

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 505 318**

51 Int. Cl.:

C07C 235/38	(2006.01)	C07C 231/02	(2006.01)
A61P 13/12	(2006.01)	A61K 31/4192	(2006.01)
C07D 213/643	(2006.01)	C07D 261/08	(2006.01)
A61K 31/435	(2006.01)	A61P 9/10	(2006.01)
A61P 35/00	(2006.01)	A61K 31/196	(2006.01)
A61P 11/00	(2006.01)	A61P 17/02	(2006.01)
C07D 213/16	(2006.01)	C07D 253/04	(2006.01)
A61K 31/426	(2006.01)	A61K 31/5375	(2006.01)
A61P 29/00	(2006.01)	A61P 43/00	(2006.01)
C07D 295/03	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.07.2007 E 07763756 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.06.2014 EP 2035369**

54 Título: **Compuestos terapéuticos**

30 Prioridad:

05.07.2006 AU 2006903625

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

09.10.2014

73 Titular/es:

**FIBROTECH THERAPEUTICS PTY LTD (100.0%)
Level 9, 278 Collins Street
Melbourne, VIC 3000, AU**

72 Inventor/es:

**WILLIAMS, SPENCER JOHN;
STAPLETON, DAVID;
ZAMMIT, STEVEN;
KELLY, DARREN JAMES;
GILBERT, RICHARD ERNEST y
KRUM, HENRY**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 505 318 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos terapéuticos

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos para el tratamiento de trastornos médicos. La presente invención se refiere además al uso de los compuestos para el tratamiento de trastornos médicos, en particular afecciones asociadas con fibrosis tisular.

Antecedentes de la invención

10 Tranilast ácido (n-[3,4-dimetoxicinamoi]antranílico es un agente antifibrótico usado en Japón para el tratamiento de trastornos fibróticos de la piel, tales como queloides [8] y esclerodermia [9]. Aunque los mecanismos precisos y el modo de acción no están completamente comprendidos, su capacidad para inhibir la fosforilación de ERK [20], un intermedio importante en la ruta de señalización de TGF- β , puede subyacer a sus efectos antifibróticos, con acciones conocidas de tranilast que incluyen la inhibición de la producción de la matriz extracelular inducida por TGF- β en un abanico de tipos celulares [10, 11, 14, 16]. Ahora se ha demostrado también que tranilast atenúa la síntesis de colágeno inducida por TGF- β en fibroblastos cardíacos, usando un modelo experimental de cardiopatía diabética [15].

15 La fibrosis es una respuesta habitual a un abanico de lesiones tisulares que pueden conducir a disfunción orgánica. Las enfermedades que se caracterizan por tal fibrosis patológica incluyen cirrosis hepática, fibrosis intersticial pulmonar, glomerulonefritis, insuficiencia cardíaca (isquémica y no isquémica), nefropatía diabética, esclerodermia, tejido cicatrizal excesivo tras cirugía o inserción de dispositivo, nefropatía progresiva, glomerulonefritis, hipertensión, insuficiencia cardíaca debida a cardiopatía isquémica, valvulopatía o cardiopatía hipertensiva y cicatrices hipertróficas. Además, la elaboración de matriz patológica también tiene un papel en la progresión y metástasis de tumores fibroproliferativos.

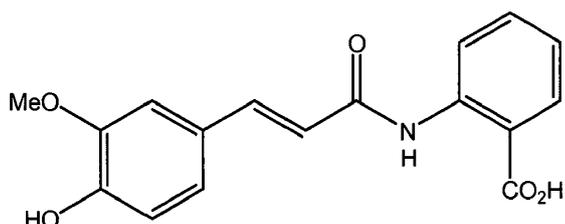
20 Los sujetos diabéticos tienen un mayor riesgo de dos a cinco veces de desarrollar insuficiencia cardíaca [1]. Además de cardiopatía isquémica, la insuficiencia cardíaca en diabetes está también asociada con una cardiomiopatía, independiente de arteriopatía coronaria [2]. Esta denominada "cardiomiopatía diabética" se caracteriza histológicamente por fibrosis miocárdica con elasticidad miocárdica reducida, contractibilidad alterada y disfunción cardíaca abierta [3-6]. En consecuencia, las estrategias que reducen la acumulación patológica de matriz extracelular se han propuesto como terapias potenciales para el tratamiento y prevención de insuficiencia cardíaca tanto en estados diabéticos como no diabéticos [7].

25 El tratamiento actual de insuficiencia cardíaca crónica se centra en la modulación de la actividad neurohormonal que se desarrolla típicamente en respuesta a las anomalías funcionales que se desarrollan. Sin embargo, a pesar de tal terapia, frecuentemente usada en combinación, la disfunción cardíaca continúa progresando en la mayoría de los pacientes. Dada la importancia de la fibrosis patológica en la remodelación cardíaca adversa, se ha sugerido un papel potencial de los agentes antifibróticos [16]. Los estudios realizados a lo largo de más de una década han indicado consistentemente un papel importante para el factor de crecimiento proesclerótico, el factor de crecimiento transformante β (TGF- β) en fibrosis orgánica y disfunción [17], de manera que el bloqueo de su expresión y acción representa una diana terapéutica importante.

30 También se ha demostrado que tranilast reduce la inflamación en enfermedades alérgicas, tales como rinitis alérgica y asma bronquial, etc. [42].

35 Además, se ha demostrado que tranilast tiene actividad antiproliferativa [43, 44].

Sin embargo, recientemente se ha demostrado [19] que factores genéticos en ciertos pacientes, específicamente una variante UGT1A1 del síndrome de Gilbert, confiere susceptibilidad a hiperbilirrubinemia inducida por tranilast. Tal hiperbilirrubinemia puede estar asociada con el propio tranilast o con la formación, *in vivo*, del siguiente metabolito de tranilast



45 Sería útil proporcionar compuestos adicionales con actividad potencial antifibrótica, antiinflamatoria, y antiproliferativa o antineoplásica para el tratamiento o prevención de enfermedades asociadas con enfermedades de fibrosis caracterizadas por inflamación y enfermedad neoplásica (tanto benigna como maligna), y como

alternativas/auxiliares a tranilast.

D6 (documento JP 10306024 A) se refiere a la obtención de un agente preventivo y terapéutico frente a enfermedades glomerulares, tales como glomerulonefritis y nefritis diabética, a través de la formación de un medicamento que contiene derivados de 2-acilaminobenzamida (I) que efectúa la supresión y/o multiplicación de células mesangiales y la potenciación productiva de sustratos extracelulares.

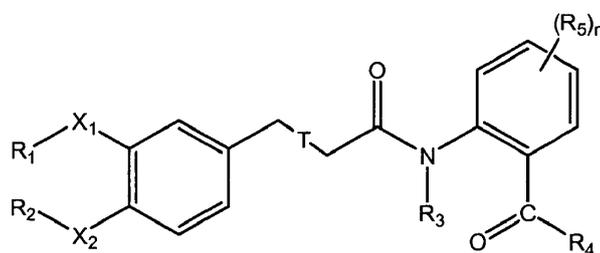
D7 (documento US 2006/0089413 A1) se refiere al uso de compuestos específicos (y también mezclas correspondientes) como agentes cosméticos para la inhibición de la liberación de histamina a partir de mastocitos inducida por la sustancia P.

D8 (Ogita, H. et al. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2001, vol. 11, páginas 549-551) sintetiza una serie de derivados diarilamídicos y evalúa su actividad inhibitora frente a células del músculo liso.

Es un objeto de la presente invención superar o al menos aliviar una o más de las dificultades y/o deficiencias relacionadas con la técnica anterior.

Sumario de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la Fórmula 2



Fórmula 2

en la que R₁ y R₂, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en un alquilo de C₁ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀ y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado; cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

X₁ y X₂ son iguales o diferentes, y se seleccionan del grupo que consiste en un enlace, O, N y S;

T es un enlace sencillo o doble;

R₃ se selecciona del grupo que consiste en H, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀ y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

R₄ se selecciona del grupo que consiste en H, OH, OR₆, NHR₆ o NR₆R₇;

R₅ se selecciona del grupo que consiste en H, NHR₆, NR₆R₇, OR₈, halógeno, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀ y una cadena que consiste en un anillo heterocíclico o condensado; cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

R₆ y R₇, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en H, alquilo de C₁ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀, arilo, alquilarilo de C₅ a C₂₀, y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

R₈ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo de C₁ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀, arilo, alquilarilo de C₅ a C₂₀, y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; y

n es un número entero entre 0 y 4;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo;

con la condición de que cuando X₁ y X₂ son ambos O o un enlace, y uno de R₁ o R₂ es alquilo de C₁ a C₄, el otro de R₁ o R₂ sea alquilo de C₄ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, o una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado; y

con la condición de que el compuesto no sea Tranilast.

Se ha encontrado sorprendentemente que los compuestos de Fórmula 2 pueden mostrar actividad antifibrótica, y en ciertos casos, actividad antifibrótica significativa potenciada.

Compuestos preferidos son aquellos en los que X_1 y X_2 son O.

Más preferiblemente, aquellos compuestos son aquellos en los que:

- 5 X_1 y X_2 son O;
 R_1 o R_2 es metilo;
 R_3 es H;
 R_4 es OH o NHR_6 ;
 R_5 es preferiblemente H o halógeno, por ejemplo Br, I, Cl o F, más preferiblemente Br;
- 10 R_1 o R_2 es alquino, una cadena que contiene un triazol, un grupo ciclopentilo, un grupo ciclohexilo, un grupo ciclopentilmetilo o un grupo ciclohexilmetilo; y
 R_6 es H.

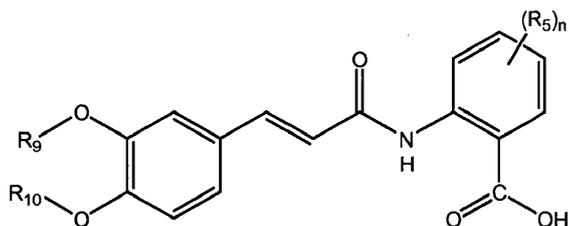
En una forma particularmente preferida, los compuestos se pueden seleccionar de aquellos en los que R_1 o R_2 es metilo.

- 15 Preferiblemente, uno de R_1 y R_2 es metilo y el otro de R_1 y R_2 es cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alquino de C_3 a C_{10} o una cadena que contiene triazol. Preferiblemente, el triazol es 1,2,3-triazol 1,4-disustituido.
- Cuando R_1 o R_2 es alquino, preferiblemente el alquino es un alquino de C_5 a C_8 terminal o no terminal, muy preferiblemente propargilo.

Descripción detallada de la invención

- 20 El término "alquilo", como se utiliza aquí, incluye los radicales alquilo lineales y ramificados, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, etc.
- El término "arilo", como se utiliza aquí, se refiere a anillos aromáticos sustituidos o no sustituidos que están condensados, no condensados, o enlazados, y pueden incluir uno o más heteroátomos.
- 25 La expresión "anillo condensado", como se utiliza aquí, se refiere a dos o más anillos unidos juntos a través de uno o más átomos. La expresión incluye anillos condensados sustituidos o no sustituidos.

Los compuestos preferidos de la presente invención son de la Fórmula 3

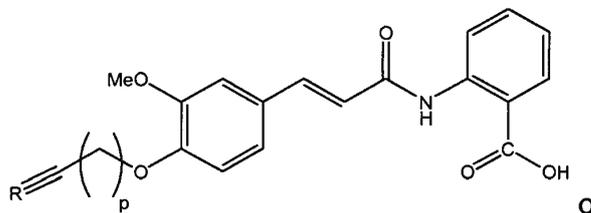


Fórmula 3

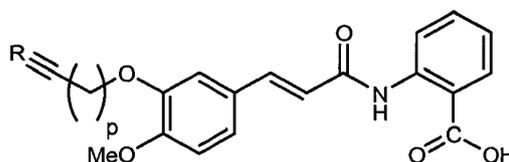
- 30 en la que R_9 o R_{10} , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en alquilo de C_1 a C_{10} , alquino de C_3 a C_8 terminal o no-terminal o un grupo ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexilmetilo o ciclopentilmetilo;
- o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos;
- con la condición de que cuando uno de R_9 o R_{10} es alquilo de C_1 a C_4 , el otro de R_9 o R_{10} sea alquilo de C_4 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alquino de C_3 a C_{10} o una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, o cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido; y
- 35 con la condición de que el compuesto no sea Tranilast.

En una realización preferida, la presente invención proporciona un compuesto de la Fórmula 3, en la que uno de R₉ o R₁₀ incluye un alquino de C₃ a C₈ y el otro de R₉ o R₁₀ es metilo. El alquino puede ser un alquino terminal o no terminal.

En una realización adicional, el compuesto tiene la Fórmula 4 o la Fórmula 5



Fórmula 4



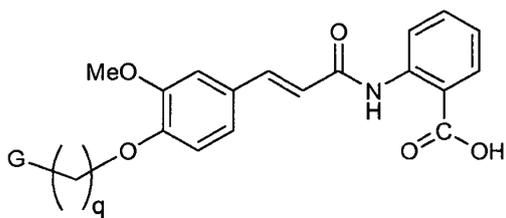
Fórmula 5

5

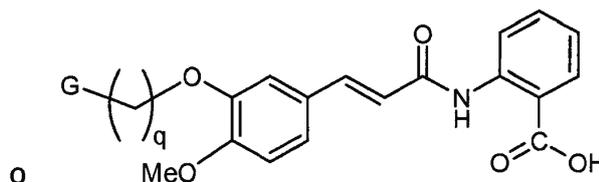
en las que p es un número entero entre 1 y 10, preferiblemente entre 1 y 6; y R se selecciona del grupo que consiste en H y alquilo de C₁ a C₁₀;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

En otra realización, el compuesto tiene la Fórmula 6 o la Fórmula 7



Fórmula 6



Fórmula 7

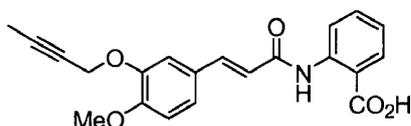
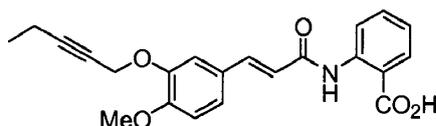
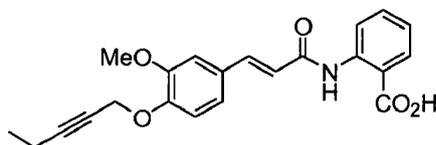
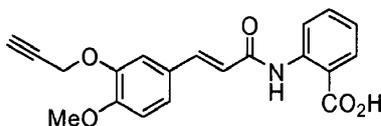
10

en las que G es un anillo ciclopentilo, un anillo ciclohexilo o un 1,2,3-triazol 1,4-disustituido; y

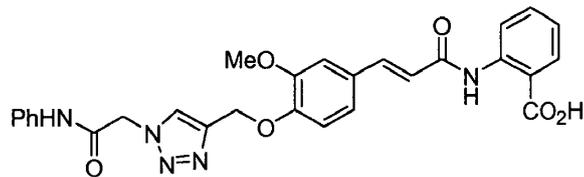
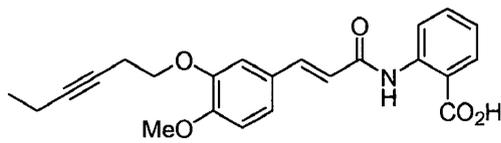
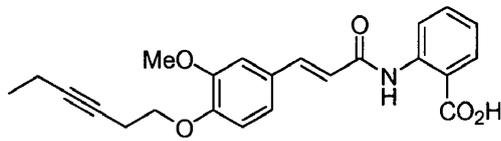
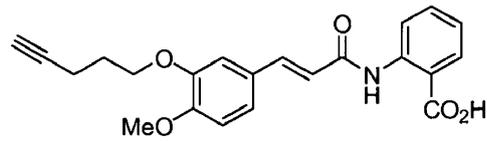
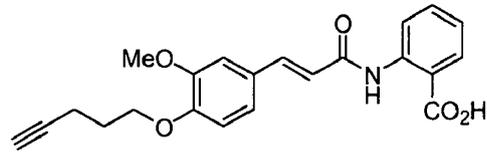
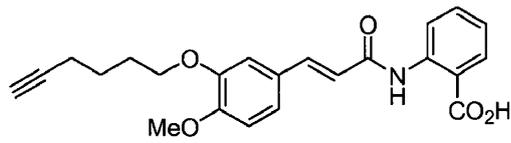
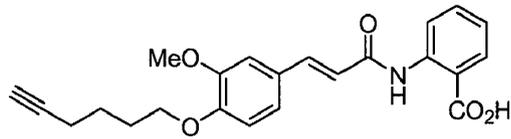
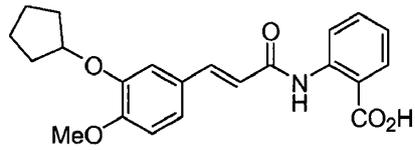
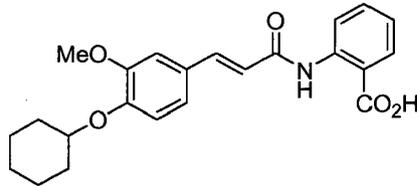
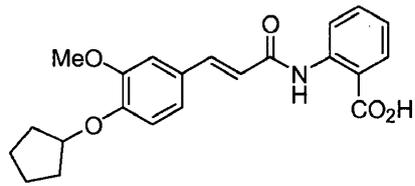
q es un número entero entre 0 y 6

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

Los compuestos de la presente invención se pueden seleccionar de uno o más del grupo que consiste en

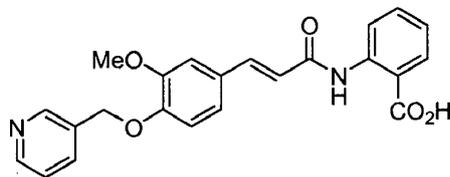
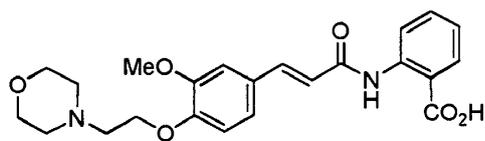


15

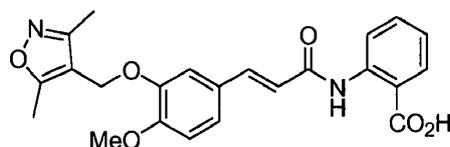


5

10

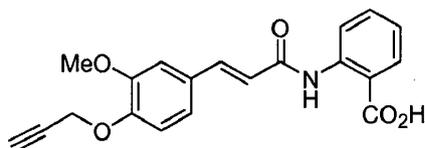


y

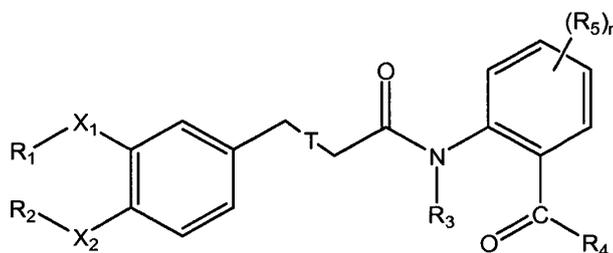


5 o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En una realización particularmente preferida, el compuesto tiene la Fórmula



En aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad o afección asociada con fibrosis, incluyendo un compuesto de la Fórmula 2



10

Fórmula 2

15 en la que R₁ y R₂, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en alquilo de C₁ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ o C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀ y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

15

X₁ y X₂ son iguales o diferentes, y se seleccionan del grupo que consiste en un enlace, O, N y S;

T es un enlace sencillo o doble;

R₃ se selecciona del grupo que consiste en H, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀ y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

20

R₄ se selecciona del grupo que consiste en H, OH, OR₆, NHR₆ o NR₆R₇;

R₅ se selecciona del grupo que consiste en H, NHR₆, NR₆R₇, OR₈, halógeno, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀, y una cadena que consiste en un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

25

R₆ y R₇, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en H, alquilo de C₁ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀, arilo, alquilarilo de

C₅ a C₂₀, y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

5 R₈ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo de C₁ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀, arilo, alquilarilo de C₅ a C₂₀, y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; y

n es un número entero entre 0 y 4;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo;

10 con la condición de que cuando X₁ y X₂ son ambos O o un enlace y uno de R₁ o R₂ es alquilo de C₁ a C₄, el otro de R₁ o R₂ sea alquilo de C₄ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alquino de C₃ a C₁₀, o una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado; y

con la condición de que el compuesto no sea Tranilast;

junto con un diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 En una realización preferida adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad o afección caracterizada por inflamación y/o enfermedad neoplásica benigna o maligna, que incluye un compuesto de la Fórmula 3, como se expone anteriormente.

El diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable se puede seleccionar de cualquier vehículo o excipiente adecuado conocido en la técnica.

20 La composición farmacéutica se puede formular en cualquier forma adecuada, incluyendo, pero sin limitarse a, formulaciones para el suministro oral, inyectable, rectal, parenteral, subcutáneo, intravenoso, intramuscular u otro suministro. La composición farmacéutica se puede formular en cualquier forma adecuada, incluyendo, pero sin limitarse a, comprimido, cápsula, cápsula oblonga, inyectable, ampolla, vial, disolución lista para usar, material liofilizado, supositorio, bola o forma de implante.

La formulación de tales composiciones es bien conocida por las personas expertas en la técnica.

25 Los vehículos y/o diluyentes adecuados farmacéuticamente aceptables incluyen cualquiera y todos los disolventes convencionales, medios de dispersión, cargas, vehículos sólidos, disoluciones acuosas, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y que retrasan la absorción, y similares. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica, y se describe, a título de ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a Edición, Mack Publishing Company, Pensilvania, USA. Excepto que en tanto que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con los grupos terminales del polímero dendrímero descrito aquí, se contempla su uso en las composiciones farmacéuticas de la presente invención. También se pueden incorporar en las composiciones ingredientes activos suplementarios.

35 Es especialmente ventajoso formular composiciones en forma de dosificación unitaria para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. "Forma de dosificación unitaria", como se usa aquí, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para los sujetos humanos a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el vehículo y/o diluyente farmacéutico requerido. Las especificaciones para las nuevas formas unitarias de dosificación de la invención están dictadas por y dependen directamente de (a) las características únicas del ingrediente activo y del efecto terapéutico particular a lograr, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de formación de compuestos de tal ingrediente activo para el tratamiento particular.

40 Las composiciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria, y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, la etapa de asociar el compuesto activo con un vehículo, que constituye uno o más ingredientes accesorios. En general, las composiciones se preparan asociando uniforme e íntimamente el compuesto activo con un vehículo líquido, un vehículo sólido finamente dividido o ambos, y después, si es necesario, conformando el producto.

Las composiciones de la presente invención adecuadas para la administración oral se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas, saquitos, comprimidos o tabletas para chupar, conteniendo cada una una cantidad predeterminada del ingrediente activo, en liposomas o como una suspensión en un licor acuoso o un líquido no acuoso tal como un jarabe, un elixir, o una emulsión.

50 Las composiciones adecuadas para la administración parenteral comprenden convenientemente una preparación acuosa estéril del componente activo, que es preferiblemente isotónica con la sangre del receptor. Esta preparación acuosa se puede formular según métodos conocidos usando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo como una disolución en

polietilenglicol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden emplear están el agua, y disolución isotónica de cloruro de sodio. Además, convencionalmente se emplean aceites fijos, estériles, como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, se puede emplear cualquier aceite fijo blando, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos tales como ácido oleico encuentran uso en la preparación de inyectables.

5 El compuesto de la presente invención también se puede formular para el suministro en un sistema diseñado para administrar el compuesto intranasalmente o mediante inhalación, por ejemplo como una pulverización en aerosol finamente dispersa que contiene el componente activo.

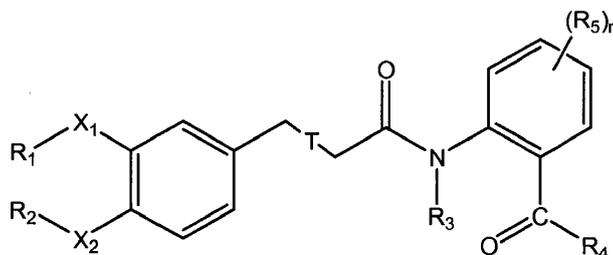
10 Otros sistemas de suministro pueden incluir sistemas de suministro de liberación sostenida. Los sistemas de suministro de liberación sostenida preferidos son aquellos que pueden proporcionar liberación del compuesto de la presente invención en peletes o cápsulas de liberación sostenida. Existen muchos tipos de sistemas de suministro de liberación sostenida. Estos incluyen, pero no se limitan a: (a) sistemas de erosión en los que el componente activo está contenido en una matriz, y (b) sistemas de difusión en los que el componente activo permea a una velocidad controlada a través de un polímero. Además, se puede usar un sistema de suministro de hardware a base de bombas, algunos de los cuales están adaptados para la implantación.

15 El compuesto de la presente invención se administra en cantidades profiláctica o terapéuticamente eficaces. Una cantidad profiláctica o terapéuticamente eficaz significa aquella cantidad necesaria para lograr al menos parcialmente el efecto deseado, o para retrasar el comienzo de, inhibir la progresión de, o detener todo ello, el comienzo o progresión de la afección particular que se esté tratando. Tales cantidades dependerán, por supuesto, de la afección particular que se esté tratando, de la gravedad de la afección y de los parámetros individuales del paciente, incluyendo la edad, estado físico, tamaño, peso y tratamiento concurrente. Estos factores son bien conocidos por aquellos de pericia normal en la técnica, y se pueden abordar con una experimentación no más allá de la habitual. Generalmente se prefiere que se use una dosis máxima, esto es, la dosis segura más elevada según el juicio médico. Se entenderá por aquellos de pericia normal en la técnica, sin embargo, que se pueden administrar por razones médicas, razones psicológicas, o por virtualmente cualquier otra razón, una dosis más baja o una dosis tolerable.

20 Generalmente, las dosis diarias del compuesto pueden ser de alrededor de 0,01 mg/kg por día a 1000 mg/kg por día. Inicialmente se pueden administrar dosis pequeñas (0,01-1 mg/kg por día), seguido del incremento de las dosis hasta alrededor de 1000 mg/kg por día. En el caso de que la respuesta en un sujeto sea insuficiente a tales dosis, se pueden emplear dosis incluso mayores (o dosis mayores eficaces mediante una vía de suministro diferente, más localizada) hasta el grado que lo permita la tolerancia del paciente. Se contemplan múltiples dosis por día para lograr niveles sistémicos apropiados de los compuestos.

35 En una realización preferida adicional, los vehículos o excipientes farmacéuticamente aceptables se pueden seleccionar de una o más de disoluciones, suspensiones o emulsiones salinas acuosas estériles, incluyendo disolución salina y medios tamponados, dextrosa de Ringer, dextrosa y cloruro de sodio, y disolución de Ringer lactada. Los vehículos intravenosos incluyen reponedores de fluidos y de nutrientes, reponedores de electrolitos, tales como aquellos basados en dextrosa de Ringer, y similares. Para la administración mediante vías no intravenosas, el vehículo puede estar en forma de plasma coagulado, preferiblemente el plasma coagulado del paciente. Como alternativa, el vehículo puede ser un sólido o semisólido libre de plasma, fisiológicamente compatible, biodegradable, tal como un gel, suspensión, o jalea soluble en agua. Las suspensiones o geles de goma arábiga, metilcelulosa y otros derivados de celulosa, alginato de sodio y tragacanto son adecuados para uso como vehículos en la práctica de esta invención, por ejemplo carboximetilcelulosa sódica 2,5%, tragacanto 1,25% y goma guar 0,5%.

40 En aspecto adicional, la presente invención proporciona un uso de una composición farmacéutica que incluye un compuesto de la Fórmula 2



Fórmula 2

45 en la que R₁ y R₂, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en alquilo de C₁ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀ y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido;

ES 2 505 318 T3

X_1 y X_2 son iguales o diferentes, y se seleccionan del grupo que consiste en un enlace, O, N y S;

T es un enlace sencillo o doble;

R_3 se selecciona del grupo que consiste en H, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

5 R_4 se selecciona del grupo que consiste en H, OH, OR_6 , NHR_6 o NR_6R_7 ;

R_5 se selecciona del grupo que consiste en H, NHR_6 , NR_6R_7 , OR_8 , halógeno, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} , y una cadena que consiste en un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

10 R_6 y R_7 , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en H, alquilo de C_1 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} , arilo, alquilarilo de C_5 a C_{20} , y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

15 R_8 se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo de C_1 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} , arilo, alquilarilo de C_5 a C_{20} , y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; y

n es un número entero entre 0 y 4;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo;

20 con la condición de que cuando X_1 y X_2 son ambos O o un enlace y uno de R_1 o R_2 es alquilo de C_1 a C_4 , el otro de R_1 o R_2 sea un alquilo de C_4 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alquino de C_3 a C_{10} , o una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado; y

con la condición de que el compuesto no sea Tranilast,

junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable;

en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o afección asociada con fibrosis.

25 La enfermedad o afección asociada con fibrosis se puede seleccionar de trastornos fibróticos de la piel, tales como queloides, cicatrices hipertróficas y esclerodermia; neumopatía, tal como fibrosis pulmonar; cardiopatía, tal como insuficiencia cardíaca debido a insuficiencia cardíaca isquémica, valvulopatía y cardiopatía hipertensiva, cardiomiopatía diabética e hipertensión; y nefropatía, tal como nefropatía progresiva, debido a glomerulonefritis y nefropatía diabética y cirrosis del hígado. En una realización preferida, la enfermedad o afección es cardiopatía diabética o nefropatía diabética. En una realización preferida adicional, la enfermedad o afección es cardiomiopatía diabética.

30 El término "nefropatía", como se usa aquí, se refiere a un trastorno de al menos un riñón en un sujeto, que compromete la función del riñón. La nefropatía puede resultar de una patología primaria del riñón (por ejemplo, lesión al glomérulo o túbulo) u otro órgano (por ejemplo, páncreas), que afecta de forma adversa a la capacidad del riñón para llevar a cabo las funciones biológicas. Una nefropatía en el ser humano puede ser el efecto directo o indirecto de enfermedad. Los ejemplos de una nefropatía como resultado o consecuencia de un efecto indirecto sobre los riñones es nefropatía como consecuencia de diabetes o lupus sistémico. Una nefropatía puede ser el resultado o una consecuencia de cualquier cambio, daño o trauma al glomérulo, túbulos o tejido intersticial, ya sea en la corteza renal o en la médula renal del riñón.

40 El término "nefropatía", como se usa aquí, se refiere a una nefropatía progresiva que a lo largo del tiempo (por ejemplo, días, semanas, meses, años) conduce a una pérdida de la función renal.

45 La nefropatía puede incluir, pero no se limita a, una nefropatía glomerular progresiva que incluye, sin limitación, nefropatía diabética (por ejemplo, como consecuencia de diabetes Tipo I o Tipo II o lupus sistémico), glomerulonefritis primaria (por ejemplo, nefropatía membranosa, glomeruloesclerosis segmentaria focal, glomerulonefritis membranoproliferativa, glomerulonefritis proliferativa difusa, glomeruloesclerosis segmental focal membranosa) o glomerulonefritis secundaria (por ejemplo, nefropatía diabética, nefropatía isquémica).

50 La expresión "función renal", como se usa aquí, se refiere a una propiedad fisiológica del riñón, tal como la capacidad para retener proteína, evitando de ese modo proteinuria. La función renal se puede evaluar usando métodos conocidos en la técnica, tal como determinando uno o más de velocidad de filtración glomerular (por ejemplo, aclaramiento de creatinina), excreción de proteína en orina, nitrógeno de urea en sangre, y creatinina sérica o plasmática.

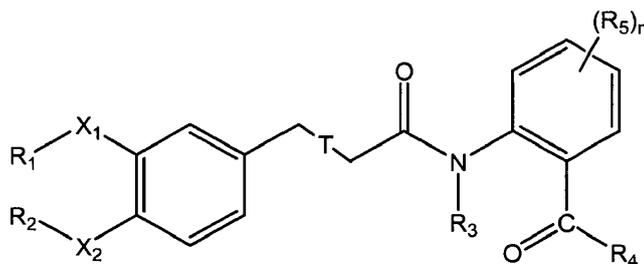
Una nefropatía progresiva tratada mediante las composiciones y métodos descritos aquí incluye cualquier nefropatía

que puede conducir, en último lugar a enfermedad renal de última etapa. Una nefropatía progresiva que se puede tratar mediante las composiciones y métodos de la invención puede estar asociada, por ejemplo, con depósito de hierro endógeno en el riñón (por ejemplo, glomérulo, túbulo).

5 Cardiomiopatía diabética se refiere a una cualquiera o más patologías y/o disfunciones cardíacas en un sujeto, que es una complicación de diabetes Tipo I o Tipo II en el sujeto. Las diabetes pueden ser sintomáticas o asintomáticas. La patología cardíaca que es característica de cardiomiopatía diabética incluye hipertrofia miocelular, fibrosis miocárdica, y en algunos casos, hipertrofia ventricular izquierda. Las patologías que se contemplan surgen independientemente de complicaciones que surgen de arteriopatía coronaria, aunque pueden estar presentes en el mismo sujeto tanto complicaciones diabéticas como complicaciones de la arteria coronaria. La disfunción diastólica, tal como una alteración en el llenado diastólico temprano, una prolongación de la relajación isovolumétrica y mayor llenado ventricular, es también característica de la cardiomiopatía diabética, y se puede identificar usando métodos de Doppler tal como ecocardiografía bidimensional de Doppler (por ejemplo Redford MM et al., "Burden of systolic and diastolic dysfunction in the community". JAMA (2003) 289:194-203) o gammagrafía para disfunción temprana o leve, y mediante ensayo ecocardiográfico estándar para una disfunción más grave.

15 Fibrosis cardíaca se refiere a la formación de tejido fibroso, incluyendo componentes celulares y extracelulares, en el forro y músculo del corazón. Si está presente en cantidades suficientes, el tejido fibroso dará como resultado una disminución en la contractibilidad y/o relajación de una o más regiones del corazón, dando como resultado un déficit funcional en el gasto cardíaco.

20 En todavía un aspecto adicional, la presente invención proporciona un uso de una composición farmacéutica que incluye un compuesto de la Fórmula 2



Fórmula 2

25 en la que R₁ y R₂, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en alquilo de C₁ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀ y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

X₁ y X₂ son iguales o diferentes y se seleccionan de un grupo que consiste en un enlace, O, N y S;

T es un enlace sencillo o doble;

30 R₃ se selecciona del grupo que consiste en H, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀ y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

R₄ se selecciona del grupo que consiste en H, OH, OR₆, NHR₆ o NR₆R₇;

R₅ se selecciona del grupo que consiste en H, NHR₆, NR₆R₇, OR₈, halógeno, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀, y una cadena que consiste en un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

35 R₆ y R₇, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en H, alquilo de C₁ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀, arilo, alquilarilo de C₅ a C₂₀, y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

40 R₈ se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo de C₁ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alqueno de C₃ a C₁₀, alquino de C₃ a C₁₀, arilo, alquilarilo de C₅ a C₂₀, y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; y

n es un número entero entre 0 y 4;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo;

con la condición de que cuando X_1 y X_2 son ambos O o un enlace y uno de R_1 o R_2 es alquilo de C_1 a C_4 , el otro de R_1 o R_2 sea un alquilo de C_4 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alquino de C_3 a C_{10} , o una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado; y

con la condición de que el compuesto no sea Tranilast,

5 junto con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable;

en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o afección caracterizada por inflamación y/o una enfermedad neoplásica benigna o maligna.

10 La enfermedad o afección caracterizada por inflamación se puede seleccionar de rinitis alérgica, asma bronquial, artritis reumatoide, esclerosis múltiple, diabetes tipo I y tipo II, lupus sistémico, eritematosis, rechazo de transplantes, y enfermedad inflamatoria del intestino.

La enfermedad neoplásica benigna o maligna puede ser cualquiera de tales enfermedades conocidas por la persona experta en la técnica.

La expresión "enfermedad neoplásica benigna o maligna", como se usa aquí, se refiere a cualquier crecimiento o tumor provocado por división celular anormal y descontrolada.

15 Breve descripción de los dibujos

Figuras 1 y 2: Efectos *in vitro* de FT011 y tranilast sobre la incorporación de ^3H -prolina inducida por el factor de crecimiento transformante β en células mesangiales de rata cultivadas (concentración de compuestos en μM). Los valores se expresan como media \pm sem. # $p < 0,05$ frente a células que se hacen crecer en medio de control,

20 * $p < 0,05$ frente a células tratadas con TGF- β .

Figura 3: Células mesangiales estimuladas con factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) para estimular la formación de prolina (síntesis de la matriz).

Figura 4: Muestra la inhibición de la fibrosis estimulada por TGF- β (indicada por la formación de prolina) en fibroblastos cardíacos neonatales.

25 Figura 5: Muestra la inhibición de fibrosis estimulada por angiotensina II (indicada por la formación de prolina) en fibroblastos cardíacos neonatales.

Figura 6: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - tranilast frente a FT011 (SEM).

Figura 7: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT017 (SEM).

Figura 8: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT019 (SEM).

30 Figura 9: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT023 (SEM).

Figura 10: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT026 (SEM).

Figura 11: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT039 (SEM).

Figura 12: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT040 (SEM).

Figura 13: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT016 (SEM).

35 Figura 14: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT018 (SEM).

Figura 15: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT027 (SEM).

Figura 16: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT029 (SEM).

Figura 17: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT033 (SEM).

Figura 18: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT034.

40 Figura 19: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT035 (SEM).

Figura 20: Inhibición de la incorporación de prolina estimulada por TGF- β - FT036 (SEM).

Figura 21: Niveles plasmáticos de FT011 en ratas Sprague Dawley.

Figura 22: Niveles urinarios de FT011.

Figura 23: Comparación del tamaño del infarto de miocardio (MI) en grupos con MI tratados y no tratados.

5 Figura 24: Cuantificación de la matriz colagenosa en la NIZ (zona sin infarto), expresada como el área proporcional teñida de azul en secciones teñidas con tricromo de Masson de corazón de rata. * $P < 0,01$ frente a impostoras y # $P < 0,05$ frente a ratas con MI no tratadas.

10 Figura 25: Secciones representativas teñidas con tricromo de Masson procedentes de ratas impostoras y con MI tratadas con FT011. En las ratas impostoras (A) y ratas impostoras tratadas con FT011 (B), hay muy poco colágeno (tinción azul) en el intersticio, mientras que se observó fibrosis intersticial miocárdica amplia en NIZ de ratas post MI (C). El tratamiento de ratas con MI con FT011 (D) se asoció con una reducción notable en el grado de fibrosis intersticial en NIZ. Aumento x350.

15 Figura 26: Cuantificación de inmunotinción de colágeno I (A) y III (B) en corazón de rata procedente de ratas impostoras, impostoras tratadas con FT011, con MI, y con MI tratadas con FT011. Los valores se expresan como media \pm SEM. * $P < 0,05$ frente a impostoras. # $P < 0,05$ frente a MI. Aumento x350.

20 Figura 27: Secciones representativas de inmunohistoquímica para colágeno tipo I (A-D) y tipo III (E-H) en ratas impostoras (A, E), impostoras tratadas con FT011 (B, F), con MI (C, G), y con MI tratadas con FT011 (D, H). En las ratas impostoras hubo pruebas mínimas de inmunotinción para colágeno de tipo I o III, mientras que las ratas con MI se asociaron con un incremento notable en la inmunotinción de colágeno. El tratamiento con FT011 se asoció con una reducción en la inmunotinción para colágeno tipos I y III.

25 Figura 28: Cuantificación de macrófagos ED-1 positivos en corazón de rata procedente de grupos impostoras, impostor + FT011, MI y MI + FT011 (NIZ). Los valores se representan como media \pm sem. * $p < 0,05$ cuando se compara con impostoras. # $p < 0,05$ cuando se compara con MI.

Figura 29: Macrófagos ED-1 positivos para ratas impostoras, impostoras tratadas con FT011, con MI, y con MI tratadas con FT011. En impostoras e impostoras + FT011 (A-B), sólo se observó un macrófago ocasional, mientras que MI (C) se asoció con mayores macrófagos (marrón) en NIZ. El tratamiento de ratas con MI con FT011 se asoció con una reducción en el número de macrófagos. Aumento x350.

Figura 30: Análisis del bucle PV representativo de la función sistólica y diastólica de impostora (A), impostora tratada con FT011 (B), MI (C), y MI tratada con FT011 (D).

30 Figura 31: Velocidad de excreción de albúmina en ratas de control y ratas diabéticas Ren-2 con y sin tratamiento con FT011.

* $p < 0,01$ cuando se compara con el control

$p < 0,05$ cuando se compara con diabetes

Leyenda: Azul 4 semanas tras estreptozotocina (STZ), rojo 8 semanas tras STZ, amarillo 12 semanas tras STZ, verde 16 semanas tras STZ.

35 Figura 32: Índice glomeruloesclerótico (panel superior) y fibrosis tubulointersticial (panel inferior) en ratas de control y diabéticas tratadas con y sin FT011. Los datos se expresan como media \pm SEM. * $p < 0,01$ comparado con controles, t $p < 0,01$ frente a riñones de ratas diabéticas no tratadas.

