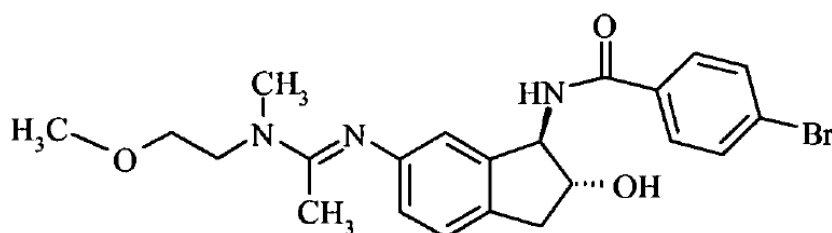
4-carboxílico

Se disuelve la (R)-(6-(1-((2-metoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del éster terc-butílico del ácido carbámico (153,6 mg, 0,407 mmol) en un exceso de TFA a 0 °C y se deja en agitación durante 1 hora. Se retira el disolvente al vacío. Se disuelve el residuo en 10 ml de cloruro de metileno y se añade trietilamina (411,8 mg, 4,07 mmol) y éster 2,5-dioxipirrolidin-1-ílico del ácido bifeníl-4-carboxílico (118,3 mg, 0,400 mmol). Se deja la mezcla de reacción en agitación durante 21 horas. Se diluye la mezcla de reacción con cloruro de metileno y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado (1x) y salmuera (1x). Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 162,1 mg del producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía Biotage (MeOH al 30 %/EtOAc) para producir 93,1 mg del producto del título como un aceite (rendimiento del 50 %). MS (ES): *m/z* 458,3 (M+H).

Los ejemplos 1-2 a 1-14 se preparan fundamentalmente como el ejemplo 1-1.

Ej. nº	Nombre del compuesto	MS (ES): <i>m/z</i>
1-2	(R)-(6-(1-((2-propoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico	486,3 (M+H)
1-3	(R)-(6-(1-((2-metoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 2'-fluorobifeníl-4-carboxílico	475,1 (M+H)
1-4	(R)-(6-(1-((2-metoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3-fluorobifeníl-4-carboxílico	476,4 (M+H)
1-5	(R)-(6-(1-((2-metoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3,2'-difluorobifeníl-4-carboxílico	494,2 (M+H)
1-6	(R)-(6-(1-((2-metoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3,2',6'-trifluorobifeníl-4-carboxílico	512,2 (M+H)
1-8	(R)-(6-(1-((2-(4-fluorofenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico	538,4 (M+H)
1-9	(R)-(6-(1-((2-(4-fluorofenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4'-fluorobifeníl-4-carboxílico	556,4 (M+H)
1-10	(R)-(6-(1-((2-(4-fluorofenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 2',6'-difluorobifeníl-4-carboxílico	574,4 (M+H)
1-11	(R)-(6-(1-((2-(3,4-difluorofenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico	556,4 (M+H)
1-12	(R)-(6-(1-((2-(3,4-difluorofenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3-fluorobifeníl-4-carboxílico	574,2 (M+H)
1-13	(R)-(6-(1-((2-(4-fluoro-3-metilfenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico	552,5 (M+H)
1-14	(R)-(6-(1-((2-(2-fluorofenoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico	538,3 (M+H)

Ejemplo 2-1: (R)-(6-(1-((2-metoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-



bromofenil-1-carboxílico

5 A una mezcla de tioacetamida (10,04 g, 133,6 mmol) y carbonato de potasio (45,80 g, 331,4 mmol) en 100 ml de tetrahidrofurano a 0 °C se le añade gota a gota cloruro de ftaloílo (28,49 g, 140,3 mmol). Se aumenta la temperatura de la reacción hasta 25 °C después de 2 horas y se deja en agitación durante 2 horas más antes de enfriar la mezcla de reacción hasta 0 °C de nuevo. Se extingue la reacción añadiendo 125 ml de agua helada gota a gota. Se extrae la mezcla de reacción con EtOAc (2x). Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio y se retira el disolvente al vacío para producir 3,7 g de 2-tioacetilisindol-1,3-diona como un sólido rojizo bruto. Véase también J. Org. Chem., 10 1997, 62, 3808-3809. RMN de ¹H (CDCl₃) δ 8,00 (2H, m), 7,82 (2H, m), 3,10 (3H, s).

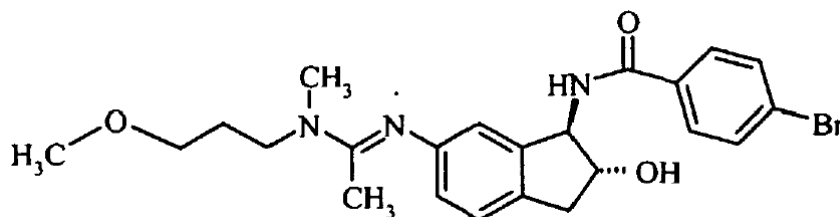
Se disuelve N-(2-metoximetil)metilamina (101,0 mg, 1,13 mmol) en 20 ml de éter dietílico a 25 °C. A esto se le añade 2-tioacetilisindol-1,3-diona (243,0 mg, 1,18 mmol) y se deja en agitación durante 22 horas. Se filtra la mezcla de

reacción y se añade trifluorometansulfonato de metilo (194,7 mg, 1,19 mmol) al filtrado y se deja en agitación durante 18 horas más. Se decanta el éter dietílico del aceite y se tritura el aceite con éter dietílico (3x). Se retira cualquier exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 320,4 mg de la sal del ácido triflico de la (2-metoxietil)metil(1-metilsufanilet)amina bruta como un aceite. Se disuelve este producto bruto (161,1 mg, 0,483 mmol) en 5 ml de piridina y se añade N-(R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)-4-bromobenzamida (115,1 mg, 0,331 mmol). Se deja la reacción en agitación a 25 °C durante 22 horas. Se retira el disolvente al vacío y se reparte el residuo entre cloruro de metileno y bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 40,8 mg del producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía en gel de sílice (de MeOH al 5 %/CHCl₃ a MeOH al 30 %/CHCl₃) para producir 40,8 mg del producto del título (27 % de rendimiento). MS (ES): *m/z* 460,2 (M+H).

Los ejemplos 2-2 y 2-3 se preparan fundamentalmente como el ejemplo 2-1.

Ej. nº	Nombre del compuesto	MS (ES): <i>m/z</i>
2-2	(R)-(6-(1-((2-metoxietil)amino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-4-carboxílico	446,1 (M+H)
2-3	(R)-(6-(1-((2-metoxipropil)amino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-4-carboxílico	460,2 (M+H)

Ejemplo 3-1: (R)-(6-(1-((2-metoxipropil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico



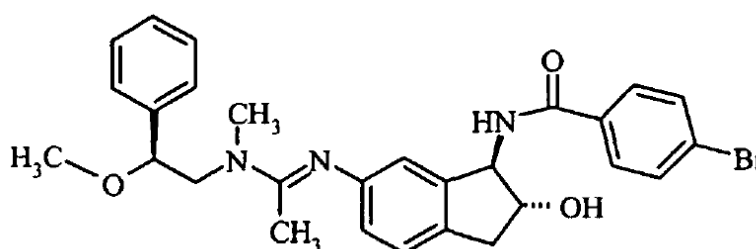
Se disuelve 3-metoxipropilamina (154,1 mg, 1,73 mmol) en 20 ml de éter dietílico a 25 °C. A esto se le añade 2-tioacetilisoindol-1,3-diona (370,7 mg, 1,81 mmol) y se deja en agitación durante 18 horas. Se filtra la mezcla de reacción y se añade trifluorometansulfonato de metilo (298,1 mg, 1,82 mmol) al filtrado y se deja en agitación durante 24 horas más. Se decanta el éter dietílico del aceite y se tritura el aceite con éter dietílico (3x). Se retira el exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 320,4 mg de la sal del ácido triflico del éster metílico del ácido N-(3-metoxipropil)tiacetimidico bruta como un aceite. Se disuelve este producto bruto (379,8 mg, 1,22 mmol) en cloruro de metileno y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se añade trifluorometansulfonato de metilo (210,2 mg, 1,28 mmol) al filtrado y se deja en agitación durante 24 horas más. Se retira el disolvente al vacío y se tritura el aceite con éter dietílico (3x). Se retira el exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 296,5 mg de la sal del ácido triflico de la (3-metoxipropil)metil(1-metilsufanilet)amina bruta como un aceite. Se disuelve este material bruto (99,5 mg, 0,30 mmol) en 5 ml de piridina y se añade N-(R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)-4-bromobenzamida (105,7 mg, 0,304 mmol). Se deja la reacción en agitación a 25 °C durante 18 horas. Se retira el disolvente al vacío y se reparte el residuo entre cloruro de metileno y bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 40,8 mg del producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía en gel de sílice (de MeOH al 5 %/CHCl₃ a MeOH al 30 %/CHCl₃) para producir 50,0 mg del producto del título (35 % de rendimiento). MS (ES): *m/z* 474,1 (M+H).

Los ejemplos 3-2 a 3-7 se preparan fundamentalmente como el ejemplo 3-1.

Ej. nº	Nombre del compuesto	MS (ES): <i>m/z</i>
3-2	(R)-(6-(1-((2-fenoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	522,2 (M+H)
3-3	(R)-(6-(1-((2-etoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	474,1 (M+H)

3-4	(R)-(6-(1-((2-propoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	488,1 (M+H)
3-5	(R)-(6-(1-((metoxi-1-metiletil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	474,1 (M+H)
3-6	(R)-(6-(1-((2-benciloxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	536,2 (M+H)
3-7	(R)-(6-(1-((2-isopropoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	488,2 (M+H)

Ejemplo 4-1: (R)-(6-(1-(((R)-2-metoxi-2-feniletíl)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del



ácido 4-bromofenil-1-carboxílico

Se disuelve (R)-(-)-2-metoxi-2-feniletanol (1,1177 g, 7,34 mmol) y trietilamina (1,11 g, 11,02 mmol) en 20 ml de cloruro de metileno a 0 °C. Se disuelve cloruro de para-toluensulfonilo (1,4498 g, 7,60 mmol) en 10 ml de cloruro de metileno y se añade gota a gota a la reacción. Después de 30 minutos se aumenta la temperatura hasta la temperatura ambiente y se deja en agitación durante 24 horas. Se diluye la reacción con cloruro de metileno y se lava con agua (1x), HCl 1 N (1x), bicarbonato de sodio acuoso saturado (1x) y salmuera (1x). Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 2,01 g del éster 2-metoxi-2-feniletílico del ácido toluen-4-sulfónico bruto. Se disuelve este material bruto (2,01 g, 6,56 mmol) y iminodicarboxilado de di-terc-butilo (1,495 g, 6,88 mmol) en 25 ml de acetonitrilo. Se añade terc-butóxido de potasio (777,1 mg, 6,92 mmol) a la mezcla de reacción y se calienta a reflujo durante 24 horas. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente y se retira el disolvente al vacío. Se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con agua (1x) y salmuera (1x). Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 2,34 g de un material bruto. Se purifica mediante una cromatografía Biotage (EtOAc al 5 %/hexanos) para producir 607,9 mg del éster terc-butílico del ácido (2-metoxi-2-feniletíl)dicarbámico como un aceite (26 % de rendimiento). MS (ES): *m/z* 458,3 (M+H).