40 Figura 33: Fotomicrografía representativa de secciones teñidas con ácido peryódico de Schiff (PAS) procedentes de ratas de control, diabéticas, y diabéticas tratadas con FT011. En ratas de control (A) y de control tratadas con FT011 (B), no hay glomeruloesclerosis, mientras que la diabética (C) está asociada con un incremento drástico en la glomeruloesclerosis. El tratamiento de ratas diabéticas con FT011 (D) se asoció con una reducción en el grado de glomeruloesclerosis. Aumento x350.

45 Figura 34: Secciones representativas teñidas con tricromo que muestran fibrosis tubulointersticial en ratas de control, diabéticas, y diabéticas tratadas con FT011. En ratas de control y de control tratadas con FT011 (A, B) hay fibrosis tubular cortical mínima, mientras que la diabética (C) se asoció con un notable incremento en la fibrosis intersticial (azul). El tratamiento de ratas diabéticas con FT011 se asoció con una reducción en la fibrosis tubular (D). Aumento x350.

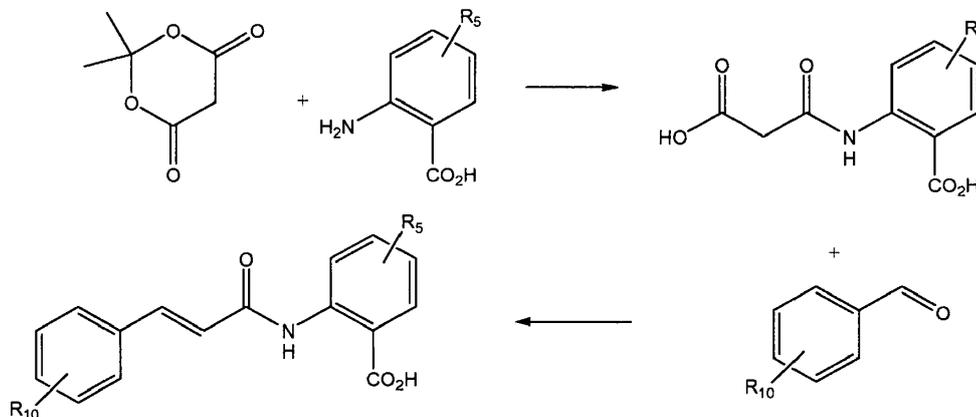
EJEMPLOS

Ejemplo 1

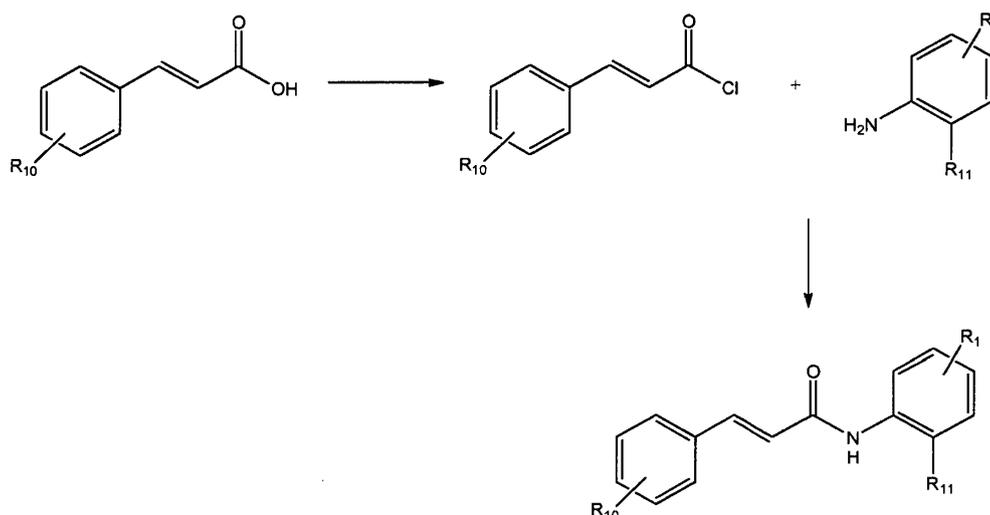
50 Descripción general de química sintética

Se usaron dos enfoques generales para la síntesis de diversos cinamoil antranilatos sustituidos. En el primer enfoque vía una condensación de Knoevenagel catalizada por piperidina de un ácido carboxiacetamidobenzoico y un derivado benzaldehídico del mismo para proporcionar un cinamoil antranilato sustituido como una sal de piperidinio, seguido de la acidificación y recristalización para producir un cinamoil antranilato como el ácido libre, proporcionando un ácido N-cinamoil-4-aminobenzoico vía la síntesis siguiente.

5



En el segundo enfoque, convirtiendo un ácido cinámico sustituido en el cloruro de ácido correspondiente, y condensando con una 2-aminobenzamida, o anilina.



10 Los precursores benzaldehídicos requeridos para las reacciones anteriores se obtuvieron de fuentes comerciales, o se sintetizaron mediante alquilación de benzaldehídos fenólicos precursores con haluros de alquilo o tosilatos de alquilo variados (derivados a su vez de los alcoholes correspondientes). Las alquilaciones se llevaron a cabo típicamente usando carbonato potásico como base en acetona. Los ácidos carboxiacetamidobenzoicos se obtuvieron mediante la condensación de diversos derivados de ácido antranílico con ácido de Meldrum. Las 2-aminobenzamidas se sintetizaron mediante la reacción de aminas primarias con anhídrido isatoico. La saturación del alqueno interno de tranilast se llevó a cabo mediante reducción con hidrógeno en presencia de catalizador de paladio sobre carbono. Los ácidos cinámicos se prepararon mediante condensación de Knoevenagel de benzaldehídos con ácido malónico. La formación de derivados sustituidos con triazol se llevó a cabo usando condensación de azidas y alquinos terminales catalizada por cobre(I), y proporciona sólo el 1,4-regioisómero.

20 Experimental

Los espectros de masas de alta resolución (HRMS) se obtuvieron usando un espectrómetro de masas mediante transformada de Fourier con trampa de iones cuadrupolar lineal híbrido (LTQ-FT) Finnigan (Thermo Electron, San José, CA) equipado con una fuente de ionización por electropulverización. Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (RMN ^1H) y de resonancia magnética nuclear de carbono desacoplado del protón (RMN ^{13}C) se obtuvieron en instrumentos Unity 400, Innova 400 e Innova 500 (Melbourne, Australia) que funcionan a 400 MHz y 500 MHz para ^1H y a 100 MHz y 125 MHz para ^{13}C . Todas las señales se referenciarán a picos de disolvente (CDCl_3 : 7,26 ppm para ^1H y 77,0 ppm para ^{13}C ; $\text{DMSO}-d_6$: 2,49 ppm para ^1H y 39,5 ppm para ^{13}C). Los espectros de infrarrojos (IR) se obtuvieron usando un espectrómetro FT-IR PerkinElmer Spectrum One con Accesorio de Muestreo Universal ATR de seleniuro de cinc/diamante. Los puntos de fusión se obtuvieron usando un aparato de etapa

25

caliente Reichert-Jung, y están corregidos. La cromatografía de capa fina (TLC) analítica se realizó en gel de sílice de 2 mm de grosor GF₂₅₄ (Merck). Los compuestos se visualizaron con disoluciones de ácido fosfomolibdico al 20% p/p en etanol, permanganato potásico al 20% p/p en agua, o bajo UV (365 nm). La cromatografía ultrarrápida se llevó a cabo según el método de Still et al. [20] con Gel de Sílice 60 de Merck. Gasolina se refiere a la fracción que hierva a 40-60°C. Todos los otros reactivos se usaron según se recibieron.

Procedimiento 1

Se añadió ácido antranílico (1,1 eq.) a una disolución de ácido de Meldrum (1,0 eq.) en tolueno. El matraz de reacción se ajustó con un aparato Dean-Stark, y la suspensión se calentó a reflujo durante 3 h. La suspensión se enfrió, y el precipitado se recogió mediante filtración, se lavó con tolueno y se secó.

Procedimiento 2

Se añadió piperidina (1,1 eq.) a una suspensión de un aldehído (1,1 eq.) y un diácido (1,0 eq.) en tolueno. El matraz de reacción se ajustó con un aparato Dean-Stark y se calentó a reflujo durante 4 h, se enfrió a rt, y se agitó durante 1 h. La suspensión resultante se filtró, y la torta del filtro se lavó con tolueno para producir la sal de piperidinio. La sal de piperidinio se disolvió en MeOH (5 ml/g) y agua (2 ml por/g) a 40°C. La disolución se acidificó, y el precipitado resultante se recogió mediante filtración.

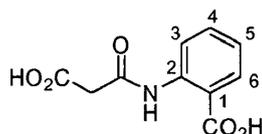
Procedimiento 3

Se añadió bromuro de propargilo (1,1-1,5 eq.) a una suspensión del fenol (1,0 eq.) y carbonato de potasio (2,0 eq.) en acetona. La suspensión se calentó a reflujo durante 16 h, y después la suspensión se filtró, usando acetona para aclarar la torta del filtro. El filtrado se concentró a presión reducida, y se añadió agua al residuo, y la fase acuosa se extrajo con EtOAc. El extracto orgánico se lavó con agua, con salmuera, se secó y se concentró.

Procedimiento 4

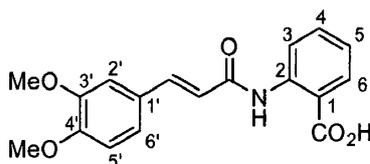
Se añadió cloruro de 4-metilbencenosulfonilo (1,5 eq.) a una disolución enfriada de alcohol (1,0 eq.) y piridina (2,0 eq.) en CH₂Cl₂ a 0°C. La disolución se agitó a 0°C durante 1 h, se calentó a rt, y se agitó durante 4 h. Se añadió agua, y la fase acuosa se extrajo con éter. El extracto orgánico se lavó con HCl 1 M, con NaHCO₃ acuoso saturado, con agua, con salmuera, y se secó. El disolvente se eliminó a presión reducida, y el producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida, para producir el bencenosulfonato de metilo (1,5 eq.) se añadió a una suspensión de fenol (1,0 eq.), carbonato de potasio (3,0 eq.) y yoduro de sodio (0,1 eq.) en acetonitrilo. La suspensión se calentó a reflujo durante 16 h, se filtró, y la torta del filtro se aclaró con acetonitrilo. El filtrado se concentró a presión reducida. Se añadió agua al residuo, y la fase acuosa se extrajo con EtOAc, se lavó con agua, con salmuera, se secó y se concentró.

Ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico



Se trataron ácido antranílico (181 g, 1,32 moles) y ácido de Meldrum (200 g, 1,39 moles) en tolueno (1,50 l) según el Procedimiento 1. Se obtuvo ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (263 g, 89%) como un sólido incoloro; p.f. 171-173°C, lit. [21] 178-180°C; δ_{H} (500 MHz, DMSO-*d*₆) 3,45 (br s, 2H, CH₂), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H₄), 7,59 (td, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$, $J_{3,5} = 1,5$ Hz, 1H, H₅), 7,97 (dd, $J_{3,4} = 8,0$, $J_{3,5} = 1,5$ Hz, 1H, H₃), 8,44 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H₆), 11,27 (s, 1 H, NH), 12,83 (br s, 1 H, CO₂H), 13,57 (br s, 1 H, CO₂H); δ_{C} (125 MHz, DMSO-*d*₆) 45,0, 117,0, 120,3, 123,1, 131,2, 134,1, 140,4, 164,9, 169,1, 169,3.

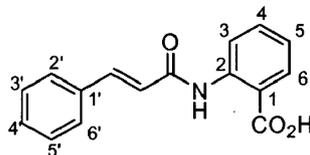
Ácido (*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (tranilast) (1)



Se añadió piperidina (0,96 ml, 9,7 mmoles) a una suspensión de 3,4-dimetoxibenzaldehído (1,6 g, 9,7 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (1,9 g, 8,6 mmoles) en tolueno (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (tranilast) (2,1 g, 74%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 208-209°C, lit. [22] 206°C; δ_{H} (500 MHz, DMSO-*d*₆) 3,79 (s, 3H, OCH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 6,79 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H, CH=CHCO), 6,99 (d, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, 1H, H_{5'}), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} =$

7,9 Hz, 1H, *H*₄), 7,25 (d, *J*_{5,6'} = 8,5 Hz, 1 H, *H*_{6'}), 7,38 (s, 1 H, *H*_{2'}), 7,56 (d, *J* = 15,5 Hz, 1H, *CH=CHCO*), 7,61 (t, *J*_{4,5} = *J*_{5,6} = 7,9 Hz, 1H, *H*₅), 8,00 (d, *J*_{3,4} = 7,9 Hz, 1H, *H*₃), 8,62 (d, *J*_{5,6} = 7,9 Hz, 1 H, *H*₆), 11,30 (s, 1 H, *NH*), 13,61 (br s, 1 H, *CO*₂*H*).

Ácido (*E*)-2-[(1-oxo-3-fenil-2-propenil)amino]benzoico (2)

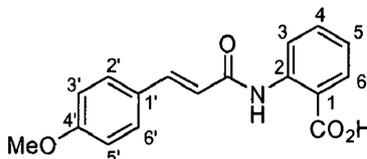


5

Se añadió piperidina (0,42 ml, 4,2 mmoles) a una suspensión de benzaldehído (0,43 ml, 4,2 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,83 g, 3,7 mmoles) en tolueno (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[(1-Oxo-3-fenil-2-propenil)amino]benzoico (0,95 g, 96%) como un sólido cristalino amarillo pálido; p.f. 188-189°C, lit. [23] 196-197°C; δ_H (500 MHz, DMSO-*d*₆) 6,88 (d, *J* = 16,0 Hz, 1H, *CH=CHCO*), 7,18 (t, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 8,0, 1 H, *H*₄), 7,41-7,45 (m, 3H, *H*_{3'}, *H*_{4'}, *H*_{5'}), 7,62 (td, *J*_{4,5} = *J*_{5,6} = 8,0, *J*_{3,5} = 1,5 Hz, 1 H, *H*₅), 7,62 (d, *J* = 16,0 Hz, 1 H, *CH=CHCO*), 7,72-7,74 (m, 2H, *H*_{2'}, *H*_{6'}), 8,00 (dd, *J*_{3,4} = 8,0, *J*_{3,5} = 1,5 Hz, 1 H, *H*₃), 8,59 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1 H, *H*₆), 11,32 (s, 1 H, *NH*).

10

Ácido (*E*)-2-[[3-(4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (3)

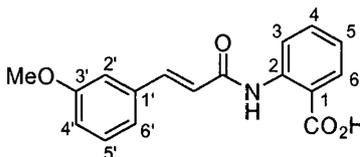


15

Se añadió piperidina (0,42 ml, 4,2 mmoles) a una suspensión de 4-metoxibenzaldehído (0,51 ml, 4,2 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,83 g, 3,7 mmoles) en tolueno (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,95 g, 86%) como un sólido cristalino amarillo pálido; p.f. 194-195°C, lit. [24] 195-198°C; δ_H (500 MHz, DMSO-*d*₆) 3,80 (s, 3H, *OCH*₃), 6,72 (d, *J* = 15,5 Hz, 1 H, *CH=CHCO*), 6,98 (d, *J*_{2',3'} = *J*_{5',6'} = 9,0 Hz, 2H, *H*_{3'}, *H*_{5'}), 7,16 (t, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 8,0 Hz, 1 H, *H*₄), 7,57 (d, *J* = 15,5 Hz, 1H, *CH=CHCO*), 7,60 (t, *J*_{4,5} = *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, *H*₅), 7,68 (d, *J*_{2',3'} = *J*_{5',6'} = 9,0 Hz, 2H, *H*_{2'}, *H*_{6'}), 7,99 (d, *J*_{3,4} = 8,0 Hz, 1H, *H*₃), 8,60 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, *H*₆), 11,28 (s, 1H, *NH*).

20

Ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (4)

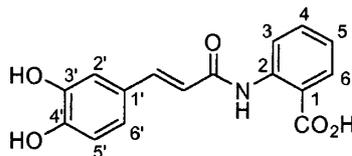


25

Se añadió piperidina (0,35 ml, 3,54 mmoles) a una suspensión de 3-metoxibenzaldehído (0,43 ml, 3,5 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,70 g, 3,1 mmoles) en tolueno (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,71 g, 76%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 183-184°C, lit. [24] 183-185°C; δ_H (500 MHz, DMSO-*d*₆) 3,80 (s, 3H, *OCH*₃), 6,91 (d, *J* = 15,5 Hz, 1 H, *CH=CHCO*), 6,98 (dd, *J*_{4',5'} = 8,0, *J*_{2',4'} = 2,0 Hz, 1 H, *H*_{4'}), 7,18 (t, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 8,0 Hz, 1H, *H*₄), 7,23-7,36 (m, 3H, *H*_{2'}, *H*_{5'}, *H*_{6'}), 7,59 (d, *J* = 15,5 Hz, 1 H, *CH=CHCO*), 7,62 (td, *J*_{4,5} = *J*_{5,6} = 8,0, *J*_{3,5} = 1,5 Hz, 1H, *H*₅), 7,99 (dd, *J*_{3,4} = 8,0, *J*_{3,5} = 1,5 Hz, 1 H, *H*₃), 8,58 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1 H, *H*₆), 11,31 (s, 1 H, *NH*).

30

Ácido (*E*)-2-[[3-(3,4-dihidroxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (5)

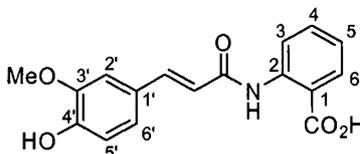


35

Se añadió piperidina (0,39 ml, 4,0 mmoles) a una suspensión de 3,4-dihidroxibenzaldehído (0,55 g, 4,0 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,74 g, 3,3 mmoles) en tolueno (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(3,4-dihidroxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,82 g, 83%) como un sólido cristalino marrón; p.f. 204-206°C; lit. [24] 204-206°C; δ_H (500 MHz, DMSO-*d*₆) 6,50 (d, *J* = 15,5 Hz, 1H, *CH=CHCO*), 6,77 (d, *J*_{5',6'} = 8,0 Hz, 1H, *H*_{5'}), 7,00 (dd, *J*_{5',6'} = 8,0, *J*_{2',6'} = 2,0 Hz, 1H, *H*_{6'}), 7,08 (d, *J*_{2',6'} = 2,0

H_z, 1H, H_{2'}), 7,14 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H₄), 7,44 (d, $J = 15,5$ Hz, 1 H, CH=CHCO), 7,61 (td, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$, $J_{3,5} = 1,5$ Hz, 1 H, H₅), 8,00 (dd, $J_{3,4} = 8,0$, $J_{3,5} = 1,5$ Hz, 1H, H₃), 8,58 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H₆), 9,11 (s, 1 H, OH), 9,52 (s, 1 H, OH), 11,25 (s, 1 H, NH).

Ácido (*E*)-2-[[3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (6)

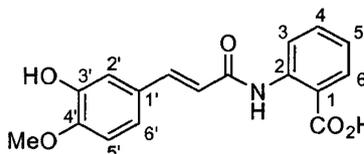


5

Se añadió piperidina (0,50 ml, 5,1 mmoles) a una suspensión de 4-hidroxi-3-metoxibenzaldehído (0,77 g, 5,1 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (1,0 g, 4,5 mmoles) en tolueno (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (1,1 g, 78%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 207,5-208,5°C, lit. [25] 230-233°C; δ_{H} (500 MHz, DMSO-*d*₆) 3,83 (s, 3H, OCH₃), 6,71 (d, $J = 15,5$ Hz, 1 H, CH=CHCO), 6,80 (d, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, 1 H, H_{5'}), 7,13 (dd, $J_{5',6'} = 8,5$, $J_{2',6'} = 1,5$ Hz, 1 H, H_{6'}), 7,15 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H₄), 7,34 (d, $J_{2',6'} = 1,5$ Hz, 1H, H_{2'}), 7,52 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H, CH=CHCO), 7,60 (td, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$, $J_{3,5} = 2,0$ Hz, 1H, H₅), 8,00 (dd, $J_{3,4} = 8,0$, $J_{3,5} = 2,0$ Hz, 1H, H₃), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H₆), 9,57 (s, 1H, OH), 11,27 (s, 1H, NH), 13,61 (br s, 1 H, CO₂H).

10

Ácido (*E*)-2-[[3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (7)

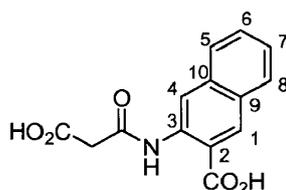


15

Se añadió piperidina (0,25 ml, 2,5 mmoles) a una suspensión de 3-hidroxi-4-metoxibenzaldehído (0,39 g, 2,5 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,50 g, 2,2 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,53 g, 76%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 215-216°C, lit. [25] 219-222°C; δ_{H} (500 MHz, DMSO-*d*₆) 3,81 (s, 3H, OCH₃), 6,59 (d, $J = 15,5$ Hz, 1 H, CH=CHCO), 6,80 (d, $J_{5',6'} = 8,5$ Hz, 1H, H_{5'}), 7,10-7,13 (m, 2H, H_{2'}, H_{6'}), 7,15 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1 H, H₄), 7,47 (d, $J = 15,5$ Hz, 1 H, CH=CHCO), 7,60 (td, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$, $J_{3,5} = 1,5$ Hz, 1H, H₅), 7,99 (dd, $J_{3,4} = 8,0$, $J_{3,5} = 1,5$ Hz, 1H, H₃), 8,58 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H₆), 11,25 (s, 1 H, NH), 13,56 (br s, 1 H, CO₂H).

20

Ácido 3-(2-carboxiacetamido)-2-naftoico

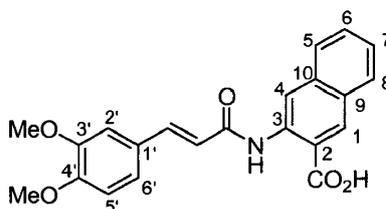


25

Se añadió ácido 3-aminonaftoico (0,60 g, 2,6 mmoles) a una disolución de ácido de Meldrum (0,46 g, 3,2 mmoles) en tolueno (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 1. Se obtuvo ácido 3-(2-carboxiacetamido)-2-naftoico (0,71 g, 81%) como un sólido marrón; p.f. 225-227°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO-*d*₆) 3,50 (br s, 2H, CH₂), 7,49 (t, $J_{6,7} = J_{7,8} = 8,0$ Hz, 1H, H₇), 7,61 (t, $J_{5,6} = J_{6,7} = 8,0$ Hz, 1H, H₆), 7,88 (d, $J_{7,8} = 8,0$ Hz, 1H, H₈), 8,02 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, H₅), 8,67 (s, 1H, H₄), 8,88 (s, 1H, H₁), 11,31 (s, 1H, NH); δ_{C} (100 MHz, DMSO-*d*₆) 44,9, 117,1, 117,9, 125,7, 127,2, 128,3, 129,0, 129,2, 133,0, 135,4, 135,6, 164,7, 169,0, 169,2; ν_{max} 1134, 1195, 1245, 1369, 1552, 1661, 1697, 3099 cm⁻¹.

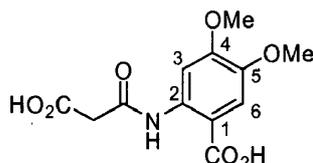
30

Ácido (*E*)-3-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]-2-naftoico (8)



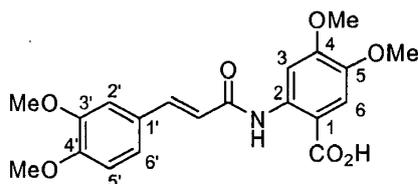
Se añadió piperidina (0,23 ml, 2,3 mmoles) a una suspensión de 3,4-dimetoxibenzaldehído (0,38 g, 2,3 mmoles) y ácido 3-(2-carboxiacetamido)-2-naftoico (0,56 g, 2,0 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. Se obtuvo ácido (*E*)-3-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]-2-naftoico (0,51 g, 66%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 212-213°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 3,80 (s, 3H, OCH₃), 3,84 (s, 3H, OCH₃), 6,82 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 6,99 (d, $J_{5,5'} = 8,2$ Hz, 1H, H5'), 7,25 (dd, $J_{5,6'} = 8,2, J_{2,6'} = 2,0$ Hz, 1H, H6'), 7,38 (d, $J_{2,6'} = 2,0$ Hz, 1H, H2'), 7,49 (t, $J_{6,7} = J_{7,8} = 8,0$ Hz, 1H, H7), 7,58 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 7,62 (t, $J_{5,6} = J_{6,7} = 8,0$ Hz, 1H, H6), 7,89 (d, $J_{7,8} = 8,0$ Hz, 1H, H8), 8,03 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, H5), 8,71 (s, 1H, H1), 9,05 (s, 1H, H4), 11,30 (s, 1H, NH); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 55,6, 55,7, 110,4, 111,6, 117,1, 117,6, 120,1, 122,6, 125,6, 127,1, 127,3, 128,2, 129,1, 129,3, 133,1, 135,5, 136,3, 141,4, 149,0, 150,6, 164,2, 169,5; HRMS (ESI) calculado para C₂₂H₁₉NO₅ [M+H]⁺ 378,1336, encontrado 378,1345; ν_{max} 797, 1022, 1134, 1233, 1512, 1665, 1693, 3048 cm⁻¹.

Ácido 2-[(carboxiacetil)amino]-4,5-dimetoxibenzoico



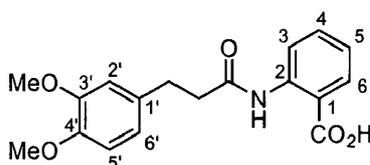
Se añadió ácido 4,5-dimetoxiantranílico (0,50 g, 2,5 mmoles) a una disolución de ácido de Meldrum (0,42 g, 2,9 mmoles) en tolueno (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 1. Se obtuvo ácido 2-[(carboxiacetil)amino]-4,5-dimetoxibenzoico (0,70 g, 97%) como un sólido marrón; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 3,43 (br s, 2H, CH₂), 3,75 (s, 3H, OCH₃), 3,79 (s, 3H, OCH₃), 7,42 (s, 1H, H3), 8,24 (s, 1H, H6), 11,40 (s, 1H, NH).

Ácido (*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]-4,5-dimetoxibenzoico (9)



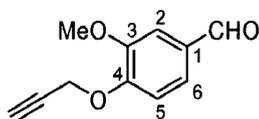
Se añadió piperidina (0,28 ml, 2,8 mmoles) a una suspensión de 3,4-dimetoxibenzaldehído (0,46 g, 2,8 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,46 g, 2,5 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]-4,5-dimetoxibenzoico (0,69 g, 72%) como un sólido cristalino amarillo pálido; p.f. 236-239°C, lit. [26] 190-191°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 3,76 (s, 3H, OCH₃), 3,79 (s, 3H, OCH₃), 3,83 (s, 3H, 2 x OCH₃), 6,76 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H, CH=CHCO), 6,98 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, H5'), 7,21 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, H6'), 7,36 (s, 1H, H2'), 7,44 (s, 1H, H3), 7,53 (d, $J = 15,2$ Hz, 1H, CH=CHCO), 8,45 (s, 1H, H6), 11,37 (s, 1H, NH).

Ácido 2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxopropil]amino]benzoico (10)



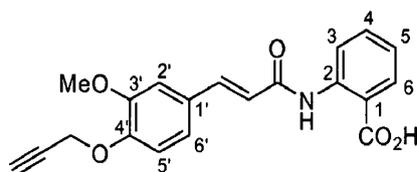
Se añadió paladio sobre carbono (5%, 50 mg) a una disolución de ácido (*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (tranilast) (0,50 g, 1,5 mmoles) en THF (9,0 ml), EtOH (1,0 ml) y AcOH (1 gota). La suspensión se agitó en una atmósfera de hidrógeno durante 16 h, y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida, y el producto bruto se recrystalizó en EtOAc/gasolina para dar ácido 2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxopropil]amino]benzoico (0,39 g, 77%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 137°C, lit. [24] 136-137,5°C; δ_{H} (500 MHz, DMSO- d_6) 2,68 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH₂CO), 2,87 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, CH₂Ar), 3,68 (s, 3H, OCH₃), 3,70 (s, 3H, OCH₃), 6,74 (d, $J_{5,6'} = 8,2$ Hz, 1H, H6'), 6,82 (d, $J_{5,6'} = 8,2$ Hz, 1H, H5'), 6,86 (s, 1H, H2'), 7,12 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H4), 7,57 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H5), 7,95 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H3), 8,47 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H6), 11,11 (s, 1H, NH), 13,57 (br s, 1H, CO₂H).

3-Metoxi-4-propargiloxibenzaldehído



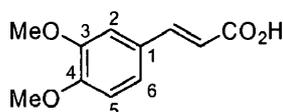
Se añadió bromuro de propargilo (219 ml, 80% p/v, 1,48 moles) a una suspensión de vainilla (150 g, 0,986 moles) y carbonato de potasio (408 g, 2,96 moles) en acetona (1,50 l), y se trató según el Procedimiento 3. Se obtuvo 3-metoxi-4-propargiloxibenzaldehído (162 g, 86%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 95°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 2,56 (t, $J = 2,5$ Hz, 1 H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 4,86 (d, $J = 2,5$ Hz, 2H, OCH_2), 7,14 (d, $J_{5,6} = 6,8$ Hz, 1H, H_5), 7,44 (d, $J_{2,6} = 1,4$ Hz, 1H, H_2), 7,47 (dd, $J_{5,6} = 6,8$, $J_{2,6} = 1,4$ Hz, 1H, H_6), 9,87 (s, 1 H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 56,0, 56,6, 77,2, 77,4, 109,4, 112,5, 126,3, 130,9, 150,0, 152,1, 190,9; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{O}_3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 191,0703, encontrado 191,0706; ν_{max} 1006, 1130, 1259, 1586, 1677, 2119, 2845, 2932, 3266 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-propargiloxi)fenil]-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (11)



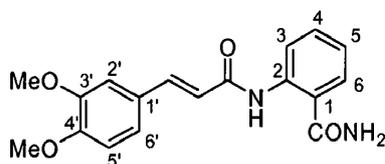
Se añadió piperidina (85,0 ml, 85,6 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-propargiloxibenzaldehído (163 g, 85,6 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (182 g, 81,5 mmoles) en tolueno (1,0 l) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 50%. El producto bruto se recristalizó en EtOH (35 ml/g), se filtró, y se lavó con EtOH frío para producir ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-propargiloxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (222 g, 77%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 191-193°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 3,59 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H, $\text{HC}\equiv\text{C}$), 3,84 (s, 3H, OCH_3), 4,84 (d, $J = 2,4$ Hz, 2H, OCH_2), 6,81 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,05 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, H_5'), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,25 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, H_6'), 7,41 (s, 1H, H_2'), 7,56 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,61 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_6), 11,31 (s, 1 H, NH), 13,57 (br s, 1 H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 55,6, 55,9, 78,6, 79,1, 110,8, 113,5, 116,6, 120,4, 120,4, 122,2, 122,7, 128,2, 131,2, 134,0, 141,0, 141,5, 148,3, 149,3, 164,1, 169,5; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{17}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 352,1179, encontrado 352,1187; ν_{max} 755, 1010, 1140, 1253, 1502, 1582, 1657, 3278, 3522 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-3-(3,4-dimetoxifenil)-2-propenoico



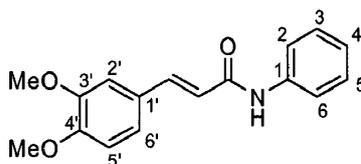
Una disolución de 3,4-dimetoxibenzaldehído (5,0 g, 30 mmoles) y ácido malónico (4,7 g, 45 mmoles) en una mezcla de piperidina (0,5 ml) y piridina (15 ml) se calentó a 120°C, y se agitó toda la noche. La mezcla se enfrió a rt, y se acidificó con HCl conc. El precipitado resultante se filtró y se lavó con agua para dar ácido (*E*)-3-(3,4-dimetoxifenil)-2-propenoico (5,1 g, 81%) como un sólido marrón pálido; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 3,78 (s, 3H, OCH_3), 3,79 (s, 3H, OCH_3), 6,42 (d, $J = 16,0$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$), 6,96 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_5), 7,19 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_6), 7,30 (s, 1H, H_2), 7,51 (d, $J = 16,0$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$).

(*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzamida (12)



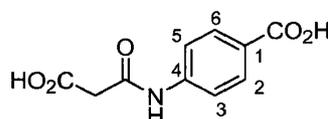
Una suspensión de ácido (*E*)-3-(3,4-dimetoxifenil)-2-propenoico (0,51 g, 2,5 mmoles) en tolueno (5,0 ml) se trató con cloruro de tionilo (0,53 ml, 7,3 mmoles) y DMF catalítica (1 gota). La disolución se calentó a 50°C y se agitó durante 1 h, y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar el cloruro de ácido como un sólido amarillo. Una disolución del cloruro de ácido (2,5 mmoles) en piridina (2,0 ml) y THF (2,0 ml) se añadió a una disolución de 2-aminobenzamida (0,40 g, 2,9 mmoles) en piridina (1,0 ml). La suspensión se agitó a rt durante 16 h, se enfrió a 0°C, y se acidificó con HCl 1 M. El producto bruto se filtró, se secó, y se recristalizó en acetonitrilo para dar (*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzamida (0,32 g, 40%) como un sólido cristalino rojo pálido; p.f. 184-186°C, lit. [27]193-194°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 3,79 (s, 3H, OCH_3), 3,82 (s, 3H, OCH_3), 6,72 (d, $J = 15,4$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 6,98 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H_5'), 7,13 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,22 (dd, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H_6'), 7,36 (d, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H_2'), 7,50 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,52 (d, $J = 15,4$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,73 (s, 1H, NH_2), 7,80 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,30 (s, 1 H, NH_2), 8,57 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_6), 11,79 (s, 1 H, NH).

(*E*)-[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]aminobenceno (13)



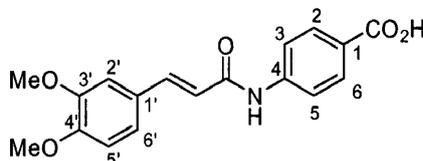
Una suspensión de ácido (*E*)-3-(3,4-dimetoxifenil)-2-propenoico (0,51 g, 2,5 mmoles) en CHCl_3 (5,0 ml) se trató con cloruro de tionilo (0,53 ml, 7,3 mmoles) y DMF catalítica (1 gota). La disolución se calentó a reflujo y se agitó durante 16 h, y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar el cloruro de ácido como un sólido amarillo. Una disolución del cloruro de ácido (2,5 mmoles) en CH_2Cl_2 (2,0 ml) se añadió a una disolución de anilina (0,25 ml, 2,7 mmoles) y NEt_3 (0,75 ml, 5,4 mmoles) en CH_2Cl_2 (2,0 ml). La mezcla se agitó a rt durante 16 h, y se diluyó con agua. La fase acuosa se extrajo con EtOAc, y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, con salmuera, y se secaron. El producto bruto se recristalizó en acetonitrilo para dar (*E*)-[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]aminobenceno (0,23 g, 33%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 131-133°C, lit. [28] 111°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 3,79 (s, 3H, OCH_3), 3,81 (s, 3H, OCH_3), 6,69 (d, $J = 15,5$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,01 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, $H_{5'}$), 7,04 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,17 (d, $J_{5',6'} = 8,0$ Hz, 1H, $H_{6'}$), 7,21 (s, 1H, $H_{2'}$), 7,31 (t, $J_{2,3} = J_{3,4} = 8,0$ Hz, 2H, H_3, H_5), 7,51 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,68 (d, $J_{2,3} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 2H, H_2, H_6), 10,09 (s, 1H, NH).

Ácido 4-[(carboxiacetil)amino]benzoico



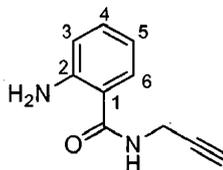
Se añadió ácido 4-aminobenzoico (0,50 g, 3,6 mmoles) a una disolución de ácido de Meldrum (0,63 g, 4,4 mmoles) en tolueno (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 1. Se obtuvo ácido 4-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,74 g, 91%) como un sólido incoloro; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 3,38 (br s, 2H, CH_2), 7,68 (t, $J_{2,3} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_2, H_6), 7,89 (d, $J_{2,3} = J_{5,6} = 8,0$, 1H, H_3, H_5), 10,44 (s, 1H, NH), 12,70 (br s, 1H, CO_2H).

Ácido (*E*)-4-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (14)



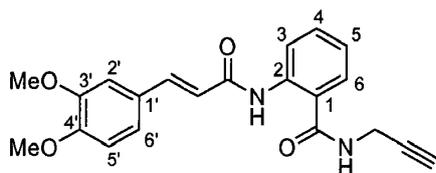
Se añadió piperidina (0,39 ml, 4,0 mmoles) a una suspensión de 3,4-dimetoxibenzaldehído (0,66 g, 4,0 mmoles) y ácido 4-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,74 g, 3,3 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recristalizó en EtOH proporcionando ácido (*E*)-4-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,58 g, 53%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 258-259°C, lit. [24] 267-269°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 3,80 (s, 3H, OCH_3), 3,82 (s, 3H, OCH_3), 6,72 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,01 (d, $J_{5,6'} = 8,2$ Hz, 1H, $H_{5'}$), 7,20 (d, $J_{5,6'} = 8,2$ Hz, 1H, $H_{6'}$), 7,22 (s, 1H, $H_{2'}$), 7,56 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,80 (d, $J_{2,3} = J_{5,6} = 8,4$ Hz, 2H, H_3, H_5), 7,90 (d, $J_{2,3} = J_{5,6} = 8,4$ Hz, 1H, H_2, H_6), 10,43 (s, 1H, NH), 12,68 (br s, 1H, CO_2H).

2-Amino-*N*-propargilbenzamida



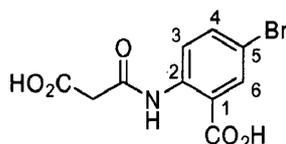
Una disolución de propargilamina (1,00 ml, 14,6 mmoles) en DMF (4,0 ml) se añadió gota a gota a una disolución de anhídrido isatoico (1,57 g, 9,72 mmoles) en DMF (8,0 ml) a 45°C. La disolución se agitó a 45°C durante 16 h, y se diluyó con agua y con CH_2Cl_2 . La fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 , se lavó con agua, con salmuera, se secó y se concentró. El producto bruto se recristalizó en EtOAc/gasolina para dar 2-amino-*N*-propargilbenzamida (0,85 g, 51%) como un sólido incoloro; p.f. 100-101°C, lit. [29] 98-100°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 3,08 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 3,97 (dd, $J = 5,6, 2,4$ Hz, 2H, CH_2), 6,45 (s, 2H, NH_2), 6,49 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 7,8$ Hz, 1H, H_5), 6,68 (d, $J_{3,4} = 7,8$ Hz, 1H, H_3), 7,13 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 7,8$ Hz, 1H, H_4), 7,46 (d, $J_{5,6} = 7,8$ Hz, 1H, H_6), 6,61 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H, NH).

(*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]-*N*-propargilbenzamida (15)



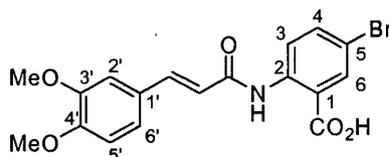
Una suspensión de ácido (*E*)-3-(3,4-dimetoxifenil)-2-propenoico (0,85 g, 4,1 mmoles) en tolueno (8,5 ml) se trató con cloruro de tionilo (0,89 ml, 12 mmoles) y DMF catalítica (1 gota). La disolución se calentó a reflujo y se agitó durante 16 h, y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar el cloruro de ácido como un sólido amarillo. Una disolución del cloruro de ácido (4,1 mmoles) en piridina (6,0 ml) se añadió a una disolución de 2-amino-*N*-2-propinilbenzamida (0,74 g, 4,3 mmoles) en piridina (2,0 ml). La mezcla se agitó a rt durante 16 h, se enfrió a 0°C, y se acidificó con HCl 1M. El producto se filtró, se secó, y se recristalizó en acetonitrilo proporcionando (*E*)-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]-*N*-propargilbenceno (1,05 g, 71%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 174-176°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO-*d*₆) 3,17 (t, $J = 2,4$ Hz, 1 H, C≡CH), 3,79 (s, 3H, OCH₃), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 4,08 (dd, $J = 5,6, 2,4$ Hz, 2H, CH₂), 6,76 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 6,98 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1 H, H5'), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1 H, H4), 7,23 (dd, $J_{5,6'} = 8,0, J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1 H, H6'), 7,38 (d, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1 H, H2'), 7,52 (dt, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0, J_{3,5} = 1,2$ Hz, 1 H, H5), 7,75 (dd, $J_{3,4} = 8,0, J_{3,5} = 1,2$ Hz, 1 H, H3), 8,55 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H6), 9,23 (t, $J = 5,6$ Hz, 1 H, NH), (s, 1 H, NH); δ_{C} (100 MHz, DMSO-*d*₆) 28,6, 55,5, 55,6, 73,2, 80,8, 110,2, 111,5, 119,8, 120,1, 120,9, 122,7, 122,8, 127,3, 128,2, 132,2, 139,4, 141,6, 149,0, 150,6, 164,0, 168,1; HRMS (ESI) calculado para C₂₁H₂₀N₂O₄ [M+Na]⁺ 387,1315, encontrado 387,1316; ν_{max} 1017, 1265, 1447, 1512, 1584, 1600, 1659, 3043, 3329 cm⁻¹.