Se disuelve el éster terc-butílico del ácido (2-metoxi-2-feniletíl)dicarbámico (607,9 mg, 1,73 mmol) en un exceso de ácido trifluoroacético a 0 °C y se deja en agitación durante 1 hora. Se retira el disolvente al vacío para producir 2-metoxi-2-feniletilamina bruta. Se disuelve este material bruto en 10 ml de piridina a 0 °C y se añade anhídrido acético (194,2 mg, 1,90 mmol) gota a gota. Después de 30 minutos se aumenta la temperatura de la reacción hasta la temperatura ambiente y se agita durante 24 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con HCl 5 N. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 3,84,1 mg de N-(2-metoxi-2-feniletíl)acetamida bruta. Se disuelve este material bruto (384,1 mg, 1,99 mmol) en 20 ml de tolueno y se añade reactivo de Lawesson (404,47 mg, 1,01 mmol) a la mezcla. Se calienta la reacción hasta 75 °C y se deja en agitación durante 22 horas. Se retira el disolvente al vacío. Se tritura tres veces el residuo con una mezcla de éter dietílico/pentano 1:1 decantando con cuidado los sólidos residuales. Se reúnen las capas decantadas y se retira el disolvente al vacío para producir 125,5 mg de N-(2-metoxi-2-feniletíl)tioacetamida bruta. Se disuelve este material bruto (125,5 mg, 0,600 mmol) en 10 ml de cloruro de metileno y se añade trifluorometansulfonato de metilo (108,2 mg, 0,660 mmol) y se deja la reacción en agitación durante 21 horas. Se decanta el éter dietílico del aceite y se tritura el aceite con éter dietílico (2x). Se retira cualquier exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 102,3 mg de la sal del ácido triflico del éster metílico del ácido N-(2-metoxi-2-feniletíl)tioacetimidico bruta. Se disuelve este producto bruto (102,3 mg, 0,274 mmol) en cloruro de metileno y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se añade trifluorometansulfonato de metilo (56,19 mg, 0,342 mmol) al filtrado y se deja en agitación durante 24 horas más. Se retira el disolvente al vacío y se tritura el aceite con éter dietílico (3x). Se retira cualquier exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 75,0 mg de la sal del ácido triflico de la (2-metoxi-2-feniletíl)metil(1-

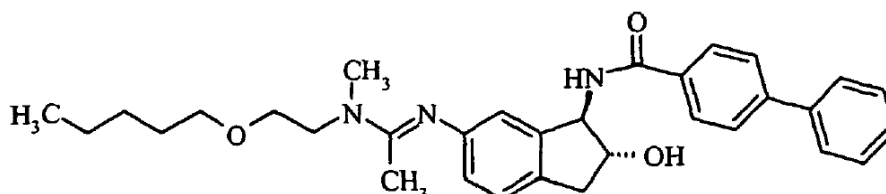
5 metilsulfaniletil)amina bruta como un aceite. Se disuelve este material bruto (75,0 mg, 0,194 mmol) en 10 ml de piridina y se añade N-(R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)-4-bromobenzamida (66,0 mg, 0,190 mmol). Se deja la reacción en agitación a 25 °C durante 18 horas. Se retira el disolvente al vacío y se reparte el residuo entre cloruro de metileno y bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 70,0 mg del producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía Biotage (MeOH al 2 %/EtOAc) para producir 38,6 mg del producto del título (rendimiento del 38 %). MS (ES): m/z 538,2 (M+H).

Los ejemplos 4-2 a 4-6 se preparan fundamentalmente como el ejemplo 4-1 usando el alcohol apropiado disponible en el mercado.

Ej. nº	Nombre del compuesto	MS (ES): m/z
4-2	(R)-(6-(1-((3-metoxibutil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	488,3 (M+H)
4-3	(R)-(6-(1-((2-hexiloxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	531,3 (M+H)
4-4	(R)-(6-(1-((4-benciloxibutil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	564,1 (M+H)
4-5	(R)-(6-(1-((3-metoxi-3-metilbutil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	502,1 (M+H)
4-6	(R)-(6-(1-((2-isobutoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	503,1 (M+H)

10

Ejemplo 5-1: (R)-(6-(1-((2-pentoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifenil-

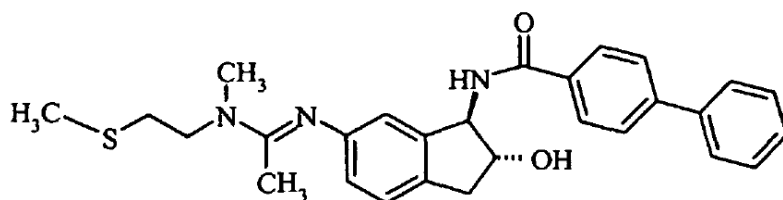


1-carboxílico

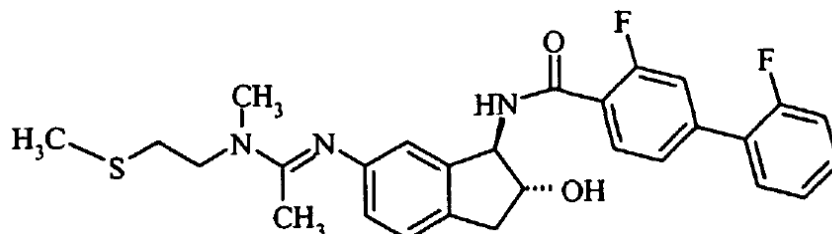
15 Se disuelve la sal del ácido triflico de la (1-metilsulfaniletil)(2-pentoxietil)metilamina (192,1 mg, 0,523 mmol) y la (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifenil-4-carboxílico (170,8 mg, 0,496 mmol) en 10 ml de piridina y se deja en agitación durante 22 horas. Se retira el disolvente al vacío y se reparte el residuo entre cloruro de metileno y bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 112,3 mg del producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía Biotage (de MeOH al 10 %/EtOAc a MeOH al 25 %/EtOAc) para producir 27,8 mg del producto del título (rendimiento del 11 %). MS (ES): m/z 514,5 (M+H).

20 Los ejemplos 5-2 y 5-3 se preparan fundamentalmente como el ejemplo 5-1.

Ej. nº	Nombre del compuesto	MS (ES): m/z
5-2	(R)-(6-(1-((2-butoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifenil-1-carboxílico	500,5 (M+H)
5-3	(R)-(6-(1-((2-ciclohexiloxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifenil-4-carboxílico	526,3 (M+H)

Ejemplo 6-1: (R)-(6-(1-((2-metilsulfaniletíl)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico

5 e disuelve 2-(metil)etilamina (5,6601 g, 62,08 mmol) en 20 ml de piridina a 0 °C y se añade anhídrido acético (31,69 g, 310,38 mmol) gota a gota. Después de 30 minutos se aumenta la temperatura de reacción hasta la temperatura ambiente y se agita durante 21 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con HCl 5 N. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 4,174 g de N-(2-metilsulfaniletíl)acetamida bruta. Se disuelve este material bruto (2,032 g, 15,25 mmol) en 10 ml de DMF y se añade gota a gota a una suspensión de hidruro de sodio (404,34 mg, 16,85 mmol) en 10 ml de DMF. Se deja la disolución en agitación durante 24 horas a temperatura ambiente. Se extingue la reacción con MeI (2,598 g, 18,30 mmol). Se reparte la mezcla de reacción entre EtOAc y salmuera, y se lava la capa de EtOAc con salmuera (2x). Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 948,9 mg de N-metil-N-(2-metilsulfaniletíl)acetamida muy bruta. Se disuelve este material bruto (299,4 mg, 2,03 mmol) en 10 ml de tolueno y se añade reactivo de Lawesson (417,2 g, 1,03 mmol) a la mezcla. Se calienta la reacción hasta 75 °C y se deja en agitación durante 27 horas. Se retira el disolvente al vacío. Se tritura tres veces el residuo con éter dietílico decantando con cuidado los sólidos residuales. Se reúnen las capas decantadas y se retira el disolvente al vacío para producir 419,7 mg de N-metil-N-(2-metilsulfaniletíl)tioacetamida bruta. Se disuelve este material bruto (491,7 mg, 3,01 mmol) en 10 ml de éter dietílico y se añade MeI (316,95 mg, 2,23 mmol) y se deja la reacción en agitación durante 21 horas. Se decanta el éter dietílico del aceite y se tritura el aceite con éter dietílico (3x). Se retira cualquier exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 165,6 mg de la sal HI de la metil-(2-metilsulfaniletíl)(1-metilsulfaniletíl)amina bruta como un sólido amarillo. Se disuelve este material bruto (165,6 mg, 0,542 mmol) en 50 ml de piridina y se añade el éster terc-butílico del ácido (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)carbámico (197,6 mg, 0,748 mmol) y se deja la reacción en agitación a temperatura ambiente durante 22 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío. Se purifica el residuo mediante una cromatografía Biotage (de MeOH al 5 %/EtOAc a MeOH al 20 %/EtOAc) para producir 81,6 mg del éster terc-butílico del ácido (R)-6-(1-(metil-(2-metilsulfaniletíl)amino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)carbámico (28 %). MS (ES): *m/z* 394,1 (M+H). Se prepara el producto final como en el ejemplo 1-1 para producir 82,4 mg del material bruto. Se purifica mediante una cromatografía en columna de gel de sílice (de MeOH al 2 %/CHCl₃ a MeOH al 5 %/CHCl₃) para producir 50,9 mg del producto del título (52 % de rendimiento). MS (ES): *m/z* 474,2 (M+H).

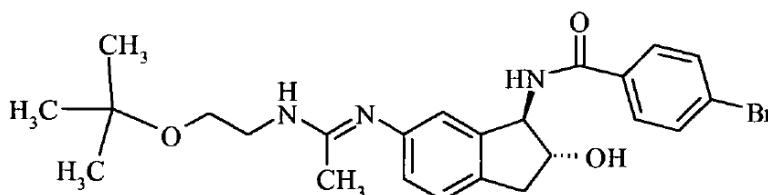
Ejemplo 7-1: (R)-(6-(1-((2-metilsulfaniletíl)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3,3'-difluorobifenil-4-carboxílico**3,3'-difluorobifenil-4-carboxílico**

35 Se disuelve la sal HI de la metil-(2-metilsulfaniletíl)(1-metilsulfaniletíl)amina bruta (90,1 mg, 0,295 mmol) y (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3,3'-difluorobifenil-4-carboxílico (101,3 mg, 0,266 mmol) en 10 ml de piridina. Se deja la reacción en agitación a 25 °C durante 21 horas. Se retira el disolvente al vacío y se reparte el residuo entre cloruro de metileno y bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 91,5 mg de un producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía en columna de gel de sílice (de MeOH al 2 %/CHCl₃ a MeOH al 5 %/CHCl₃) para producir 30,5 mg del producto del título (22 % de rendimiento). MS (ES): *m/z* 510,1 (M+H).

El ejemplo 7-2 se prepara fundamentalmente como el ejemplo 7-1.