Ácido 5-bromo-2-[(carboxiacetil)amino]benzoico



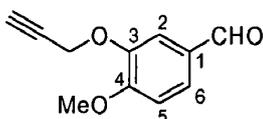
Se añadió ácido 5-bromoantranílico (0,30 g, 1,4 mmoles) a una disolución de ácido de Meldrum (0,24 g, 1,7 mmoles) en tolueno (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 1. Se obtuvo ácido 5-bromo-2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,34 mg, 81%) como un sólido marrón pálido; δ_{H} (500 MHz, DMSO-*d*₆) 3,48 (s, 2H, CH₂), 7,78 (d, $J_{3,4} = 8,4$ Hz, 1 H, H4), 8,04 (s, 1H, H6), 8,40 (d, $J_{3,4} = 8,4$ Hz, 1 H, H3), 11,20 (s, 1 H, NH), 12,80 (br s, 1H, CO₂H); δ_{C} (125 MHz, DMSO-*d*₆) 44,7, 114,5, 119,4, 122,5, 133,1, 136,4, 139,4, 164,7, 167,8, 168,9.

Ácido (*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]-5-bromobenzoico (16)



Se añadió piperidina (0,13 ml, 1,4 mmoles) a una suspensión de 3,4-dimetoxibenzaldehído (0,22 g, 1,4 mmoles) y ácido 5-bromo-2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,34 g, 1,1 mmoles) en tolueno (4,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]-5-bromobenzoico (0,30 g, 66%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 210-213°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO-*d*₆) 3,79 (s, 3H, OCH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 6,78 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 6,98 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, H5'), 7,24 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, H6'), 7,36 (s, 1H, H2'), 7,56 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 7,78 (dd, $J_{3,4} = 8,4, J_{4,6} = 2,0$ Hz, 1H, H4), 8,06 (d, $J_{4,6} = 2,0$ Hz, 1H, H6), 8,62 (d, $J_{3,4} = 8,4$ Hz, 1H, H3), 11,30 (s, 1H, NH), 13,61 (br s, 1H, CO₂H); δ_{C} (100 MHz, DMSO-*d*₆) 28,6, 55,5, 55,6, 110,4, 111,6, 114,0, 119,5, 122,5, 122,7, 127,1, 133,1, 136,4, 140,2, 142,0, 149,0, 150,7, 164,2, 168,1; HRMS (ESI) calculado para C₁₈H₁₆BrNO₅ [M+Na]⁺ 428,0104, encontrado 428,0105; ν_{max} 1026, 1247, 1510, 1595, 1698, 2515, 2829, 3226, 3619 cm⁻¹.

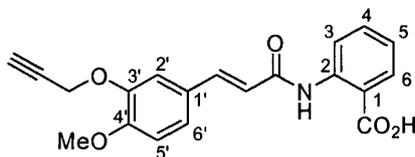
4-Metoxi-3-propargiloxibenzaldehído



Se añadió bromuro de propargilo (2,90 ml, 80% p/v, 19,7 mmoles) a una suspensión de vainilina (2,00 g, 13,1 mmoles) y carbonato de potasio (5,46 g, 39,4 mmoles) en acetona (20 ml), y se trató según el Procedimiento 3. Se obtuvo 4-metoxi-3-propargiloxibenzaldehído (2,01 g, 80%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 66-67°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl₃) 2,54 (t, $J = 2,4$ Hz, 1 H, C≡CH), 3,95 (s, 3H, OCH₃), 4,81 (d, $J = 2,4$ Hz, 1 H, OCH₂), 7,00 (d, $J_{5,6} = 8,4$

Hz, 1H, *H5*), 7,50-7,53 (m, 2H, *H2*, *H6*), 9,85 (s, 1H, *CHO*); δ_C (100 MHz, $CDCl_3$) 56,1, 56,6, 76,4, 77,6, 110,9, 111,9, 127,3, 129,9, 147,3, 154,9, 190,6; HRMS (ESI) calculado para $C_{11}H_{10}O_3$ $[M+H]^+$ 191,0703, encontrado 191,0704; ν_{max} 1014, 1130, 1261, 1584, 1678, 2119, 2841, 2932, 3262 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(4-metoxi-3-propargiloxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (17)



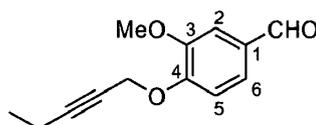
5

Se añadió piperidina (0,70 ml, 7,1 mmoles) a una suspensión de 4-metoxi-3-propargiloxibenzaldehído (1,34 g, 7,06 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (1,50 g, 6,72 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. El producto bruto se recristalizó en EtOH, se filtró y se lavó con EtOH frío para producir ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(prop-2-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (1,50 g, 64%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 183-185°C; δ_H (400 MHz, $DMSO-d_6$) 3,58 (t, $J = 2,0$ Hz, 1 H, $HC\equiv C$), 3,81 (s, 3H, OCH_3), 4,87 (d, $J = 2,0$ Hz, 2H, OCH_2), 6,75 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $CH=CHCO$), 7,03 (d, $J_{5,6} = 8,4$ Hz, 1H, *H5'*), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, *H4*), 7,29 (d, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 1H, *H6'*), 7,44 (s, 1H, *H2'*), 7,54 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $CH=CHCO$), 7,60 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, *H5*), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1 H, *H3*), 8,61 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, *H6*), 11,34 (s, 1H, *NH*), 13,60 (br s, 1H, CO_2H); δ_C (100 MHz, $DMSO-d_6$) 55,6, 56,1, 78,4, 79,2, 112,0, 112,6, 116,6, 120,0, 120,3, 122,7, 123,5, 127,0, 131,1, 134,0, 141,1, 141,5, 146,6, 151,0, 164,1, 169,5; HRMS (ESI) calculado para $C_{20}H_{17}NO_5$ $[M+Na]^+$ 374,0999, encontrado 374,1002; ν_{max} 750, 1029, 1135, 1217, 1506, 1582, 1667, 3270, 3520 cm^{-1} .

10

15

3-Metoxi-4-(pent-2-iniloxi)benzaldehído

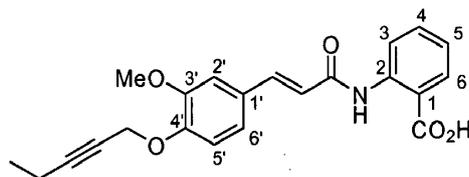


20

Se añadió 1-bromopent-2-ino (0,67 ml, 6,6 mmoles) a una suspensión de vanilina (0,50 g, 3,3 mmoles) y carbonato de potasio (1,37 g, 9,85 mmoles) en acetona (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 3. Se obtuvo 3-metoxi-4-(pent-2-iniloxi)benzaldehído (0,60 g, 84%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 47-50°C; δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,11 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 2,20 (tq, $J = 7,6, 2,4$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,93 (s, 3H, OCH_3), 4,83 (t, $J = 2,4$ Hz, 2H, OCH_2), 7,13 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, *H5*), 7,42 (s, 1H, *H2*), 7,45 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, *H6*), 9,86 (s, 1 H, *CHO*); δ_C (100 MHz, $CDCl_3$) 12,5, 13,4, 56,0, 57,3, 73,1, 90,7, 109,2, 112,3, 126,4, 130,5, 149,9, 152,5, 190,9; ν_{max} 997, 1136, 1263, 1508, 1586, 1682, 2230, 2298, 2845, 2932 cm^{-1} .

25

Ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(pent-2-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (18)



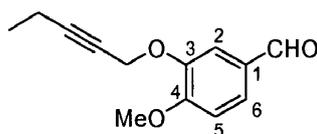
30

Se añadió piperidina (0,22 ml, 2,2 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-(pent-2-inil)oxibenzaldehído (0,50 g, 2,3 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,49 g, 2,2 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(pent-2-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,50 g, 60%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 185,5-186,5°C; δ_H (400 MHz, $DMSO-d_6$) 1,05 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 2,20 (q, $J = 7,4$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,84 (s, 3H, OCH_3), 4,78 (s, 2H, OCH_2), 6,80 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $CH=CHCO$), 7,03 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1 H, *H5'*), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1 H, *H4*), 7,24 (d, $J_{5',6'} = 8,4$ Hz, 1 H, *H6'*), 7,39 (s, 1 H, *H2'*), 7,56 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $CH=CHCO$), 7,61 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, *H5*), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1 H, *H3*), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, *H6*), 11,31 (s, 1H, *NH*), 13,53 (br s, 1H, CO_2H); δ_C (100 MHz, $DMSO-d_6$) 11,7, 13,5, 56,6, 56,4, 74,7, 89,3, 110,7, 113,3, 116,6, 120,2, 120,3, 122,2, 122,7, 127,9, 131,1, 134,0, 141,0, 141,5, 148,5, 149,2, 164,1, 169,5; HRMS (ESI) calculado para $C_{22}H_{21}NO_5$ $[M+Na]^+$ 402,1312, encontrado 402,1317; ν_{max} 747, 1001, 1253, 1508, 1583, 1661, 2980, 3246, 3523 cm^{-1} .

35

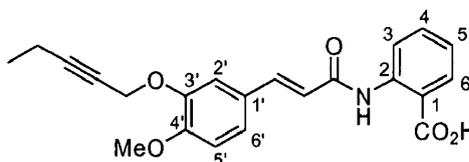
40

4-Metoxi-3-(pent-2-iniloxi)benzaldehído



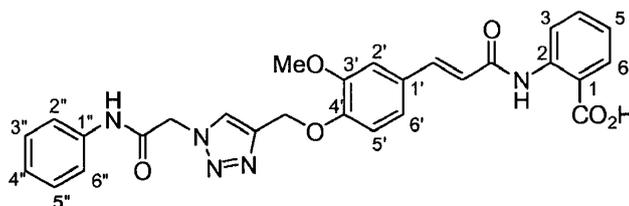
Se añadió 1-bromopent-2-ino (0,67 ml, 6,6 mmoles) a una suspensión de vainilina (0,50 g, 3,3 mmoles) y carbonato de potasio (1,37 g, 9,85 mmoles) en acetona (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 3. Se obtuvo 4-metoxi-3-(pent-2-iniloxi)benzaldehído (0,69 g, 96%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 38-39°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 1,10 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 2,20 (tq, $J = 7,6$, 2,0 Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 4,79 (t, $J = 2,0$ Hz, 2H, OCH_2), 6,99 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,49 (dd, $J_{5,6} = 8,0$, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1 H, H_6), 7,54 (d, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1 H, H_2), 9,85 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 12,5, 13,5, 56,1, 57,3, 73,4, 90,5, 110,7, 111,8, 126,9, 129,9, 147,6, 154,8, 190,8; ν_{max} 1007, 1130, 1261, 1508, 1583, 1683, 2230, 2290, 2841, 2976 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(4-metoxi-3-(pent-2-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (19)



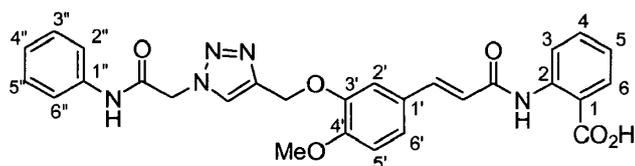
Se añadió piperidina (0,24 ml, 2,5 mmoles) a una suspensión de 4-metoxi-3-(pent-2-inil)oxibenzaldehído (0,54 g, 2,5 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,53 g, 2,4 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(4-Metoxi-3-(pent-2-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,50 g, 60%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 124-125°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 1,06 (t, $J = 7,4$ Hz, 2H, CH_2CH_3), 2,23 (q, $J = 7,4$ Hz, 3H, CH_2CH_3), 3,80 (s, 3H, OCH_3), 4,81 (s, 2H, OCH_2), 6,73 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,01 (d, $J_{5,6} = 8,4$ Hz, 1H, H_5'), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,28 (dd, $J_{5,6'} = 8,4$, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1 H, H_6'), 7,42 (d, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1 H, H_2'), 7,57 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,61 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1 H, H_3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_6), 11,31 (s, 1 H, NH), 13,59 (br s, 1 H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 11,7, 13,6, 55,6, 56,6, 74,9, 89,3, 111,9, 112,5, 116,5, 119,9, 120,3, 122,7, 123,3, 127,0, 131,1, 134,0, 141,1, 141,6, 146,8, 151,0, 164,1, 169,5; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 402,1312, encontrado 402,1317; ν_{max} 753, 1015, 1257, 1506, 1584, 1659, 2920, 3246, 3520 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-((1-(2-oxo-2-(fenilamino)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (20)



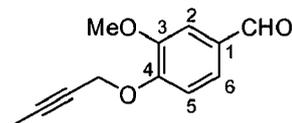
Se añadieron ascorbato de sodio (28 mg, 140 μmoles), *tris*-(benciltriazolilmetil)amina (15 mg, 28 μmoles) y sulfato de cobre (4,5 mg, 28 μmoles) a una disolución de ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-propargiloxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,50 g, 1,4 mmoles) y 2-azido-*N*-fenilacetamida (0,25 g, 1,4 mmoles) en DMSO (20 ml) y agua (5,0 ml). La disolución se agitó a rt durante 16 h y se diluyó con agua. La suspensión se filtró, y la torta del filtro se lavó con agua y se secó. El producto bruto se recrystalizó en acetonitrilo para producir ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-((1-(2-oxo-2-(fenilamino)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,60 g, 80%) como un sólido incoloro; p.f. 220-222°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 3,82 (s, 3H, OCH_3), 5,21 (s, 2H, CH_2), 5,36 (s, 2H, CH_2), 6,80 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,08 (t, $J = 8,0$ Hz, 1 H, H_4''), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,21-7,28 (m, 2H, H_6' , H_5'), 7,39 (s, 1H, H_2''), 7,31 (t, $J_{2,3''} = J_{3,4''} = J_{4,5''} = J_{5,6''} = 8,0$ Hz, 2H, H_3'' , H_5''), 7,56-7,63 (m, 4H, $\text{CH}=\text{CHCO}$, H_5 , H_2'' , H_6''), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1 H, H_3), 8,27 (s, 1 H, $\text{C}=\text{CHN}$), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_6), 10,48 (s, 1 H, NH), 11,30 (s, 1 H, NH), 13,60 (br s, 1 H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 52,2, 55,6, 61,4, 110,5, 112,9, 116,6, 119,2, 120,1, 120,4, 122,6, 122,8, 123,8, 126,6, 127,6, 129,0, 131,2, 134,1, 138,5, 141,1, 141,7, 142,2, 149,1, 149,4, 164,2, 169,5; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{N}_5\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 550,1697, encontrado 550,1691; ν_{max} 1239, 1585, 1665, 2605, 3000, 3250 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(4-metoxi-3-((1-(2-oxo-2-(fenilamino)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (21)



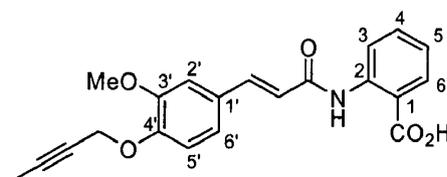
Se añadieron ascorbato de sodio (22 mg, 110 μ moles), *tris*-(benciltriazolilmetil)amina (12 mg, 23 μ moles) y sulfato de cobre (3,6 mg, 22 μ moles) a una disolución de ácido (*E*)-2-[[3-(4-metoxi-3-propargiloxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,40 g, 1,1 mmoles) y 2-azido-*N*-fenilacetamida (0,20 g, 1,1 mmoles) en DMSO (16 ml) y agua (4,0 ml). La disolución se agitó a rt durante 16 h y se diluyó con agua. La suspensión se filtró, y la torta del filtro se lavó con agua y se secó. El producto bruto se recristalizó en AcOH para producir ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-((1-(2-oxo-2-(fenilamino)etil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,60 g, 80%) como un sólido amarillo; p.f. 253-255°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO-*d*₆) 3,79 (s, 3H, OCH₃), 5,25 (s, 2H, CH₂), 5,37 (s, 2H, CH₂), 6,82 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, CH=CHCO), 7,01 (t, *J*_{5',6'} = 8,0 Hz, 1H, H5'), 7,05 (t, *J*_{3',4'} = *J*_{4',5'} = 8,0 Hz, 1H, H4''), 7,16 (t, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 8,0 Hz, 1H, H4), 7,27-7,34 (m, 3H, H2', H6', H3'', H5''), 7,57-7,62 (m, 4H, CH=CHCO, H5, H2'', H6''), 8,00 (d, *J*_{3,4} = 8,0 Hz, 1H, H3), 8,29 (s, 1H, C=CHN), 8,64 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H6), 10,48 (s, 1H, NH), 11,32 (s, 1H, NH), 13,50 (br s, 1H, CO₂H); δ_{C} (100 MHz, DMSO-*d*₆) 52,2, 55,5, 61,6, 111,8, 112,0, 116,5, 119,2, 120,0, 120,3, 122,7, 123,1, 123,8, 126,5, 127,2, 128,9, 131,2, 134,0, 138,4, 141,1, 141,7, 142,4, 147,7, 150,8, 164,2, 169,5; HRMS (ESI) calculado para C₂₈H₂₅N₅O₆ [M+Na]⁺ 550,1697, encontrado 550,1702; ν_{max} 1259, 1580, 1667, 2599, 3952, 3345 cm⁻¹.

4-(But-2-iniloxi)-3-metoxibenzaldehído



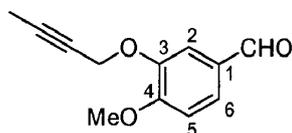
Se añadió 1-bromobut-2-ino (0,36 ml, 4,0 mmoles) a una suspensión de vainilina (0,55 g, 3,6 mmoles) y carbonato de potasio (1,79 g, 10,9 mmoles) en acetona (10 ml), y se trató según el Procedimiento 3. Se obtuvo 4-(but-2-iniloxi)-3-metoxibenzaldehído (0,70 g, 95%) como un sólido cristalino amarillo pálido; p.f. 90-92°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl₃) 1,84 (t, *J* = 2,2 Hz, 3H, CH₃), 3,93 (s, 3H, OCH₃), 4,81 (q, *J* = 2,2 Hz, 2H, OCH₂), 7,12 (d, *J*_{5,6} = 8,4 Hz, 1H, H5), 7,42 (d, *J*_{2,6} = 2,0 Hz, 1H, H2), 7,45 (dd, *J*_{5,6} = 8,4, *J*_{2,6} = 2,0 Hz, 1H, H6), 9,86 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl₃) 4,0, 56,2, 57,5, 73,2, 85,2, 109,4, 112,4, 126,7, 130,7, 150,1, 152,7, 191,2; ν_{max} 991, 1259, 1504, 1586, 1679, 2226, 2302, 2833, 2921 cm⁻¹.

Ácido (*E*)-2-[[3-(4-(but-2-iniloxi)-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (22)



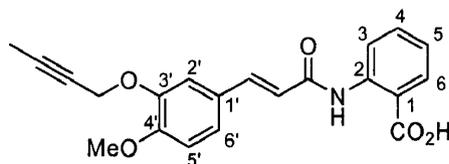
Se añadió piperidina (0,34 ml, 3,4 mmoles) a una suspensión de 4-(but-2-iniloxi)-3-metoxibenzaldehído (0,70 g, 3,4 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,70 g, 3,4 mmoles) en tolueno (10 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(4-(but-2-iniloxi)-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,70 g, 61%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 194-195°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO-*d*₆) 1,82 (s, 3H, CH₃), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 4,77 (s, 2H, OCH₂), 6,79 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, CH=CHCO), 7,02 (d, *J*_{5',6'} = 8,4 Hz, 1H, H5'), 7,14 (t, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 8,0 Hz, 1H, H4), 7,23 (d, *J*_{5',6'} = 8,4 Hz, 1H, H6'), 7,38 (s, 1H, H2'), 7,55 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, CH=CHCO), 7,60 (t, *J*_{4,5} = *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H5), 8,00 (d, *J*_{3,4} = 8,0 Hz, 1H, H3), 8,61 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H6), 11,33 (s, 1H, NH), 13,59 (br s, 1H, CO₂H); δ_{C} (100 MHz, DMSO-*d*₆) 3,2, 55,7, 56,4, 74,6, 83,9, 110,7, 113,3, 116,8, 120,3, 120,4, 122,3, 122,8, 127,9, 131,2, 134,0, 141,1, 141,6, 148,6, 149,3, 164,2, 169,5; HRMS (ESI) calculado para C₂₁H₁₉NO₅ [M+Na]⁺ 388,1155, encontrado 388,1158; ν_{max} 753, 1253, 1506, 1584, 1659, 2917, 3239, 3516 cm⁻¹.

3-(But-2-iniloxi)-4-metoxibenzaldehído



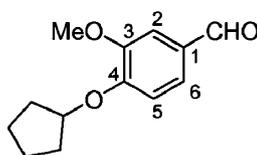
Se añadió 1-bromobut-2-ino (0,37 ml, 4,0 mmoles) a una suspensión de vanilina (0,56 g, 3,7 mmoles) y carbonato de potasio (1,82 g, 11,0 mmoles) en acetona (10 ml), y se trató según el Procedimiento 3. Se obtuvo 3-(but-2-iniloxi)-4-metoxibenzaldehído (0,72 g, 96%) como un sólido cristalino amarillo pálido; p.f. 81-83°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 1,84 (t, $J = 2,0$ Hz, 3H, CH_3), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 4,77 (q, $J = 2,0$ Hz, 2H, OCH_2), 6,99 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,49 (dd, $J_{5,6} = 8,4$, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_6), 7,51 (d, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_2), 9,86 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 3,7, 56,1, 57,1, 73,2, 84,7, 110,6, 111,4, 126,9, 129,9, 147,6, 154,8, 190,8; ν_{max} 1003, 1259, 1506, 1583, 1681, 2226, 2297, 2841, 2916 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(3-(but-2-iniloxi)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (23)



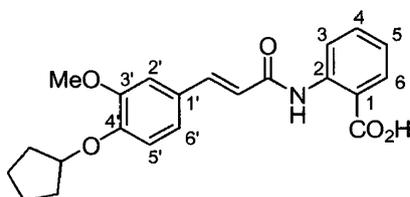
Se añadió piperidina (0,35 ml, 3,5 mmoles) a una suspensión de 4-metoxi-3-(but-2-inil)oxibenzaldehído (0,72 g, 3,5 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,72 g, 3,2 mmoles) en tolueno (10 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. Se obtuvo ácido (*E*)-2-[[3-(3-(but-2-iniloxi)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,81 g, 69%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 170-171°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 1,82 (t, $J = 2,0$ Hz, 3H, CH_3), 3,80 (s, 3H, OCH_3), 4,80 (d, $J = 2,0$ Hz, 2H, OCH_2), 6,74 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,00 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}$), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,27 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7,40 (s, 1H, $\text{H}_{2'}$), 7,54 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,61 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,61 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_6), 11,31 (s, 1H, NH), 13,57 (br s, 1H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz $\text{DMSO}-d_6$) 3,2, 55,6, 56,5, 74,7, 83,7, 111,9, 112,3, 116,6, 120,0, 120,3, 122,7, 123,2, 127,1, 131,2, 134,1, 141,1, 141,6, 146,9, 151,0, 164,1, 169,5; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{19}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 388,1155, encontrado 388,12158; ν_{max} 749, 1261, 1512, 1584, 1659, 2917, 3239, 3520 cm^{-1} .

4-Ciclopentiloxi-3-metoxibenzaldehído



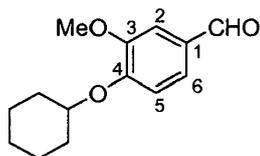
Se añadió bromociclopentano (7,0 ml, 66 mmoles) a una suspensión de vanilina (5,0 g, 33 mmoles) y carbonato de potasio (13,6 g, 99 mmoles) en EtOH (75 ml), y se trató según el Procedimiento 3. Se obtuvo 4-ciclopentiloxi-3-metoxibenzaldehído (7,1 g, 98%) como un aceite amarillo; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 1,62 (m, 2H, CH_2), 1,78-2,04 (m, 6H, CH_2), 3,89 (s, 3H, OCH_3), 4,86 (tt, $J = 6,0$, 3,2 Hz, 1H, OCH), 6,94 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,38 (d, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_2), 7,41 (dd, $J_{5,6} = 8,0$, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_6), 9,82 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 24,1, 32,8, 56,0, 80,6, 109,4, 112,8, 126,6, 129,5, 150,2, 153,4, 190,9; ν_{max} 977, 1260, 1504, 1580, 1680, 2869, 2956 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(4-ciclopentiloxi-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (26)



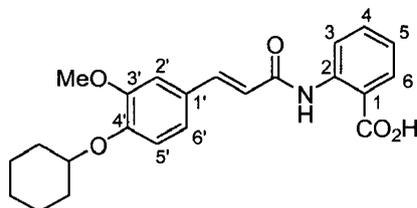
Se añadió piperidina (0,45 ml, 4,5 mmoles) a una suspensión de 4-ciclopentiloxi-3-metoxibenzaldehído (1,0 g, 4,5 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,92 g, 4,1 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recrystalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(4-ciclopentiloxi-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (1,06 g, 67%) como un sólido cristalino amarillo pálido; p.f. 96-98°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 1,46 (m, 2H, CH_2), 1,67-1,71 (m, 4H, CH_2), 1,90 (m, 2H, CH_2), 3,81 (s, 3H, OCH_3), 4,82 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H, OCH), 6,76 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 6,94 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, $\text{H}_{5'}$), 7,15 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,19 (dd, $J_{5,6'} = 8,4$, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, $\text{H}_{6'}$), 7,35 (d, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H_2'), 7,54 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,60 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_6), 11,28 (s, 1H, NH), 13,59 (br s, 1H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 23,7, 32,3, 55,7, 79,5, 110,9, 114,0, 116,5, 119,7, 120,3, 122,5, 122,6, 127,0, 131,1, 134,0, 141,1, 141,7, 149,0, 149,6, 164,2, 169,5; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 404,1468, encontrado 404,1468; ν_{max} 747, 1261, 1506, 1584, 1659, 2964, 3524 cm^{-1} .

4-Ciclohexiloxi-3-metoxibenzaldehído



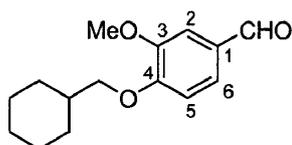
Se añadió bromociclohexano (8,0 ml, 66 mmoles) a una suspensión de vainilina (5,0 g, 33 mmoles), carbonato de potasio (13,6 g, 99 mmoles) y yoduro de sodio (0,49 g, 3,3 mmoles) en EtOH (75 ml), y se trató según el Procedimiento 3 durante 64 h. El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida con EtOAc al 10-15%/gasolina como eluyente para dar 4-ciclohexiloxi-3-metoxibenzaldehído (2,8 g, 37%) como un aceite amarillo pálido; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 1,27-1,43 (m, 4H, CH_2), 1,56 (m, 2H, CH_2), 1,85 (m, 2H, CH_2), 2,06 (m, 2H, CH_2), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 4,37 (tt, $J = 9,4, 3,6$ Hz, 1H, OCH), 6,98 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,40 (d, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_2), 7,42 (dd, $J_{5,6} = 8,0, J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_6), 9,83 (s, 1 H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 23,9, 25,4, 31,6, 56,0, 76,9, 109,8, 113,2, 126,5, 129,7, 150,5, 153,0, 190,8; ν_{max} 1133, 1263, 1504, 1581, 1680, 2857, 2933 cm^{-1} .

Ácido (E)-2-[[3-(4-ciclohexiloxi-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (27)



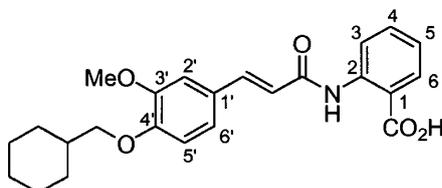
Se añadió piperidina (0,45 ml, 4,5 mmoles) a una suspensión de 4-ciclohexiloxi-3-metoxibenzaldehído (1,06 g, 4,54 mmoles) y ácido 2-[[carboxiacetil]amino]benzoico (0,92 g, 4,1 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recristalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (E)-2-[[3-(4-ciclohexiloxi-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,98 g, 60%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 90-92°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 1,25-1,52 (m, 6H, CH_2), 1,70 (m, 2H, CH_2), 1,89 (m, 2H, CH_2), 3,82 (s, 3H, OCH_3), 4,33 (m, 1 H, OCH), 6,76 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 6,99 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1 H, H_5'), 7,15 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,19 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, H_6'), 7,35 (s, 1H, H_2'), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,60 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_6), 11,29 (s, 1H, NH), 13,56 (br s, 1 H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 23,2, 25,1, 31,4, 55,7, 79,4, 111,2, 114,8, 116,6, 119,8, 120,3, 122,4, 122,6, 127,3, 131,1, 134,0, 141,1, 141,6, 148,6, 150,0, 164,2, 169,5; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 418,1625, encontrado 418,1625; ν_{max} 745, 1259, 1504, 1588, 1659, 2929, 3520 cm^{-1} .

4-Ciclohexilmetoxi-3-metoxibenzaldehído



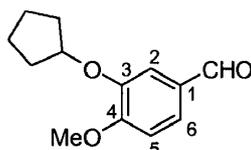
Se añadió bromometilciclohexano (0,78 ml, 4,2 mmoles) a una suspensión de vainilina (0,43 g, 2,8 mmoles) y carbonato de potasio (1,17 g, 8,47 mmoles) en EtOH (7,0 ml), y se trató según el Procedimiento 3 durante 64 h. Se obtuvo 4-ciclohexilmetoxi-3-metoxibenzaldehído (0,65 g, 93%) como un aceite amarillo; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 1,05 (m, 2H, CH_2), 1,15-1,36 (m, 4H, CH_2), 1,73 (m, 2H, CH_2), 1,87-1,98 (m, 2H, CH_2 , CH), 3,88 (d, $J = 6,0$ Hz, 2H, OCH_2), 3,92 (s, 3H, OCH_3), 6,95 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,40 (d, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1 H, H_2), 7,42 (dd, $J_{5,6} = 8,0, J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_6), 9,84 (s, 1 H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 25,6, 26,4, 29,8, 37,3, 56,1, 74,5, 109,3, 111,4, 126,8, 129,8, 149,9, 154,4, 190,9; ν_{max} 1133, 1265, 1508, 1586, 1683, 2853, 2925 cm^{-1} .

Ácido (E)-2-[[3-(4-ciclohexilmetoxi-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (28)

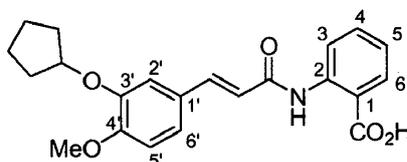


Se añadió piperidina (0,24 ml, 2,4 mmoles) a una suspensión de 4-ciclohexilmetoxi-3-metoxibenzaldehído (0,59 g, 2,4 mmoles) ácido y 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,48 g, 2,1 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recrystalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(4-ciclohexilmetoxi-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,45 g, 51%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 207-210°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 1,03 (m, 2H, CH_2), 1,20 (m, 4H, CH_2), 1,63-1,82 (m, 5H, CH_2 , CH), 3,79 (d, $J = 6,4$ Hz, 1 H, OCH_2), 3,83 (s, 3H, OCH_3), 6,76 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 6,96 (d, $J_{5,6} = 8,4$ Hz, 1H, $\text{H}5'$), 7,18 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, $\text{H}4$), 7,21 (d, $J_{5,6} = 8,4$ Hz, $J_{2,6} = 1,8$ Hz, 1H, $\text{H}6'$), 7,36 (s, $J_{2,6} = 1,8$ Hz, 1H, $\text{H}2'$), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,62 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, $\text{H}5$), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1 H, $\text{H}3$), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, $\text{H}6$), 11,27 (s, 1 H, NH), 13,58 (br s, 1 H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 25,2, 26,0, 29,2, 37,0, 55,8, 73,3, 110,7, 112,6, 116,6, 119,7, 120,3, 122,6, 127,1, 131,1, 134,0, 141,0, 141,6, 149,1, 150,2, 164,2, 169,4; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{25}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 432,1781, encontrado 432,1781; ν_{max} 759, 1142, 1504, 1581, 1667, 2925, 3123 cm^{-1} .

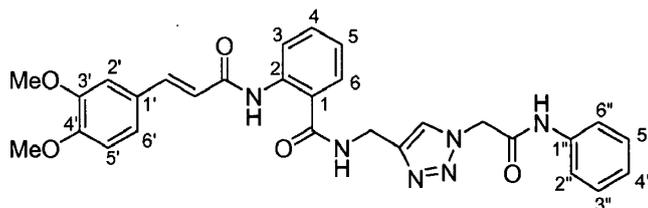
3-Ciclopentiloxi-4-metoxibenzaldehído



Se añadió bromociclopentano (1,4 ml, 13 mmoles) a una suspensión de isovanilina (1,0 g, 6,6 mmoles) y carbonato de potasio (2,7 g, 10 mmoles) en EtOH (15 ml), y se trató según el Procedimiento 3. Se obtuvo 3-ciclopentiloxi-4-metoxibenzaldehído (1,4 g, 97%) como un aceite amarillo; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 1,63 (m, 2H, CH_2), 1,79-1,93 (m, 4H, CH_2), 1,99 (m, 2H, CH_2), 3,93 (s, 3H, OCH_3), 4,85 (tt, $J = 6,4$, 3,2 Hz, 1H, OCH), 6,96 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, $\text{H}5$), 7,39 (d, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, $\text{H}2$), 7,42 (dd, $J_{5,6} = 8,0$, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1 H, $\text{H}6$), 9,84 (s, 1 H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 24,1, 32,7, 56,1, 80,5, 110,7, 112,1, 126,3, 130,0, 148,2, 155,4, 191,0; ν_{max} 1001, 1132, 1261, 1431, 1508, 1584, 1683, 2956 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (29)

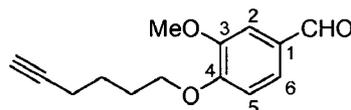
Se añadió piperidina (0,63 ml, 5,8 mmoles) a una suspensión de 3-ciclopentiloxi-4-metoxibenzaldehído (1,4 g, 6,4 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (1,3 g, 5,8 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recrystalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (1,4 g, 67%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 211-217°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 1,57 (m, 2H, CH_2), 1,70-1,72 (m, 4H, CH_2), 1,91 (m, 2H, CH_2), 3,78 (s, 3H, OCH_3), 4,90 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H, OCH), 6,75 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 6,98 (d, $J_{5,6} = 8,4$ Hz, 1H, $\text{H}5'$), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1 H, $\text{H}4$), 7,24 (d, $J_{5,6} = 8,4$ Hz, 1 H, $\text{H}6'$), 7,31 (s, 1 H, $\text{H}2'$), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,60 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, $\text{H}5$), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, $\text{H}3$), 8,60 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, $\text{H}6$), 11,25 (s, 1H, NH), 13,57 (br s, 1H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 23,6, 32,2, 55,6, 79,5, 112,0, 113,6, 116,7, 119,9, 120,4, 122,2, 122,7, 127,2, 131,1, 134,0, 141,0, 141,6, 147,1, 151,5, 164,2, 169,4; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 404,1468, encontrado 404,1468; ν_{max} 751, 1254, 1504, 1583, 1661, 2948, 3516 cm^{-1} .

(*E*)-2-(3-(3,4-dimetoxifenil)acrilamido)-*N*-((1-(2-oxo-2-(fenilamino)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)benzamida (32)

Se añadieron ascorbato de sodio (5,4 mg, 27 μmoles), *tris*-(benciltriazolilmetil)amina (2,9 mg, 5,5 μmoles) y sulfato de cobre (0,88 mg, 5,5 μmoles) a una disolución de (*E*)-2-[[3-(3,4-dimetoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]-*N*-(prop-2-inil)benzamida (100 mg, 0,27 mmoles) y 2-azido-*N*-fenilacetamida (48 mg, 0,27 mmoles) en DMSO (4,0 ml) y agua (1,0 ml). La disolución se agitó a rt durante 16 h y se diluyó con agua. La suspensión se filtró, y la torta del filtro se lavó con agua y se secó. El producto se recrystalizó en acetonitrilo, y se obtuvo (*E*)-2-(3-(3,4-dimetoxifenil)acrilamido)-*N*-((1-(2-oxo-2-(fenilamino)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)metil)benzamida (127 mg, 86%) como

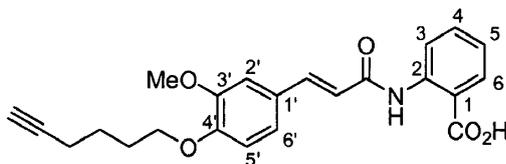
un sólido incoloro; p.f. 189-191°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 3,77 (s, 3H, OCH₃), 3,81 (s, 3H, OCH₃), 4,59 (d, $J = 6,8$ Hz, 2H, CH₂NH), 5,30 (s, 2H, CH₂N), 6,79 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 6,96 (d, $J_{5,6'} = 8,4$ Hz, 1H, H5'), 7,06 (t, $J_{3,4'} = J_{4,5'} = 8,0$ Hz, 1H, H4'), 7,15 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,4$ Hz, 1H, H4), 7,23 (dd, $J_{5,6'} = 8,4$, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H6'), 7,28 (t, $J_{2,3'} = J_{3,4'} = J_{4,5'} = J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 2H, H3', H5'), 7,37 (d, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H2'), 7,50-7,56 (m, 4H, CH=CHCO, H5, H2', H6'), 7,78 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H3), 8,08 (s, 1H, C=CH), 8,57 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H6), 9,37 (t, $J = 5,6$ Hz, 1H, CH₂NH), 10,43 (s, 1H, NHPH), 11,40 (s, 1H, NH); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 34,9, 40,4, 52,2, 55,5, 55,6, 110,4, 111,5, 119,2, 119,9, 120,7, 120,8, 122,6, 122,7, 123,7, 124,6, 127,3, 128,1, 128,9, 131,9, 138,4, 139,2, 141,5, 144,5, 148,9, 150,6, 164,0, 164,2, 168,3; HRMS (ESI) calculado para C₂₉H₂₈N₆O₅ [M+Na]⁺ 563,2013, encontrado 516,2015; ν_{max} 755, 1023, 1259, 1516, 1671, 3262 cm⁻¹.

10 4-(Hex-5-iniloxi)-3-metoxibenzaldehído



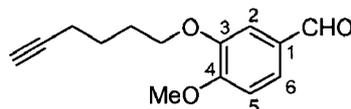
Se trataron cloruro de 4-metilbencenosulfonilo (2,9 g, 15 mmoles), 5-hexin-1-ol (1,1 ml, 10 mmoles) y piridina (1,6 ml, 20 mmoles) en CH₂Cl₂ (10 ml) según el Procedimiento 4, dando 4-metilbencenosulfonato de hex-5-inilo (2,1 g, 83%) como un aceite incoloro. Se alquiló vanilina (0,84 g, 5,6 mmoles) con 4-metilbencenosulfonato de hex-5-inilo (2,1 g, 8,3 mmoles) según el Procedimiento 4, y el producto bruto se recrystalizó en EtOAc/gasolina para proporcionar 4-(hex-5-iniloxi)-3-metoxibenzaldehído (0,80 g, 62%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 67-68°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl₃) 1,74 (p, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH₂), 1,97 (t, $J = 2,8$ Hz, 1H, C≡CH), 2,02 (p, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH₂), 2,30 (td, $J = 7,0$, 2,8 Hz, 2H, CH₂C≡CH), 3,92 (s, 3H, OCH₃), 4,14 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, OCH₂), 6,97 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H5), 7,41 (s, 1H, H2), 7,43 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H6), 9,85 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl₃) 18,1, 24,9, 27,9, 56,0, 68,5, 68,8, 83,9, 109,3, 111,4, 126,7, 130,0, 149,9, 154,0, 190,9; ν_{max} 1029, 1269, 1584, 1681, 2956, 3246 cm⁻¹.