Ej. nº	Nombre del compuesto	MS (ES): <i>m/z</i>
7-2	(R)-(6-(1-((2- <i>tert</i> -butilsulfaniletíl)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3,2'-difluorobifenil-4-carboxílico	552,1 (M+H)

Ejemplo 9-1: (R)-(6-(1-((2-*tert*-butoxietil)amino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico

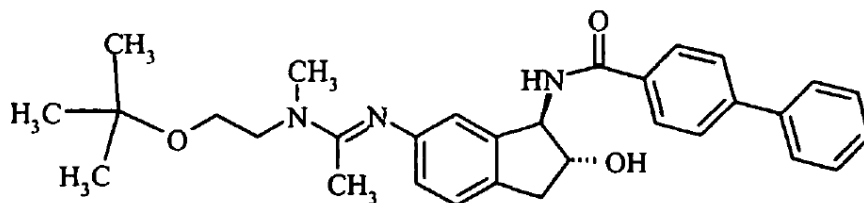


5 Se disuelve etilenglicol mono-*tert*-butil éter (2,62 g, 221,7 mmol) y trietilamina (3,36 g, 11,02 mmol) en 40 ml de cloruro de metileno a 0 °C. Se disuelve cloruro de para-toluensulfonilo (4,2277 g, 22,17 mmol) en 10 ml de cloruro de metileno y se añade gota a gota a la reacción. Después de 30 minutos se aumenta la temperatura de la reacción hasta la temperatura ambiente y se deja en agitación durante 17 horas. Se diluye la reacción con cloruro de metileno y se lava con agua (1x), HCl 1 N (1x), bicarbonato de sodio acuoso saturado (1x) y salmuera (1x). Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 4,6387 g del éster 2-*tert*-butoxietílico del ácido toluen-4-sulfónico bruto. Se disuelve este material bruto (1,2423 g, 4,56 mmol) e iminodicarboxilato de dibencilo (1,4385 g, 5,04 mmol) (véase Synthesis, 1988, 992-994) en 20 ml de acetonitrilo. Se añade *tert*-butóxido de potasio (575,9 mg, 5,13 mmol) a la mezcla de reacción y se calienta a reflujo durante 24 horas. Se enfría la reacción hasta la temperatura ambiente y se retira el disolvente al vacío. Se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con agua (1x) y salmuera (1x). Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 1,9215 g de un material bruto. Se purifica mediante una cromatografía Biotage (EtOAc/hexanos) para producir 387,8 mg del éster bencílico del ácido (2-*tert*-butoxidil)dicarbámico (22 %). MS (ES): *m/z* 386,3 (M+H).

20 Se disuelve el éster bencílico del ácido (2-*tert*-butoxidil)dicarbámico (387,8 mg, 1,01 mmol) y Pd al 5 %/C (0,212 g) en etanol absoluto y se expone a 413,68 kPa (60 psi) de H₂ durante 18 horas.

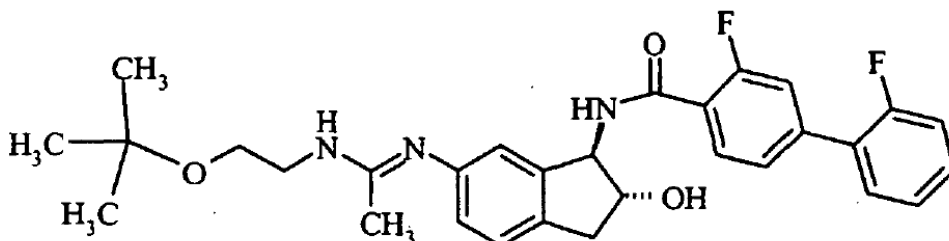
25 Se filtra la mezcla de reacción a través de un lecho corto de Celite. Se acidifica el filtrado con HCl 5 N y se concentra al vacío para obtener 139,4 mg de un residuo bruto que contiene la sal HCl de 2-*tert*-butoxietilamina. Se disuelve este material bruto (139,4 mg, 0,852 mmol) en 10 ml de piridina a 25 °C. A esto se le añade 2-tioacetilisoindol-1,3-diona (180,53 mg, 0,88 mmol) y se deja en agitación durante 23 horas. Se concentra la mezcla de reacción al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con HCl 1 N (1x). Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 266,9 mg de un producto bruto. Se tritura este material bruto en éter dietílico y se retiran los sólidos mediante filtración. Se concentra el filtrado al vacío para producir 176,2 mg de un sólido bruto. Se purifica mediante una cromatografía Biotage para producir 74,1 mg de N-(2-*tert*-butoxietil)tioacetamida. Se disuelve esta tioacetamida (74,1 mg, 0,423 mmol) en 20 ml de cloruro de metileno y se añade trifluorometansulfonato de metilo (76,3 mg, 0,465 mmol). Se deja la mezcla de reacción en agitación durante 21 horas más. Se decanta el éter dietílico del aceite y se tritura el aceite con éter dietílico (3x). Se retira el exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 60,3 mg de la sal del ácido trifílico del éster metílico del ácido N-(2-*tert*-butoxietil)tioacetamídico bruta como un aceite. Se disuelve este producto bruto (60,3 mg, 0,625 mmol) en 10 ml de piridina y se añade N-(R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)-4-bromobenzamida (62,5 mg, 0,180 mmol). Se deja la reacción en agitación a 25 °C durante 22 hoas. Se retira el disolvente al vacío y se reparte el residuo entre cloruro de metileno y bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 31,4 mg del producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía Biotage (MeOH al 10 %/EtOAc) para producir 6,6 mg del producto del título (8 % de rendimiento). MS (ES): *m/z* 488,1 (M+H).

40 **Ejemplo 10-1: (R)-(6-(1-((2-*tert*-butoxietil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifenil-4-carboxílico**



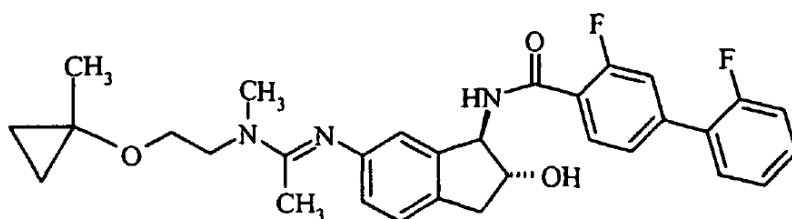
5 Se disuelve la sal HI de la (2-terc-butoxi)etil)metil-(1-metilsulfanilet)il)amina bruta (obtenida usando la sal HCl de 2-terc-butoxi)etil)amina bruta, referida en el ejemplo 9-1, usando la metodología detallada en el ejemplo 6-1) (297,1 mg, 0,897 mmol) en 20 ml de piridina y se añade (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico (290,7 mg, 0,844 mmol). Se deja la reacción en agitación durante 18 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 248,7 mg de un producto bruto. Se purifica el residuo mediante una cromatografía Biotage (de MeOH al 10 %/EtOAc a MeOH al 25 %/EtOAc) para producir 91,7 mg del producto del título (22 % de rendimiento). MS (ES): m/z 500,5 (M+H).

10 **Ejemplo 11-1: (R)-6-(1-((2-terc-butoxi)etil)amino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3',2'-difluorobifenil-1-carboxílico**



15 Se disuelve la sal HI del éster metílico del ácido N-(2-terc-butoxi)etiltioacetimídico bruta (véase el ejemplo 9-1) (91,2 mg, 0,287 mmol) en 10 ml de piridina y se añade (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3',2'-difluorobifenil-4-carboxílico (102,4 mg, 0,269 mmol). Se deja la reacción en agitación durante 20 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 71,6 mg de un producto bruto. Se purifica el residuo mediante una cromatografía Biotage (de MeOH al 5 %/EtOAc a MeOH al 20 %/EtOAc) para producir 45,7 mg del producto del título (33 % de rendimiento). MS (ES): m/z 522,2 (M+H).

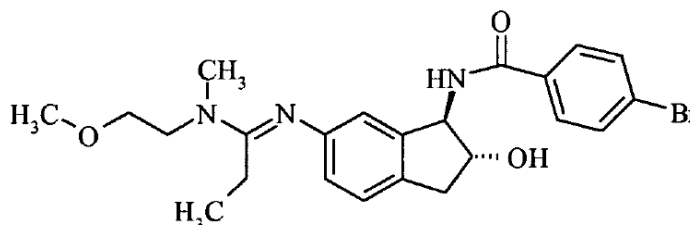
20 **Ejemplo 12-1: (R)-6-(1-((2-(1-metilciclopropoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3',2'-difluorobifenil-4-carboxílico**



25 Se disuelve 2-(1-metilciclopropoxi)etanol (362,3 mg, 3,12 mmol) (véase Tet. Lett., 1999, 40, 8647-8650) y trietilamina (473,4 mg, 4,68 mmol) en 10 ml de cloruro de metilo a 0 °C. Se disuelve cloruro de para-toluensulfonilo (596,1 mg, 3,12 mmol) en 10 ml de cloruro de metileno y se añade gota a gota a la reacción. Después de 30 minutos se aumenta la temperatura de la reacción hasta la temperatura ambiente y se deja en agitación durante 24 horas. Se diluye la reacción con cloruro de metileno y se lava con agua (1x), HCl 1 N (1x), bicarbonato de sodio acuoso saturado (1x) y salmuera (1x). Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 670,1 mg del éster 2-(1-metilciclopropoxi)etílico del ácido toluen-4-sulfónico bruto. Se disuelve N-metilacetamida (176,9 mg, 2,42 mmol) en 5 ml de tetrahidrofurano y se añade gota a gota durante a una suspensión de hidruro de sodio (122,9 mg, 3,07 mmol) en 5 ml de tetrahidrofurano. Se deja la reacción en agitación a temperatura ambiente durante 22 horas. Se disuelve el éster 2-(1-metilciclopropoxi)etílico del ácido toluen-4-sulfónico bruto (670,1 mg, 2,48 mmol) en 5 ml de tetrahidrofurano y se añade gota a gota a la mezcla de reacción. Tras finalizar la adición, se calienta la reacción a reflujo y se deja en agitación durante 26 horas. Se enfría la reacción y se retira el disolvente al vacío. Se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con salmuera (1x). Se seca la

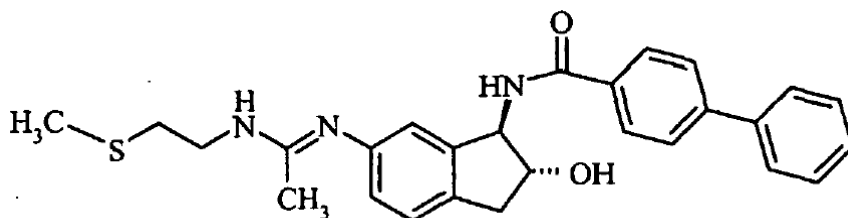
capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 276,9 g de un material bruto. Se purifica el residuo mediante una cromatografía Biotage (de EtOAc al 5 %/hexanos a MeOH al 30 %/EtOAc) para producir 83,3 mg de N-metil-N-(2-(1-metilciclopropoxi)etil)acetamida. Se disuelve este material (83,3 mg, 0,486 mmol) en 10 ml de tolueno y se añade reactivo de Lawesson (102,5 mg, 0,253 mmol) a la mezcla. Se calienta la reacción hasta 75 °C y se deja en agitación durante 24 horas. Se retira el disolvente al vacío. Se tritura tres veces el residuo con éter dietílico decantando con cuidado los sólidos residuales. Se reúnen las capas decantadas y se retira el disolvente al vacío para producir 47,0 mg de N-metil-N-(2-(1-metilciclopropoxi)etil)tioacetamida bruta. Se disuelve este material bruto (47,0 mg, 0,251 mmol) en 10 ml de éter dietílico y se añade MeI (en exceso) y se deja la reacción en agitación durante 21 horas. Se decanta el éter dietílico del aceite y se tritura el aceite con éter dietílico (2x). Se retira cualquier exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 46,5 mg de la sal HI de la metil-(2-(1-metilciclopropoxi)etil)-(1-metilsufaniletíl)amina bruta como un aceite. Se disuelve este material bruto (46,5 mg, 0,141 mmol) en 10 ml de piridina y se añade la (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3,2'-difluorobifenil-4-carboxílico (49,6 g, 0,130 mmol) y se deja la reacción en agitación a temperatura ambiente durante 20 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 39,2 mg del producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía en columna de gel de sílice (MeOH al 2 %/CHCl₃) para producir 10,7 mg del producto del título (rendimiento del 15 %). MS (ES): *m/z* 534,2 (M+H).