20 Ácido (E)-2-[[3-(4-(hex-5-iniloxi)-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (33)



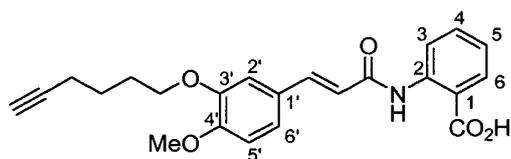
Se añadió piperidina (0,30 ml, 3,0 mmoles) a una suspensión de 4-(hex-5-iniloxi)-3-metoxibenzaldehído (0,70 g, 3,0 mmoles) y ácido 2-[[carboxiacetil]amino]benzoico (0,61 g, 2,7 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recrystalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (E)-2-[[3-(4-(hex-5-iniloxi)-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,78 g, 73%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 148-150°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 1,59 (p, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH₂), 1,81 (p, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH₂), 2,24 (dt, $J = 7,6$, 2,4 Hz, 2H, CH₂CCH), 2,78 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H, CCH), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 4,01 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, OCH₂), 6,77 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 6,98 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H5'), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H4), 7,22 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H6'), 7,37 (s, 1H, H2'), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 7,61 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H6), 11,27 (s, 1H, NH), 13,56 (br s, 1H, CO₂H); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 17,4, 24,6, 27,8, 55,7, 67,6, 71,4, 84,3, 110,7, 112,6, 116,6, 119,8, 120,3, 122,6, 122,7, 127,2, 131,1, 134,0, 141,1, 141,6, 149,1, 150,0, 164,2, 169,4; HRMS (ESI) calculado para C₂₃H₂₃NO₅ [M+H]⁺ 394,1649, encontrado 394,1649; ν_{max} 755, 1237, 1508, 1609, 1669, 2944, 3424, 3567 cm⁻¹.

35 3-(Hex-5-iniloxi)-4-metoxibenzaldehído



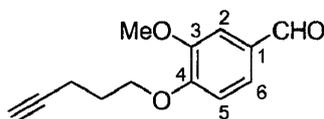
Se alquiló isovanilina (0,78 g, 5,2 mmoles) usando 4-metilbencenosulfonato de hex-5-inilo (1,95 g, 7,73 mmoles) según el Procedimiento 4. El producto bruto se recrystalizó en EtOAc/gasolina para proporcionar 3-(hex-5-iniloxi)-4-metoxibenzaldehído (0,68 g, 57%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 66-67°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl₃) 1,74 (p, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH₂), 1,96-2,0 (m, 3H, CH₂, C≡CH), 2,30 (td, $J = 7,2$, 2,8 Hz, 2H, CH₂C≡CH), 3,95 (s, 3H, OCH₃), 4,11 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, OCH₂), 6,97 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H5), 7,40 (d, $J_{2,6} = 1,6$ Hz, 1H, H2), 7,44 (dd, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, $J_{2,6} = 1,6$ Hz, 1H, H6), 9,84 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl₃) 18,1, 25,0, 28,0, 56,2, 68,4, 68,7, 83,9, 110,3, 110,6, 126,7, 130,1, 149,0, 154,9, 190,9; ν_{max} 1018, 1263, 1582, 1679, 2933, 3238 cm⁻¹.

40 Ácido (E)-2-[[3-(3-(hex-5-iniloxi)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (34)



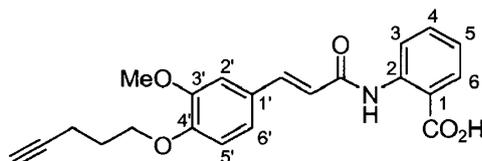
Se añadió piperidina (0,26 ml, 2,6 mmoles) a una suspensión de 3-(hex-5-iniloxi)-4-metoxibenzaldehído (0,60 g, 2,6 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,52 g, 2,4 mmoles) en tolueno (5,0 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1M. El producto bruto se recristalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (E)-2-[[3-(3-(hex-5-iniloxi)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,64 g, 70%) como un sólido cristalino amarillo pálido; p.f. 135-137°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 1,62 (p, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2), 1,82 (p, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2), 2,25 (dt, $J = 7,2, 2,4$ Hz, 2H, CH_2CCH), 2,78 (t, $J = 2,4$ Hz, 1 H, CCH), 3,80 (s, 3H, OCH_3), 4,05 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, OCH_2), 6,77 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 6,99 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, $H5'$), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, $H4$), 7,23 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, $H6'$), 7,37 (s, 1H, $H2'$), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,61 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, $H5$), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, $H3$), 8,61 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, $H6$), 11,27 (s, 1H, NH), 13,58 (br s, 1H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 18,1, 25,3, 28,5, 56,3, 68,4, 72,1, 85,0, 112,3, 112,5, 117,3, 120,5, 121,0, 123,3, 127,9, 131,8, 134,7, 141,7, 142,3, 149,0, 151,5, 164,8, 170,1; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 394,1649, encontrado 394,1650; ν_{max} 753, 1257, 1512, 1586, 1675, 2941, 3242, 3536 cm^{-1} .

3-Metoxi-4-(pent-4-iniloxi)benzaldehído



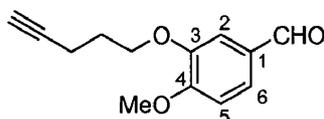
Se trataron cloruro de 4-metilbencenosulfonilo (5,7 g, 30 mmoles), 4-pent-1-ol (1,8 ml, 20 mmoles) y piridina (3,2 ml, 40 mmoles) en CH_2Cl_2 (20 ml) según el Procedimiento 4 dando 4-metilbencenosulfonato de pent-4-inilo (4,60 g, 97%) como un aceite incoloro. Se alquiló vanilina (0,98 g, 6,4 mmoles) con 4-metilbencenosulfonato de pent-4-inilo (2,3 g, 8,3 mmoles) según el Procedimiento 4, y el producto bruto se recristalizó en EtOAc/gasolina para proporcionar 3-metoxi-4-(pent-4-iniloxi)benzaldehído (1,25 g, 89%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 91-92°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 1,98 (t, $J = 2,8$ Hz, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 2,09 (p, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2), 2,43 (td, $J = 7,0, 2,8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 3,91 (s, 3H, OCH_3), 4,21 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, OCH_2), 6,99 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, $H5$), 7,40 (s, 1H, $H2$), 7,43 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, $H6$), 9,84 (s, 1 H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 15,1, 27,8, 56,0, 67,3, 69,1, 83,1, 109,3, 111,5, 126,7, 130,1, 149,9, 153,9, 190,8; ν_{max} 1028, 1265, 1583, 1674, 2956, 3214 cm^{-1} .

Ácido (E)-2-[[3-(3-metoxi-4-(pent-4-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (35)



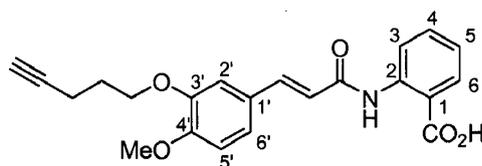
Se añadió piperidina (0,45 ml, 4,6 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-(pent-4-iniloxi)benzaldehído (1,0 g, 4,6 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,93 g, 4,2 mmoles) en tolueno (10 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recristalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (E)-2-[[3-(3-metoxi-4-(pent-4-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (1,2 g, 75%) como un sólido cristalino amarillo pálido; p.f. 166,5-167,5°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 1,89 (p, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH_2), 2,32 (dt, $J = 7,6, 2,4$ Hz, 2H, CH_2CCH), 2,81 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H, CCH), 3,84 (s, 3H, OCH_3), 4,06 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, OCH_2), 6,78 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 6,99 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, $H5'$), 7,17 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, $H4$), 7,22 (dd, $J_{5,6'} = 8,0, J_{2,6'} = 2,0$ Hz, 1H, $H6'$), 7,37 (d, $J_{2,6'} = 2,0$ Hz, 1H, $H2'$), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,60 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, $H5$), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, $H3$), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, $H6$), 11,27 (s, 1H, NH), 13,56 (br s, 1H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 14,5, 27,7, 55,7, 66,7, 71,7, 83,6, 110,7, 112,7, 116,6, 120,0, 120,3, 122,6, 122,7, 127,4, 131,1, 134,0, 141,1, 141,6, 149,2, 149,8, 164,1, 169,4; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 380,1492, encontrado 380,1493; ν_{max} 755, 1257, 1506, 1584, 1657, 2929, 3266, 3519 cm^{-1} .

4-Metoxi-3-(pent-4-iniloxi)benzaldehído



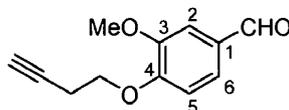
Se alquiló isovanilina (0,98 g, 6,4 mmoles) con 4-metilbencenosulfonato de pent-4-inilo (2,3 g, 8,3 mmoles) según el Procedimiento 4. El producto bruto se recrystalizó en EtOAc/gasolina para proporcionar 4-metoxi-3-(pent-4-inilo)benzaldehído (1,16 g, 83%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 73-74°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 1,98 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 2,06 (p, $J = 7,0$ Hz, 2H, CH_2), 2,43 (td, $J = 7,0, 2,4$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 3,94 (s, 3H, OCH_3), 4,18 (t, $J = 7,0$ Hz, 2H, OCH_2), 6,97 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,43 (s, 1H, H_2), 7,45 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_6), 9,84 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 15,1, 27,9, 56,1, 67,3, 69,1, 83,2, 110,6, 110,7, 126,7, 130,0, 148,9, 154,9, 190,9; ν_{max} 1025, 1263, 1584, 1665, 2849, 2936, 3254 cm^{-1} .

Ácido (E)-2-[[3-(4-metoxi-3-(pent-4-inilo)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (36)



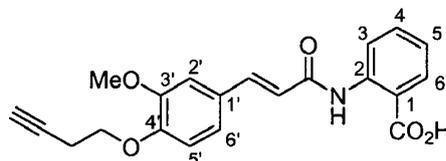
Se añadió piperidina (0,45 ml, 4,6 mmoles) a una suspensión de 4-metoxi-3-(pent-4-inilo)benzaldehído (1,0 g, 4,6 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,93 g, 4,2 mmoles) en tolueno (10 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recrystalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (E)-2-[[3-(4-metoxi-3-(pent-4-inilo)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (1,2 g, 77%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 154-156°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 1,91 (p, $J = 7,6$ Hz, 2H, CH_2), 2,34 (dt, $J = 7,6, 2,4$ Hz, 2H, CH_2CCH), 2,82 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H, CCH), 3,80 (s, 3H, OCH_3), 4,10 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, OCH_2), 6,78 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 6,99 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, $H_{5'}$), 7,15 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,25 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, $H_{6'}$), 7,38 (s, 1H, $H_{2'}$), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,60 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_6), 11,26 (s, 1H, NH), 13,56 (br s, 1H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 14,5, 27,8, 55,6, 66,8, 71,6, 83,8, 111,7, 111,8, 116,6, 119,9, 120,3, 122,6, 122,8, 127,2, 131,1, 134,0, 141,1, 141,6, 148,1, 150,9, 164,1, 169,4; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 380,1492, encontrado 380,1490; ν_{max} 754, 1257, 1510, 1584, 1659, 2944, 3250, 3512 cm^{-1} .

4-(But-3 inilo)-3-metoxibenzaldehído



Se trataron cloruro de 4-metilbencenosulfonilo (5,7 g, 30 mmoles), 3-butin-1-ol (1,5 ml, 20 mmoles) y piridina (3,2 ml, 40 mmoles) en CH_2Cl_2 (20 ml) según el Procedimiento 4, dando 4-metilbencenosulfonato de but-3-inilo (4,15 g, 93%) como un aceite incoloro. Se alquiló vanilina (0,86 g, 5,7 mmoles) con 4-metilbencenosulfonato de but-3-inilo (1,9 g, 8,5 mmoles) según el Procedimiento 4, y el producto bruto se recrystalizó en EtOAc/gasolina para proporcionar 4-(but-3-inilo)-3-metoxibenzaldehído (0,39 g, 34%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 101-102°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 2,07 (t, $J = 2,8$ Hz, 1H, $\text{C}\equiv\text{CH}$), 2,79 (td, $J = 7,2, 2,8$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$), 3,93 (s, 3H, OCH_3), 4,25 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, OCH_2), 7,00 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,42 (d, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_2), 7,45 (dd, $J_{5,6} = 8,0, J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_6), 9,86 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 13,3, 56,1, 67,0, 70,5, 79,6, 109,6, 112,0, 126,6, 130,5, 149,9, 153,3, 190,9; ν_{max} 1021, 1269, 1586, 1677, 2940, 3246 cm^{-1} .

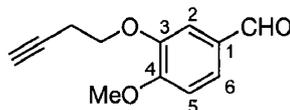
Ácido (E)-2-[[3-(4-(but-3-inilo)-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (37)



Se añadió piperidina (0,19 ml, 1,9 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-(but-3-inilo)benzaldehído (0,39 g, 1,7 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,39 g, 1,9 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recrystalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (E)-2-[[3-(4-(but-3-inilo)-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,48 g, 75%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 178-180°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 2,61 (dt, $J = 6,8, 2,4$ Hz, 2H, CH_2CCH), 2,86 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H, CCH), 3,81 (s, 3H, OCH_3), 4,06 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, OCH_2), 6,77 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 6,98 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, $H_{5'}$), 7,13 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,20 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, $H_{6'}$), 7,36 (s, 1H, $H_{2'}$), 7,53 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,58 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,97 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,59 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_6), 11,25 (s, 1H, NH), 13,56 (br s, 1H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 19,6, 56,4, 67,2, 73,2, 82,0, 111,5, 113,6, 117,3, 120,8, 121,0, 123,2, 123,3, 128,4, 131,8, 134,7, 141,7, 142,2, 149,8, 150,1, 164,8, 170,1; HRMS (ESI)

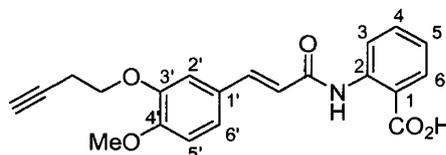
calculado para $C_{21}H_{19}NO_5$ $[M+H]^+$ 366,1336, encontrado 366,1337; ν_{max} 755, 1263, 1512, 1603, 1689, 3257, 3401 cm^{-1} .

3-(But-3-iniloxi)-4-metoxibenzaldehído



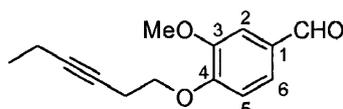
5 Se alquiló isovanilina (0,95 g, 6,2 mmoles) con 4-metilbencenosulfonato de but-3-inilo (2,1 g, 9,4 mmoles) según el Procedimiento 4. El producto bruto se recrystalizó en EtOAc/gasolina para proporcionar 3-(but-3-iniloxi)-4-metoxibenzaldehído (0,44 g, 35%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 63-65°C; δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 2,06 (t, $J = 2,8$ Hz, 1 H, $C\equiv CH$), 2,76 (td, $J = 7,2, 2,8$ Hz, 2H, $CH_2C\equiv CH$), 3,96 (s, 3H, OCH_3), 4,22 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, OCH_2), 6,99 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,43 (d, $J_{2,6} = 1,4$ Hz, 1H, H_2), 7,45 (dd, $J_{5,6} = 8,0, J_{2,6} = 1,4$ Hz, 1H, H_6), 9,85 (s, 1H, CHO); δ_C (100 MHz, $CDCl_3$) 19,4, 56,2, 67,0, 70,3, 79,8, 110,9, 111,2, 127,1, 130,1, 148,4, 154,9, 190,7; ν_{max} 1015, 1124, 1231, 1586, 1675, 2821, 3305 cm^{-1} .

Ácido (E)-2-[[3-(3-(but-3-iniloxi)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (38)



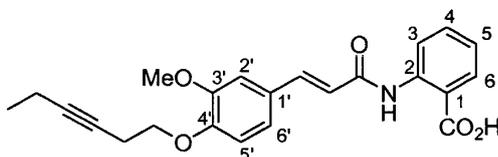
15 Se añadió piperidina (0,17 ml, 1,7 mmoles) a una suspensión de 4-metoxi-3-(but-1-iniloxi)benzaldehído (0,35 g, 1,7 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,35 g, 1,6 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recrystalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (E)-2-[[3-(3-(but-3-iniloxi)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,40 g, 70%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 197-198°C; δ_H (400 MHz, $DMSO-d_6$) 2,65 (dt, $J = 6,8, 2,4$ Hz, 2H, CH_2CCH), 2,90 (t, $J = 2,4$ Hz, 1H, CCH), 3,80 (s, 3H, OCH_3), 4,13 (t, $J = 6,8$ Hz, 2H, OCH_2), 6,80 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $CH=CHCO$), 7,00 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5'), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,26 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_6'), 7,40 (s, 1H, H_2'), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $CH=CHCO$), 7,61 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,99 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,61 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_6), 11,27 (s, 1H, NH), 13,58 (br s, 1H, CO_2H); δ_C (100 MHz, $DMSO-d_6$) 19,0, 55,6, 66,6, 72,5, 81,4, 111,9, 111,9, 116,6, 120,0, 120,3, 122,7, 123,0, 127,3, 131,1, 134,0, 141,0, 141,5, 147,8, 150,7, 164,2, 169,4; HRMS (ESI) calculado para $C_{21}H_{19}NO_5$ $[M+H]^+$ 366,1335, encontrado 366,1337; ν_{max} 753, 1263, 1512, 1581, 1671, 2833, 3250 cm^{-1} .

4-(Hex-3-iniloxi)-3-metoxibenzaldehído



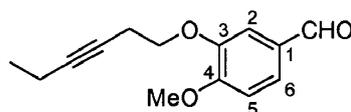
30 Se trataron cloruro de 4-metilbencenosulfonilo (5,7 g, 30 mmoles), 3-hexin-1-ol (1,5 ml, 20 mmoles) y piridina (3,2 ml, 40 mmoles) en CH_2Cl_2 (20 ml) según el Procedimiento 4, dando 4-metilbencenosulfonato de hex-3-inilo (3,8 g, 75%) como un aceite incoloro. Se alquiló vanilina (0,76 g, 5,0 mmoles) con 4-metilbencenosulfonato de hex-3-inilo (1,9 g, 7,5 mmoles) según el Procedimiento 4, y el producto bruto se recrystalizó en EtOAc/gasolina para proporcionar 4-(hex-3-iniloxi)-3-metoxibenzaldehído (0,45 g, 39%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 80-81°C; δ_H (400 MHz, $CDCl_3$) 1,12 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H, CH_3), 2,17 (tq, $J = 7,6, 2,4$ Hz, 2H; CH_3CH_2), 2,73 (tt, $J = 7,6, 2,4$ Hz, 2H, OCH_2CH_2C), 3,92 (s, 3H, OCH_3), 4,19 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H, OCH_2), 7,00 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,41 (d, $J_{2,6} = 1,6$ Hz, 1H, H_2), 7,44 (dd, $J_{5,6} = 8,0, J_{2,6} = 1,6$ Hz, 1H, H_6), 9,85 (s, 1H, CHO); δ_C (100 MHz, $CDCl_3$) 12,4, 14,0, 19,5, 56,0, 67,6, 74,3, 84,0, 109,5, 111,8, 126,6, 130,3, 149,9, 153,5, 190,8; ν_{max} 1023, 1134, 1263, 1586, 1680, 2877, 2972 cm^{-1} .

Ácido (E)-2-[[3-(4-(hex-3-iniloxi)-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (39)

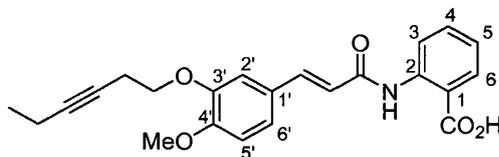


Se añadió piperidina (0,17 ml, 1,7 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-(hex-3-iniloxi)benzaldehído (0,40 g, 1,7 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,35 g, 1,6 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recrystalizó en EtOH proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(4-(hex-3-iniloxi)-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,40 g, 65%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 165-166°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO-*d*₆) 1,04 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H, CH₃), 2,14 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H, CH₃CH₂), 2,61 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, OCH₂CH₂C), 3,83 (s, 3H, OCH₃), 4,05 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, OCH₂), 6,79 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, CH=CHCO), 6,99 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H5'), 7,16 (t, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 8,0 Hz, 1H, H4), 7,22 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H6'), 7,38 (s, 1H, H2'), 7,55 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, CH=CHCO), 7,61 (t, *J*_{4,5} = *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H5), 7,99 (d, *J*_{3,4} = 8,0 Hz, 1H, H3), 8,61 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H6), 11,27 (s, 1H, NH), 13,57 (br s, 1H, CO₂H); δ_{C} (100 MHz, DMSO-*d*₆) 11,7, 14,0, 19,2, 55,7, 66,9, 76,1, 83,0, 110,9, 113,0, 116,6, 120,1, 120,3, 122,5, 122,6, 127,6, 131,1, 134,0, 141,0, 141,5, 149,1, 149,5, 164,1, 169,4; HRMS (ESI) calculado para C₂₃H₂₃NO₅ [M+H]⁺ 394,1649, encontrado 394,1647; ν_{max} 755, 1235, 1510, 1601, 1669, 3234, 3563 cm⁻¹.

3-(Hex-3-iniloxi)-4-metoxibenzaldehído

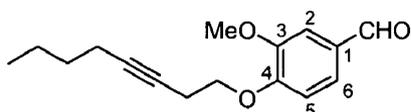


Se alquiló isovanilina (0,76 g, 5,0 mmoles) con 4-metilbencenosulfonato de hex-3-inilo (1,9 g, 7,53 mmoles) según el Procedimiento 4. El producto bruto se recrystalizó en EtOAc/gasolina para proporcionar 3-(hex-3-iniloxi)-4-metoxibenzaldehído (0,58 g, 50%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 86,5-87,5°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl₃) 1,13 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H, CH₃), 2,17 (tq, *J* = 7,6, 2,4 Hz, 2H, CH₃CH₂), 2,72 (tt, *J* = 7,6, 2,4 Hz, 2H, OCH₂CH₂C), 3,95 (s, 3H, OCH₃), 4,17 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, OCH₂), 6,98 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H5), 7,44 (d, *J*_{2,6} = 1,6 Hz, 1H, H2), 7,47 (dd, *J*_{5,6} = 8,0, *J*_{2,6} = 1,6 Hz, 1H, H6), 9,85 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl₃) 12,4, 14,1, 19,6, 56,2, 67,6, 74,5, 83,9, 110,8, 111,0, 126,9, 130,1, 148,6, 154,8, 190,8; ν_{max} 1019, 1134, 1265, 1586, 1683, 2841, 2977 cm⁻¹.

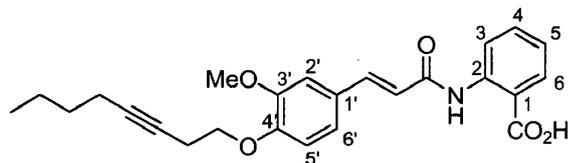
Ácido (*E*)-2-[[3-(3-(hex-3-iniloxi)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (40)

Se añadió piperidina (0,21 ml, 2,2 mmoles) a una suspensión de 4-metoxi-3-(hex-3-iniloxi)benzaldehído (0,50 g, 2,2 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,44 g, 2,0 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con HCl 1 M. El producto bruto se recrystalizó en EtOH proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(3-(hex-3-iniloxi)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,58 g, 75%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 163-165°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO-*d*₆) 1,05 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H, CH₃), 2,15 (q, *J* = 7,6 Hz, 2H, CH₃CH₂), 2,62 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H, OCH₂CH₂C), 3,80 (s, 3H, OCH₃), 4,09 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H, OCH₂), 6,80 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, CH=CHCO), 6,99 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H5'), 7,16 (t, *J*_{3,4} = *J*_{4,5} = 8,0 Hz, 1H, H4), 7,25 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H6'), 7,40 (s, 1H, H2'), 7,55 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H, CH=CHCO), 7,60 (t, *J*_{4,5} = *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H5), 8,00 (d, *J*_{3,4} = 8,0 Hz, 1H, H3), 8,61 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H6), 11,26 (s, 1H, NH), 13,58 (br s, 1H, CO₂H); δ_{C} (100 MHz, DMSO-*d*₆) 11,8, 14,0, 19,3, 55,6, 67,0, 76,2, 83,0, 111,9, 112,0, 116,6, 120,0, 120,3, 122,6, 123,0, 127,3, 131,1, 134,0, 141,0, 141,6, 147,9, 150,8, 164,2, 169,4; HRMS (ESI) calculado para C₂₃H₂₃NO₅ [M+H]⁺ 394,1649, encontrado 394,1648; ν_{max} 755, 1253, 1510, 1604, 1657, 3238, 3524 cm⁻¹.

3-Metoxi-4-(oct-3-iniloxi)benzaldehído

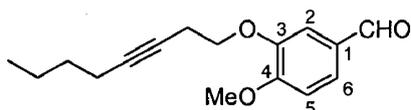


Se trataron cloruro de 4-metilbencenosulfonilo (5,70 g, 30 mmoles), 3-octin-1-ol (1,52 ml, 20 mmoles) y piridina (3,24 ml, 40 mmoles) en CH₂Cl₂ (20 ml) según el Procedimiento 4, dando 4-metilbencenosulfonato de oct-3-inilo (5,21 g, 93%) como un aceite incoloro. Se alquiló vanilina (0,90 g, 5,94 mmoles) con 4-metilbencenosulfonato de oct-3-inilo (2,50 g, 8,92 mmoles) según el Procedimiento 4, y el producto bruto se recrystalizó a partir del purificado mediante cromatografía ultrarrápida con 10% de EtOAc/gasolina como eluyente para dar 3-metoxi-4-(oct-3-iniloxi)benzaldehído (0,25 g, 16%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 64,5-65,5°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl₃) 0,86 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H, CH₃), 1,32-1,44 (m, 4H, CH₃CH₂CH₂), 2,12 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂), 2,69 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, CH₂CH₂O), 3,88 (s, 3H, OCH₃), 4,15 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H, OCH₂), 6,96 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H5), 7,37 (s, 1H, H2), 7,39 (d, *J*_{5,6} = 8,0 Hz, 1H, H6), 9,80 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl₃) 13,5, 18,3, 19,5, 21,8, 30,8, 55,9, 67,5, 74,8, 82,5, 109,4, 111,7, 126,4, 130,2, 149,7, 153,4, 190,7; ν_{max} 1020, 1132, 1262, 1508, 1584, 1684, 2931 cm⁻¹.

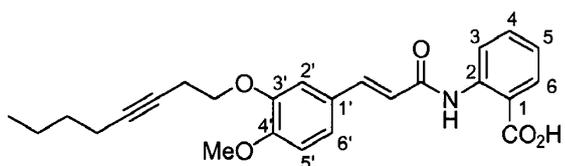
Ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(oct-3-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (41)

Se añadió piperidina (95 μ l, 0,96 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-(oct-3-iniloxi)benzaldehído (0,25 g, 0,96 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,20 g, 0,90 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. El producto bruto se recristalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(oct-3-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,30 g, 79%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 169-170°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 0,85 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_3), 1,31-1,42 (m, 4H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2,13 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2), 2,60 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3,83 (s, 3H, OCH_3), 4,05 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, OCH_2), 6,76 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,00 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5'), 7,15 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,22 (dd, $J_{5,6'} = 8,0$, $J_{2,5'} = 1,6$ Hz, 1H, H_6'), 7,37 (d, $J_{5,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H_2'), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,60 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_6), 11,30 (s, 1H, NH), 13,55 (br s, 1H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 13,4, 17,7, 19,2, 21,3, 30,4, 55,7, 67,0, 76,7, 81,6, 110,9, 113,0, 116,7, 120,1, 120,3, 122,5, 122,6, 127,6, 131,1, 133,9, 141,0, 141,5, 149,1, 149,5, 164,1, 169,4; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 421,1962, encontrado 421,1962; ν_{max} 757, 1143, 1220, 1514, 1601, 1652, 1690, 2939 cm^{-1} .

4-Metoxi-3-(oct-3-iniloxi)benzaldehído

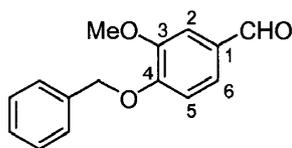


Se alquiló isovanilina (0,90 g, 5,9 mmoles) con 4-metilbencenosulfonato de oct-3-inilo (2,5 g, 8,9 mmoles) según el Procedimiento 2. El producto bruto se recristalizó a partir del purificado mediante cromatografía ultrarrápida con 10% de EtOAc/gasolina como eluyente para dar 4-metoxi-3-(oct-3-iniloxi)benzaldehído (0,52 g, 34%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 42-43°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 0,90 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_3), 1,37-1,49 (m, 4H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2,16 (tt, $J = 7,2$, 2,4 Hz, 2H, CH_2), 2,72 (tt, $J = 7,2$, 2,4 Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 4,17 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, OCH_2), 6,98 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 7,44 (d, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_2), 7,47 (dd, $J_{5,6} = 8,0$, $J_{2,6} = 2,0$ Hz, 1H, H_6), 9,85 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 13,6, 18,4, 19,7, 21,9, 30,9, 56,2, 67,6, 75,1, 82,5, 110,8, 111,0, 126,9, 130,1, 148,6, 154,9, 190,8; ν_{max} 1019, 1132, 1262, 1508, 1585, 1684, 2932 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(4-metoxi-3-(oct-3-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (42)

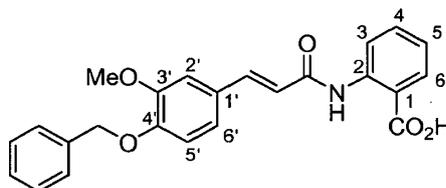
Se añadió piperidina (190 μ l, 1,9 mmoles) a una suspensión de 4-metoxi-3-(oct-3-iniloxi)benzaldehído (0,50 g, 1,9 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,39 g, 1,7 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. El producto bruto se recristalizó en EtOH/agua, proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(4-metoxi-3-(oct-3-iniloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,60 g, 82%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 157-158°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 0,85 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H, CH_3), 1,32-1,42 (m, 4H, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2$), 2,14 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, CH_2), 2,62 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 3,80 (s, 3H, OCH_3), 4,10 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, OCH_2), 6,80 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,00 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H_5'), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,25 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H_6'), 7,40 (s, 1H, H_2'), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,61 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_6), 11,27 (s, 1H, NH), 13,58 (br s, 1H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 13,4, 17,8, 19,3, 21,3, 30,5, 55,6, 67,1, 76,9, 81,5, 111,9, 112,1, 116,6, 120,0, 120,3, 122,6, 122,9, 127,3, 131,1, 134,0, 141,0, 141,5, 147,9, 150,8, 164,2, 169,4; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{NO}_5$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 421,1962, encontrado 421,1962; ν_{max} 757, 1131, 1259, 1515, 1582, 1671, 2954, 3335 cm^{-1} .

4-Benciloxi-3-metoxibenzaldehído



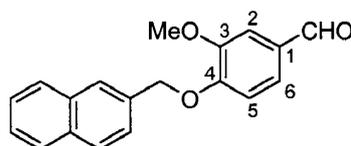
5 Se añadió bromuro de bencilo (1,2 ml, 9,9 mmoles) a una suspensión de vainilina (1,0 g, 6,6 mmoles) y carbonato de potasio (2,7 g, 20 mmoles) en acetona (10 ml), y se trató según el Procedimiento 3. El producto bruto se recristalizó en EtOH para dar 4-benciloxi-3-metoxibenzaldehído (1,0 g, 64%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 61-62°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 3,95 (s, 3H, OCH_3), 5,25 (s, 2H, OCH_2), 6,99 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_5), 7,32-7,45 (m, 7H, H_2 , H_6 , Ph), 9,84 (s, 1 H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 56,1, 70,8 109,3, 112,4, 126,6 127,2, 128,2, 128,7, 130,3, 136,0, 150,1, 153,6, 190,9; ν_{max} 988, 1133, 1259, 1505, 1583, 1672 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(4-benciloxi-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (43)



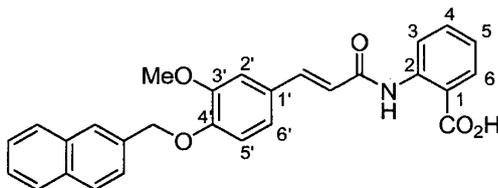
10 Se añadió piperidina (0,20 ml, 2,1 mmoles) a una suspensión de 4-benciloxi-3-metoxibenzaldehído (0,50 g, 2,1 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,42 g, 1,9 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. El producto bruto se recristalizó en EtOH proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(4-benciloxi-3-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,48 g, 63%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 197-199°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 3,84 (s, 3H, OCH_3), 5,13 (s, 2H, OCH_2), 6,79 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,07 (d, $J_{5',6'} = 8,0$ Hz, 1H, H_5'), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,22 (d, $J_{5',6'} = 8,0$ Hz, 1H, H_6'), 7,31-7,46 (m, 6H, H_2' , Ph), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,61 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1 H, H_3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_6), 11,28 (s, 1 H, NH), 13,60 (br s, 1 H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 55,7, 69,8, 110,7, 113,1, 116,6, 120,0, 120,3, 122,5, 122,7, 127,5, 127,8, 127,9, 128,4, 131,1, 134,0, 136,8, 141,1, 141,6, 149,3, 149,6, 164,2, 169,5; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{NO}_5$ [$\text{M}-\text{H}$] 402,1336, encontrado 402,1342; ν_{max} 697, 1133, 1233, 1516, 1599, 1673, 1697, 3035 cm^{-1} .

3-Metoxi-4-(naft-2-ilmetoxi)benzaldehído



25 Se añadió 2-(bromometil)naftaleno (1,3 g, 5,9 mmoles) a una suspensión de vainilina (0,60 g, 3,9 mmoles) y carbonato de potasio (1,6 g, 12 mmoles) en acetona (10 ml), y se trató según el Procedimiento 3. El producto bruto se recristalizó en EtOAc/gasolina proporcionando 3-metoxi-4-(naft-2-ilmetoxi)benzaldehído (0,87 g, 75%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 107-108°C; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 3,97 (s, 3H, OCH_3), 5,41 (s, 2H, OCH_2), 7,38 (m, 1 H, Naft-*H*), 7,44 (d, $J_{2,6} = 1,6$ Hz, 1 H, H_2), 7,48-7,50 (m, 3H, H_6 , Naft-*H*), 7,55 (m, 1H, Naft-*H*), 7,83-7,89 (m, 4H, Naft-*H*), 9,84 (s, 1 H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 56,3, 71,3 109,7, 112,8, 125,1 126,4, 126,5, 126,6, 126,8, 128,0, 128,2, 128,9, 130,6, 133,4, 133,5, 133,7, 150,4, 153,8, 191,1; ν_{max} 991, 1131, 1263, 1505, 1580, 1672, 2884 cm^{-1} .

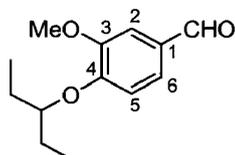
30 Ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(naft-2-ilmetoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (44)



35 Se añadió piperidina (0,27 ml, 2,7 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-(naft-2-ilmetoxi)benzaldehído (0,80 g, 2,7 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,55 g, 2,5 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. El producto bruto se recristalizó en EtOH proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(naft-2-ilmetoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,74 g, 66%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 197-200°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 3,86 (s, 3H, OCH_3), 5,30 (s, 2H, OCH_2), 6,76 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,00 (d, $J_{5',6'} = 8,0$ Hz, 1H, H_5'), 7,15 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,22 (dd, $J_{5',6'} = 8,0$, $J_{2',6'} = 1,6$ Hz,

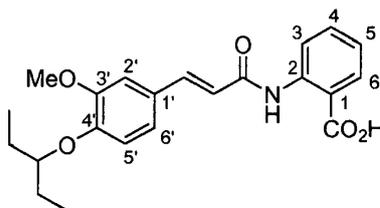
1H, H6'), 7,37 (d, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1 H, H2'), 7,50-7,63 (m, 5H, CH=CHCO, H5, Naft-H), 7,91-8,01 (m, 5H, H3, Naft-H), 8,63 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H6), 11,31 (s, 1 H, NH), 13,59 (br s, 1H, CO₂H); δ_C (100 MHz, DMSO-*d*₆) 55,7, 70,1, 110,8, 113,4, 116,6, 120,1, 120,3, 122,5, 122,7, 125,9, 126,2, 126,4, 126,6, 127,6, 127,7, 127,8, 128,1, 131,2, 132,6, 132,7, 134,0, 134,5, 141,1, 141,6, 149,3, 149,6, 164,2, 169,5; HRMS (ESI) calculado para C₂₈H₂₃NO₅ [M-H]⁻ 452,1493, encontrado 452,1495; ν_{max} 1135, 1260, 1511, 1584, 1668, 3055 cm⁻¹.

3-Metoxi-4-(pent-3-iloxi)benzaldehído



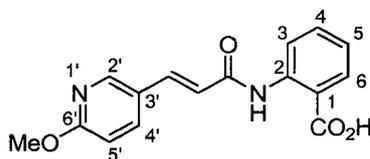
Se añadió 3-bromopentano (1,2 ml, 9,9 mmoles) a una suspensión de vanilina (1,0 g, 6,6 mmoles) y carbonato de potasio (2,7 g, 20 mmoles) en EtOH (10 ml), y se trató según el Procedimiento 3. El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida con 10% de EtOAc/gasolina como eluyente para dar 3-metoxi-4-(pent-3-iloxi)benzaldehído (0,69 g, 47%) como un aceite amarillo pálido; δ_H (400 MHz, CDCl₃) 0,96 (t, $J = 7,2$ Hz, 6H, CH₃), 1,73 (m, 4H, CH₂), 3,88 (s, 3H, OCH₃), 4,23 (m, 1 H, OCH), 6,94 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H5), 7,40 (s, 1H, H2), 7,41 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H6), 9,81 (s, 1 H, CHO); δ_C (100 MHz, CDCl₃) 9,6, 26,1, 56,0, 81,9, 109,8, 113,1, 126,5, 129,7, 150,5, 154,0, 190,7; ν_{max} 1133, 1263, 1504, 1582, 1682, 2967 cm⁻¹.

Ácido (E)-2-[[3-(3-metoxi-4-(pent-3-iloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (45)



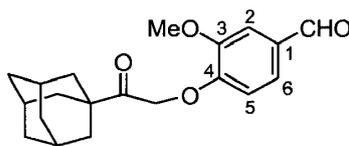
Se añadió piperidina (220 μ l, 2,2 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-(pent-3-iloxi)benzaldehído (0,50 g, 2,2 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,46 g, 2,1 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. El producto bruto se recristalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (E)-2-[[3-(3-metoxi-4-(pent-3-iloxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,52 g, 66%) como un sólido cristalino amarillo; p.f. 82-85°C; δ_H (400 MHz, DMSO-*d*₆) 0,88 (t, $J = 7,2$ Hz, 6H, CH₃), 1,60 (p, $J = 7,2$ Hz, 4H, CH₂), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 4,25 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H, OCH), 6,76 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 6,98 (d, $J_{5,5'} = 8,0$ Hz, 1H, H5'), 7,15 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H4), 7,20 (dd, $J_{5,6'} = 8,0$, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H6'), 7,36 (d, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H2'), 7,55 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 7,60 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H6), 11,28 (s, 1H, NH), 13,58 (br s, 1H, CO₂H); δ_C (100 MHz, DMSO-*d*₆) 9,3, 25,5, 55,7, 80,1, 111,2, 114,5, 116,6, 119,8, 120,3, 122,5, 122,6, 127,1, 131,1, 134,0, 141,1, 141,6, 149,6, 149,9, 164,2, 169,5; HRMS (ESI) calculado para C₂₂H₂₅NO₅ [M-H]⁻ 382,1555, encontrado 382,1649; ν_{max} 749, 1139, 1259, 1505, 1584, 1650, 2934 cm⁻¹.

Ácido (E)-2-[[3-(6-metoxipiridin-3-il)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (46)



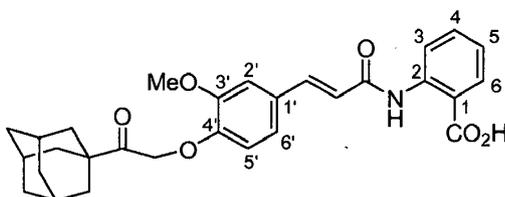
Se añadió piperidina (220 μ l, 2,2 mmoles) a una suspensión de 6-metoxi-3-piridin-carboxaldehído (0,30 g, 2,2 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,44 g, 2,1 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. El producto bruto se recristalizó en EtOH proporcionando ácido (E)-2-[[3-(6-metoxipiridin-3-il)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,33 g, 56%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 209-211°C; δ_H (400 MHz, DMSO-*d*₆) 3,85 (s, 3H, OCH₃), 6,82 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 6,85 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H5'), 7,13 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1 H, H4), 7,57 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, CH=CHCO), 7,58 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H5), 7,98 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H3), 8,14 (dd, $J_{5,6'} = 8,0$, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H6'), 8,43 (d, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H2'), 8,57 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H6), 11,29 (s, 1H, NH), 13,58 (br s, 1H, CO₂H); δ_C (100 MHz, DMSO-*d*₆) 53,5, 111,0, 116,7, 120,3, 121,4, 122,8, 124,2, 131,1, 134,0, 137,3, 138,0, 140,9, 148,4, 163,7, 164,4, 169,4; HRMS (ESI) calculado para C₁₆H₁₄N₂O₄ [M-H]⁻ 297,0870, encontrado 297,0877; ν_{max} 749, 1249, 1591, 1683, 3246 cm⁻¹.

3-Metoxi-4-(adaman-2-il-2-oxoetoxi)benzaldehído



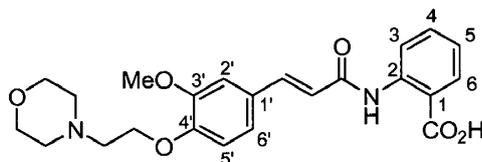
Se añadió 1-adamantil bromometil cetona (300 mg, 1,19 mmoles) a una suspensión de vainilina (120 mg, 0,791 mmoles) y carbonato de potasio (329 mg, 2,38 mmoles) en acetona (5 ml), y se trató según el Procedimiento 3. El producto bruto se recristalizó en EtOAc/gasolina para dar 3-metoxi-4-(adaman-2-il-2-oxoetoxi)benzaldehído (0,210 g, 81%) como un aceite amarillo pálido; δ_{H} (400 MHz, CDCl_3) 1,73-1,81 (m, 6H, CH_2), 1,93 (d, $J = 2,0$ Hz, 6H, CH_2), 2,09 (s, 3H, CH), 3,95 (s, 3H, OCH_3), 5,05 (s, 2H, OCH_2), 6,70 (d, $J_{5,6} = 7,4$ Hz, 1H, H_5), 7,38 (dd, $J_{5,6} = 7,4$, $J_{2,6} = 1,6$ Hz, 1 H, H_6), 7,43 (d, $J_{2,6} = 1,6$ Hz, 1 H, H_2), 9,85 (s, 1H, CHO); δ_{C} (100 MHz, CDCl_3) 27,9, 36,6, 38,3, 45,8, 56,3, 69,4, 109,9, 112,0, 126,4, 130,9, 150,1, 153,1, 190,1, 207,9; ν_{max} 1001, 1133, 1259, 1507, 1587, 1680, 2850, 2904 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(adaman-2-il-2-oxoetoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (47)



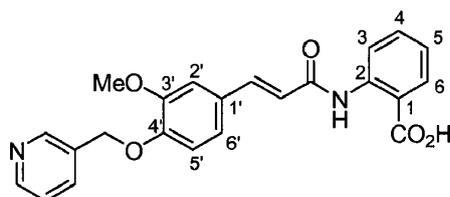
Se añadió piperidina (63 μl , 0,64 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-(adaman-2-il-2-oxoetoxi)benzaldehído (0,21 g, 0,64 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,13 g, 0,58 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. El producto bruto se recristalizó en EtOH proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(adaman-2-il-2-oxoetoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,17 g, 59%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 112-114°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 1,66-1,72 (m, 6H, CH_2), 1,85-1,86 (m, 6H, CH_2), 2,00 (s, 3H, CH), 3,84 (s, 3H, OCH_3), 5,12 (s, 2H, OCH_2), 6,74 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H_5'), 6,77 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,14-7,18 (m, 2H, H_4 , H_6'), 7,37 (d, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H_2'), 7,54 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,60 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1 H, H_3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_6), 11,28 (s, 1 H, NH), 13,53 (br s, 1 H, CO_2H); δ_{C} (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 28,0, 36,6, 37,8, 45,4, 56,5, 69,5, 111,7, 113,4, 117,3, 120,7, 121,0, 123,0, 123,4, 128,2, 131,8, 134,7, 141,8, 142,3, 149,7, 150,0, 164,9, 170,2, 209,4; HRMS (ESI) calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{31}\text{NO}_6$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 512,2044, encontrado 512,2045; ν_{max} 749, 1143, 1249, 1508, 1588, 1687, 1712, 2848, 2908, 3380 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(2-morfolinoetoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (48)



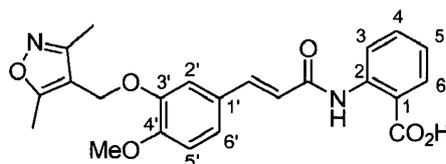
Se añadió piperidina (75 μl , 0,75 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-(adaman-2-il-2-oxoetoxi)benzaldehído (0,20 g, 0,75 mmoles) y ácido 2-[(carboxiacetil)amino]benzoico (0,15 g, 0,69 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, neutralizando con AcOH al 20%. La fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 , se lavó con agua, con salmuera, se secó y se concentró. El producto bruto se recristalizó en MeOH proporcionando ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(2-morfolinoetoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (65 mg, 22%) como un sólido marrón pálido; p.f. 195-201°C; δ_{H} (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 2,62 (m, 4H, CH_2N), 2,83 (t, $J = 4,4$ Hz, 4H, CH_2), 3,61 (t, $J = 3,3$ Hz, 4H, OCH_2), 3,81 (s, 3H, OCH_3), 4,15 (t, $J = 4,4$ Hz, 2H, OCH_2), 6,74 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,00 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1 H, H_5'), 7,12 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H_4), 7,20 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H_6'), 7,35 (s, 1H, H_2'), 7,53 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, $\text{CH}=\text{CHCO}$), 7,55 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H_3), 8,62 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H_6), 11,81 (s, 1 H, NH); δ_{C} (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) 53,4, 55,7, 56,6, 65,7, 110,7, 113,0, 118,0, 120,0, 120,3, 122,4, 122,5, 127,6, 131,2, 133,3, 141,1, 141,3, 149,2, 149,6, 164,1, 168,7; HRMS (ESI), calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 427,1864, encontrado 427,1864; ν_{max} 764, 1139, 1249, 1502, 1583, 1621, 1676, 2964 cm^{-1} .

Ácido (*E*)-2-[[3-(3-metoxi-4-(piridin-3-ilmetoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (49)



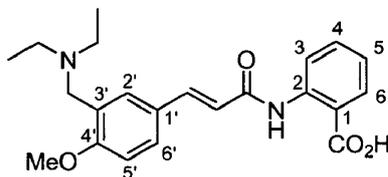
Se añadió 3-bromometilpiridina (0,30 mg, 1,2 mmoles) a una suspensión de vainilina (0,12 g, 0,79 mmoles) y carbonato de potasio (0,33 g, 2,4 mmoles) en acetona (5,0 ml), y se trató según el Procedimiento 3. Se obtuvo 3-metoxi-4-(piridin-3-ilmetoxi)benzaldehído (88 mg, 46%) como un aceite marrón. Se añadió piperidina (36 μ l, 0,36 mmoles) a una suspensión de 3-metoxi-4-(piridin-3-ilmetoxi)benzaldehído (0,88 mg, 0,36 mmoles) y ácido 2-[[carboxiacetil]amino]benzoico (73 mg, 0,33 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. Se obtuvo ácido (E)-2-[[3-(3-metoxi-4-(piridin-3-ilmetoxi)fenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (58 mg, 44%) como un sólido cristalino puro marrón; p.f. 245-251°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 3,84 (s, 3H, OCH₃), 5,18 (s, 2H, OCH₂), 6,80 (d, $J = 15,6$ Hz, 1 H, CH=CHCO), 7,12 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H5'), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H4), 7,24 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H6'), 7,40-7,45 (m, 2H, H2', Ar-H), 7,56 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 7,60 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H5), 7,87 (d, $J = 8,0$ Hz, 1 H, Ar-H), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H3), 8,55-8,67 (m, 3H, H6, Ar-H), 11,32 (s, 1 H, NH); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 55,7, 67,6, 110,8, 113,4, 116,7, 120,2, 120,3, 122,4, 122,7, 123,6, 127,9, 131,1, 132,4, 133,9, 135,9, 141,0, 141,5, 149,1, 149,2, 149,3, 164,2, 169,5; HRMS (ESI) calculado para C₂₃H₂₀N₂O₅ [M⁺H]⁺ 404,1445, encontrado 404,1445; ν_{max} 758, 1257, 1509, 1586, 1671, 2931 cm⁻¹.

Ácido (E)-2-[[3-((3-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)metoxi)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (50)



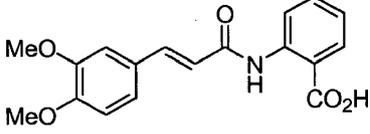
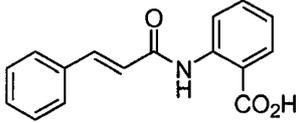
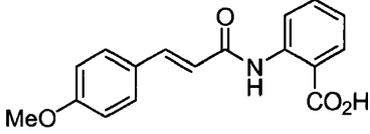
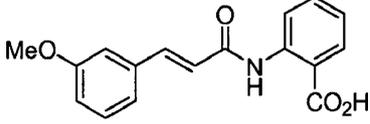
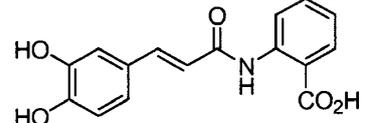
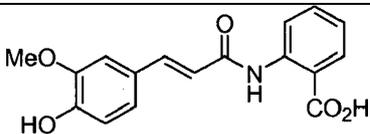
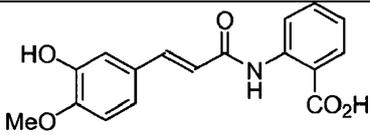
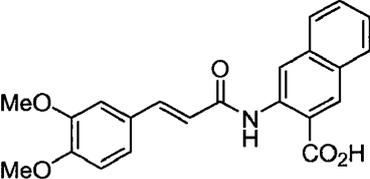
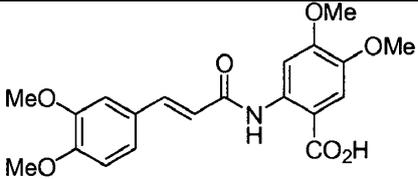
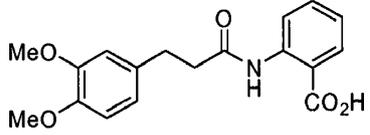
Se añadió piperidina (97 μ l, 0,99 mmoles) a una suspensión de 3-((3,5-dimetilisoxazol-4-il)metoxi)-4-metoxibenzaldehído (0,26 g, 0,99 mmoles) y ácido 2-[[carboxiacetil]amino]benzoico (0,20 g, 0,90 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, acidificando con AcOH al 20%. El producto bruto se recrystalizó en EtOH/agua proporcionando ácido (E)-2-[[3-((3-(3,5-dimetilisoxazol-4-il)metoxi)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,21 g, 54%) como sólido cristalino naranja/marrón; p.f. 227-229°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 2,21 (s, 3H, CH₃), 2,38 (s, 3H, CH₃), 3,82 (s, 3H, OCH₃), 4,94 (s, 2H, OCH₂), 6,81 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 7,10 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H5'), 7,16 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H4), 7,26 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H6'), 7,39 (s, 1H, H2'), 7,57 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 7,61 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H5), 8,00 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1 H, H3), 8,63 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1 H, H6), 11,31 (s, 1 H, NH), 13,62 (br s, 1 H, CO₂H); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 10,3, 11,2, 56,4, 60,5, 111,0, 111,6, 114,9, 117,3, 121,0, 123,0, 123,3, 128,8, 131,8, 134,6, 141,7, 142,2, 149,8, 150,3, 160,3, 164,8, 168,2, 170,1; HRMS (ESI) calculado para C₂₃H₂₂N₂O₆ [M⁺Na]⁺ 445,1370, encontrado 445,1369; ν_{max} 1141, 1256, 1511, 1584, 1665, 2940, 3326 cm⁻¹.

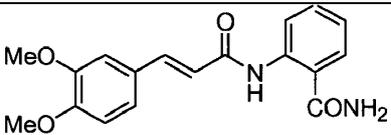
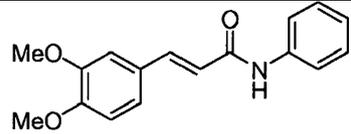
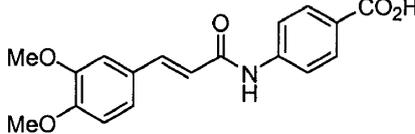
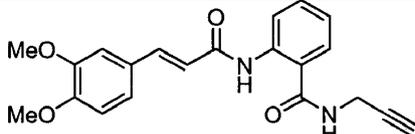
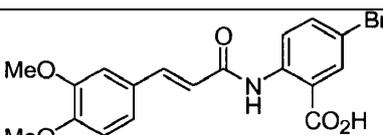
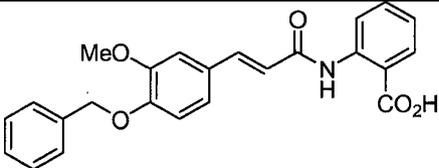
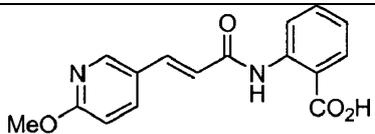
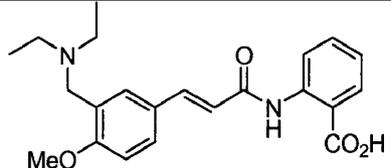
Ácido (E)-2-[[3-((dietilamino)metil)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (51)



Se añadió piperidina (97 μ l, 0,99 mmoles) a una suspensión de 3-((dietilamino)metil)-4-metoxibenzaldehído (0,22 g, 0,99 mmoles) y ácido 2-[[carboxiacetil]amino]benzoico (0,20 g, 0,90 mmoles) en tolueno (5 ml) y se trató según el Procedimiento 2, neutralizando con AcOH al 20%. El precipitado resultante se filtró y se lavó con agua proporcionando ácido (E)-2-[[3-((dietilamino)metil)-4-metoxifenil)-1-oxo-2-propenil]amino]benzoico (0,17 g, 50%) como un sólido cristalino incoloro; p.f. 202-205°C; δ_{H} (400 MHz, DMSO- d_6) 1,14 (t, $J = 7,2$ Hz, 4H, CH₂CH₃), 2,87 (q, $J = 7,2$ Hz, 6H, CH₂CH₃), 3,79 (s, 3H, OCH₃), 3,98 (s, 2H, NCH₂), 6,51 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 6,98 (t, $J_{3,4} = J_{4,5} = 8,0$ Hz, 1H, H4), 7,03 (d, $J_{5,6'} = 8,0$ Hz, 1H, H5'), 7,34 (t, $J_{4,5} = J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H5), 7,46 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H, CH=CHCO), 7,57 (dd, $J_{5,6'} = 8,0$, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1H, H6'), 7,76 (d, $J_{2,6'} = 1,6$ Hz, 1 H, H2'), 7,98 (d, $J_{3,4} = 8,0$ Hz, 1H, H3), 8,54 (d, $J_{5,6} = 8,0$ Hz, 1H, H6), 13,34 (br s, 1 H, CO₂H); δ_{C} (100 MHz, DMSO- d_6) 9,38, 46,4, 49,8, 55,6, 111,4, 118,9, 121,2, 121,5, 122,1, 126,9, 130,2, 130,8, 130,9, 139,2, 140,7, 158,8, 163,3, 169,7; HRMS (ESI) calculado para C₂₂H₂₆N₂O₄ [M+H]⁺ 383,1965, encontrado 383,1964; ν_{max} 823, 1264, 1366, 1500, 1579, 1609, 1674, 2943, 3478 cm⁻¹.

Estructuras comparativas

FT nº	Estructura	Fórmula y peso molecular
001		$C_{18}H_{17}NO_5$ 327,33
002		$C_{16}H_{13}NO_3$ 267,28
003		$C_{17}H_{15}NO_4$ 297,31
004		$C_{17}H_{15}NO_4$ 297,31
005		$C_{16}H_{13}NO_5$ 299,28
006		$C_{17}H_{15}NO_5$ 313,30
007		$C_{17}H_{15}NO_5$ 313,30
008		$C_{22}H_{19}NO_5$ 377,39
009		$C_{20}H_{21}NO_7$ 387,38
010		$C_{18}H_{19}NO_5$ 329,35

FT nº	Estructura	Fórmula y peso molecular
012		$C_{18}H_{18}N_2O_4$ 326,35
013		$C_{17}H_{17}NO_3$ 283,32
014		$C_{18}H_{17}NO_5$ 327,33
015		$C_{21}H_{20}N_2O_4$ 364,39
016		$C_{18}H_{16}BrNO_5$ 406,23
032		$C_{29}H_{28}N_6O_5$ 540,57
043		$C_{24}H_{21}NO_5$ 403,43
046		$C_{16}H_{14}N_2O_4$ 298,29
051		$C_{22}H_{26}N_2O_4$ 382,45

Estructuras de la presente invención

FT nº	Estructura	Formula y peso molecular
011		$C_{20}H_{17}NO_5$ 351,35
017		$C_{20}H_{17}NO_5$ 353,35
018		$C_{22}H_{21}NO_5$ 379,41
019		$C_{22}H_{21}NO_5$ 379,41
020		$C_{28}H_{25}N_5O_6$ 527,53
021		$C_{28}H_{25}N_5O_6$ 527,53
022		$C_{21}H_{19}NO_5$ 365,38
023		$C_{21}H_{19}NO_5$ 365,38
026		$C_{22}H_{23}NO_5$ 381,42

FT nº	Estructura	Formula y peso molecular
027		$C_{23}H_{25}NO_5$ 395,45
028		$C_{24}H_{27}NO_5$ 409,47
029		$C_{22}H_{23}NO_5$ 381,42
033		$C_{23}H_{23}NO_5$ 393,43
034		$C_{23}H_{23}NO_5$ 393,43
035		$C_{22}H_{21}NO_5$ 379,41
036		$C_{22}H_{21}NO_5$ 379,41
037		$C_{21}H_{19}NO_5$ 365,38
038		$C_{21}H_{19}NO_5$ 365,38
039		$C_{23}H_{23}NO_5$ 393,43

FT n°	Estructura	Formula y peso molecular
040		C ₂₃ H ₂₃ NO ₅ 393,43
041		C ₂₅ H ₂₇ NO ₅ 421,49
042		C ₂₅ H ₂₇ NO ₅ 421,49
044		C ₂₈ H ₂₃ NO ₅ 453,49
045		C ₂₂ H ₂₅ NO ₅ 383,44
048		C ₂₃ H ₂₆ N ₂ O ₆ 426,46
049		C ₂₃ H ₂₀ N ₂ O ₅ 404,42
050		C ₂₃ H ₂₂ N ₂ O ₆ 422,43

Ejemplo 2

Estudios de cultivos celulares – estimulación con factor de crecimiento transformante β

5 Los efectos antifibróticos de 3-metoxi-4-propargiloxibenzaldehído (FT011) en una estirpe celular renal se ensayaron midiendo la incorporación de prolina tras la estimulación con factor de crecimiento transformante β .

Se usó entre las pasadas 30 y 40 una estirpe celular mesangial clonada bien caracterizada (1097) aislada de ratas Sprague-Dawley [30]. Las células se cultivaron en medio de Eagle Modificado de Dulbecco (DME) (Invitrogen, Grand Island, NY) con suero fetal bovino (FBS) inactivado por calor, 100 u/ml de penicilina y 100 ug/ml de estreptomina, en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% a 37°C.

10 Para comparar los efectos de tranilast y FT011 sobre la producción de colágeno *in vitro*, se usó la incorporación de

5 prolina tritiada [40]. Se cultivaron en placas células mesangiales a una densidad baja en placas de cultivo de 24 pocillos en DME/5% de FBS, y se dejaron adherir toda la noche. Las células subconfluentes se privaron de alimento toda la noche en DME/0,5% de FBS y 150 mM de ácido L-ascórbico (Sigma-Aldrich). Entonces se añadió tranilast o FT011 a los pocillos, seguido 4 horas más tarde por L-[2,3,4,5-³H]-prolina, 0,5 µCi/pocillo (Amersham) y TGF-β1, 5 ng/ml (R & D systems). Las células mesangiales se cosecharon 48 horas tras la estimulación, se lavaron tres veces con PBS enfriado con hielo, y se incubaron con ácido tricloroacético al 10% (TCA) durante 30 minutos en hielo, seguido de un lavado en TCA al 10% enfriado con hielo. Las células se solubilizaron entonces en 750 µl de NaOH 1M. El recuento de centelleo se llevó a cabo en alícuotas de 500 µl de células solubilizadas neutralizadas con 500 µl de HCl 1M en 10 µl de líquido de centelleo Instagel Plus (Perkin-Elmer, Boston, MA).

10 Los datos mostrados en las Figuras 1 y 2 sugieren que, en células mesangiales renales, tanto tranilast como FT011 redujeron significativamente la incorporación de prolina desde 30 hasta 100 µM. El grado de incorporación de prolina *in vitro* está relacionado con el grado de fibrosis *in vivo*.

Ejemplo 3

15 La síntesis de la matriz se puede estimular mediante el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). En consecuencia, las células mesangiales incubadas con PDGF demostrarán incorporación de prolina, que es un indicador de la síntesis de la matriz, y de ese modo un modelo para fibrosis.

20 A fin de evaluar el efecto de FT011 sobre la síntesis de la matriz estimulada mediante PDGF, se incubaron células mesangiales (preparadas como se describe en el Ejemplo 2) con FT011 o tranilast en presencia de PDGF. Los resultados de este análisis se proporcionaron en la Figura 3. Como se muestra en la Figura 3, FT011 inhibe la síntesis de la matriz estimulada por PDGF (mostrado mediante incorporación reducida de prolina) a concentraciones de 30 y 100 µM. A concentraciones de 30 µM, FT011 es más potente reduciendo la incorporación de prolina que tranilast.

Ejemplo 4

25 La síntesis de la matriz se puede estimular tanto mediante angiotensina II o mediante factor de crecimiento transformante beta (TGF-β). En consecuencia, los fibroblastos cardíacos neonatales incubados con angiotensina II o con TGF-β demostrarán incorporación de prolina, lo que es un indicador de la síntesis de la matriz, y de este modo un modelo para fibrosis.

30 Se aislaron fibroblastos cardíacos de ratas SD neonatales (NCFs) de crías de un día con digestión enzimática. Los NCFs se purificaron mediante gradiente de percoll y se sembraron con DMEM en presencia de 1% de antibiótico/antimicótico (AB/AM) y 10% de suero fetal bovino (FBS). Los NCFs se subcultivaron entonces cuando tenían una confluencia de alrededor de 80%. Para los análisis, se usó la segunda pasada de los NCFs.

35 Los NCFs se sembraron a 25.000 células/pocillo en placas de 12 pocillos y se incubaron a 37°C y 5% de CO₂ toda la noche en DMEM con 1% de AB/AM y 10% de FBS. Las células se lavaron entonces con DMEM y después los medios se sustituyeron por DMEM/F12 con 1% de AB/AM, 0,5% de seroalbúmina bovina (BSA) y vitamina C, antes de incubarlos a 37°C y 5% de CO₂ durante 24 horas.

40 Se investigó el efecto de FT011 en fibrosis estimulada por TGF-β o por angiotensina II en los fibroblastos cardíacos de ratas SD neonatales. Como se muestra en la Figura 4, FT011 inhibió la fibrosis estimulada por TGF-β (indicado mediante la incorporación de prolina) en fibroblastos cardíacos neonatales de ratas. Como se muestra en la Figura 3, FT011 inhibió la fibrosis estimulada por angiotensina II (indicado por la incorporación de prolina) en fibroblastos cardíacos neonatales.

Ejemplo 5

Compuestos de FT en células mesangiales renales, y fibroblastos cardíacos neonatales

Metodología

Incorporación de prolina:

45 Una estirpe celular mesangial clonada bien caracterizada de rata [30] (regalo de D Nikolic-Patterson) se cultivó en DMEM con FBS, 100 U/ml de penicilina, y 100 µg/ml de estreptomycin en una atmósfera de 5% de CO₂ humidificada a 37°C. Las células se colocaron en cápsulas de cultivo de 24 pocillos en DMEM/10% de FBS a baja densidad, y se dejaron adherir toda la noche. Las células se usaron entre las pasadas 20 y 40. Las células subconfluentes se privaron de alimento toda la noche en DMEM/0,1% de FBS que contiene 150 µM de ácido L-ascórbico, antes de 4 horas de pretratamiento con o sin tranilast o los compuestos de FT, seguido de la adición de 5 ng/ml de rhTGF-β₁ (R&D Systems) y 1 µCi/ml de L-(2,3,4,5-³H)-prolina. Los pocillos de control tienen los compuestos pero no se les añaden TGF-β₁. Las células se incubaron durante otras 44 horas, tiempo durante el cual se monitorizó visualmente su aspecto. Las células se lavaron entonces tres veces en PBS enfriado con hielo, dos veces en TCA al 10% enfriado con hielo, y se solubilizaron en 750 µl de NaOH 1 M durante 45 minutos a 37°C, o

toda la noche a 4°C. Una alícuota de 500 ul se neutralizó con 500 ul de HCl 1 M, y se añadieron 10 ml de fluido de centelleo (Instagel Plus - Perkin-Elmer). Los recuentos se realizan en un contador beta.

5 Para normalizar los recuentos de la incorporación de prolina para tener en cuenta los efectos proliferativos de TGF-β₁, se llevó a cabo un ensayo de proteína de BioRad en una alícuota de 100-150 ul de las células solubilizadas que quedan. La muestra se neutralizó con una cantidad igual de HCl 1 M antes del ensayo. Los patrones de BSA usados para construir la curva patrón tienen la misma cantidad de NaOH 1 M y HCl 1 M añadida como está presente en las muestras para el ensayo.

10 La concentración de prolina se expresa como cpm/ug de proteína. A fin de comparar los resultados entre ensayos, la incorporación se expresa como porcentaje de reducción de incorporación de prolina estimulada por TGF, en el que TGF solo da una reducción de 0%, y el control cero da una reducción de 100%.

Ensayo de MTT:

15 Se colocaron células mesangiales a 15000 células por pocillo en cápsulas de cultivo de 96 pocillos en DMEM/10% de FBS, y se dejó que se adhiriesen toda la noche. Las células subconfluentes se privaron de alimento toda la noche en DMEM/0,1% de FBS, antes de 4 horas de pretratamiento con o sin tranilast o los compuestos de FT. Tras la adición de 5 ng/ml de rhTGF-β₁, las células se incubaron en una atmósfera de 5% de CO₂ humidificada a 37°C durante 44 horas. Los pocillos de control tenían los compuestos pero no se les añadieron TGF-β₁. El medio de cultivo se eliminó de cada pocillo y se añadieron a cada pocillo 100 ul de MTT (0,5 mg/ml) en medio de privación de alimento. Las placas se incubaron durante otras 4 horas a 37°C. El medio de cultivo se retiró entonces y se sustituyó por 100 μl de isopropanol y se incubó a 37°C durante 20 a 30 minutos, hasta que se disolvieron los cristales de azul formazano. La absorbancia se midió a una longitud de onda de 570 nm, con resta del fondo de 690 nm.

20 Los compuestos en **negrita** tienen efecto mínimo sobre el aspecto y viabilidad celular.

El resultado de MTT suprimido indica viabilidad celular reducida.

Análogo	Fórmula Peso molecular	% de reducción de inc. de prolina estimada por TGF-β	Ensayo de células mesangiales Síntesis de colágeno inducida por TGF-β	Efecto sobre el aspecto de las células mesangiales	Ensayo de MTT de células mesangiales TGF-β
1	Tranilast C ₁₈ H ₁₇ NO ₅ 327,33	~20-50% a 30 μM 50-70% a 100 μM	=T	OK, cierto estrés a 100 μM	
11	C ₂₀ H ₁₇ NO ₅ 351,35	15% a 3 μM 20-50% a 10 μM 50-75% a 30 μM 60-100% a 100 μM	>T	OK, cierto estrés a 100 μM	
16	C ₁₈ H ₁₆ BrNO ₅ 406,23	~20% a 3 μM ~50% a 10 μM	>>FT1	OK, se elevan a 10 μM	Suprimido a 30 μM
17	C ₂₀ H ₁₇ NO ₅ 353,35	~20-50% a 10 μM ~55% a 30 μM	>=FT11	OK	OK
18	C ₂₂ H ₂₁ NO ₅ 379,41	~55% a 3 μM ~70% a 10 μM	>>FT11	OK, se elevan a 30 μM	OK
19	C ₂₂ H ₂₁ NO ₅ 379,41	~80% a 10 μM 100% a 30 μM	>FT11	Algunas muertes al crecer la concentración	OK
23	C ₂₁ H ₁₉ NO ₅ 365,38	~12% a 3 μM, 30-60% a 10 μM 70-80% a 30 μM ~80% a 100 μM	>=FT11	OK, cierto estrés a 100 μM	OK
26	C ₂₂ H ₂₃ NO ₅ 381,42	~13% a 1 μM 30% a 3 μM 85% a 10 μM, 93% a 30 μM	>FT11	OK, escasas a 30 μM, se elevan a 100 μM	OK
27	C ₂₃ H ₂₅ NO ₅ 395,45	~18% a 1 μM 40% a 3 μM 75-90% a 10 μM	>FT11	Escasas a 10 μM, enfermas a 30 μM, se elevan a 100 μM	Suprimido a 30 μM
29	C ₂₂ H ₂₃ NO ₅ 381,42	~8% a 1 μM 40% a 3 μM ~90% a 10 μM	>FT11	Escasas a 10 y 30 μM Estresadas a 30 y 100 μM	Suprimido a 30 μM

ES 2 505 318 T3

33	C ₂₃ H ₂₃ NO ₅ 393,437	~15% a 1 μM 40% a 3 μM 60% a 10 μM 80% a 30 μM	>FT11	Mal aspecto a 30 μM	Muy suprimido a 10 μM
34	C ₂₃ H ₂₃ NO ₅ 393,437	~80% a 10 μM 94% a 30 μM	>FT11	Mal aspecto a 30 μM	Suprimido a 30 μM
35	C ₂₂ H ₂₁ NO ₅ 379,41	~25% a 3 μM 50% a 10 μM 60-100% a 30 μM	=>FT11	Mal aspecto a 30 μM	Suprimido a 10 μM
36	C ₂₂ H ₂₁ NO ₅ 379,41	~50% a 10 μM 80% a 30 μM	=>FT11	Cristales o células muertas a 30 μM	Muy suprimido a 30 μM
39	C ₂₃ H ₂₃ NO ₅ 393,43	~70% a 10 μM 100% a 30 μM	>FT11	Mal aspecto a 30 μM	OK
40	C ₂₃ H ₂₃ NO ₅ 393,43	~70% a 10 μM 100% a 30 μM	>FT11	OK, muertas a 100 μM	OK

Células mesangiales

Derivados para el análisis de la actividad de estructura (26/02/07): (NT = no ensayado)

Obsérvese que el resultado de MTT suprimido indica viabilidad celular reducida

Análogo	Fórmula Peso molecular	% de reducción de inc. de prolina estimulada por TGF	Ensayo de células mesangiales Síntesis de colágeno inducida por TGF-β	Efecto sobre el aspecto de las células mesangiales	Ensayo de MTT de células mesangiales TGF-β
2	C ₁₆ H ₁₃ NO ₃ 267,28		«T	OK	NT
3	C ₁₇ H ₁₅ NO ₄ 297,31		«T	OK	NT
4	C ₁₇ H ₁₅ NO ₄ 297,31		«T	OK	NT
5	C ₁₆ H ₁₃ NO ₅ 299,28		Puede ser tóxico	Células con mal aspecto y escasas	NT
6	C ₁₇ H ₁₅ NO ₅ 313,30	20% a 10 μM 45% a 50 μM	<=T	OK	NT
7	C ₁₇ H ₁₅ NO ₅ 313,30	~50% a 10 μM 80% a 50 μM	> o =T	Células estresadas	NT
8	C ₂₂ H ₁₉ NO ₅ 377,39		Tóxico	Muy vacuoladas	NT
9	C ₂₀ H ₂₁ NO ₇ 387,38		«T		NT
10	C ₁₈ H ₁₉ NO ₅ 329,35		«T		NT
12	C ₁₈ H ₁₈ N ₂ O ₄ 326,35	~13% a 10 μM 20% a 30 μM 36% a 100 μM	<FT11	OK, células escasas a 100 μM	NT
13	C ₁₇ H ₁₇ NO ₃ 283,32	~20% a 30 μM ~55% a 100 μM	<FT11	OK, células escasas a 100 μM	NT
14	C ₁₈ H ₁₇ NO ₅ 327,33	~30% a 100 μM	<FT11	OK	NT
15	C ₂₁ H ₂₀ N ₂ O ₄ 364,39	~24% a 10 μM 36% a 30 μM 75% a 100 μM	<FT11	OK, células escasas a 30 y 100 μM	NT
20	C ₂₈ H ₂₅ N ₅ O ₆ 527,53	30% a 10 μM 50% a 30 μM 90% a 100 μM	=FT11	OK, muertas a 100 μM	OK
21	C ₂₈ H ₂₅ N ₅ O ₆ 527,53	-20% a 10 μM ~65% a 30 μM	=FT11	OK, necróticas a 100 μM	Suprimido a 30 μM

Análogo	Fórmula Peso molecular	% de reducción de inc. de prolina estimulada por TGF	Ensayo de células mesangiales Síntesis de colágeno inducida por TGF-β	Efecto sobre el aspecto de las células mesangiales	Ensayo de MTT de células mesangiales TGF-β
22	C ₂₁ H ₁₉ NO ₅ 365,38	~37% a 3 μM 56% a 10 μM ~70% a 30 μM	=FT11	OK, muertas a 100 μM	OK
24	C ₃₉ H ₄₂ N ₆ O ₈ 722,79	~44% a 10 μM 68% a 30 μM	=FT11	OK, muertas a 100 μM	NT
25	C ₃₈ H ₄₂ N ₆ O ₇ S 726,84	~70% a 10 μM	=FT11	"disueltas" a 30 μM	NT
28	C ₂₄ H ₂₇ NO ₅ 409,47	~40% a 10 μM 173% a 30 μM	<FT11	Estresadas a 30 μM, Muertas a 100 μM	mortalmente a 10 μM
30	C ₄₀ H ₄₅ N ₇ O ₇ 735,83	~28% a 10 μM 50-70% a 30 μM	Tóxico	Muertas a 30 μM	NT
31	C ₃₉ H ₄₅ N ₇ O ₆ S 739,88	~50% a 10 μM	Tóxico	Muertas a 30 μM	NT
32	C ₂₉ H ₂₈ N ₆ O ₅ 540,57	~26% a 10 μM 62% a 30 μM	Tóxico	Muertas	NT
37	C ₂₁ H ₁₉ NO ₅ 365,38	~50% a 10 μM 70% a 30 μM	=FT11	Algunas muertas a 100 μM	OK
38	C ₂₁ H ₁₉ NO ₅ 365,38	~40% a 10 μM 65% a 30 μM	=FT11	Algunas muertas a 100 μM	OK
41	C ₂₅ H ₂₇ NO ₅ 421,49		Tóxico	Células dañadas a todas las concentraciones	NT
42	C ₂₅ H ₂₇ NO ₅ 421,49		Toxic	Células dañadas a todas las concentraciones	NT
43	C ₂₄ H ₂₁ NO ₅ 403,43	48% a 10 μM 70% a 30 μM		Enfermas a 30 y 100 μM	NT
44	C ₂₈ H ₂₃ NO ₅ 453,49		Toxic	Células dañadas a todas las concentraciones	NT
45	C ₂₂ H ₂₅ NO ₅ 383,44	80% a 10 μM 142% a 30 μM	>FT11	Células dañadas a 100 μM	NT
46	C ₁₆ H ₁₄ NO ₄ 298,29		<<FT11	OK	NT

Ejemplo 6

Métodos

Cardiomiocitos de rata neonatales y cultivos de fibroblastos

- 5 Se aislaron miocitos cardíacos neonatales (NCMs) y fibroblastos neonatales (NCFs) de ratas SD a partir de crías de un día con digestión enzimática como se describe previamente con detalle [20, 21]. Los NCFs se sembraron y se mantuvieron en medio de Eagle Modificado de Dulbecco (DMEM) con glucosa elevada (25 mmoles/l) (Invitrogen Mount Waverley, Vic, Australia) en presencia de 1% de antibiótico/antimicótico (AB/AM) y 10% de suero fetal bovino (FBS) (JRH biosciences, Kansas, USA). Los NCFs se usaron en la pasada 2 [31]. Los NCMs purificados se sembraron (1000 células/mm²) en placas de 6 pocillos y después se mantuvieron en DMEM libre de suero (Invitrogen, NY, USA) suplementado con insulina y transferrina como se describe previamente (4). Durante los primeros 3 días se incluyó bromodesoxiuridina. Se añadió KCl 50 mmoles/l al medio para prevenir la contracción espontánea característica de los NCMs colocados en placas [32].

Medida de hipertrofia de cardiomiocitos de ratas neonatales

- 15 Se llevaron a cabo estudios de hipertrofia de NCM como se describe previamente [22]. Cuatro horas después del tratamiento con los compuestos (diversas concentraciones desde 1 hasta 30 μM), se usó ANG II (10⁻⁷ moles/l) para estimular la hipertrofia. Después de 60 horas de estimulación, las células se cosecharon, y la hipertrofia se definió como un incremento significativo en el contenido proteico (ensayo de Bradford) en ausencia de cualquier cambio significativo en el contenido de ADN (ensayo de Burton) [33].

Medida de la síntesis y proliferación de colágeno y de la viabilidad celular en fibroblastos cardíacos de ratas neonatales

5 Se llevaron a cabo ensayos de síntesis de colágeno de NCFs como se describe previamente [31]. De forma breve, los NCFs se colocaron a una densidad de 50.000 células/pocillo en una placa de 12 pocillos y se incubaron toda la noche. Los NCFs se privaron entonces de alimento en el suero durante 24 horas en DMEM con contenido elevado de glucosa. Las células se preincubaron entonces durante 30 min. en presencia o ausencia de compuestos (1 a 30 μ M) en DMEM/F12 reciente antes de la estimulación con 2×10^{-10} moles/l de TGF- β_1 o 10^{-7} moles/l de ANG II.

10 Para la síntesis de colágeno, se añadió 1 μ Ci de [3 H]-prolina a cada pocillo y se incubó durante 48 horas adicionales antes de la cosecha. Las células se cosecharon mediante precipitación con TCA al 10% en hielo durante 30 min., antes de la solubilización con 0,75 ml de NaOH 1 mol/l toda la noche a 4°C. Las muestras se neutralizaron entonces con HCl 1 mol/l, y se contó el nivel de 3 H con 10 ml de fluido de centelleo en un contador beta, para determinar la incorporación de [3 H]-prolina.

15 Para estudios de proliferación, los NCFs se trataron con 1 mCi de [3 H]-timidina añadida a cada pocillo 2 horas antes de la cosecha. Las células se cosecharon mediante precipitación con TCA como se describe para la síntesis de colágeno anteriormente, determinando la incorporación de [3 H]-timidina.

RESULTADOS

Fibroblastos cardíacos neonatales

Análogo	Fórmula Peso molecular	Síntesis de colágeno inducida por TGF- β de NCFs
1	Tranilast C ₁₈ H ₁₇ NO ₅ 327,33	NT
11	C ₂₀ H ₁₇ NO ₅ 351,35	32% a 30 μ M 87% a 100 μ M
17	C ₂₀ H ₁₇ NO ₅ 353,35	~70% a 30 μ M
26	C ₂₂ H ₂₃ NO ₅ 381,42	28% a 10 μ M
29	C ₂₂ H ₂₃ NO ₅ 381,42	10% a 10 μ M 25% a 30 μ M

Ejemplo 7

20 Tratamiento con FT011 tras infarto de miocardio o nefropatía diabética

FT011 es antiinflamatorio y antifibrótico

Métodos

Animales

25 Los estudios con animales se realizaron con la aprobación del Comité del Bienestar Animal y Ética del Hospital St Vincent y el National Health and Medical Research Foundation de Australia. Todas las ratas recibieron comida normal para ratas (Certified Rodent Diet #5002, LabDiet, USA) y agua para beber a *voluntad*. Todos los animales se alojaron en un medio estable mantenido a $22 \pm 1^\circ\text{C}$, con un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas que comienza a 6 am.

Estudio piloto (evaluación de la toxicidad)

30 Un total de veinte ratas Sprague-Dawley (SD) macho, que pesan 200-250 g se distribuyeron al azar en FT011 (Fibrotech Therapeutics Pty Ltd, Melbourne, Australia) o tranilast (Pharm Chemical, Shanghai Lansheng Corporation, China) a la dosis de 50 mg, 100 mg, 200 mg y 400 mg/kg/día mediante sonda nasogástrica dos veces al día (n = 2-3 por grupo). A un grupo de animales de control se les administró vehículo (1% de carboximetilcelulosa) mediante sonda nasogástrica. El estudio se llevó a cabo durante 2 semanas. Los animales se sangraron diariamente a una, cuatro, y ocho horas tras la sonda nasogástrica oral, para medir la concentración plasmática. También se recogió suero, para evaluar la función renal y hepática al final del estudio (creatina plasmática y urato, ALT y bilirrubina). Las ratas se alojaron individualmente en jaulas metabólicas al final del estudio, se habituaron durante 2 a 3 horas, y se recogió orina a lo largo de 24 horas. Los animales continuaron teniendo acceso libre a agua del grifo y a comida estándar de laboratorio durante este período. Los ensayos de bioquímica se realizaron en el Departamento de Patología, Hospital de St Vincent. Los órganos principales, que incluyen pulmón, corazón, hígado, bazo y riñón, se recogieron y se fijaron mediante inmersión con formalina tamponada neutra al 10% y después se embebieron en parafina para el examen subsiguiente con el microscopio óptico.