Ejemplo 13-1: (R)-(6-(1-(2-metoxietil)metilamino)propilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico



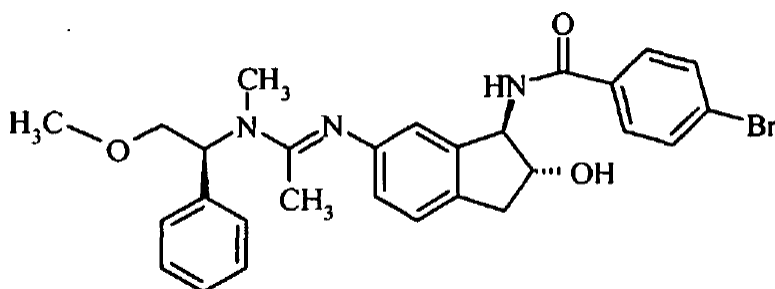
Se disuelven N-(2-metoximetil)metilamina (996,1 mg, 11,17 mmol) y trietilamina (1,3536 g, 13,404 mmol) en 10 ml de cloruro de metileno y se añade anhídrido propiónico (1,526 g, 11,73 mmol) a la mezcla de reacción. Se deja la reacción en agitación a temperatura ambiente durante 20 horas. Se diluye la mezcla de reacción con cloruro de metileno y se lava con agua (1x), bicarbonato de sodio acuoso saturado (1x), HCl 1 N (1x) y salmuera (1x). Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 854,9 mg de N-(2-metoxietil)-N-metilpropionamida bruta. Se disuelve este material (77,8 mg, 5,36 mmol) en 20 ml de tolueno y se añade reactivo de Lawesson (1,091 g, 2,70 mmol) a la mezcla. Se calienta la reacción hasta 75 °C y se deja en agitación durante 22 horas. Se retira el disolvente al vacío. Se tritura tres veces el residuo con éter dietílico decantando con cuidado los sólidos residuales. Se reúnen las capas decantadas y se retira el disolvente al vacío para producir 446,6 mg de N-(2-metoxietil)-N-metilpropionamida bruta. Se disuelve este material bruto en 20 ml de cloruro de metileno, se añade trifluorometansulfonato de metilo (477,2 mg, 2,91 mmol) y se deja la reacción en agitación durante 26 horas. Se retira el disolvente al vacío y se tritura el aceite con éter dietílico (3x). Se retira cualquier exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 873,8 mg de la sal del ácido tríflico de la (2-metoxietil)metil-(1-metilsufanilpropil)amina bruta como un aceite. Se disuelve este material bruto (131,3 mg, 0,404 mmol) en 10 ml de piridina y se añade N-(R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)-4-bromobenzamida (111,9 mg, 0,322 mmol) y se deja la reacción en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir un producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía Biotage (MeOH al 10 %/EtOAc) para producir 66,1 mg del producto del título (rendimiento del 44 %). MS (ES): *m/z* 474,2 (M+H).

Ejemplo 14-1: (R)-(6-(1-(2-metilsufaniletíl)amino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifenil-4-carboxílico



Se disuelve N-(2-metilsulfaniletíl)acetamida (352,7 mg, 2,65 mmol) (véase el ejemplo 6-1) en 50 ml de tolueno y se añade reactivo de Lawesson (537,0 g, 1,33 mmol) a la mezcla. Se calienta la reacción hasta 75 °C y se deja en agitación durante 26 horas. Se retira el disolvente al vacío. Se tritura tres veces el residuo con éter dietílico decantando con cuidado los sólidos residuales. Se reúnen las capas decantadas y se retira el disolvente al vacío para producir 400,9 mg de N-(2-metilsulfaniletíl)tioacetamida bruta. Se disuelve este material bruto (400,9 mg, 2,69 mmol) en 10 ml de cloruro de metileno, se añade Mel (458,18 mg, 3,228 mmol) y se deja la reacción en agitación durante 24 horas. Se retira el disolvente al vacío y se tritura el aceite con éter dietílico (3x). Se retira cualquier exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 526,8 mg de la sal HI del éster metílico del ácido N-(2-metilsulfaniletíl)tioacetimidico bruta como un aceite. Se disuelve este material bruto (71,1 mg, 0,244 mmol) en 10 ml de piridina y se añade (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico (75,3 mg, 0,219 mmol) y se deja la reacción en agitación a temperatura ambiente durante 22 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno y se lava con bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 156,0 mg de un producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía Biotage (de MeOH al 10 %/EtOAc a MeOH al 25 %/EtOAc) para producir 62,4 mg del producto del título (rendimiento del 62 %). MS (ES): m/z 460,2 (M+H).

Ejemplo 15-1: (R)-(-)-(2-metoxi-1(R)-feniletíl)metilamino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico



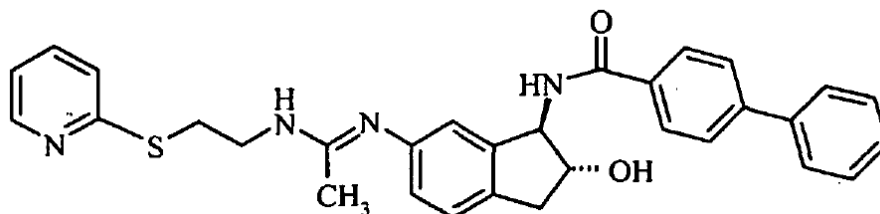
Se disuelve (R)-(-)-2-fenilglicinol (1,006 g, 7,33 mmol) y trietilamina (1,781 g, 17,60 mmol) en 10 ml de cloruro de metileno a 0 °C. Se añade cloruro de acetilo (1,209 g, 15,40 mmol) a la mezcla de reacción. Después de 30 minutos se deja que la reacción se caliente hasta 25 °C y se deja en agitación durante 12 horas. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en acetato de etilo. Se lava la capa orgánica con agua (1x), HCl 1 N (1x) y salmuera (1x). Se separa la capa orgánica y se seca sobre sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 1,053 g del éster 2-acetilamino-2-feniletílico del ácido acético bruto con el 65 % de rendimiento. Se disuelve este producto (1,053 g, 4,76 mmol) en 20 ml de metanol y se añade un exceso de carbonato de potasio. Se deja la reacción en agitación a 25 °C durante 18 horas. Se retira el disolvente al vacío y se tritura el residuo con metanol. Se retiran todos los sólidos mediante filtración y se lava con cantidades copiosas de metanol. Se retira el disolvente al vacío para obtener 717,4 mg de N-(2-hidroxi-1-feniletíl)acetamida bruta como un aceite amarillo con el 84 % de rendimiento. Se disuelve este producto bruto (717,4 mg, 4,00 mmol) en 10 ml de tetrahidrofurano y se añade gota a gota a una suspensión de hidruro de sodio (376,2 g, 9,405 mmol) en 20 ml de tetrahidrofurano a 25 °C y se deja en agitación durante 18 horas. Se añade un exceso de Mel a la mezcla de reacción y se deja en agitación durante 26 horas más. Se retira el disolvente al vacío y se disuelve el residuo en cloruro de metileno. Se lava la capa orgánica con agua (1x) y salmuera (1x), y se seca sobre sulfato de magnesio. Se retira el disolvente al vacío para producir 625,2 mg de N-(2-metoxi-1-feniletíl)-N-metilacetamida bruta como un aceite amarillo. Se disuelven 426,1 mg de este producto bruto en 20 ml de tolueno y se añade reactivo de Lawesson (424,0 mg, 1,05 mmol) a la mezcla. Se calienta la mezcla hasta 80 °C durante 21 horas. Se retira el disolvente al vacío y se tritura el residuo con una mezcla de éter dietílico/pentano 1:1 (3x). Se reúnen las capas decantadas y se retira el disolvente al vacío para producir 230,3 mg del producto del título bruto. Se purifica mediante una cromatografía en columna (gel de sílice, EtOAc al 15 %/hexanos) para producir 143,3 mg de N-(2-metoxi-1-feniletíl)-N-metilacetamida como un aceite con un 31 % de rendimiento. MS (ES): m/z 224 (M+H).

Se añade trifluorometansulfonato de metilo (110,56 mg, 0,674 mmol) a una disolución de *N*-(2-metoxi-1-feniletil)-*N*-metiltioacetamida en 10 ml de éter dietílico y se deja la reacción en agitación a 25 °C durante 18 horas. Se decanta el éter dietílico del aceite y se tritura el aceite con éter dietílico (3x). Se retira el exceso de éter dietílico del residuo oleoso al vacío para obtener 235,5 mg de tioamidato de *N*-(2-metoxi-1-feniletil)-*N*-metiltioacetamida bruto como un aceite. Se disuelve este producto bruto (235,5 mg, 0,608 mmol) en 20 ml de piridina y se añade *N*-(*R*)-(6-amino-2(*R*)-hidroxiindan-1-il)-4-bromobenzamida (201,7 mg, 0,581 mmol). Se deja la reacción en agitación a 25 °C durante 23 horas. Se retira el disolvente al vacío y se reparte el residuo entre cloruro de metileno y bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se seca la capa orgánica con sulfato de magnesio. Se filtra y se retira el disolvente al vacío para producir 257,0 mg del producto bruto. Se purifica mediante una cromatografía Biotage (MeOH al 5 %/EtOAc) para producir 162,9 mg del producto del título como un sólido de color crema (52 % de rendimiento). MS (ES): *m/z* 537 (M+H).

Los ejemplos 15-2 a 15-5 se preparan fundamentalmente como el ejemplo 15-1.

Ej. nº	Nombre del compuesto	MS (ES): <i>m/z</i>
15-2	(<i>R</i>)-(6-(1-((2-metoxi-1-feniletil)metilamino)etilidenamino)-2(<i>R</i>)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 4-bromofenil-1-carboxílico	552,1 (M+H)
15-3	(<i>R</i>)-(6-(1-(2-terc-butoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(<i>R</i>)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3,2'-difluorobifenil-4-carboxílico	536,2 (M+H)
15-4	(<i>R</i>)-(6-(1-((2-ciclopropoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(<i>R</i>)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3,2'-difluorobifenil-4-carboxílico	520,0 (M+H)
15-5	(<i>R</i>)-(6-(1-((2-(1,1-dimetilpropoxi)etil)metilamino)etilidenamino)-2(<i>R</i>)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido 3,2'-difluorobifenil-4-carboxílico	550,2 (M+H)

Ejemplo 16-1: (*R*)-(6-(1-((2-(piridin-2-ilsulfaniletil)amino)etilidenamino)-2(*R*)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifenil-4-carboxílico

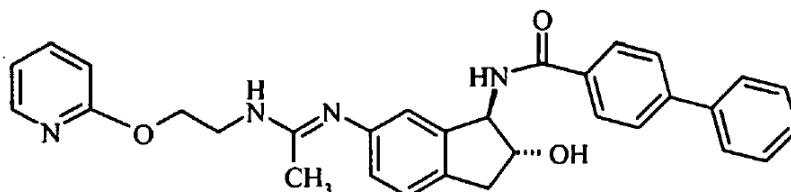


A una mezcla de hidrócloruro de 2-aminoetantio (4,07 g, 35,6 mmol) en dioxano (75 ml) a 50 °C se le añade hidruro de sodio (al 60 % en aceite mineral, 2,84 g, 71,0 mmol) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. Se deja la reacción en agitación durante 5 minutos y se añade 2-cloropiridina (3,5 ml, 37 mmol) a la mezcla. Se somete la mezcla a reflujo durante 24 horas y se enfría hasta la temperatura ambiente. Se añade agua (100 ml) y cloruro de metileno (300 ml) a esta mezcla. Se extrae la capa acuosa con cloruro de metileno (3 x 50 ml). Se lava la fase orgánica reunida con salmuera (200 ml), se seca sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra para producir un aceite naranja. Una cromatografía de resolución rápida sobre gel de sílice eluyendo con el 50 % de (CHCl₃/MeOH/NH₄OH concentrado 80:18:12)/cloruro de metileno produce el compuesto del título como un aceite amarillo (1,67 g, 30 %). RMN de ¹H (CDCl₃): δ 8,43 (m, 1H), 7,44 (m, 1H), 7,21 (m, 1H), 6,97 (m, 1H), 3,30 (m, 2H), 3,02 (m, 2H); MS (ES): *m/z* = 155 [C₇H₁₀H₂S + H]⁺. Se añade 2-tioacetilisoindol-1,3-diona (0,7 g, 3,2 mmol) a una disolución de 2-(piridin-2-ilsulfanil)etilacetamida 80,5 g, 3,2 mol en CHCl₃ (20 ml) a 0 °C. Después de 15 minutos se concentra y se purifica el residuo mediante una cromatografía de resolución rápida sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc al 40 %/hex. que contiene NH₄OH al 2 % para producir *N*-(2-(piridin-2-ilsulfanil)etil)tioacetamida (0,4 g, 58 %) como un aceite de color amarillo pálido. RMN de ¹H (CDCl₃): δ 10,26 (s a, 1H), 8,41-8,43 (m, 1H), 7,57 (dt, *J* = 7,35 Hz, *J* = 1,8 Hz, 1H), 7,31 (dd, *J* = 8,10 Hz, *J* = 0,96 Hz, 1H), 7,09-7,13 (m, 1H), 3,87-3,92 (m, 2H), 3,40-3,43 (m, 2H), 2,53 (s, 3H); MS (APCI): *m/z* 213 (M+H).

Se añade trifluorometansulfonato de metilo (65,5 mg, 0,4 mmol) a una disolución de *N*-(2-(piridin-2-ilsulfanil)etil)tioacetamida (85,0 mg, 0,4 mmol) en cloruro de metileno (10 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno. Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 5 minutos y se retira el disolvente a presión reducida para producir el éster metílico del ácido *N*-[2-(piridin-2-ilsulfanil)etil)tioacetimídico (0,4 mmol) como un aceite incoloro. MS (ES): *m/z* 227 (M+H).

Se disuelve el éster metílico del ácido *N*-[2-(piridin-2-ilsulfanil)etil]tioacetimidico (0,4 mmol) en piridina seca (5,0 ml) y se añade (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico (0,15 g, 0,4 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 12 horas. Se retira el disolvente a presión reducida y se purifica el residuo mediante una cromatografía de resolución rápida en gel de sílice eluyendo con MeOH al 20 %/EtOAc para producir el compuesto del título (140 mg, 67 %) como un aceite incoloro. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 8,40 (s, 1H), 7,89 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,60-7,68 (m, 4H), 7,36-7,51 (m, 4H), 7,11 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 7,00 (t, $J = 5,4$ Hz, 1H), 6,68-6,73 (m, 4H), 5,95 (s a, 1H), 5,28 (s, 1H), 4,52 (q, $J = 7,5$ Hz, 1H), 3,68 (s a, 2H), 3,39 (s a, 2H), 3,30 (dd, $J = 15,6$ Hz, $J = 7,8$ Hz, 1H), 2,94 (dd, $J = 15,3$ Hz, $J = 7,8$ Hz, 1H), 1,78 (s, 3H); MS (APCI): m/z 523 (M+H) $^+$.

Ejemplo 17-1: (R)-(6-(1-((2-(piridin-2-ilsulfaniletil)amino)etilidenamino)-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico



Se añade hidruro de sodio (al 60 % en aceite mineral, 6,63 g, 166 mmol) a una disolución de 2-hidroxi-etilamina (10,0 ml, 166 mmol) en dioxano (150 ml) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 10 minutos a temperatura ambiente se añade 2-cloropiridina (15,6 ml, 166 mmol) y se calienta la mezcla de reacción a reflujo. Después de agita a reflujo durante 14 horas se enfría la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente y se diluye con agua (100 ml) y cloruro de metileno (200 ml). Se extrae la capa acuosa con cloruro de metileno (2 x 100 ml). Se lavan las fases orgánicas reunidas con salmuera (200 ml), se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran para producir un aceite naranja. Una cromatografía de resolución rápida sobre gel de sílice eluyendo con el 50 % de una disolución de $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ concentrado 80:18:2 en cloruro de metileno produce 2-fenoxietilamina como un aceite amarillo (17,9 g, 78 %). RMN de ^1H (CDCl_3): δ 8,09-8,15 (m, 1H), 7,53-7,56 (m, 1H), 6,80-6,85 (m, 1H), 6,70-6,75 (m, 1H), 4,27-4,31 (m, 2H), 3,06-3,10 (m, 2H); MS (ES): m/z 139 (M+H).

Se añade 2-(piridin-2-iloxi)etilamina (500 mg, 3,62 mmol) a una disolución de 2-tioacetilisoindol-1,3-diona (743 mg, 3,62 mmol) en CHCl_3 (18 ml) a 0 °C. Después de agitar durante 15 minutos se concentra la disolución, se redisuelve en acetato de etilo (25 ml), se filtra y se vuelve a concentrar. Una cromatografía de resolución rápida (SiO_2 , EtOAc/hex. 1:1) produce *N*-(2-(piridin-2-iloxi)etil)tioacetamida (350 mg, 49 %) como un sólido de color beige/rosa. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 8,79 (s a, 1H), 8,10-8,08 (m, 1H), 7,58-7,65 (m, 1H), 6,92-7,00 (m, 1H), 6,76-6,82 (m, 1H), 4,57-4,65 (m, 2H), 3,98-4,05 (m, 2H), 2,56 (s, 3H).

Se añade *N*-(2-(piridin-2-iloxi)etil)tioacetamida (50 mg, 0,25 mmol) y trifluorometansulfonato de metilo (0,028 ml, 0,25 mmol) en cloruro de metileno (1,5 ml) y se agita a temperatura ambiente. Después de 10 minutos se concentra la disolución hasta la sequedad. A este residuo se le añade una disolución de (R)-(6-amino-2(R)-hidroxiindan-1-il)amida del ácido bifeníl-4-carboxílico (95 mg, 0,275 mmol) en piridina (3 ml). Se agita la disolución resultante a temperatura ambiente durante 18 horas y se retira la piridina al vacío. Una cromatografía de resolución rápida (SiO_2 , de EtOAc/hex. 1:1 a $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ concentrado 80:18:2) produce el compuesto del título (21 mg, 17 %) como un sólido blanco. RMN de ^1H (CDCl_3): δ 7,88-7,95 (m, 2H), 7,65-7,74 (m, 2H), 7,60-7,70 (m, 2H), 7,40-7,53 (m, 3H), 7,24-7,26 (m, 2H), 7,02-7,99 (m, 2H), 6,62-6,70 (m, 1H), 5,35-5,42 (m, 1H), 4,55-4,62 (m, 1H), 3,78-3,90 (m, 4H), 3,30-3,43 (m, 1H), 2,92-3,08 (m, 1H), 2,02 (s, 3H); MS (ES): m/z 507 (M+H).

Los compuestos de la presente invención pueden administrarse solos o en forma de una composición farmacéutica, es decir, combinados con vehículos u excipientes farmacéuticamente aceptables, cuya proporción y naturaleza pueden ser determinadas mediante la solubilidad y las propiedades químicas del compuesto seleccionado, la vía de administración elegida, y la práctica farmacéutica convencional. Los compuestos de la presente invención, aunque en sí mismos son eficaces, pueden formularse y administrarse en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables, con objetivos de estabilidad, comodidad, solubilidad y similares. En la práctica, los compuestos de fórmula I habitualmente se administran en forma de composiciones farmacéuticas, es decir, mezclados con vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

Así, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I y un diluyente farmacéuticamente aceptable. La presente invención también proporciona un envase adecuado, que incluye una etiqueta, que contiene las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I.

Los compuestos de fórmula I pueden administrarse a través de diversas vías. Para realizar el tratamiento de un

paciente que padece un trastorno descrito en la presente puede administrarse un compuesto de fórmula I en cualquier forma o modo que haga que el compuesto esté biodisponible en una cantidad eficaz, incluyendo las vías oral y parenteral. Por ejemplo, los compuestos de fórmula I pueden administrarse por vía oral, mediante inhalación, por vía subcutánea, intramuscular, intravenosa, transdérmica, intranasal, rectal, ocular, tópica, sublingual, bucal, y similares. La administración oral en general se prefiere para el tratamiento de los trastornos descritos en la presente.

Los expertos en la técnica de la preparación de formulaciones pueden seleccionar con facilidad la forma y el modo de administración adecuados dependiendo de las características concretas del compuesto seleccionado, del trastorno o afección que se va a tratar, de la etapa del trastorno o afección, y otras circunstancias pertinentes (Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, Mack Publishing Co. (1990)).

Las composiciones farmacéuticas se preparan de una manera muy conocida en la técnica farmacéutica. El vehículo o excipiente puede ser un material sólido, semisólido o líquido que puede actuar como vehículo o medio para el ingrediente activo. Los vehículos o excipientes adecuados son muy conocidos en la técnica. La composición farmacéutica puede adaptarse para el uso oral, por inhalación, parenteral o tópico, y puede administrarse al paciente en forma de comprimidos, cápsulas, aerosoles, inhalantes, supositorios, disoluciones, suspensiones o similares.

Los compuestos de la presente invención pueden administrarse por vía oral, por ejemplo, con un diluyente inerte o en cápsulas o prensado en comprimidos. Para el objetivo de la administración terapéutica oral, a los compuestos se les pueden incorporar excipientes, y se usan en forma de comprimidos, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas, gomas de mascar y similares. Estas preparaciones deben contener al menos un 4 % del compuesto de la presente invención, el ingrediente activo, pero esto puede variar dependiendo de la forma concreta y, de modo conveniente, puede ser entre el 4 % a aproximadamente el 70 % del peso de la unidad. La cantidad de compuesto presente en las composiciones es tal que se obtendrá una dosificación adecuada. Las composiciones y las preparaciones preferidas según la presente invención pueden ser determinadas por los expertos en la técnica.

Los comprimidos, las píldoras, las cápsulas, los trociscos y similares también pueden contener uno o más de los siguientes adyuvantes: ligantes, tales como celulosa microcristalina, goma de tragacato o gelatina; excipientes, tales como almidón o lactosa; agentes disgregantes, tales como ácido algínico, Primogel, almidón de maíz y similares; lubricantes, tales como estearato de magnesio o Sterotex; deslizantes, tales como dióxido de silicio coloidal; y agentes edulcorantes, tales como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante, tal como menta, salicilato de metilo o aroma de naranja. Cuando la forma de dosificación unitaria es una cápsula, esta puede contener, además de materiales del tipo anterior, un vehículo líquido, tal como polietilenglicol o un aceite graso. Otras formas de dosificación unitaria pueden contener diversos otros materiales que modifican la forma física de la unidad de dosificación, por ejemplo, tales como revestimientos. Así, los comprimidos o las píldoras pueden estar revestidos con azúcar, goma laca u otros agentes de revestimiento. Un jarabe puede contener, además de los presentes compuestos, sacarosa como agente edulcorante y ciertos conservantes, tintes y colorantes y aromas. Los materiales usados para preparar estas diversas composiciones deben ser farmacéuticamente puros y no tóxicos en las cantidades usadas.

Con el objetivo de una administración terapéutica oral y parenteral, los compuestos de la presente invención pueden incorporarse a una disolución o suspensión. Estas preparaciones contienen generalmente al menos el 0,1 % de un compuesto de la invención, pero pueden variar entre el 0,1 % y aproximadamente el 90 % del peso de la misma. La cantidad del compuesto de fórmula I presente en dichas composiciones es tal que se obtiene una dosificación adecuada. Las disoluciones o las suspensiones también pueden incluir uno o más de los siguientes adyuvantes: diluyentes estériles, tales como agua para inyección, disolución salina, aceites no volátiles, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos; agentes antibacterianos, tales como alcohol bencílico o metilparabeno; antioxidantes, tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes, tales como ácido etilendiaminotetraacético; tampones, tales como acetatos, citratos o fosfatos; y agentes para ajustar la tonicidad, tales como cloruro de sodio o dextrosa. La preparación parenteral puede estar dentro de ampollas, jeringas desechables, o viales de múltiples dosis de vidrio o plástico. Los expertos en la técnica pueden determinar las composiciones y las preparaciones preferidas.

Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse por vía tópica, y cuando se administran así, el vehículo puede comprender de forma adecuada una disolución, un ungüento, o una base de gel. La base puede comprender, por ejemplo, uno o más de los siguientes: vaselina, lanolina, polietilenglicoles, cera de abeja, aceite mineral, diluyentes, tales como agua y alcohol, y emulgentes, y estabilizantes. Las formulaciones tópicas pueden contener una concentración de fórmula I o su sal farmacéutica de aproximadamente el 0,1 % a aproximadamente el 10 % en p/v (en peso por unidad de volumen).

Los compuestos de fórmula I son agonistas de los receptores muscarínicos M-1. Además, los compuestos de fórmula I son agonistas selectivos de este receptor muscarínico concierto. Los compuestos de la presente invención poseen propiedades particularmente útiles relacionadas con su biodisponibilidad, farmacocinética, seguridad y

eficacia. Los agonistas muscarínicos, incluyendo sus perfiles de unión a subtipos, pueden identificarse mediante procedimientos que son muy conocidos en la técnica.

En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I para su uso en el tratamiento de trastornos asociados con receptores muscarínicos. Así, la presente invención contempla los diversos trastornos descritos para ser tratados en la presente, y otros que pueden tratarse mediante estos agonistas, tal como aprecian los expertos en la técnica.

Se conoce una serie de trastornos que pueden tratarse mediante los agonistas muscarínicos según clasificaciones establecidas y aceptadas, mientras que otros no pueden tratarse. Por ejemplo, la cognición es un fenómeno complejo y a veces mal definido. Sin embargo, se reconoce ampliamente que la cognición incluye diversos "dominios". Estos dominios incluyen la memoria a corto plazo, la memoria a largo plazo, la memoria de trabajo, la función ejecutiva, y la atención.

Se entiende que los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de trastornos que se caracterizan por un déficit en cualquiera de los dominios cognitivos listados anteriormente, o en otros aspectos de la cognición. Así, la expresión "trastornos cognitivos" pretende incluir cualquier trastorno caracterizado por un déficit en uno o más dominios cognitivos que incluyen, pero no se limitan a la memoria a corto plazo, la memoria a largo plazo, la memoria de trabajo, la función ejecutiva, y la atención.

Otro trastorno cognitivo que puede ser tratado mediante la presente invención es el deterioro cognitivo relacionado con el envejecimiento. Este trastorno no está bien definido en la técnica, pero incluye el deterioro en los dominios cognitivos, en particular los dominios de la memoria y la atención, que acompañan al envejecimiento. Otro trastorno cognitivo es el deterioro cognitivo suave. De nuevo, este trastorno no está bien definido en la técnica, pero implica deterioro en los dominios cognitivos, y se cree que representa a un grupo de pacientes, teniendo la mayoría de los cuales una incipiente enfermedad de Alzheimer. Otro trastorno cognitivo es un deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia. La relación entre trastornos cognitivos y otros síntomas de la esquizofrenia no se entiende con claridad en la actualidad. Se ha observado que algunas personas sufren problemas cognitivos mucho antes de que desarrollen síntomas positivos, mientras que otras adquieren el deterioro cognitivo después del primer episodio y tienen posteriores recaídas. Otro trastorno cognitivo es el deterioro cognitivo inducido por quimioterapia. Las personas que se someten a una quimioterapia para el cáncer pueden mostrar una disminución en la función cognitiva y esta disminución puede ser perdurable. Además, una amplia diversidad de ataques, que incluyen ictus, isquemia, hipoxia, inflamación, procesos infecciosos y déficits cognitivos posteriores a un cirugía de bypass cardíaco e injerto, ictus, isquemia cerebral, traumatismos de la médula espinal, traumatismos en la cabeza, hipoxia perinatal, síndrome alcohólico fetal, paro cardíaco y daños neuronales hipoglucémicos, demencia vascular, demencia tras múltiples infartos, esclerosis lateral amiotrófica, quimioterapia, y esclerosis múltiple, pueden provocar déficits cognitivos como secuelas que pueden tratarse según la presente invención.

Cuando los trastornos que pueden tratarse con agonistas muscarínicos son conocidos según clasificación establecidas y aceptadas, estas clasificaciones pueden encontrarse en diversas fuentes. Por ejemplo, en la actualidad, la cuarta edición de the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV™) (1994, American Psychiatric Association, Washington, D.C.), proporciona una herramienta de diagnóstico para identificar muchos de los trastornos descritos en la presente. Además, the International Classification of Diseases, 10ª revisión (ICD-10), proporciona clasificaciones para muchos de los trastornos descritos en la presente. Los expertos en la técnica reconocerán que existen nomenclaturas, nosologías, y sistemas de clasificación alternativos para los trastornos descritos en la presente, incluyendo los descritos en DSM-IV e ICD-10, y que la terminología y los sistemas de clasificación evolucionan con el avance científico médico.

En realizaciones particularmente preferidas, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I para su uso en el tratamiento de trastornos seleccionados del grupo que consiste en trastornos cognitivos (incluyendo trastorno cognitivo relacionado con el envejecimiento, deterioro cognitivo suave, deterioro cognitivo asociado con esquizofrenia, y deterioro cognitivo inducido por quimioterapia), ADHD, trastornos del estado de ánimo (incluyendo depresión, manía, trastornos bipolares), psicosis (en particular esquizofrenia y trastorno esquizofreniforme), demencia (incluyendo enfermedad de Alzheimer, demencia inducida por SIDA, demencia vascular, y demencia que carece de histología distintiva), enfermedad de Parkinson, corea de Huntington, dolor (incluyendo el dolor agudo y el dolor crónico), la xerostemia (boca seca), la enfermedad de los cuerpos de Lewis (incluyendo la enfermedad de los cuerpos de Lewis difusa), la afasia (incluyendo afasia primaria y síndromes de afasia primaria), los síndromes hipotensivos, y la colitis crónica (incluyendo la enfermedad de Crohn). Es decir, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I o una composición farmacéutica de este para el tratamiento de trastornos asociados con los receptores muscarínicos.

Se reconoce que los términos "tratamiento" y "tratar" pretenden incluir la mejora de la sintomatología asociada con cada uno de los trastornos asociados con los receptores muscarínicos descritos en la presente. Además, también se

reconoce que los expertos en la técnica pueden afectar a los trastornos mediante el tratamiento de un paciente que padece actualmente los trastornos, o mediante un tratamiento profiláctico de un paciente que se cree que es susceptible a dichos trastornos, con una cantidad eficaz del compuesto de fórmula I. Así, los términos “tratamiento” y “tratar” pretenden incluir todos los procesos en los que puede haber un freno, una interrupción, una detención, un control o una finalización del avance de los trastornos descritos en la presente, pero no indican necesariamente una eliminación total de todos los síntomas, y pretenden incluir el tratamiento profiláctico de estos trastornos.

Se entiende que la presente invención incluye el tratamiento adjunto de los trastornos descritos en la presente. De modo más específico, los compuestos de fórmula I son útiles para tratar trastornos en los que un déficit cognitivo es uno de los síntomas, en combinación con una amplia diversidad de otros agentes terapéuticos, en particular, en combinación con potenciadores de AMPA; con antipsicóticos típicos y atípicos, incluyendo olanzapina; con diversos agentes, tales como agonistas de mGluR, con antagonistas de NMDA, con inhibidores de IL1-6, con otros colinérgicos, incluyendo inhibidores de colinesterasa, tales como tacrina y donepezilo, y compuestos que inhiben el procesamiento de proteínas amiloides, incluyendo inhibidores del procesamiento de proteínas precursoras de amiloides, y anticuerpos dirigidos contra proteínas amiloides; con antidepresivos, incluyendo SSRI y SNRI, tales como fluoxetina, paroxetina, y venlafaxina; y con agentes ansiolíticos; etc. Se cree que las anteriores combinaciones son sinérgicamente beneficiosas proporcionando eficacia a una dosis que son una pequeña fracción de las necesarias para producir el mismo efectos con los componentes individuales.

Según los tratamientos adjuntos descritos anteriormente, la presente invención también proporciona un producto que contiene un compuesto de fórmula I y uno o más agentes terapéuticos seleccionados del grupo que consiste en potenciadores de AMPA; antipsicóticos típicos y atípicos, incluyendo olanzapina; agonistas de mGluR; antagonistas de NMDA; inhibidores de IL1-6; inhibidores de colinesterasa, tales como tacrina y donepezilo; compuestos que inhiben el procesamiento de proteínas amiloides, incluyendo inhibidores del procesamiento de proteínas precursoras de amiloides, y anticuerpos dirigidos contra proteínas amiloides; antidepresivos, incluyendo SSRI y SNRI, tales como fluoxetina, paroxetina, y venlafaxina; y agentes ansiolíticos, como una preparación combinada para la administración simultánea, separada, o secuencial para el tratamiento de trastornos en los que un déficit cognitivo es uno de los síntomas. En otras realizaciones, la presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula I junto con uno o más agentes terapéuticos seleccionados del grupo que consiste en potenciadores de AMPA; antipsicóticos típicos y atípicos, incluyendo olanzapina; agonistas de mGluR; antagonistas de NMDA; inhibidores de IL1-6; inhibidores de colinesterasa, tales como tacrina y donepezilo; compuestos que inhiben el procesamiento de proteínas amiloides, incluyendo inhibidores del procesamiento de proteínas precursoras de amiloides, y anticuerpos dirigidos contra proteínas amiloides; antidepresivos, incluyendo SSRI y SNRI, tales como fluoxetina, paroxetina, y venlafaxina; y agentes ansiolíticos, para la fabricación de un medicamento como una preparación combinada para la administración simultánea, separada, o secuencial para el tratamiento de trastornos en los que un déficit cognitivo es uno de los síntomas.

Tal como se emplea en la presente, la expresión “administración simultánea, separada, o secuencial” significa que dos o más agentes terapéuticos se administran dentro de un intervalo de tiempo que asegura que todos los agentes terapéuticos proporcionarán alguna actividad terapéutica en un momento concreto. Es decir, las actividades terapéuticas deben al menos solaparse en algún grado aunque no es necesario que sean coincidentes.

Tal como se emplea en la presente, el término “paciente” incluye un mamífero que padece uno o más trastornos asociados con los receptores muscarínicos. Se entiende que los cobayas, perros, gatos, ratas, ratones, caballos, ganado vacuno, ovejas, cerdos y seres humanos son ejemplos de animales dentro del alcance del significado del término.

Tal como se emplea en la presente, la expresión “cantidad eficaz” de un compuesto de fórmula I se refiere a una cantidad, es decir, la dosificación que es eficaz para tratar los trastornos descritos en la presente.

Una cantidad eficaz puede ser determinada con facilidad por el médico encargado, siendo un experto en la técnica, mediante el uso de técnicas convencionales y observando los resultados obtenidos bajo circunstancias análogas. Para determinar una cantidad eficaz, la dosis de un compuesto de fórmula I, el médico encargado considera una serie de factores que incluyen, pero no se limitan al compuesto de fórmula I que se va a administrar; la coadministración de otras terapias, si se emplean; la especie del mamífero, su tamaño, edad y salud general; el trastorno específico implicado; el grado de implicación o la gravedad del trastorno; la respuesta del paciente individual; el modo de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; el régimen de dosis seleccionado; el uso de otra medicación concomitante; y otras circunstancias pertinentes.