Ratas con infarto de miocardio

5 Cuarenta ratas SD macho, que pesan 200-250 g, se distribuyeron al azar en dos grupos de 20 animales que se sometieron cada uno a cirugía. La anestesia se logró con 3% de isoflurano/97% de oxígeno en un volumen corriente de 1 ml/100 g de peso corporal, a una velocidad de 72 respiraciones/minuto. Veinte ratas sufrieron ligación de la

10 arteria coronaria descendente anterior izquierda (LAD) para inducir infarto de miocardio (MI) anterior. De forma breve, la cirugía se llevó a cabo en condiciones asépticas sobre una mesa calefactada (37°C) para mantener el calor corporal durante el transcurso del procedimiento. El pecho se limpió con una gasa con clorhexidina en etanol al 70%, para desinfectar el área. Se realizó una incisión en la piel a la izquierda del esternón, y las capas de músculo subyacentes se disecaron mediante disección roma. Se llevó a cabo una toracotomía a través del cuarto a quinto

15 espacio intercostal, y las costillas se mantuvieron abiertas usando retractores para permitir el acceso al corazón. El saco pericárdico que rodea al corazón se abrió mediante rasgado, y se usó una sutura de prolono 6-0 para ligar la LAD inmediatamente. La palidez visible y la hipocinesia de la pared anterior del ventrículo izquierdo, y el hinchamiento de la aurícula izquierda, son indicativos de ligación exitosa. Los grupos de control (impostor + vehículo, impostor + FT011) sufrieron una operación simulada que consiste en el mismo procedimiento excepto que la sutura se hizo pasar a través del miocardio por debajo de la LAD sin ligación [34].

20 Se llevó a cabo una ecocardiografía en todos los animales 2 días tras la cirugía, y se realizó al azar a los grupos simulado y MI. Los animales se volvieron a distribuir al azar en el día 7 tras la cirugía (10 animales cada uno) para recibir: vehículo o FT011 (10 mg/kg dos veces al día mediante sonda nasogástrica). Cada semana, se determinó la tensión sanguínea sistólica (SBP) en ratas conscientes previamente calentadas vía pletismografía mediante manguito en la cola usando un controlador de tensión arterial no invasivo (NIBP) y Powerlab (AD instruments, NSW, Australia). La función cardíaca se evaluó mediante ecocardiografía y cateterización cardíaca antes del sacrificio en el día 35 tras la cirugía para todos los animales [34].

Ratas diabéticas (mRen-2)²⁷

25 Cuarenta ratas (mRen-2)²⁷ heterocigotas, hembras, de seis semanas (St. Vincent's Hospital Animal House, Melbourne, Australia) se asignaron para recibir 55 mg/kg de STZ (Sigma, St. Louis, USA) diluida en tampón de citrato 0,1 M, pH 4,5, o tampón de citrato solo (no diabético) mediante inyección en la vena de la cola tras un ayuno durante toda la noche. Los grupos de control y diabético se distribuyeron entonces cada uno al azar en 2 grupos (n = 10), que recibieron tratamiento con: el FT011 (100 mg/kg dos veces al día mediante sonda nasogástrica Fibrotech Therapeutics Pty Ltd, Melbourne, Australia), o sin tratamiento durante 16 semanas. El tratamiento comenzó a las 24

30 horas de la inyección de STZ o de tampón de citrato. Cada semana, las ratas se pesaron, y se midieron sus niveles de glucosa en sangre (monitor de glucosa en sangre Accu-check Advantage II, Roche Diagnostics, USA), y sólo los animales tratados con STZ con glucosa en sangre >15 mmoles/l fueron considerados diabéticos. Cada 4 semanas, se determinó la tensión arterial sistólica (SBP) en ratas conscientes previamente calentadas vía pletismografía mediante manguito en la cola usando un controlador de tensión arterial no invasivo (NIBP) y Powerlab (AD instruments, NSW, Australia). Se midió la hemoglobina A1c (HbA1c) mediante HPLC al final del estudio. Las ratas

35 diabéticas recibieron una inyección diaria de insulina (2-4 unidades, intraperitonealmente; Humulin NPH, Eli Lilly and Co., Indianápolis, IN) para reducir la mortalidad y promover la ganancia de peso [37, 39].

Función cardíaca

Ecocardiografía

40 La ecocardiografía, que incluye examen Doppler, se llevó a cabo usando un ecocardiógrafo Vivid 7 Dimension (GE Vingmed, Horten, Noruega) con una sonda de conjunto en fase de 10 MHz. Los datos electrocardiográficos se adquirieron simultáneamente. La diástole final se define como el pico de la onda R, y la sístole final se define como el extremo de la onda T.

45 Los animales se anestesiaron con inyección i.p. de pentobarbital sódico 60 mg/kg. Los animales sufrieron interrogación ecocardiográfica en la posición reclinada izquierda. La ecocardiografía en modo M se llevó a cabo usando una vista en el eje corto paraesternal a nivel de los músculos papilares. Durante la diástole (d) y la sístole (s) se obtuvieron los grososres de la pared posterior ventricular izquierda (LVPW) y de la pared anterior ventricular izquierda (LVAW), como también se obtuvo el diámetro interno ventricular izquierdo en la diástole final (LVIDd) y la sístole final (LVIDs). A partir de la vista en el eje corto paraesternal, se midieron las áreas del conjunto de sangre de

50 sección transversal diastólica final y sistólica final. Entonces se calculó el cambio de área fraccional (FAC) según la fórmula:

$$\text{FAC} = [(\text{área diastólica final} - \text{área sistólica final}) / \text{área diastólica final}] * 100$$

55 La vista apical de 4 cámaras se usó para evaluar la velocidad de flujo diastólico pico transmitral temprano y tardío (ondas E y A), usando Doppler de onda pulsada con un volumen de muestra de 2 mm colocado en las puntas de las valvas de la válvula mitral. Todos los espectros Doppler se registraron para 10 ciclos cardíacos a una velocidad de barrido de 200 mm/s. Todos los parámetros se evaluaron usando un promedio de tres latidos, y los cálculos se realizaron según las directrices de la American Society of Echocardiography [41]. Todos los datos se adquirieron y analizaron mediante un único observador a ciegas, usando un procesamiento fuera de línea EchoPAC (GE

Vingmed).

Cateterización cardíaca

Tras la ecocardiografía, los animales se colocaron en una almohadilla calefactora (37°C), se intubaron usando un catéter de calibre 14, y se ventilaron usando presión positiva con un volumen corriente de 10% de peso corporal, a 70 respiraciones por minuto, usando aire ambiente. Los animales se aseguraron en una posición reclinada, y la vena yugular derecha se canuló con NaCl al 0,9% infundida a 100 µl por hora. La presión se calibró después de calentar el catéter (Modelo SPR-838 Millar instruments, Houston, TX) en NaCl al 0,9% a 37°C durante 30 minutos. Entonces se identificó la carótida interna derecha y se ligó cranealmente. Se insertó en la arteria carótida un micromanómetro con catéter de conductancia combinado miniaturizado 2F para obtener la tensión arterial aórtica, y después se hizo avanzar el ventrículo izquierdo hasta que se obtuvieron bucles estables de presión-volumen (PV). Entonces se abrió el abdomen y se identificaron la vena cava inferior y la vena porta. Se colocaron bridas elásticas alrededor de estos vasos para permitir una rápida reducción en la precarga cardíaca. Todos los bucles se obtuvieron con el ventilador apagado durante 5-10 segundos y estando el animal apneico.

Usando los datos de conductancia de presión, se calcularon entonces los parámetros funcionales (software de análisis Millar PVAN 3.4). Éstos incluyeron la pendiente de la relación presión-volumen diastólica final (EDPVR) y la pendiente de la relación de trabajo sistólico de precarga reclutable (PRSW), definido como la relación entre el trabajo sistólico y el volumen diastólico final, en el que el trabajo sistólico es el área del bucle presión-volumen para cada latido.

Función renal

Las ratas se alojaron individualmente en jaulas metabólicas a 4, 8, 12 y 16 semanas, se habituaron durante 2 a 3 horas, y se recogió orina a lo largo de 24 horas. Los animales continuaron teniendo acceso libre a agua del grifo y a comida estándar de laboratorio durante este período. Después de 24 horas en jaulas metabólicas, se recogió una alícuota de orina (5 ml) a partir de la muestra de orina de 24 horas, y se almacenó a -70°C para el análisis posterior de albúmina mediante radioinmunoensayo, como se llevó a cabo previamente [36]. Antes del sacrificio, se determinó la velocidad de filtración glomerular (GFR) inyectando un único disparo de 99Tc-DTPA en la vena de la cola y tomando muestras de sangre después de 43 minutos, como se describió previamente [37].

Preparación tisular

Las ratas se anestesiaron (Nembutal 60 mg/kg de peso corporal i.p. Boehringer-Ingelheim, Australia). Se separaron los pulmones, ventrículo izquierdo (LV), ventrículo derecho (RV) y las aurículas, se secaron una vez y se pesaron, el LV se seccionó entonces inmediatamente y el tejido se congeló reciente, se almacenó congelado en OCT, o se fijó en formalina tamponada neutra. Los riñones se extirparon, se les retiró la cápsula, se rebanaron transversalmente, la mitad del riñón se congeló instantáneamente para el ensayo de ARN tisular y la otra mitad se fijó mediante inmersión con formalina y se embebió en parafina para la evaluación subsiguiente con microscopio óptico.

Histopatología e inmunohistoquímica

Los cambios histopatológicos en el riñón y corazón se evaluaron en un protocolo enmascarado. Se tiñeron secciones con hematoxilina y eosina (H y E), tinción con ácido peryódico de Schiff (PAS), rojo picrosirius y/o tricromo modificado de Masson, para demostrar matriz colagenosa.

Tamaño del infarto

Los portaobjetos de corazón teñidos con rojo de picrosirius se examinaron en microscopio óptico y se digitalizaron, después se analizaron usando análisis de imágenes (AIS, Analytical imaging station versión 6.0, Ontario, Canadá). Los tamaños del infarto se evaluaron morfológicamente y se calcularon como la relación de circunferencias del endocardio y el epicardio a las circunferencias promedio de LV del endocardio y el epicardio, como se describió previamente.

Índice glomeruloesclerótico

En secciones de ratón de 4 µm teñidas con PAS, se examinaron 150 a 200 glomérulos procedentes de ratas en un protocolo enmascarado. El grado de esclerosis en cada glomérulo se graduó subjetivamente en una escala de 0 a 4, como se describió previamente [39], con Grado 0, normal; Grado 1, área esclerótica hasta 25% (mínima); Grado 2, área esclerótica 25-50% (moderada); Grado 3, área esclerótica 50-75% (moderada a grave), y Grado 4, área esclerótica 75-100% (grave). Entonces se calculó un índice glomeruloesclerótico (GSI) usando la Fórmula (4):

$$GSI = \sum_{i=0} F_i (i)$$

$$i=0$$

en la que F_i es el % de los glomérulos en la rata con una puntuación (i) dada.

Cuantificación de la deposición de la matriz

Para examinar la deposición de la matriz extracelular en el corazón, se tiñeron secciones con rojo picrosirius, y entonces se cuantificó la acumulación de matriz dentro de la zona sin infarto (NIZ) usando una modificación de la técnica descrita por Lal et al. (Lal et al., 2004), de una manera a ciegas. De forma breve, se capturaron digitalmente 5 secciones teñidas al azar procedentes del ventrículo izquierdo medio, y después se cargaron en un ordenador Pentium III IBM. Para aislar la NIZ del infarto y de la zona de periinfarto, se excluyeron el infarto y una zona de 2 mm en cualquier lado de él. Para evaluar la fibrosis tubulointerstitial en riñón, se tiñeron secciones con tricromo de Masson modificado. De forma breve, se capturaron 5 campos no solapantes al azar procedentes de 10 ratas por grupo y se digitalizaron usando un microscopio BX50 unido a una cámara digital Fujix HC5000. Las imágenes digitales se cargaron entonces en un ordenador Pentium III IBM como se describe anteriormente. Para determinar el intervalo de color, se seleccionó un área de rojo en el corazón y azul en el riñón en la sección teñida con rojo de picrosirius y con tricromo, respectivamente, y entonces se cuantificó el área proporcional de tejido con este intervalo de color. El cálculo del área proporcional teñida de rojo y azul (matriz) se determinó entonces usando análisis de imágenes (AIS, Analytical imaging Station Versión 6.0, Ontario, Canadá) [37, 39].

15 Inmunohistoquímica

Colágeno subtipos I y III

Los subtipos I y III de colágeno se evaluaron en el corazón usando anticuerpo anti-colágeno I (Southern Biotechnology Associates, Inc. Birmingham, AL 35226 USA) y III (Biogenex, San Ramon Cal, 94583 USA) de cabra y de ratón. De forma breve, se colocaron secciones de cuatro micrómetros en histosol para eliminar la cera de parafina, se rehidrataron en etanol graduado, y se sumergieron en agua del grifo antes de incubarlas durante 20 minutos con suero de cabra normal (NGS) diluido 1:10 con PBS 0,1 moles/l, pH 7,4. Se incubaron secciones con anticuerpos primarios respectivos toda la noche (18 horas) a 4°C. Al día siguiente, las secciones se lavaron a conciencia en PBS (cambios 3 x 5 minutos), se incubaron con peróxido de hidrógeno al 3% durante 10 minutos para bloquear el peróxido endógeno, después se aclararon con PBS (2 x 5 min.), y se incubaron con anticuerpo anti-IgG de cabra de cerdo o anti-IgG de ratón de cabra (DAKO, Carpinteria CA), diluido 1:200 con PBS. Las secciones se aclararon entonces con PBS (2 x 5 min.) seguido de la incubación con un complejo de peroxidasa con avidina-biotina (Vector, Burlingame, CA), diluido 1:200 con PBS. Tras el aclarado con PBS (2 x 5 min.), la localización de los conjugados de peroxidasa se logró usando tetrahidrocloruro de diaminobencidina como cromógeno, durante 1-3 minutos. Las secciones se aclararon en agua del grifo durante 5 minutos para detener la reacción y después se contratiñeron en hematoxilina de Mayer, se diferenciaron en agua del grifo de Scott, se deshidrataron, se aclararon y se montaron en Depex. Las secciones incubadas con 1:10 de NGS, en lugar del antisero primario, sirvieron como los controles negativos. La acumulación de la inmunotinción para colágeno I y III se cuantificó usando análisis de imágenes asistido por ordenador. De forma breve, se capturaron 10 campos no solapantes al azar procedentes de 10 ratas por grupo y se digitalizaron como se describe anteriormente. Para sus intervalos de color, se seleccionó un área de marrón en las secciones inmunoteñidas (colágeno I y III). Para corregir la variación debido a la contracción, se determinó el área de inmunotinción positiva (colágeno/tejido del área) con respecto al área total (matriz + miocitos) usando análisis de imágenes asistido por ordenador (AIS, Analytical imaging Station Versión 6.0, Ontario, Canadá), como se da a conocer previamente [40].

Macrófagos

Se colocaron secciones de corazón de cuatro micrómetros en histosol para eliminar la cera de parafina, se hidrataron en etanol graduado y se sumergieron en agua del grifo antes de incubarlas durante 20 minutos con suero de cabra normal (NGS) diluido 1:10 con PBS 0,1 M a pH 7,4. Las secciones se incubaron entonces durante 18 horas a 4°C con un marcador de macrófagos de rata monoclonal primario específico (ED-1, 1:200 Serotec, Raleigh NC, USA). El número de macrófagos se estimó contando el número de macrófagos en 10 campos bajo un microscopio óptico con un poder x200 por animal de cada grupo (n = 10 por grupo), y se expresó como números por campo [38].

Estadística

Los datos se expresan como medias \pm sem, excepto que se señale de otro modo. La significancia estadística se determinó mediante ANOVA de dos vías con una comparación post-hoc de Fishers. La albuminuria se distribuyó de forma sesgada y se analizó siguiendo la transformación logarítmica, y se presenta como media geométrica \times/\div factores de tolerancia. Los análisis se llevaron a cabo usando el paquete Statview II + Graphics (Abacus Concepts, Berkeley, California) en un ordenador Apple Macintosh G4 (Apple Computer, Inc., Cupertino, California). Un valor p <0,05 fue considerado como estadísticamente significativo.

Resultados

Estudio piloto de FT011 (evaluación de la toxicidad)

55 En el estudio piloto *in vivo* no hubo cambio en el peso corporal entre todos los grupos de animales (Tabla 1). Los niveles plasmáticos de creatinina y urato, ALT y bilirrubina fueron similares a las ratas del control a todas las dosis (Tabla 1). Tras la sonda nasogástrica de FT011, el nivel de FT011 medido en plasma aumentó de una manera

dependiente de la dosis (Figura 1). También se midió un nivel significativo de FT011 en la orina de ratas tratadas con FT011 (Figura 2).

Tabla 1. Parámetros bioquímicos plasmáticos de ratas SD

Grupo	Peso corporal (Gramo)	Creatinina plasmática (umol/l)	Urato plasmático (mmol/l)	ALT	Bilirrubina (mmol/l)
Control	291 ± 11	39 ± 2,7	<0,09	42 ± 2	1,8 ± 0,16
Tranilast 50mg/kg/día	315 ± 19	43 ± 0,5	<0,09	40,5 ± 4,5	2 ± 0
FT011 50mg/kg/día	313 ± 24	38 ± 2	<0,09	41 ± 1	1 ± 0
Tranilast 100mg/kg/día	298 ± 21	43 ± 3,5	<0,09	41 ± 1	2 ± 0
FT011 100mg/kg/día	308 ± 22	39 ± 0,5	<0,09	44 ± 2	1,5 ± 0,5
Tranilast 200mg/kg/día	293 ± 10	45 ± 1	<0,09	41 ± 4,6	2,33 ± 0,33
FT011 200mg/kg/día	301 ± 8	37 ± 0,6	<0,09	36 ± 0,5	1,33 ± 0,33
Tranilast 400mg/kg/día	314 ± 13	49 ± 7,8	<0,09	40 ± 5	1,66 ± 0,33
FT011 400mg/kg/día	264 ± 29	36 ± 3,9	<0,09	32 ± 4,4	1,66 ± 0,33

5 Post-infarto miocárdico en ratas tratadas con FT011

Características de los animales

En el post-infarto de miocardio de ratas, RV y la relación pulmón:peso corporal aumentó. El incremento en la relación pulmón:peso corporal, un marcador de edema pulmonar como consecuencia de insuficiencia cardíaca izquierda, se redujo significativamente con el tratamiento con FT011 (Tabla 2).

10

Tabla 2. Parámetros de animales de ratas SD

Grupo	BW (g)	LV/BW	RV/BW	Lung/BW
Impostora	378±11	0,19±0,004	0,04±0,001	0,33±0,015
Impostora + Vehículo	377±6	0,2±0,003	0,045±0,001	0,27±0,045
MI + Vehículo	424±6*	0,21±0,003	0,056±0,001*	0,39±0,016*
MI + FT011	382±6	0,22±0,004	0,048±0,002	0,32±0,011 [#]

*P< 0,05 frente a impostora y #p <0,05 frente a MI + Vehículo.

Estructura cardíaca

El tamaño del infarto de miocardio fue similar en los grupos de MI tratados y no tratados (Figura 23; $P = 0,36$). En comparación con ratas impostoras, las ratas con MI presentaron fibrosis intersticial incrementada como se evidencia por la tinción con tricromo de Masson (Figuras 24 y 25) y una mayor abundancia de subtipo colagenoso fibrilar cardíaco intersticial I y III dentro de la zona sin infarto (NIZ, Figuras 26 y 27). Los animales con MI también mostraron pruebas de un incremento en la infiltración de macrófagos en NIZ (Figuras 28 y 29). Todos estos cambios se atenuaron mediante el tratamiento con FT011, indicativo de una disminución en la remodelación adversa tras MI.

15

Ecocardiografía

5 Tras MI, a lo largo de la duración de 5 semanas del estudio, la ecocardiografía demostró los signos distintivos de la remodelación adversa de LV, incluyendo: dilatación ventricular, como se evidencia por un incremento en LVIDd y LVIDs; función sistólica y diastólica alteradas, como se evidencia por una reducción en el porcentaje de cambio de área fraccional (FAC), y una mayor relación E:A y tiempo de deceleración, respectivamente (Tabla 3). Todos estos cambios se atenuaron significativamente mediante el tratamiento con FT011 (Tabla 3).

Análisis del bucle presión-volumen *in vivo*

El análisis del bucle presión-volumen se usó para evaluar medidas tanto sensibles a la carga como insensibles a la carga de la función sistólica y diastólica.

10 El índice de trabajo sistólico de precarga reclutable, usado para evaluar la función sistólica, se redujo significativamente en los animales con MI cuando se comparan con los impostores ($p < 0,05$). El tratamiento con FT011 conservó la función sistólica ($P < 0,05$) en los animales con MI. (Tabla 3).

15 La adaptabilidad de las cámaras, medida mediante la pendiente de la relación presión-volumen diastólica terminal aumentó en los animales con MI cuando se comparan con los impostores, indicando disfunción diastólica alterada. El tratamiento con FT011 restauró la adaptabilidad en los animales con MI hasta niveles comparables con los impostores (Figura 30).

Tabla 3. Parámetros ecocardiográficos y del bucle presión-volumen de ratas SD

Grupo	FAC %	LVED (ml)	LVES (ml)	LVIDd (cm)	LVIDs (cm)	Relación E:A	Tiempo de deceleración (m)	Pendiente de PRSW (mmHg/ul)	Pendiente de EDPVR (mmHg/s)
Impostora + Vehículo	66,40 ± 1,52	0,43 ± 0,04	0,08 ± 0,01	0,83 ± 0,02	0,46 ± 0,03	2,45 ± 0,17	34,75 ± 1,49	72,77 ± 6,70	0,66 ± 0,19
MI + Vehículo	27,5611 ± 11,2**	0,90 ± 0,08 [#]	0,48 ± 0,04**	0,99 ± 0,03 [#]	0,81 ± 0,03**	3,46 ± 0,52	50,09 ± 1,78 [#]	53,49 ± 4,66*	0,86 ± 0,15
MI + FT011	42,69 ± 2,3**	0,53 ± 0,04 [#]	0,15 ± 0,02**	0,92 ± 0,03	0,70 ± 0,03*	2,00 ± 0,26*	38,64 ± 1,2**	65,15 ± 3,04*	0,51 ± 0,05 [†]

*P <0,05, #p <0,01, **p <0,0001 y †P = 0,06 (MI + Vehículo en comparación con impostora + Vehículo y MI + FT011 en comparación con MI + Vehículo). PRSW = trabajo sistólico de precarga reclutable; EDPVR = relación de presión-volumen diastólica terminal.

Ratas diabéticas (mRen-2)27 tratadas con FT011

Características de los animales

Las ratas diabéticas tuvieron un peso corporal reducido y todas ellas fueron igualmente hiperglucémicas (Tabla 4). Las ratas diabéticas tuvieron albuminuria incrementada, y FT011 atenuó significativamente la elevación en albuminuria (Figura 11).

5

Tabla 4. Característica de los animales de ratas Ren-2

Grupo	Peso corporal (Gramo)	Glucosa plasmática (mmol/l)	GFR (ml/min)
Control	294 ± 11	5 ± 0,2	3,77 ± 0,23
Control+FT011	309 ± 7	7 ± 0,2	3,63 ± 0,08
Diabético	281 ± 22	33 ± 0,2*	5,33 ± 0,47*
Diabético+FT011	278 ± 12	30 ± 1,5*	5,90 ± 0,20*

*p<0,01 cuando se compara con un control

Conclusión

Los resultados anteriores sugerirían que el tratamiento con FT011 puede proporcionar un potencial en enfermedades o afecciones caracterizadas por inflamación y/o enfermedades neoplásicas benignas o malignas.

10

Se entenderá que la invención descrita y definida en esta memoria descriptiva se extiende a todas las combinaciones alternativas de dos o más de las características individuales mencionadas o evidentes a partir del texto de los dibujos. Todas estas combinaciones diferentes constituyen diversos aspectos alternativos de la invención.

15

REFERENCIAS

1 Krum, H., *et al.*, Lancet 2003; 362:147-58.

2 He, J., *et al.*, Arch Intern Med 2001; 161:996-1002.

3 Gustafsson I., *et al.*, Diabetes Care 2001; 24:3-4.

4 Poirier, P., *et al.*, Diabetes Care 2001; 24:5-10.

20

5 Zabalgoitia, M., *et al.*, Am J Cardiol 2001; 87:320-3.

6 Bell, D.S., Diabetes Care 1995; 18:708-14.

7 Way, K.J., *et al.*, Diabetes 2002; 51:2709-18.

8 Shigeki, S., *et al.*, Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg 1997; 31:151-8.

9 Taniguchi, S., *et al.*, Clin Exp Dermatol 1994; 19:391-3.

25

10 Miyazawa, K., *et al.*, Atherosclerosis 1995; 118:213-21.

11 Yamada, H., *et al.*, J Biochem (Tokyo) 1994; 116:892-7.

12 Border, W.A., *et al.*, New Engl J Med 1994; 331:1286-392.

13 Pinto, Y.M., *et al.*, Hypertension 2000; 36:747-54.

14 Mifsud, S., *et al.*, Nephron 2003; 95:83-91.

30

15 Martin, J., *et al.*, Cardiovascular Research 2005; 65:694-701.

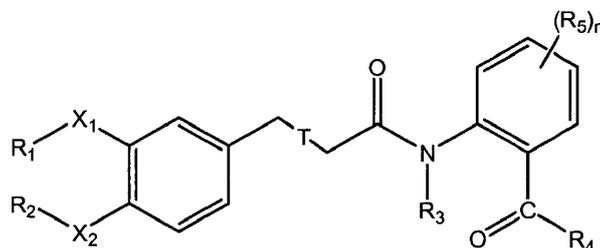
16 Jugdutt, B.I., *et al.*, Circulation 2003; 108:1395-403.

17 Border, W.A., *et al.*, Contrib Nephrol 1994; 107:140-5.

- 18 Ikeda, H., *et al.*, *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 227:322-7.
- 19 Dannott, T.M. *et al.* *The Pharmacogenomics Journal* (2004) 4, 49-53
- 20 Still, W.C. *et al.*, *J. Org. Chem.*, 1978, 43, 2923-2924.
- 5 21 Jierujii, T. *et al.*, "Manufacture of N-(3',4'-dimethoxycinnamoyl)-aniline derivatives", *Biogal Gyogyszergyar*, JP 1016755, 1989.
- 22 Spoons, P. G., "Process y product", *Smithkline Beecham Corp.*, WO 02055454,2002.
- 23 Bassoli, A., *et al.*, "Use of amide derivatives as taste-modifying agents, flavouring compositions y products containing them", *Univ degli studi Milano*, WO 2006117602,2006.
- 24 Harita, K. *et al.*, "Aromatic carboxylic amide derivatives", *Kissei Pharmaceutical*, US 3940422, 1976.
- 10 25 Iizuka, K. *et al.*, "Process for the production of nuclear substituted cinnamoylanthranilic acid derivatives", *Kissei Pharmaceutical*, US 4587356, 1986.
- 26 Noda, K. *et al.*, "Novel anthranilic acid derivatives", *Husamitsu Pharmaceutical Co.*, JP 54132544, 1979.
- 27 Ono, S.; Ebihara, Y., "Novel aminobenzoic acid amide derivatives y production thereof", *Maruko Pharmaceutical Co.*, JP 63295543, 1988.
- 15 28 Ahluwalia, G. S. *et al.*, *J. Chem. Soc.*, 1931, 2059.
- 29 Twin, H.; Batey. R. A., *Org. Lett.*, 2004, 6, 4913.
- 30 Kakizaki, Y., *et al.*, "Differential control of mesangial cell proliferation by interferon-gamma". *Clin Exp Immunol* 85: 157-163, 1991.
- 20 31 See, F. *et al.*, p38 mitogen-activated protein kinase inhibition improves cardiac function y attenuates left ventricular remodeling following myocardial infarction in the rat. *J Am Coll Cardiol* 44: 1679-1689, 2004.
- 32 Thomas, W.G. *et al.*, Adenoviral-directed expression of the type 1A angiotensin receptor promotes cardiomyocyte hypertrophy via transactivation of the epidermal growth factor receptor. *Circ Res* 90: 135-142, 2002.
- 33 Woodcock, E.A. *et al.*, Inositol polyphosphate 1-phosphatase is a novel antihypertrophic factor. *J Biol Chem* 277: 22734-22742, 2002.
- 25 34 Boyle, A.J. *et al.*, Inhibition of protein kinase C reduces left ventricular fibrosis y dysfunction following myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol* 39: 213-221, 2005.
- 35 35 Connelly, K.A., *et al.*, Load-sensitive measures may overestimate global systolic function in the presence of left ventricular hypertrophy: a comparison with load-insensitive measures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 290: H1699-1705, 2006.
- 30 36 Kelly, D.J. *et al.*, Effects of endothelin o angiotensin II receptor blockade on diabetes in the transgenic (mRen-2)27 rat. *Kidney Int* 57: 1882-1894, 2000.
- 37 Kelly, D.J. *et al.*, A new model of diabetic nephropathy with progressive renal impairment in the transgenic (mRen-2)27 rat (TGR). *Kidney Int* 54: 343-352, 1998.
- 35 38 Kelly, D.J. *et al.*, Progression of tubulointerstitial injury by osteopontin-induced macrophage recruitment in advanced diabetic nephropathy of transgenic (mRen-2)27 rats. *Nephrol Dial Transplant* 17: 985-991, 2002.
- 39 Kelly, D.J. *et al.*, Protein kinase C beta inhibition attenuates the progression of experimental diabetic nephropathy in the presence of continued hypertension. *Diabetes* 52: 512-518, 2003.
- 40 40 Martin, J. *et al.*, Tranilast attenuates cardiac matrix deposition in experimental diabetes: role of transforming growth factor-beta. *Cardiovasc Res* 65: 694-701, 2005.
- 40 41 Schiller, N.B. *et al.*, Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr* 2: 358-367, 1989.
- 42 Kelly, D.J. *et al.*, *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2004, 15, 2619-2629.
- 43 Hoher *et al.*, *J. Hypertens.*, 2002, 20(4), 611-613.
- 45 44 Isaji *et al.*, *Cardiovascular Drug Review*, 1998, 16(3), 288-299.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la Fórmula 2



Fórmula 2

5 en la que R_1 y R_2 , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en un alquilo de C_1 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado; cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

X_1 y X_2 son iguales o diferentes, y se seleccionan del grupo que consiste en un enlace, O, N y S;

10 T es un enlace sencillo o doble;

R_3 se selecciona del grupo que consiste en H, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

R_4 se selecciona del grupo que consiste en H, OH, OR_6 , NHR_6 o NR_6R_7 ;

15 R_5 se selecciona del grupo que consiste en H, NHR_6 , NR_6R_7 , OR_8 , halógeno, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} y una cadena que consiste en un anillo heterocíclico o condensado; cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

20 R_6 y R_7 , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en H, alquilo de C_1 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} , arilo, alquilarilo de C_5 a C_{20} , y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

R_8 se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo de C_1 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} , arilo, alquilarilo de C_5 a C_{20} , y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; y

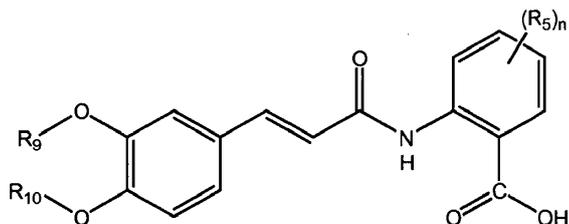
n es un número entero entre 0 y 4;

25 o sales farmacéuticamente aceptables del mismo;

con la condición de que cuando X_1 y X_2 son ambos O o un enlace, y uno de R_1 o R_2 es alquilo de C_1 a C_4 , el otro de R_1 o R_2 sea alquilo de C_4 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alqueno de C_3 a C_{10} , o una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado; y

con la condición de que el compuesto no sea Tranilast.

30 2. Un compuesto según se reivindica en la reivindicación 1, que tiene la Fórmula 3



Fórmula 3

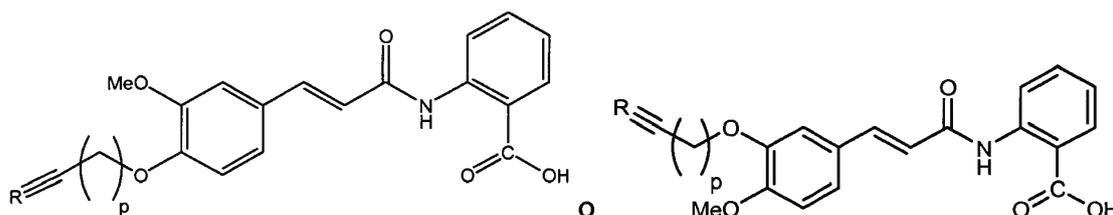
en la que R₉ o R₁₀, que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en alquilo de C₁ a C₁₀, alquino de C₃ a C₈ terminal o no-terminal o un grupo ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexilmetilo o ciclopentilmetilo;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo;

- 5 con la condición de que cuando uno de R₉ o R₁₀ es alquilo de C₁ a C₄, el otro de R₉ o R₁₀ sea alquilo de C₄ a C₁₀, cicloalquilo de C₃ a C₁₀, cicloalquil C₃ a C₁₀-metilo, alquino de C₃ a C₁₀ o una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, o cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido; y

con la condición de que el compuesto no sea Tranilast.

3. Un compuesto según se reivindica en la reivindicación 1, que tiene la Fórmula 4 o Fórmula 5



Fórmula 4

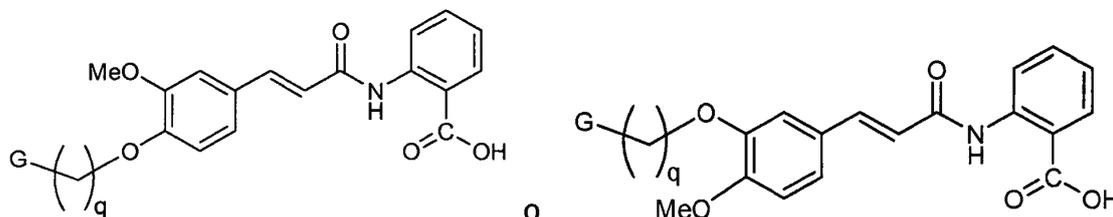
Fórmula 5

10

en las que p es un número entero entre 1 y 10; y R se selecciona del grupo que consiste en H y alquilo de C₁ a C₁₀;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

4. Un compuesto según se reivindica en la reivindicación 1, que tiene la Fórmula 6 o Fórmula 7



Fórmula 6

Fórmula 7

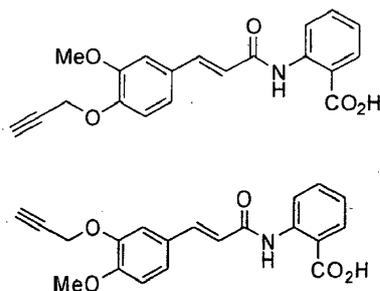
15

en las que G es un anillo ciclopentilo, un anillo ciclohexilo o un 1,2,3-triazol 1,4-disustituido; y

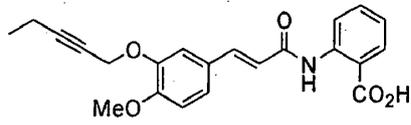
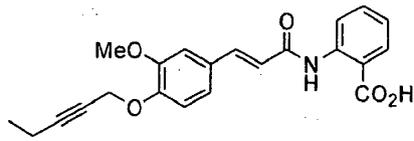
q es un número entero entre 0 y 6

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo.

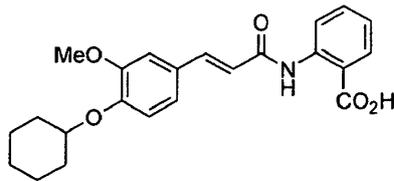
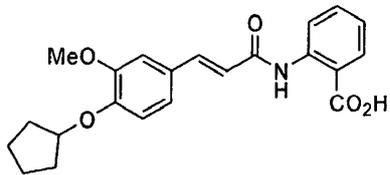
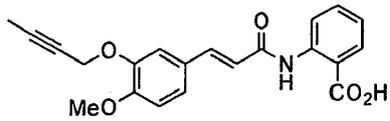
5. Un compuesto según se reivindica en la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en



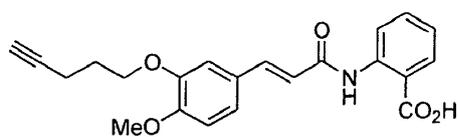
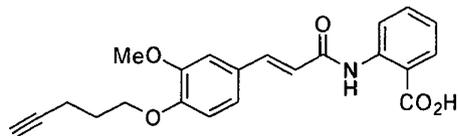
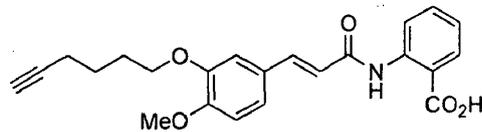
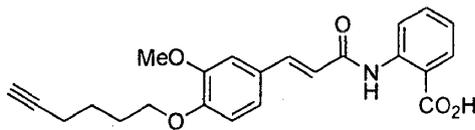
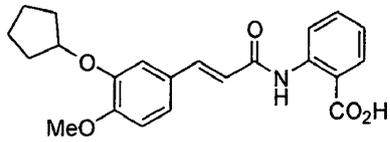
20



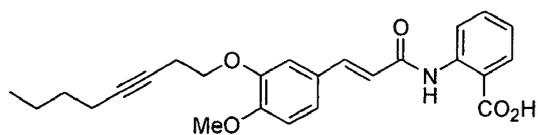
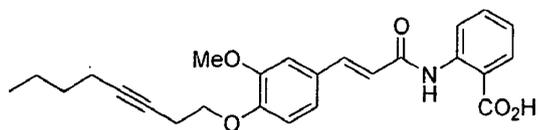
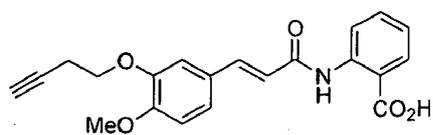
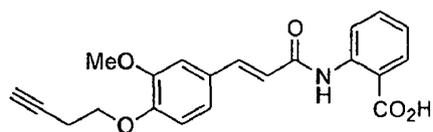
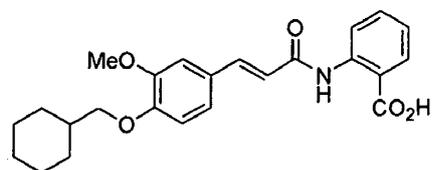
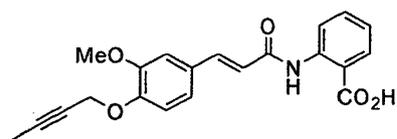
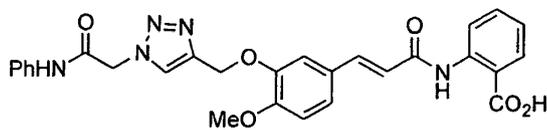
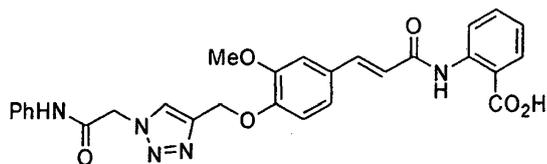
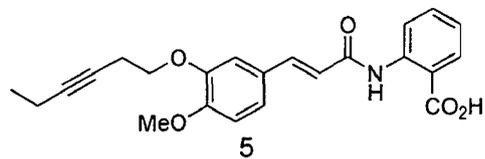
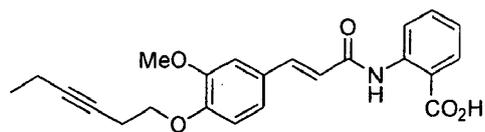
4

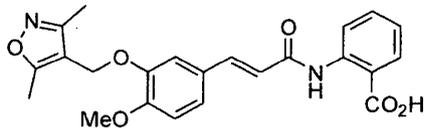
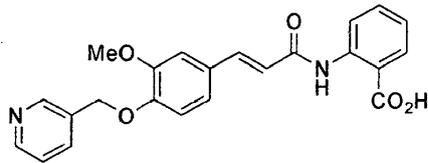
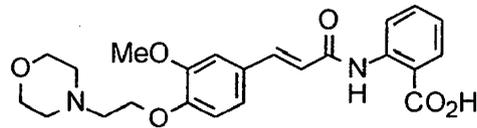
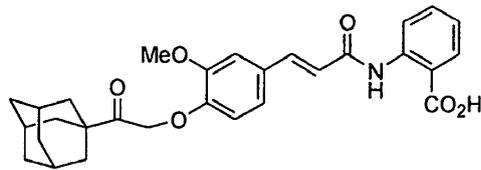
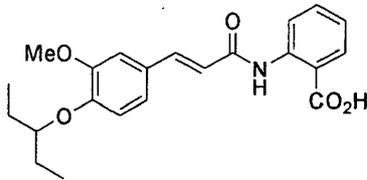
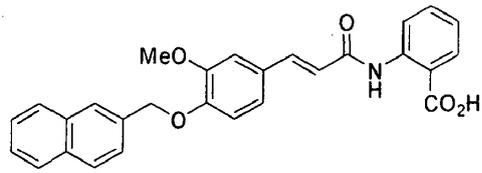


5



10



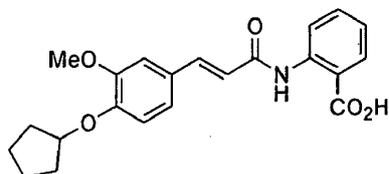
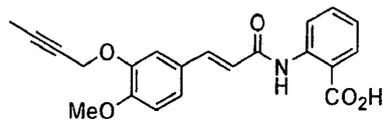
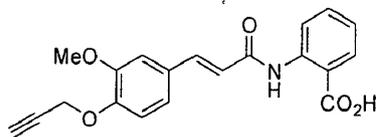


5

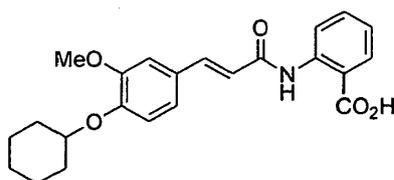
y

o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

6. Un compuesto según la reivindicación 1, que tiene la fórmula

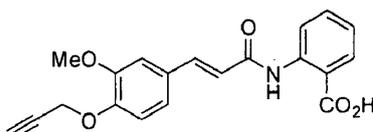


10



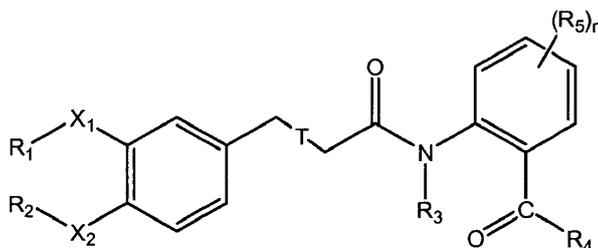
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. Un compuesto según la reivindicación 1, que tiene la fórmula



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. Una composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad o afección asociada con fibrosis, o una enfermedad o afección caracterizada por inflamación o enfermedad neoplásica benigna o maligna, en la que dicho compuesto tiene la Fórmula 2



Fórmula 2

10 en la que R_1 y R_2 , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en un alquilo de C_1 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado; cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

15 X_1 y X_2 son iguales o diferentes, y se seleccionan del grupo que consiste en un enlace, O, N y S;

T es un enlace sencillo o doble;

R_3 se selecciona del grupo que consiste en H, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} y una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

R_4 se selecciona del grupo que consiste en H, OH, OR_6 , NHR_6 o NR_6R_7 ;

20 R_5 se selecciona del grupo que consiste en H, NHR_6 , NR_6R_7 , OR_8 , halógeno, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} y una cadena que consiste en un anillo heterocíclico o condensado; cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

25 R_6 y R_7 , que pueden ser iguales o diferentes, se seleccionan del grupo que consiste en H, alquilo de C_1 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} , arilo, alquilarilo de C_5 a C_{20} , y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido;

R_8 se selecciona del grupo que consiste en H, alquilo de C_1 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alqueno de C_3 a C_{10} , alquino de C_3 a C_{10} , arilo, alquilarilo de C_5 a C_{20} , y un anillo hidrocarbonado que contiene un anillo heterocíclico o condensado, cualquiera de los cuales puede estar opcionalmente sustituido; y

30 n es un número entero entre 0 y 4;

o sales farmacéuticamente aceptables del mismo;

con la condición de que cuando X_1 y X_2 son ambos O o un enlace, y uno de R_1 o R_2 es alquilo de C_1 a C_4 , el otro de R_1 o R_2 sea alquilo de C_4 a C_{10} , cicloalquilo de C_3 a C_{10} , cicloalquil C_3 a C_{10} -metilo, alquino de C_3 a C_{10} , o una cadena que contiene un anillo heterocíclico o condensado; y

con la condición de que el compuesto no sea Tranilast;

- 5 junto con un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable para el mismo.
9. Uso de una composición farmacéutica según la reivindicación 8, en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o afección asociada con fibrosis.
10. El uso según la reivindicación 9, en el que la enfermedad o afección se selecciona del grupo que consiste en trastornos fibróticos de la piel, neumopatía, cardiopatía y nefropatía.
- 10 11. El uso según la reivindicación 10, en el que la enfermedad o afección es cardiopatía diabética o nefropatía diabética.
12. Uso de una composición farmacéutica según la reivindicación 8, en la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad o afección caracterizada por inflamación y/o una enfermedad neoplásica benigna o maligna.

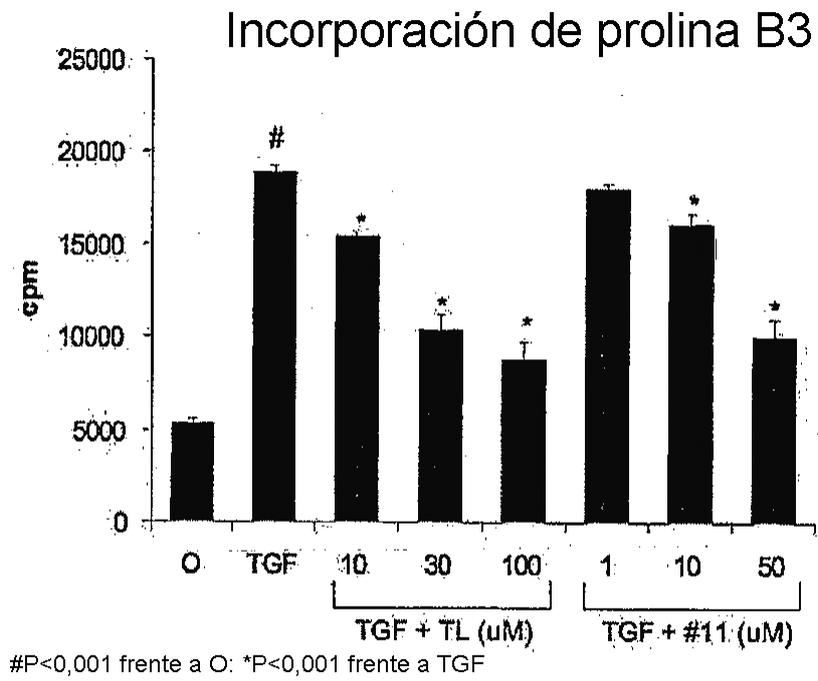


Figura 1

Incorporación de prolina B4

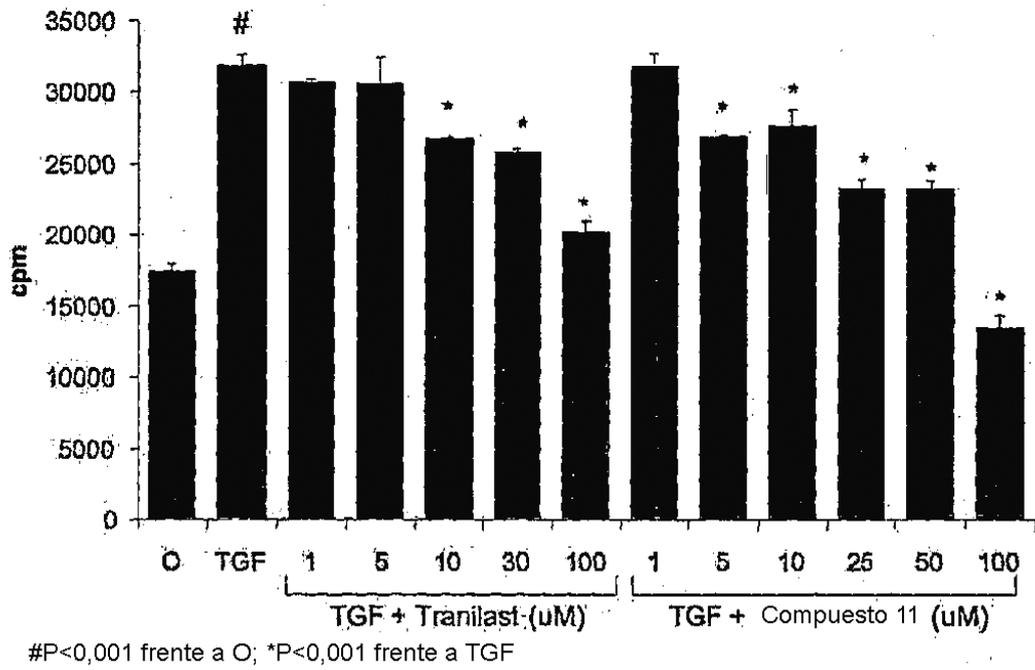
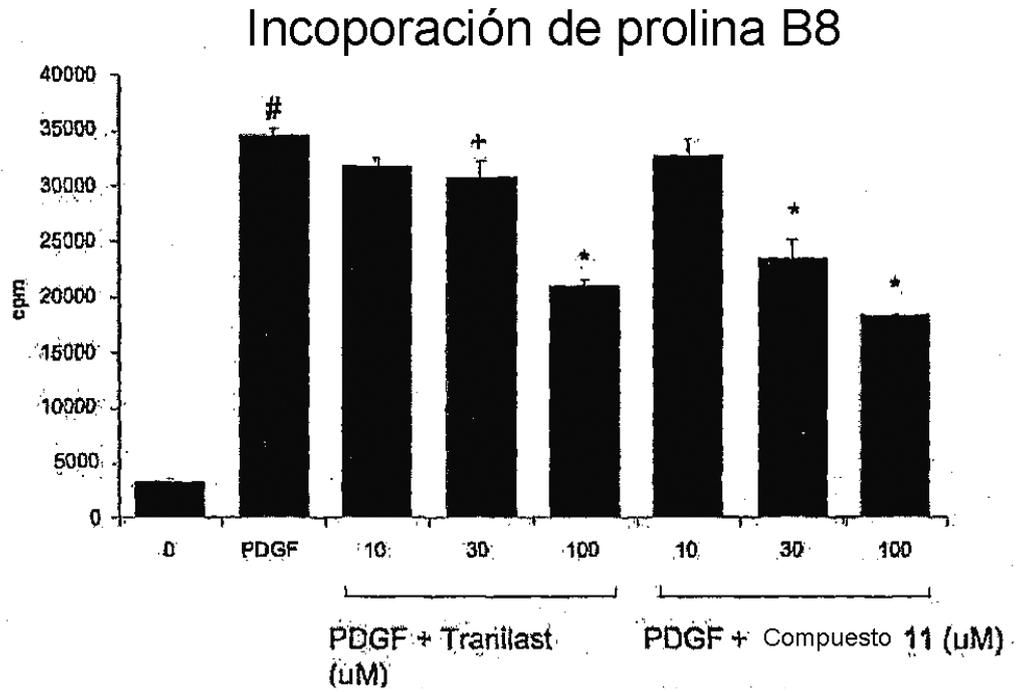
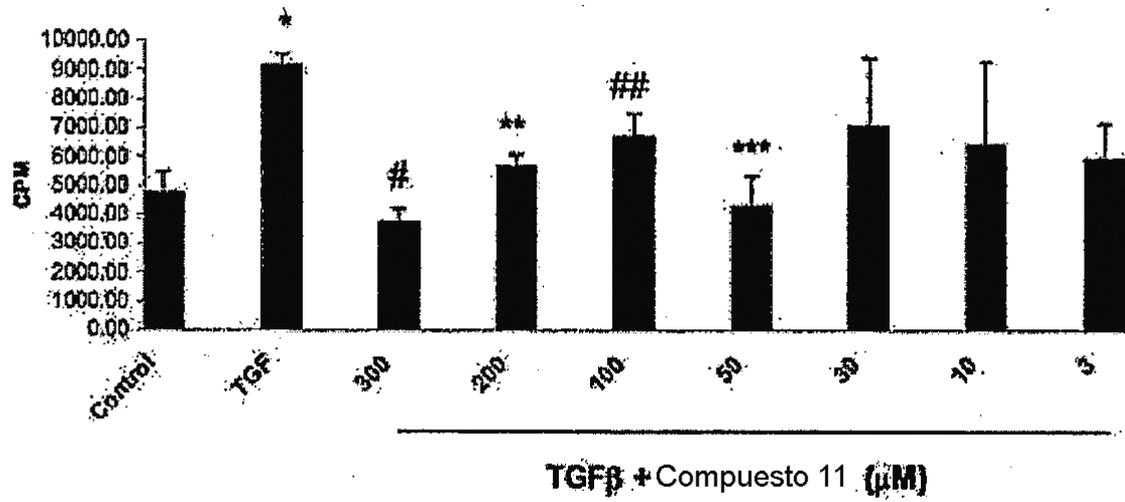


Figura 2



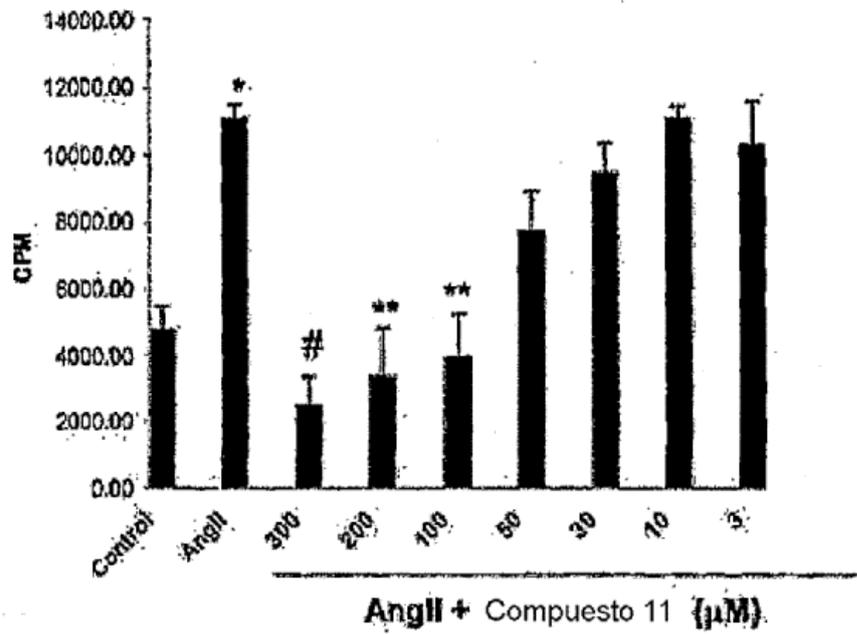
#P<0,001 frente a 0; *P<0,001 frente a PDGF; + P<0,01 frente a PDGF

Figura 3



*p<0,01 frente a Control; #p<0,001 frente a TGF; **p<0,005 frente a TGF; ##p=0,0509 frente a TGF; ***p=0,011 frente a TGF

Figura 4



*p<0,005 frente a Control; #p<0,001 frente a AngII; **p<0,01 frente a AngII;