Se espera que una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I varíe de aproximadamente 0,01 miligramos por kilogramo de peso corporal diarios (mg/kg/día) a aproximadamente 50 mg/kg/día, y preferiblemente de 0,1 miligramos por kilogramo de peso corporal diarios (mg/kg/día) a aproximadamente 20 mg/kg/día. Las cantidades más preferidas pueden ser determinadas por los expertos en la técnica.

De los trastornos que se van a tratar según la presente invención, una serie son particularmente preferidos. Los trastornos particularmente preferidos incluyen el tratamiento de trastornos cognitivos (en particular el deterioro cognitivo suave y el deterioro cognitivo asociado con esquizofrenia), la enfermedad de Alzheimer, y la psicosis, incluyendo la esquizofrenia.

5 Se han descrito una serie de modelos preclínicos con animales de laboratorio para los trastornos descritos en la presente.

Ejemplo A: Laberinto de brazos radiales

10 Se ha usado la tarea demorada no emparejada con el ejemplo para estudiar el efecto de fármacos sobre la retención de la memoria (Pussinen, R. y Sirvio, J., *J. of Psychopharm.*, 13: 71-179 (1999); Staubli, U., *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 91:777-781 (1994)) en el laberinto radial de ocho brazos.

15 Se deja que ratas bien entrenadas obtengan recompensas de alimento en cuatro brazos del laberinto seleccionados de modo aleatorio (fase de toma de muestras). Un tiempo después las ratas se exponen a los ocho brazos abiertos y se ensaya su capacidad para recordar y evitar los brazos en los que previamente habían entrado para obtener alimento. Se contó la reentrada en un brazo con cebo durante la sesión de toma de muestras como error de trabajo. El número de errores totales (referencia + trabajo) cometidos durante el ensayo de retención aumenta con periodos de retraso crecientes. Por ejemplo, las ratas macho jóvenes cometieron 0,66 (+0,4) errores en el retraso de 1 minutos, 2 (+0,5) errores en el retraso de una hora, y 3,95 (+0,2) errores en el retraso de siete horas (observaciones del laboratorio de los inventores).

20 Las ratas Sprague-Dawley macho se alojaron de modo individual y se mantuvieron en un ciclo de luz-oscuridad de 12 h (las luces se encienden a las 6 a.m.). Las ratas pudieron acceder libremente al agua y se mantuvieron al 85 % de su peso sin restricción de alimentos mediante una alimentación suplementaria con Purine Lab Chow.

25 Las ratas se entrenaron individualmente para que buscasen alimento al final de cada uno de los ocho brazos. Cuando las ratas alcanzaron el criterio de cometer no más de dos errores (es decir, entran en el mismo brazo más de una vez durante la sesión) en tres días consecutivos, se impuso un retraso de un minuto entre la cuarta y la quinta elección de brazo. Este entrenamiento asegura que las ratas estén totalmente familiarizadas con los aspectos relativos al procedimiento de la tarea antes de la administración de cualquier fármaco. Cuando se obtiene una actuación estable en la tarea de retraso (es decir, no se comete más de un error en tres días consecutivos), comienzan los ensayos de fármaco y vehículo usando un periodo de retraso de siete horas. Se coloca cebo en un nuevo conjunto de brazos cada día para cada rata y el laberinto se limpia a fondo durante el periodo de retraso.

30 Durante la sesión de toma de muestras, cada rata se coloca en la plataforma central estando bloqueado el acceso a los ocho brazos del laberinto. Se seleccionaron cuatro de los ocho brazos al azar y se colocaron cebos de alimento. Se abren las puertas de los brazos con cebo y se dejó cinco minutos a cada rata para que obtuviese el alimento al final de cada uno de los cuatro brazos. En cuanto la rata obtiene el alimento se retira, se le administra vehículo o diversas dosis de los compuestos, y se coloca de nuevo en su jaula. Siete horas después (sesión de retención), la rata se vuelve a colocar en la plataforma central estando bloqueado el acceso a los ocho brazos del laberinto. Los cuatro brazos que previamente contenían cebo durante la sesión de toma de muestras se vuelven a cebar y se abren las puertas de los ocho brazos. Se dejan cinco minutos a cada rata para que obtenga los cuatro trozos de comida que quedan. Una entrada en un brazo sin cebo o una reentrada en un brazo previamente visitado se cuenta como error. Se determina la significancia ($p < 0,05$) usando una medición repetida ANOVA, seguido de un ensayo de Dunnett para la comparación con el control.

35 Para comparar los compuestos de ensayo con patrones se administra escopolamina y tacrina por vía subcutánea inmediatamente después de la fase de toma de muestras. Se ensayan los efectos de la escopolamina, un amnésico conocido, después de un retraso de tres horas, mientras que se ensayó el efecto de la tacrina, un inhibidor de colinesterasa utilizado en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, después de un retraso de seis días. La escopolamina altera la retención después de un retraso de tres horas de una manera relacionada con la dosis. La tacrina mejora significativamente la retención después de un retraso de seis horas a 10, pero no a 3 mg/kg.

Ejemplo B: Adquisición en el laberinto radial de 8 brazos

50 Una destacada característica temprana de la sintomatología de la enfermedad de Alzheimer (AD) es un pronunciado déficit en la memoria declarativa (R.W. Parks, R.F. Zec y R.S. Wilson (eds.), *Neuropsychology of Alzheimer's disease and other dementias*, NY: Oxford University Press, pp. 3-80 (1993)).

A medida que avanza la enfermedad, otros dominios de la cognición también se ven gravemente afectados. Entre las regiones cerebrales afectadas de modo temprano en el avance de la enfermedad de Alzheimer está el hipocampo, que es un sustrato neural crítico para la memoria declarativa (Differences in the pattern of hippocampal

neuronal loss in normal aging and Alzheimer's disease, *Lancet*, 344:769-772 (1994)). Un ensayo del comportamiento que a menudo se emplea para evaluar la función del hipocampo en modelos animales es el laberinto radial de 8 brazos (Olton D.S., *The radial arm maze as a tool in behavioral pharmacology*, *Physiology & Behavior*, 40:793-797 (1986)).

5 Las lesiones o el bloqueo farmacológico del hipocampo altera la realización de esta tarea. Además, los animales envejecidos generalmente muestran déficits en esta tarea (Porsolt R.D., Roux S. y Wettstein J.G., *Animal models of dementia*, *Drug Development Research*, 35:214-229 (1995)).

10 En este ensayo de aprendizaje y memoria espacial, se coloca a una rata hambrienta en el centro del laberinto y se deja que atraviese el laberinto a la búsqueda de alimento colocado al final de cada brazo. En esta versión del laberinto, la rata aprende una estrategia de ganancia-desplazamiento en la que un brazo visitado no se repone. Por tanto, la estrategia de búsqueda de alimento más eficaz es visitar cada brazo una vez. La versión del laberinto también aprovecha procesos de aprendizaje generales, puesto que la rata no conoce el laberinto en el primer día del experimento de cuatro días.

15 En el momento de su recepción, las ratas Sprague-Dawley® macho se alojan de modo individual en una sala de colonias con un ciclo de luz regular y se deja que se aclimaten durante al menos 4 días antes del ensayo. Se reduce el peso de cada rata y se mantiene al 85 % de su peso corporal diana a lo largo del experimento. Se mantiene el peso corporal apropiado ajustando el reparto del pienso de laboratorio basándose en una combinación de la edad de la rata y la medición diaria de su peso corporal.

20 Una sesión empieza cuando se coloca una rata individual en el eje del laberinto y después se abren todas las puertas de guillotina permitiendo al animal el libre acceso a todas las áreas del laberinto. Se coloca una tolva de alimentación al final de cada uno de los 8 brazos y se coloca un solo grano de pienso en cada tolva de alimentación. Cada sesión diaria termina cuando las 8 tolvas de alimentación se han visitado o cuando la rata ha gastado su tiempo (15 minutos en el día 1: 5 minutos en los días 2-4). Se registró el número de entradas en los brazos. Se cuentan los errores como repeticiones de entrada en un brazo o falta de visita a un brazo en el periodo de sesión. Un animal se excluye del estudio si no visita al menos un brazo en el día 1, dos brazos en el día 2, y al menos 4 brazos en los días 3 y 4.

Cada rata se asignó pseudoaleatoriamente a un grupo de vehículo o de fármaco, y recibe el mismo tratamiento a lo largo del periodo experimental. El vehículo consiste en goma arábica al 5 % en agua estéril. Las inyecciones se administraron por vía subcutánea 20-30 minutos antes de cada sesión diaria.

30 En esta tarea de adquisición, los animales tratados con vehículo no muestran, de modo coherente, una significativa adquisición de aprendizaje del laberinto, comparado con el número de errores cometidos en el día 1. Los inventores han descubierto que, en compuestos que facilitan la adquisición de aprendizaje del laberinto, los efectos a menudo no se observan hasta el cuarto día de entrenamiento. Por tanto, los resultados consisten en los errores totales en el día 4 a través de los grupos de tratamiento.

35 **Ejemplo C: Movilización funcional del calcio intracelular**

40 Se cultivan células CHO que expresan subtipos del receptor muscarínico (M1-M5) como monocapas en DMEM:F-12 (3:1), FBSnz al 10 %, HEPES 20 mM, penicilina/estreptamicina al 1 %, G418 250 µg/ml (GibcoBRL nº 10131-027). Las células se mantienen en O₂/CO₂ al 95 %/5 % y se transfieren cada 3-4 días. Las células se cultivan 24 horas antes del ensayo a una densidad de 50.000/pocillo y 48 horas antes a una densidad de 25.000/pocillo (100 µl/pocillo) en placas de 96 pocillos de fondo transparente con paredes negras Costar (Costar nº 3603). Las células después se incuban con medio esencial mínimo que contiene el indicador de Ca²⁺ citoplásmico Fluo-3 (Fluo 1 mM mezclado 1:1 con ácido plurónico al 20 %, después diluido hasta una concentración final de 5 µM en crecimiento y suplementado con 2,5 mM, 50 µl/pocillo) a 37 °C en un entorno que contiene CO₂ al 5 % durante 60 minutos. Las células se lavan dos veces con 100 µl/pocillo de tampón de lavado que contiene disolución salina equilibrada de Hank (HBSS) sin rojo fenol (1x) (GibcoBRL nº 14065-056), HEPES 20 mM (Sigma nº P8791), y Probenecid (2,5 mM) (100x:1:100). Para el ensayo se añaden 100 µl a cada pocillo (FLIPR añade 100 µl de 2x fármaco). Las placas se lavan tres veces usando un multigoteador LabSystems y se retira el tampón residual. Las placas también se secan con toallitas de papel para eliminar el compuesto remanente.

50 Los compuestos se preparan 2x (se añaden 100 µl de fármaco a 100 µl de tampón de ensayo presente en el pocillo) en tampón de ensayo que contiene DMSO al 2 %, HBSS sin rojo fenol (1x) (GibcoBRL nº 14065-056), HEPES 20 mM (Sigma nº P8791), y Probenecid (2,5 mM) (100x:1:100).

Las placas después se colocan en un instrumento FLIPR (sistema de lector de placas de formación de imágenes fluorométricas, Molecular Devices, Sunnyvale, CA) para controlar la fluorescencia de las células ($\lambda_{EX} = 488 \text{ nm}$, $\lambda_{EM} = 540 \text{ nm}$) antes y después de la adición de los compuestos.

Se evalúa la selectividad de los agonistas de M1 seleccionando a través de los otros subtipos del receptor muscarínico (M2, M3, M4 y M5) de una manera similar. Los compuestos también se seleccionan a través de una serie de proteínas diana, así como las dianas del receptor acoplado a proteína G estructuralmente relacionado (GPCR) para asegurar la selectividad por el receptor M1.

5 Ejemplo D: Unión de GTP funcional

Cultivo celular: se cultivaron células CHO transfectadas con receptores M1-M5 humanos en suspensión o en monocapa. Para los cultivos en suspensión, las células se cultivaron en botellas de agitación rotatoria con una agitación constante a 37 °C y CO₂ al 5 % usando como medio de cultivo medio de Eagle modificado de Dulbecco/F-12 (3:1) suplementado con suero bovino fetal al 5 %, tobramicina 50 µg/ml, y HEPES 20 mM. Los cultivos en monocapa se cultivaron en matraces T-225 a 37 °C y CO₂ al 5 % en medio de Eagle modificado de Dulbecco suplementado con suero bovino fetal al 10 %, y 100.000 U/litro de penicilina/estreptomicina. Las células se recolectaron usando un medio de disociación sin tripsina cuando alcanzaron 95 % de confluencia y se recogieron mediante centrifugación y se conservaron a 80 °C. Las células que expresan de forma estable los receptores muscarínicos humanos se obtuvieron en the National Institutes of Health.

Preparación de membranas: los sedimentos celulares se descongelaron y se resuspendieron en 20 volúmenes de tampón fosfato de sodio 20 mM, pH 7,4, y se homogeneizaron dos veces durante 30 segundos a alta velocidad usando un Tissuemizer. Los homogeneizados se centrifugaron a 200 g durante 15 minutos a 4 °C. El sobrenadante se retiró y se reservó en hielo. Este procedimiento se repitió dos veces y los sobrenadantes reunidos entonces se centrifugaron a 40.000 g durante 45 minutos a 4 °C. Las membranas se suspendieron en 5 mg de proteína/ml y se conservaron a 80 °C. A menos que se indique lo contrario en las leyendas de las figuras, las membranas de las células M1, M2 y M4 se prepararon a partir de células cultivadas en suspensión, mientras que las de las células M3 y M5 proceden de las células cultivadas en monocapa. Las densidades de los receptores (pmol mg⁻¹ de proteínas de membrana) fueron 9,3, 0,7, 0,6, 0,9, y 4,8 para los receptores M1-M5, respectivamente.

Se homogeneizó a mano tejido estriado de ratas Sprague-Dawley macho en 10 volúmenes de HEPES 10 mM y EGTA 1 mM, pH 7,4, que contenía un cóctel de inhibidores de proteasas completo, ditiotreitil 1 mM, y sacarosa al 10 %. El homogeneizado se diluyó en 6 veces y se centrifugó a 1000 g durante 10 minutos a 4 °C. El sobrenadante se guardó y el sedimento se volvió a homogeneizar y centrifugar como antes. Los sobrenadantes reunidos se centrifugaron a 11.000 g durante 20 minutos. El sedimento resultante se homogeneizó en 40 volúmenes de HEPES 10 mM y EGTA 1 mM, pH 7,4, que contiene ditiotreitil 1 mM y MgCl₂ 1 mM, y se centrifugó a 27.000 g durante 20 minutos. El sedimento resultante se suspendió en el mismo tampón a una concentración de proteínas de 1,5 mg/ml, y se congelaron y almacenaron partes alícuotas a 80 °C.

Unión de GTP γ ³⁵S: los ensayos se realizaron en HEPES 20 mM, NaCl 100 mM, y MgCl₂ 5 mM a pH 7,4 en un volumen final de 200 µl en placas Costar de 96 pocillos a 25 °C. Se añadieron 100 microlitros de la preparación de membranas (25 µg de proteínas por pocillo para las membranas celulares, y 9-15 µg por pocillo de membranas cerebrales) que contienen la concentración apropiada de GDP, seguido de la adición de 50 µl de tampón ± los agonistas y los antagonistas que se están ensayando, seguido de 50 µl de GTP γ ³⁵S para proporcionar una concentración final en el ensayo de 200 pM para las membranas de CHO y 500 pM para las membranas cerebrales. Para las membranas de CHO se empleó GDP 0,1 µM para los ensayos de los receptores M1, M3, y M5, mientras que se empleó GDP 1 µM para los ensayos de M2 y M4. Para las membranas cerebrales se empleó GDP 0,1 µM en los ensayos realizados con anti-G α q/11, mientras que se empleó GDP 50 µM para los ensayos que usan anti-G α i(1-3) y anti-G α o. Las membranas de las células CHO se incubaron durante 30 minutos a 25 °C con los agonistas y los antagonistas, seguido de la adición de GTP γ ³⁵S y una incubación durante 30 minutos más. Las membranas cerebrales se incubaron durante 20 minutos a 25 °C con los agonistas y los antagonistas, seguido de la adición de GTP γ ³⁵S y una incubación durante 60 minutos más. Se empleó una preincubación para asegurarse de que los agonistas y los antagonistas estaban en equilibrio durante el periodo de marcaje.

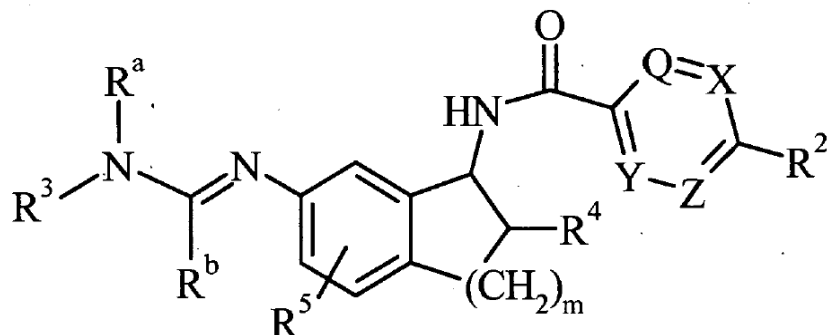
Para determinar la unión a membranas total se añadieron 50 µl de esferas de SPA revestidas con aglutinina de germen de trigo (WGA) suspendidas. Después de 15 minutos, las placas se centrifugaron a 1000 g durante 15 minutos y se determinó la radiactividad usando un contador de placas Wallac. Para determinar la unión a proteínas G específicas se solubilizaron membranas marcadas con ³⁵S durante 30 minutos con Nonidet P-40 al 0,27 % (20 µl/pocillo de una disolución que contiene 1,5 ml de Nonidet P-40 al 10 % por cada 3,5 ml de tampón de ensayo), seguido de la adición del anticuerpo deseado (10 µl/pocillo) para proporcionar una dilución final de 1/400 a 1/100 y una incubación durante 60 minutos más. Se añadieron 50 microlitros de esferas de SPA revestidas con anti-IgG por pocillo, las placas se incubaron durante 3 horas, y después se centrifugaron y se determinó la radiactividad como antes. Cada botella de esferas de SPA revestidas con WGA se suspendió en 10 ml de tampón de ensayo, y cada botella de esferas de SPA revestidas con anti-IgG se suspendió en 20 ml de tampón de ensayo. Se determinaron las proteínas usando un ensayo de ácido bicinchonínico.

5 Materiales: El ^{35}S -GTP γ S (1000-1200 Ci/mmol), las esferas de SPA revestidas con anti-IgG de conejo y anti-IgG de ratón, y las esferas de SPA revestidas con WGA se obtuvieron en Amersham (Arlington Heights, IL). El anti-G α q/11 de conejo y el anti-G α i(1-3) de conejo se obtuvieron en Santa Cruz Biotechnologies (Santa Cruz, CA). El anti-G α o monoclonal de ratón se obtuvo en Chemicon (Temecula, CA). La oxotremorina M y la pirenzepina se obtuvieron en Research Biochemicals Inc. (Natick, MA). La 11-[[2-((dietilamino)metil)-1-piperidinil]acetil]-5,11-dihidro-6H-pirido[2,3b][1,4]benzodiazepin-6-ona (AFDX 116) se sintetizó en Eli Lilly. El cóctel de inhibidores de proteasas completo y el Nonidet P-40 al 10 % se obtuvieron en Boehringer Mannheim (Indianápolis, IN).

10 La selectividad de los agonistas de M1 se evaluó mediante la selección a través de los otros subtipos de receptores muscarínicos (M2, M3, M4, y M5). Los compuestos también se seleccionan a través de una serie de proteínas diana, así como las dianas del receptor acoplado a proteína G estructuralmente relacionado (GPCR) para asegurar la selectividad por el receptor M

REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de fórmula:



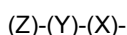
en la que:

5 Q, X, Y y Z se seleccionan independientemente del grupo que consiste en CR¹ y N, con la condición de que no más de dos de Q, X, Y y Z sean N, y al menos dos de Q, X, Y y Z sean CH; o Y es CH, Z es CH, y el resto "Q=X" representa "S" para formar un anillo de tiofeno;

R¹ se selecciona independientemente cada vez que aparece del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alcoxi C₁-C₄, y alquilo C₁-C₄;

10 R² se selecciona del grupo que consiste en halógeno; alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄; cicloalquilo C₃-C₈; ciano; trifluorometilo; piridinilo opcionalmente sustituido con uno a dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄; tienilo opcionalmente sustituido con un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄; fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo y ciano; y pirrolilo opcionalmente sustituido con uno a dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄;

15 R³ es un radical de fórmula:



en la que X se selecciona del grupo que consiste en



y un alcanodiilo C₁-C₄ de cadena lineal opcionalmente sustituido con metilo, dimetilo geminal o fenilo;

20 Y se selecciona del grupo que consiste en O y S; y

25 Z se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁-C₆; cicloalquilo C₃-C₈ opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo, ciano y nitro; fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo, ciano y nitro; naftilo opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo, ciano y nitro; heteroarilo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄; y heterociclo opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄;

30 R^a se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y metilo;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo y flúor;

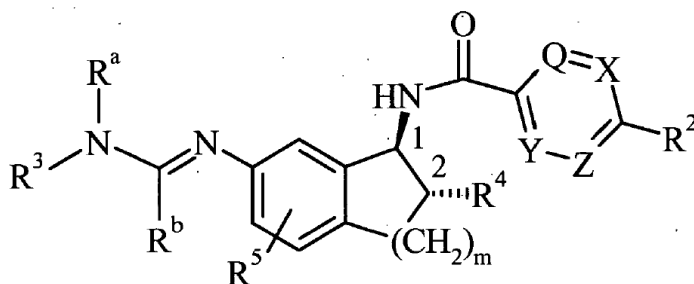
R⁵ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alcoxi C₁-C₄ y alquilo C₁-C₄;

R^b se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, metilo y etilo; y

m es uno o dos;

o sus sales de adición farmacéuticamente aceptables.

2.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R⁵ es hidrógeno, R⁴ es hidroxilo, m es uno, y que tiene la estereoquímica trans en la posición 1 y 2, mostrado a continuación:



- 5 3.- Un compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que Q, X, Y, y Z son cada uno CH.
- 4.- Un compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que uno de Q, X, Y y Z es CF y los otros son CH.
- 5.- Un compuesto según la reivindicación 4, en el que Q es CF y X, Y y Z son cada uno CH.
- 10 6.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que R² es fenilo opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en halógeno, alcoxi C₁-C₄, alquilo C₁-C₄, trifluorometilo y ciano.
- 7.- Un compuesto según la reivindicación 6, en el que R² es fenilo.
- 8.- Una composición farmacéutica que comprende el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, y un diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 15 9.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso como medicamento.
- 10.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de trastornos asociados con los receptores muscarínicos.
- 11.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de trastornos cognitivos.
- 20 12.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.
- 13.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento de la esquizofrenia.
- 25 14.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento del deterioro cognitivo suave.
- 15.- Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en el tratamiento del deterioro cognitivo asociado con la esquizofrenia.