Figura 5

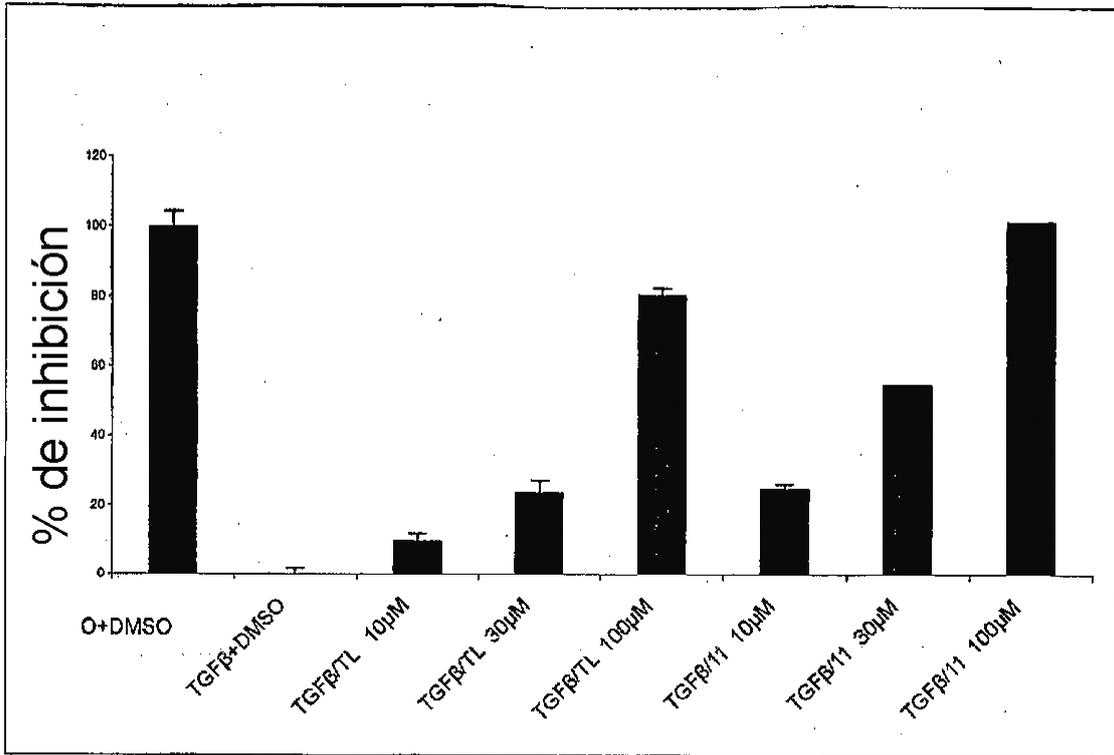


FIGURA 6

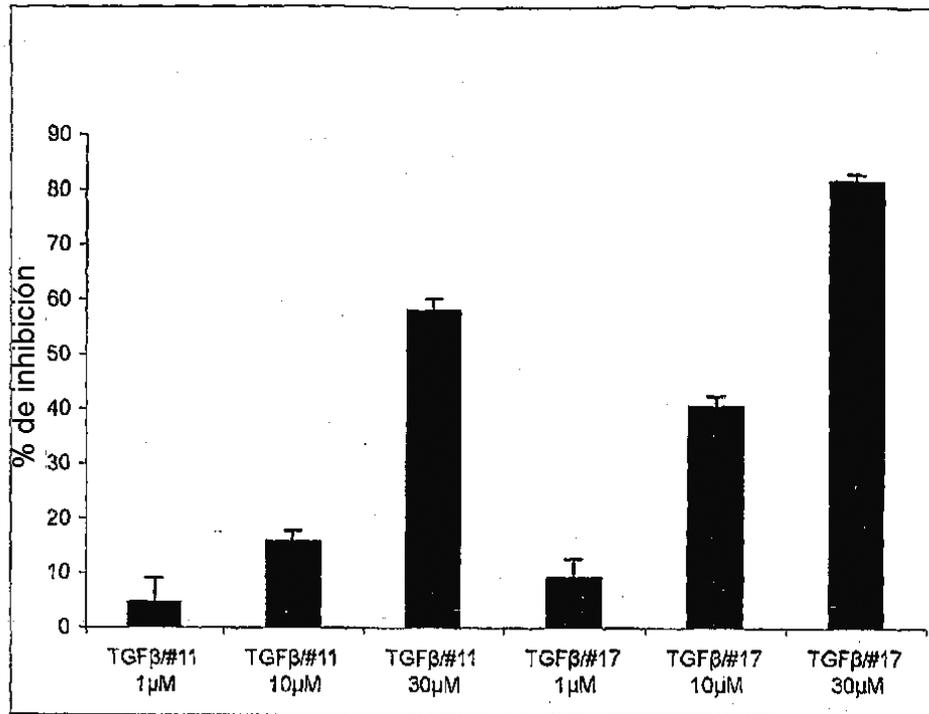


Figura 7

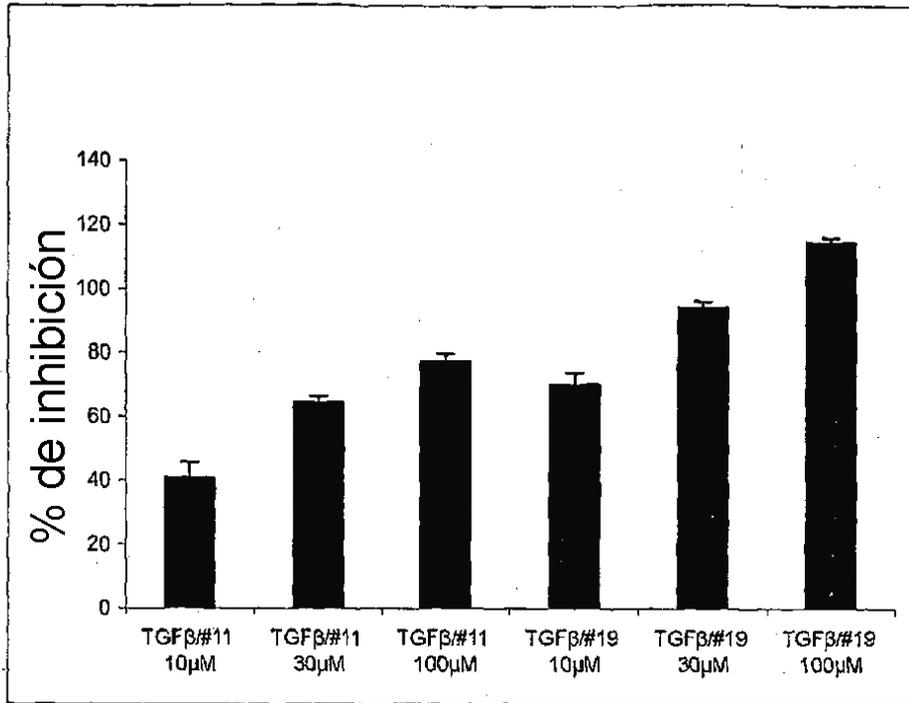


Figura 8

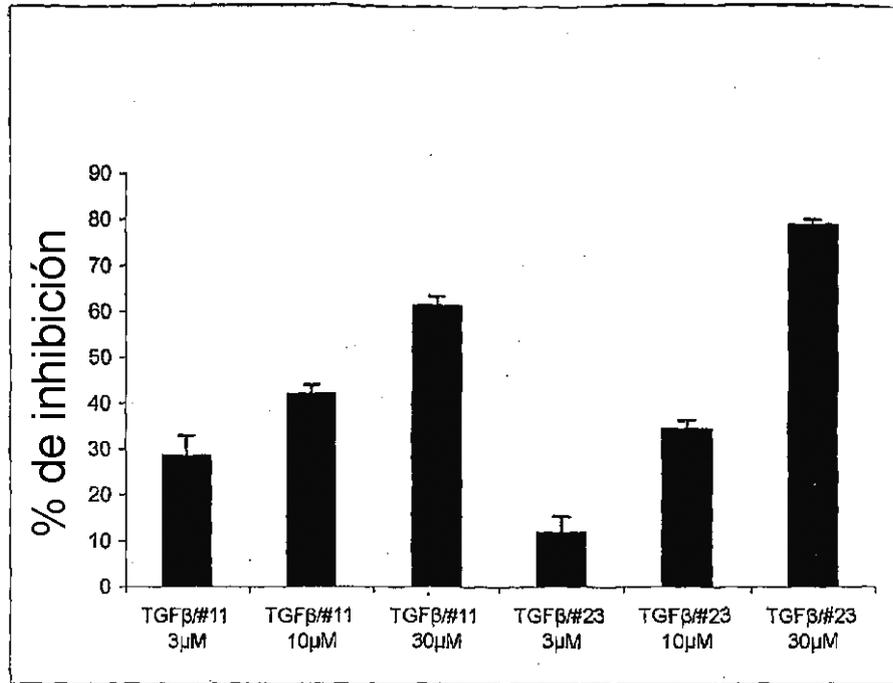


Figura 9

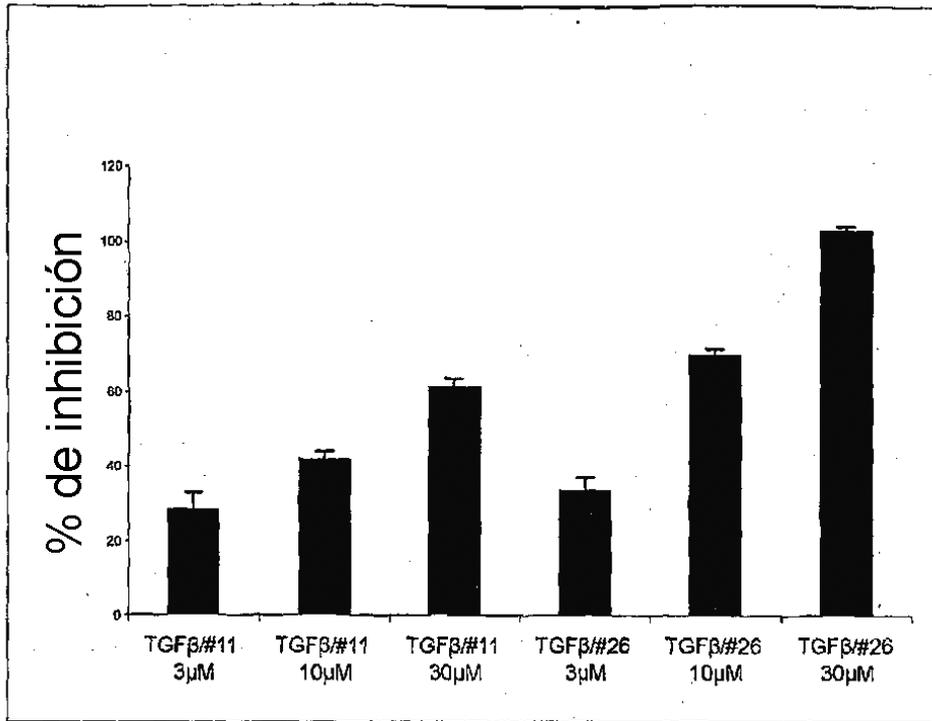


Figura 10

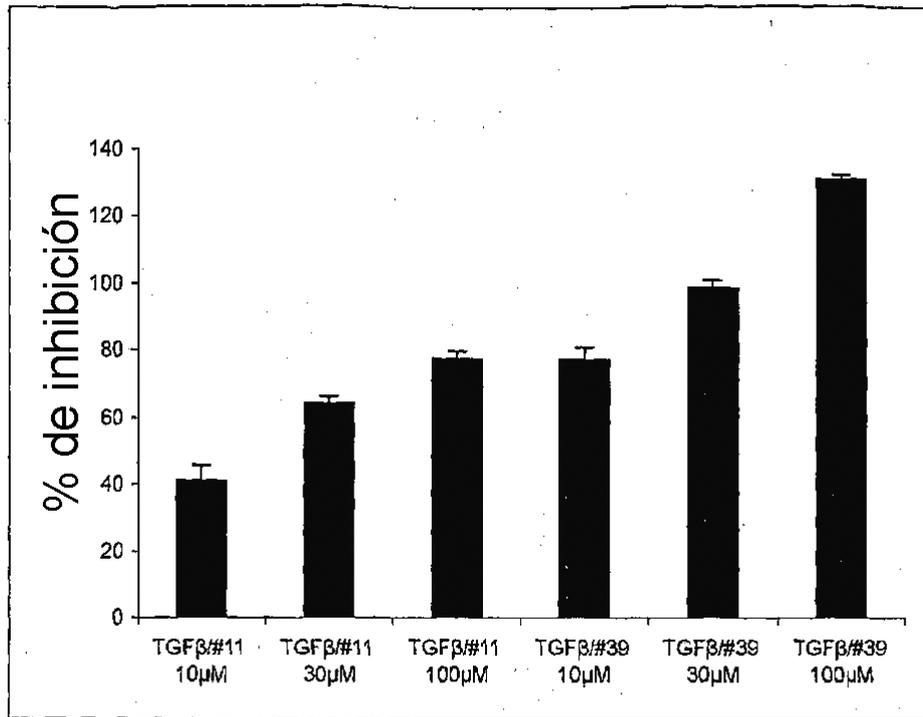


Figura 11

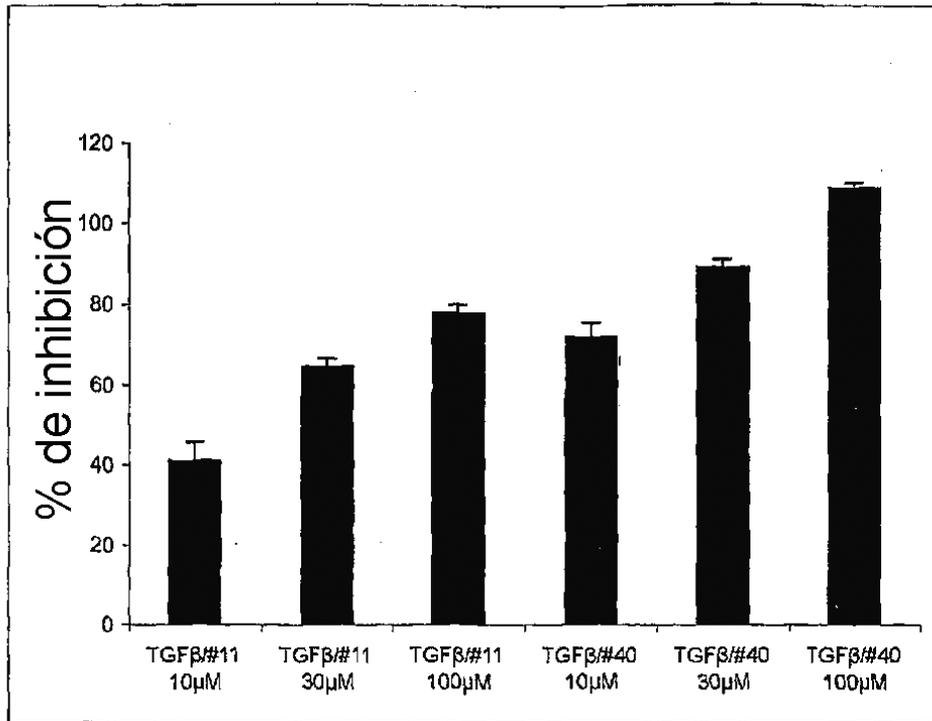


Figura 12

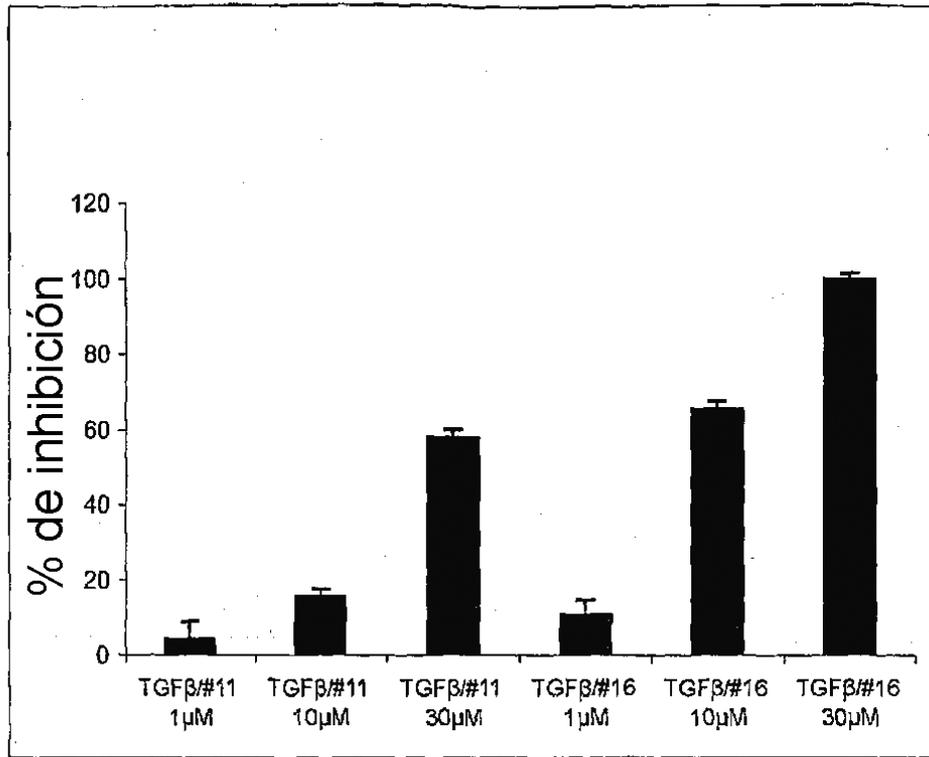


Figura 13

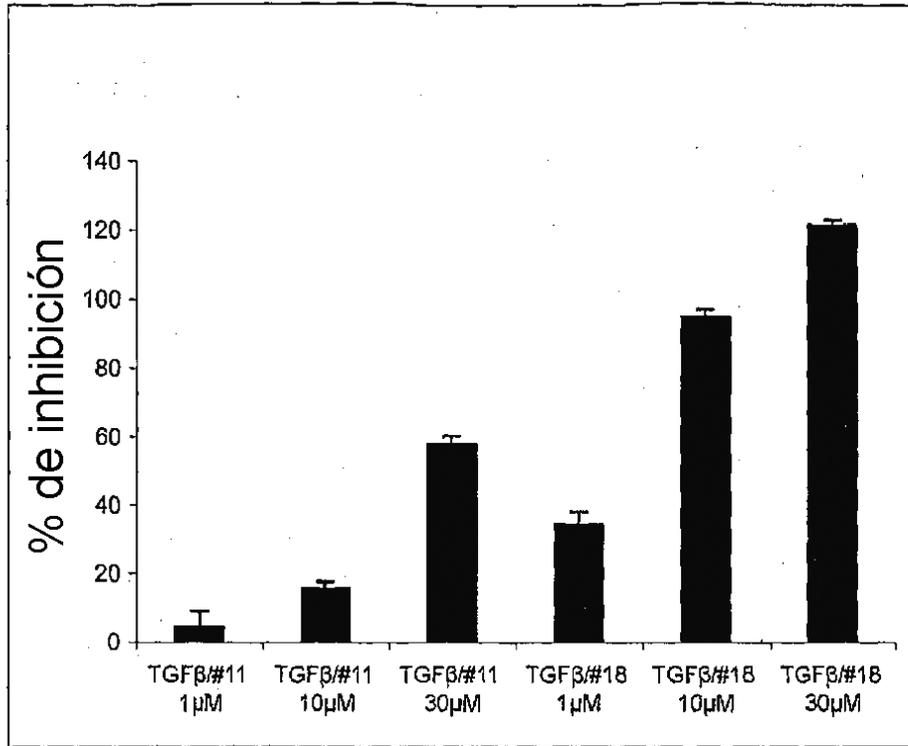


Figura 14

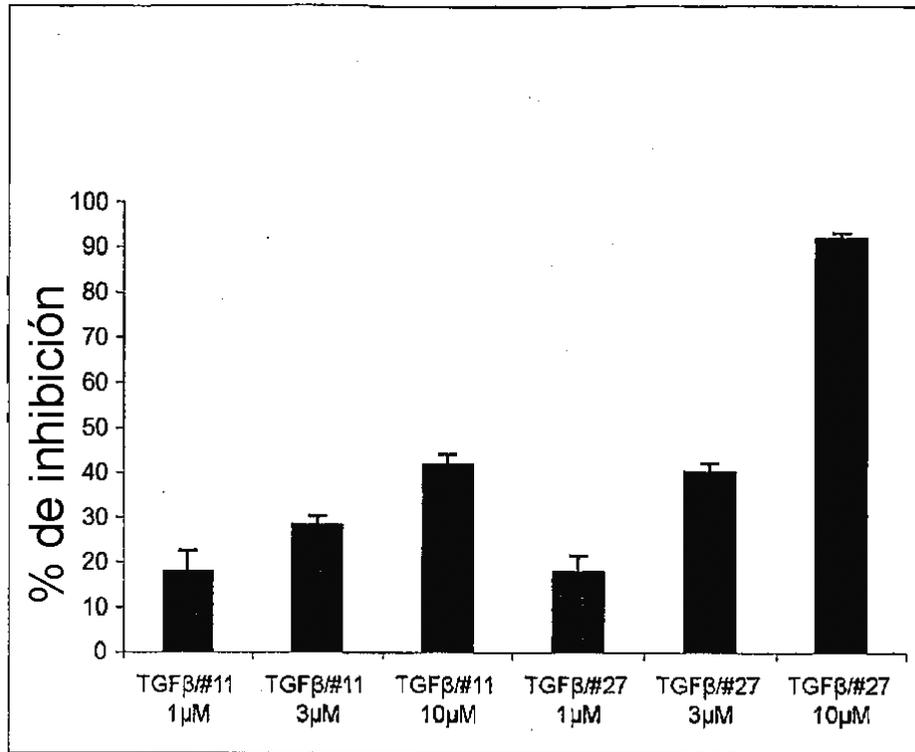


Figura 15

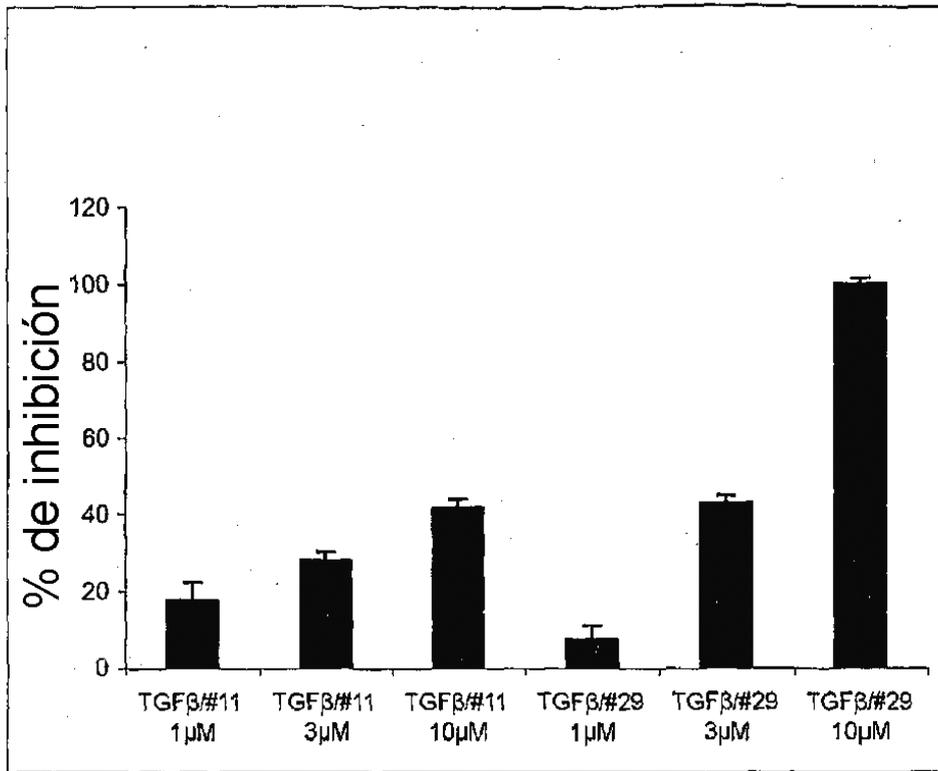


Figura 16

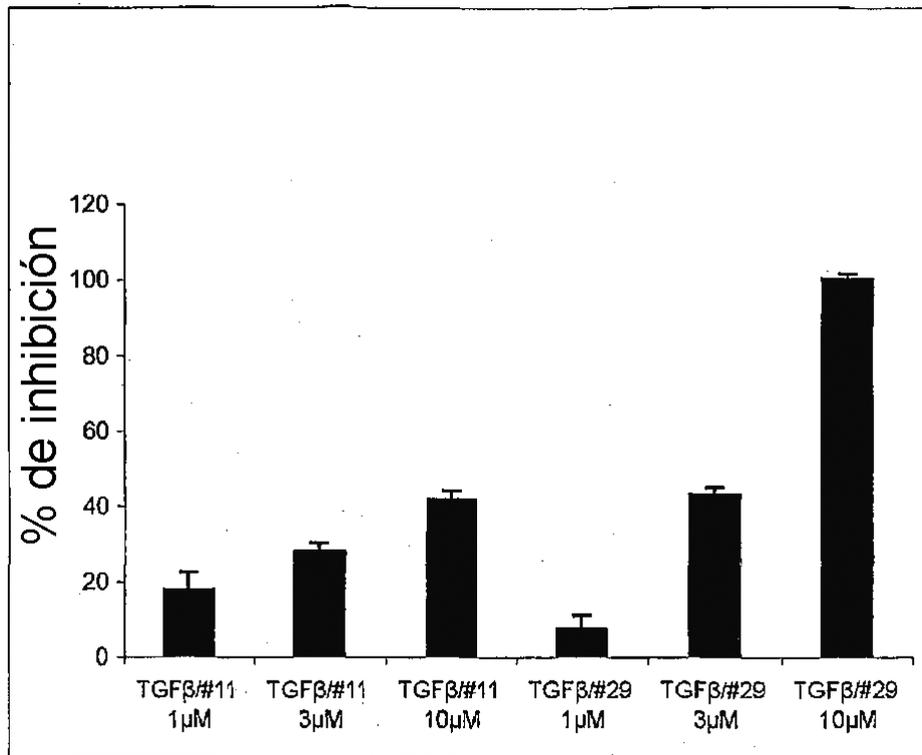


Figura 17

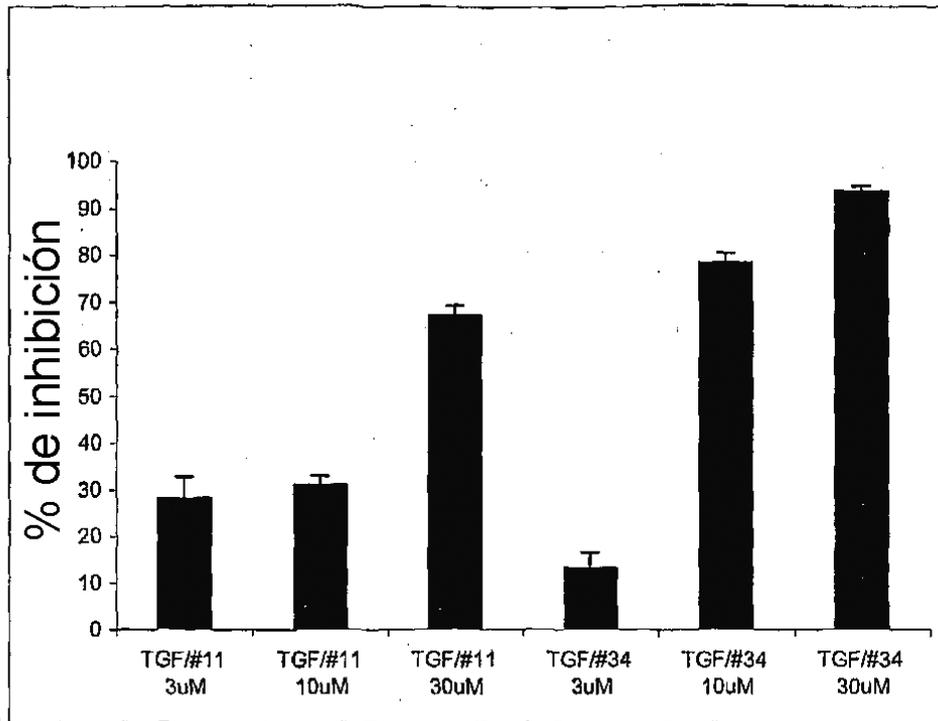


Figura 18

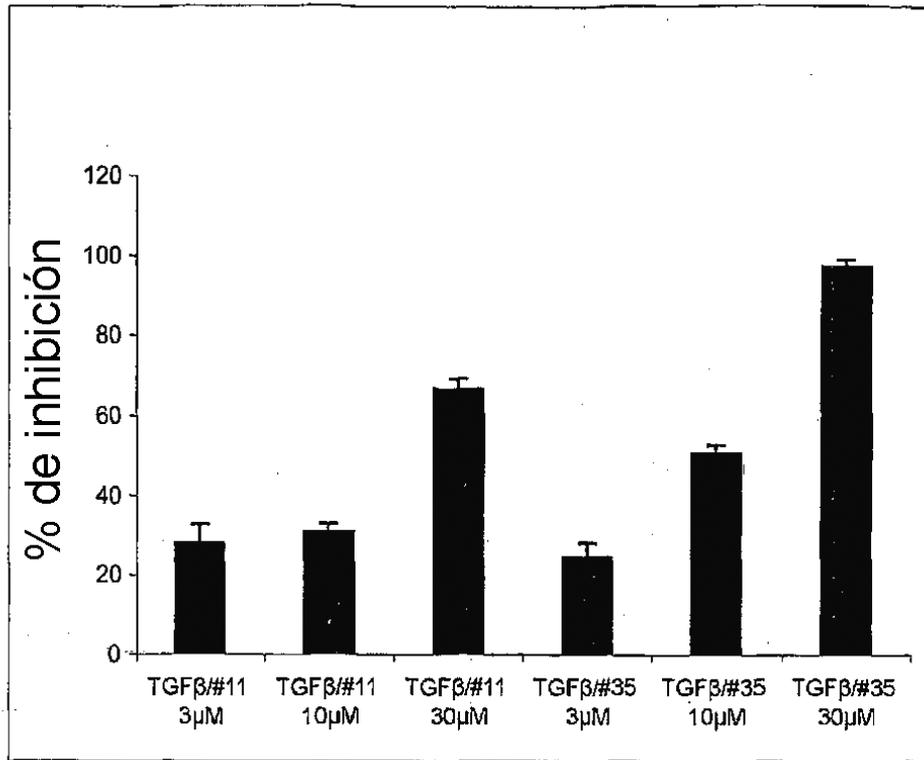


Figura 19

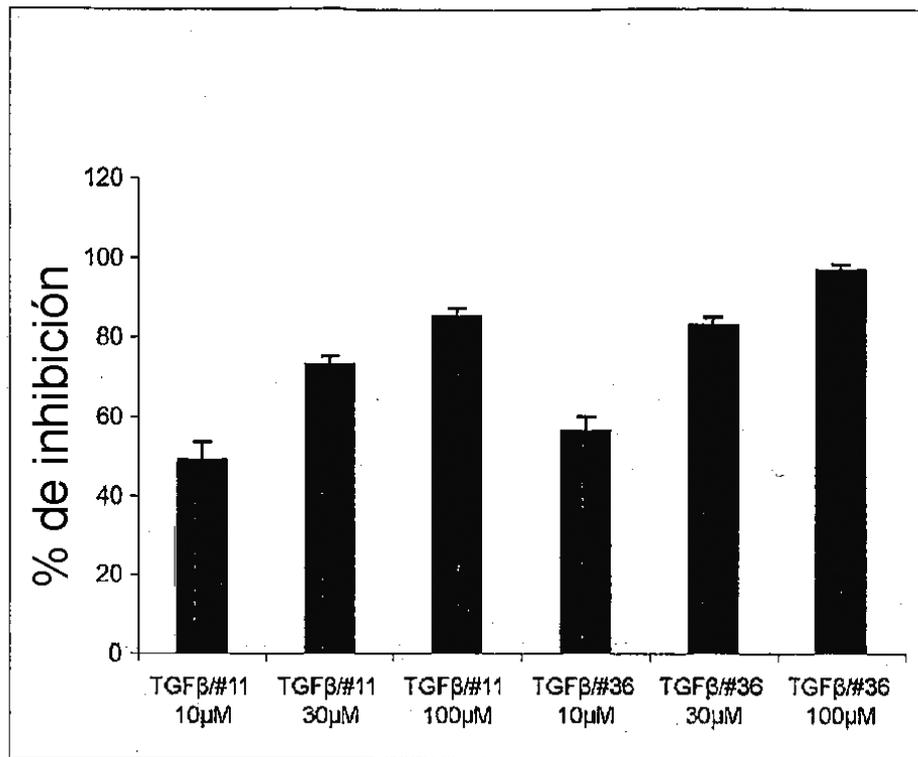


Figura 20

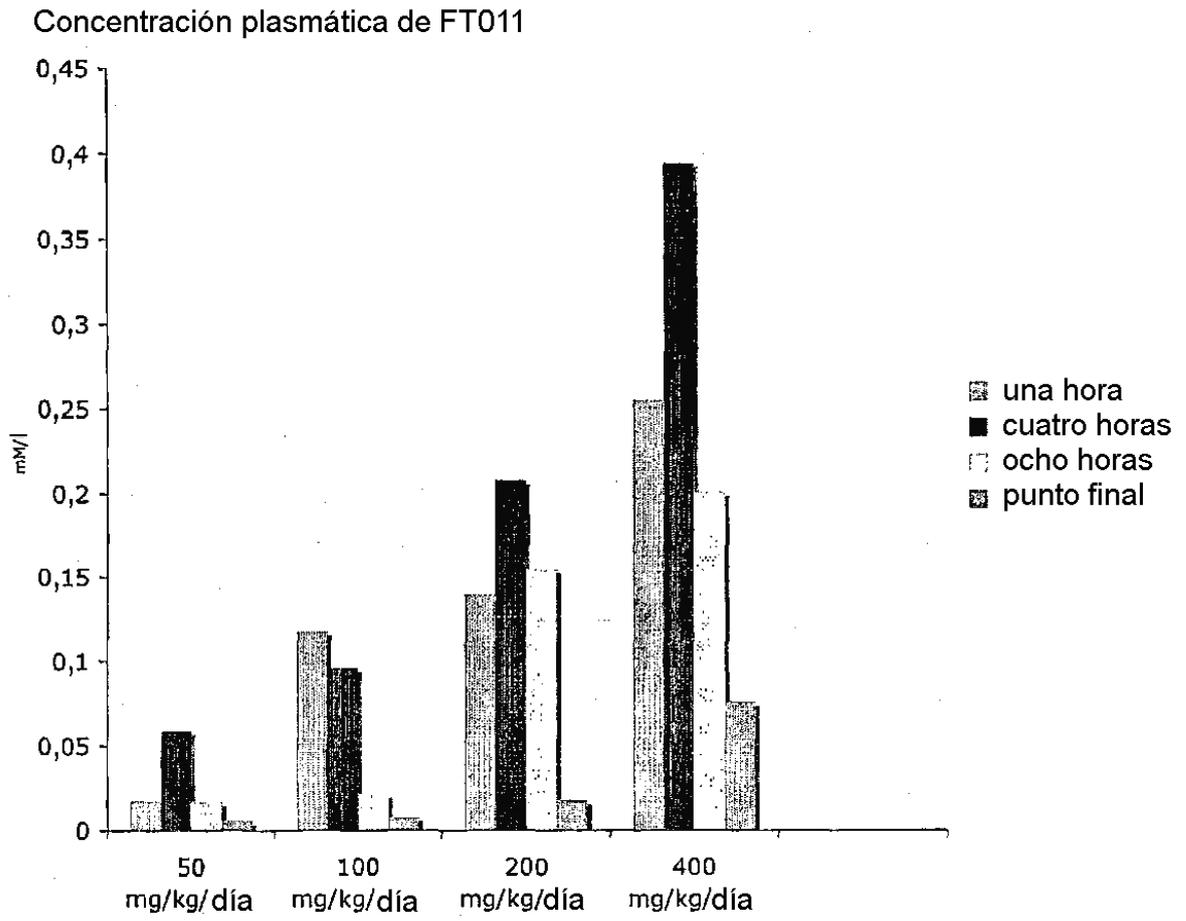


Figura 21

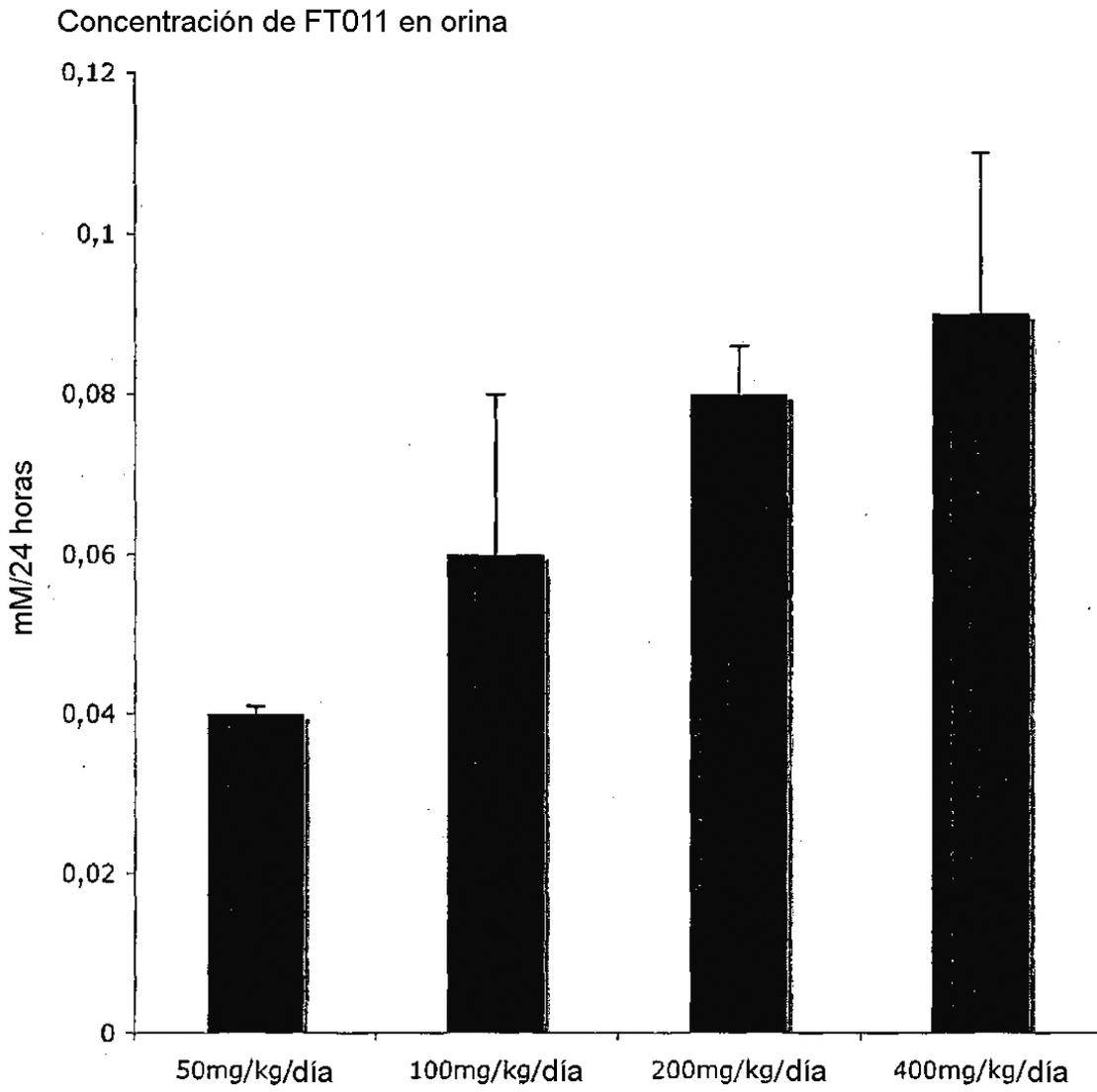


Figura 22

Tamaño del infarto

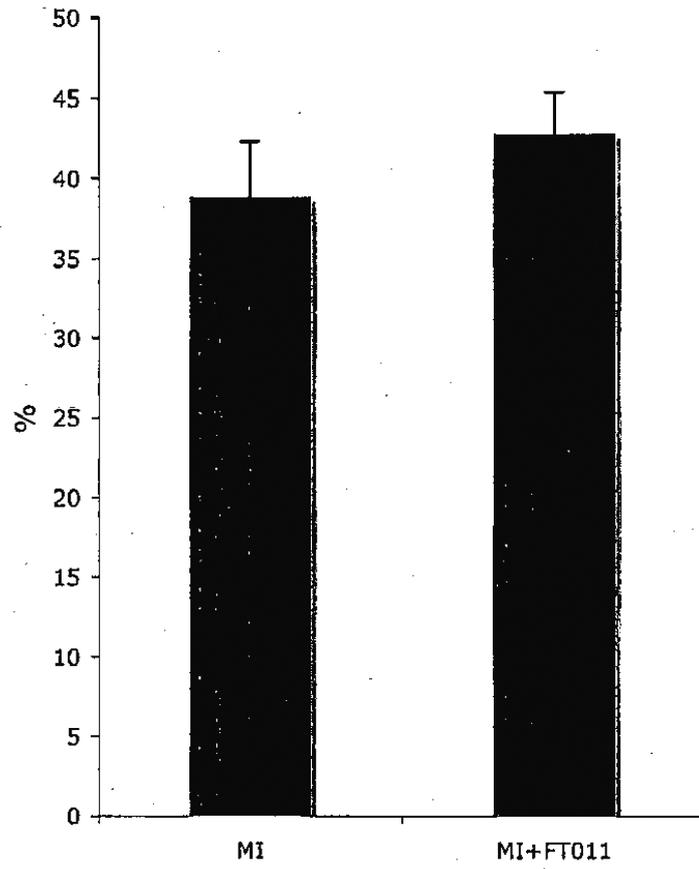


Figura 23

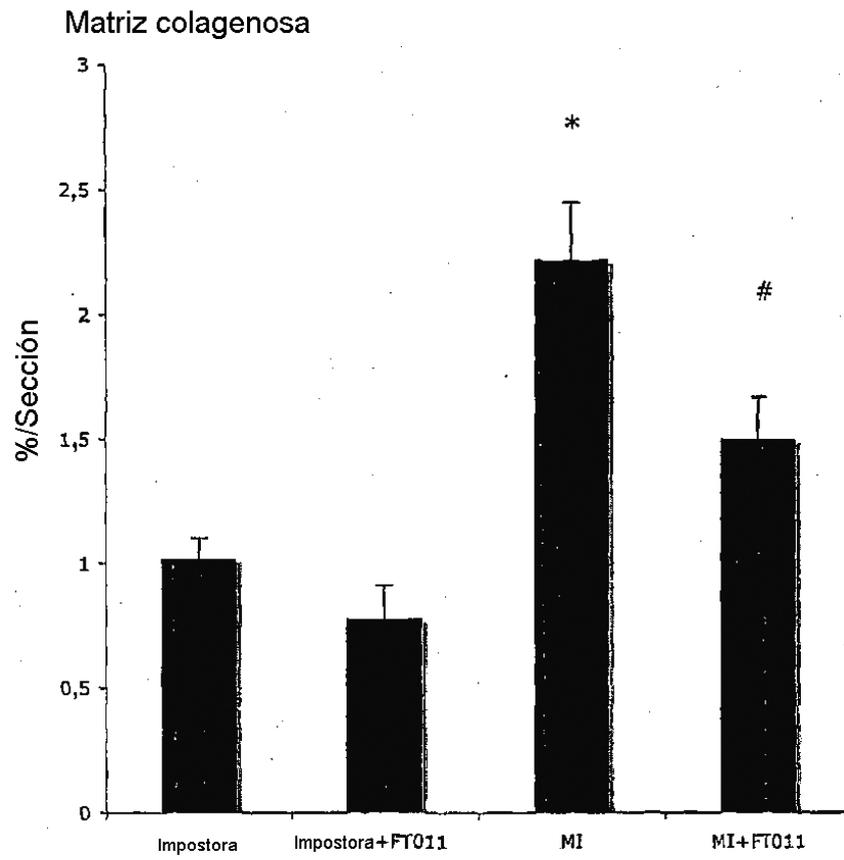


Figura 24

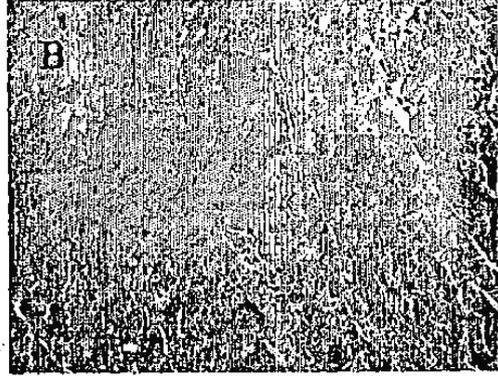
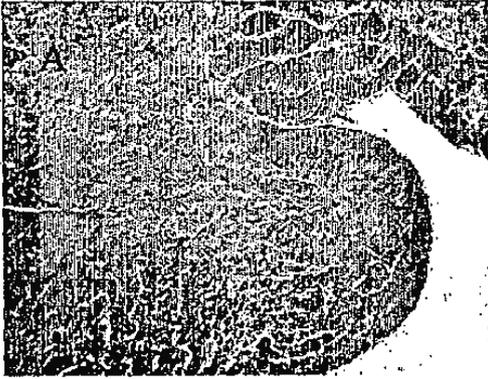


Figura 25

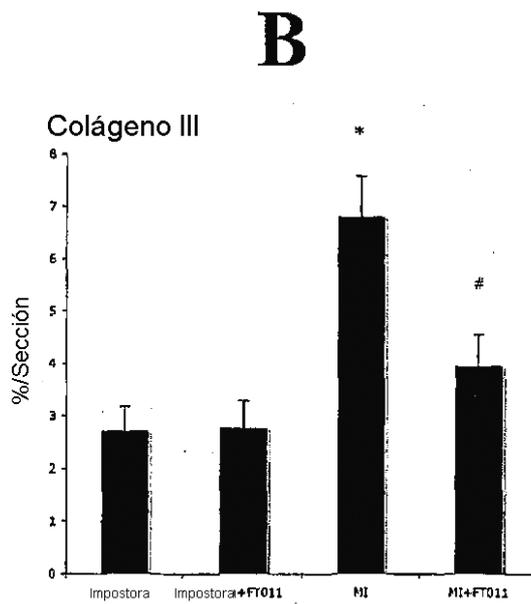
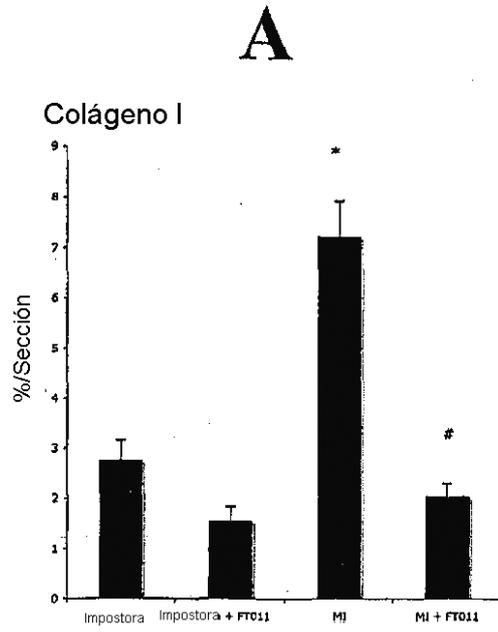


Figura 26

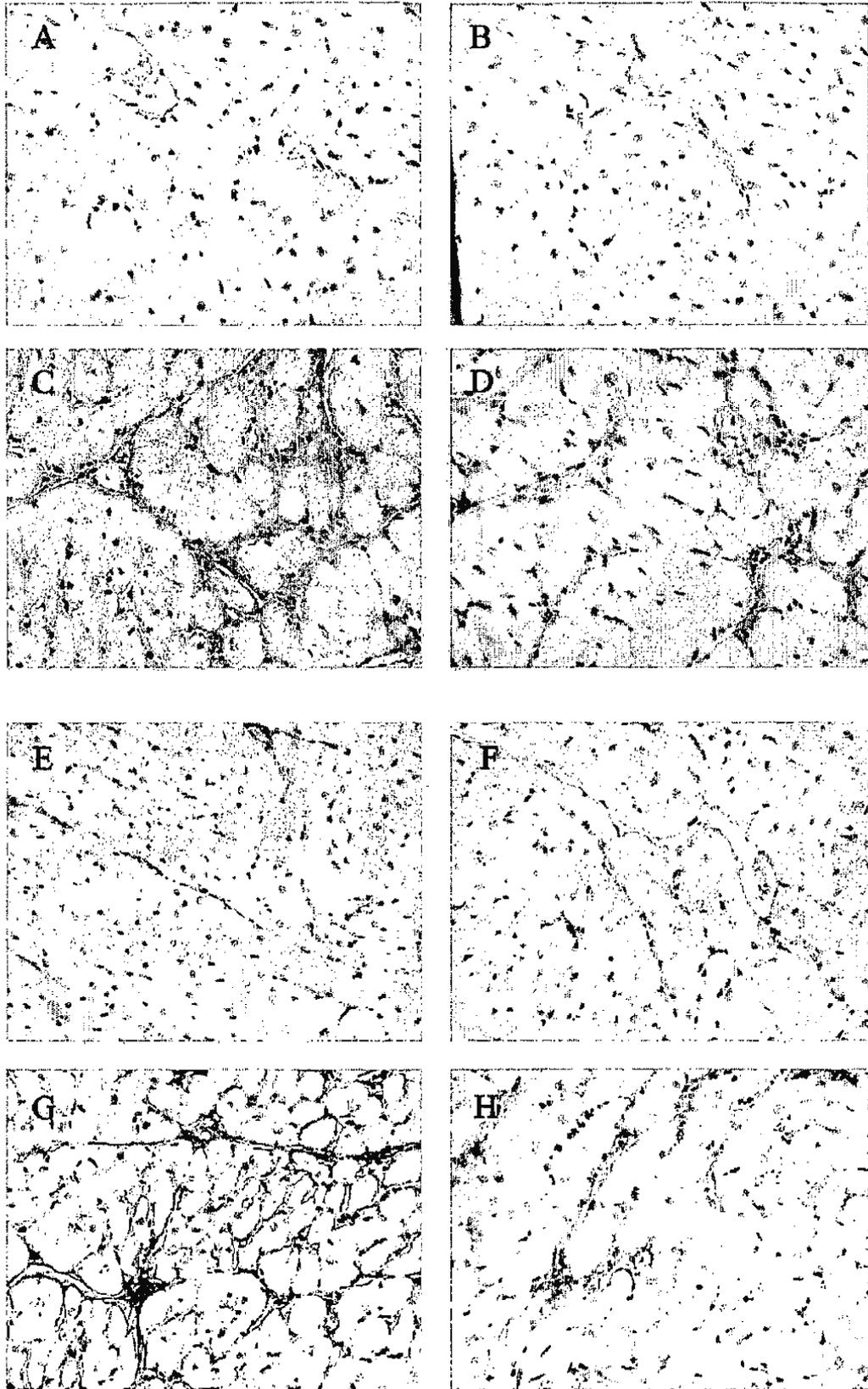


Figura 27

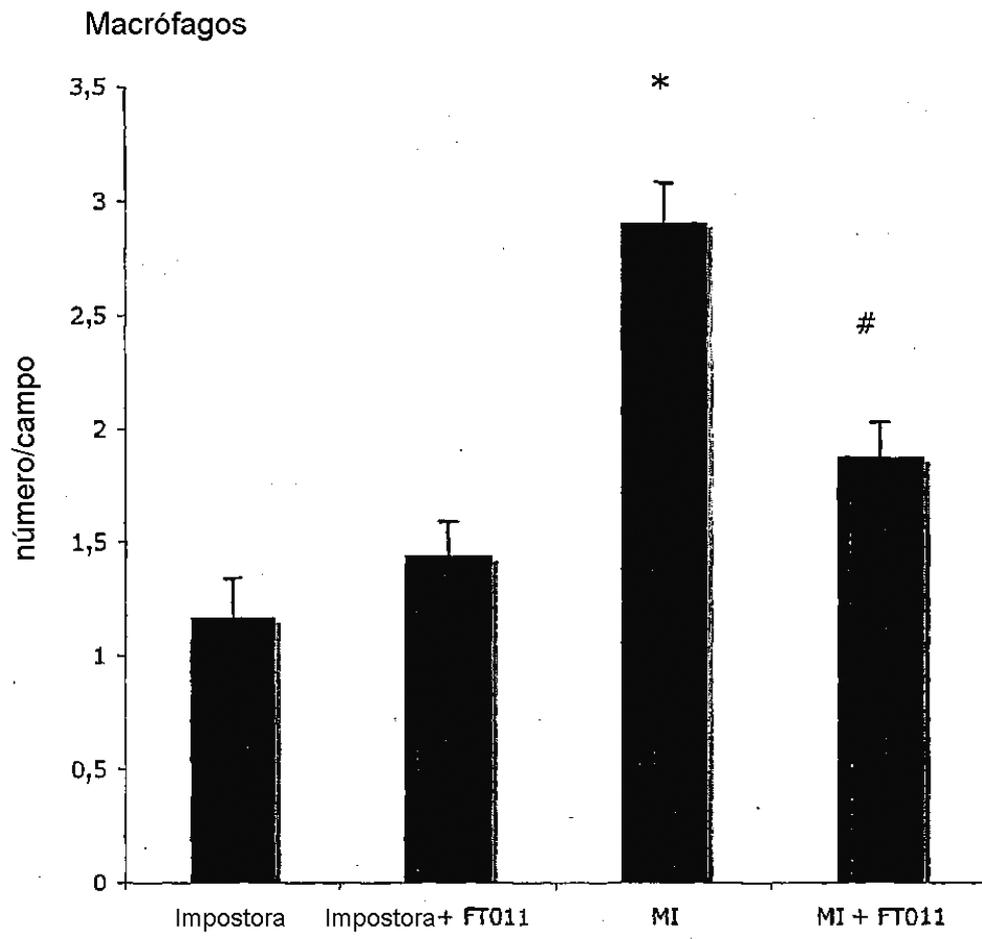


Figura 28

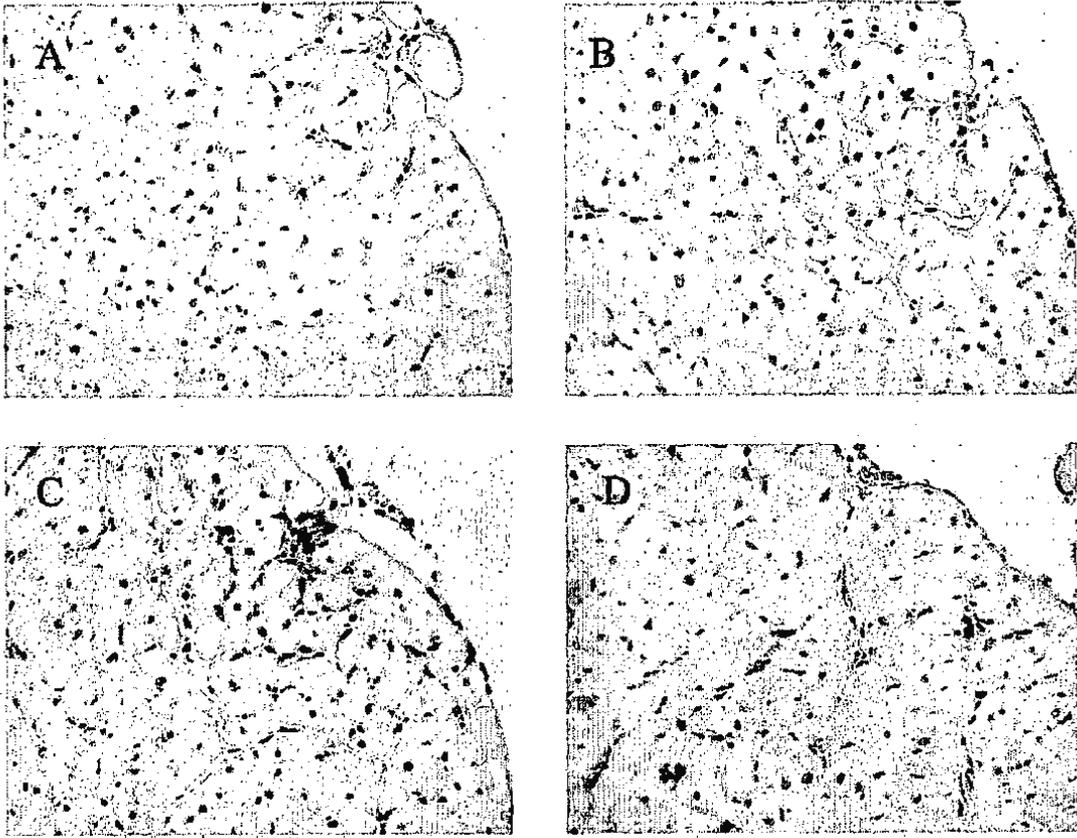


Figura 29

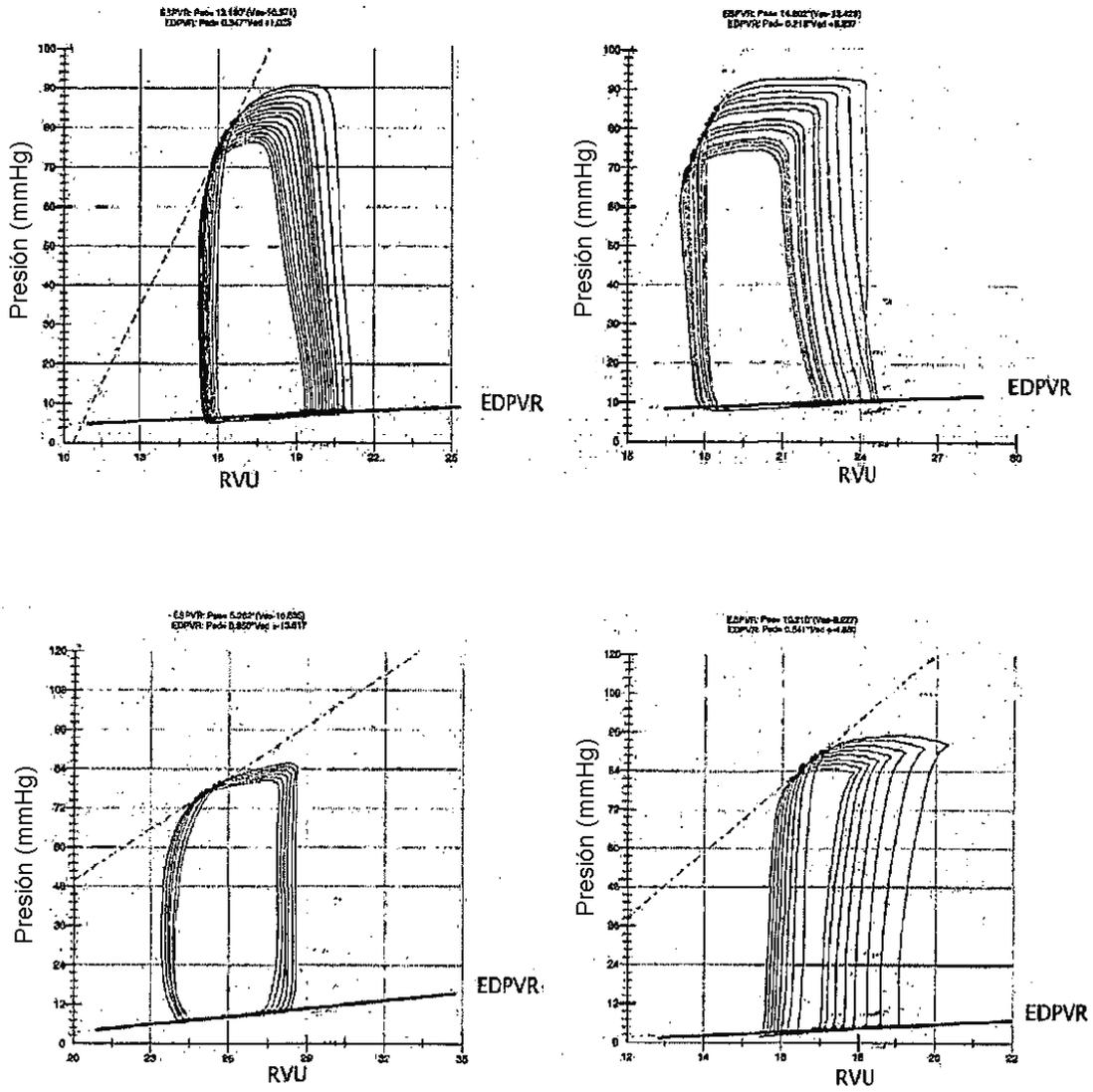


Figura 30

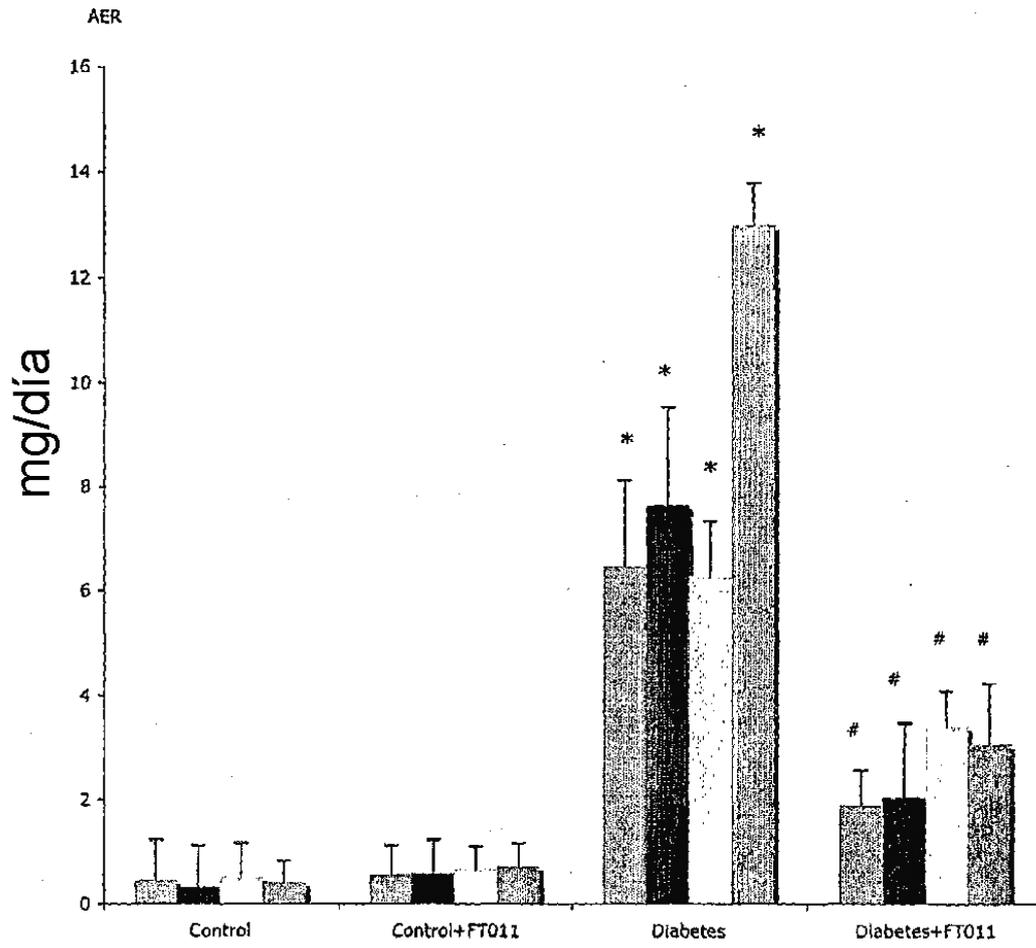


Figura 31

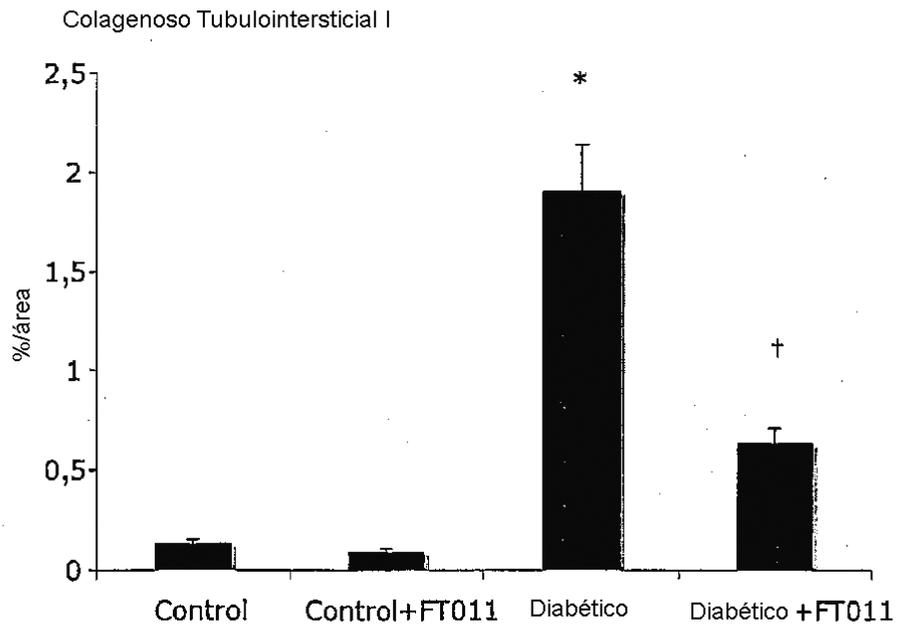
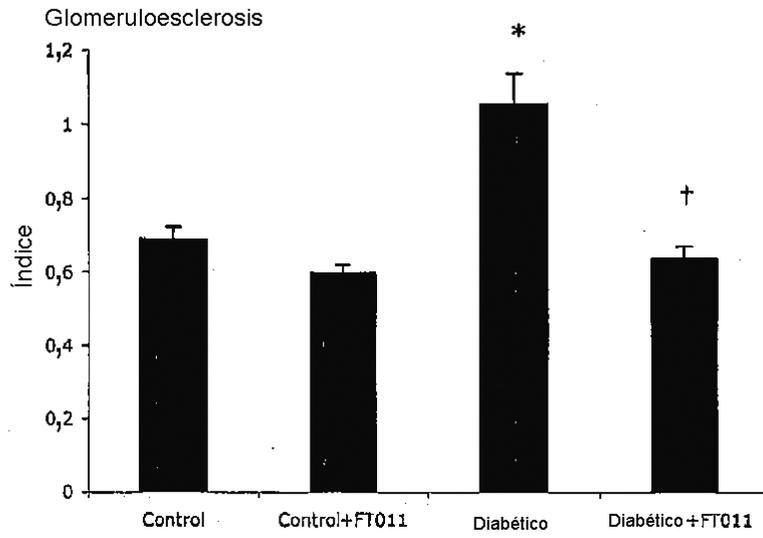


Figura 32

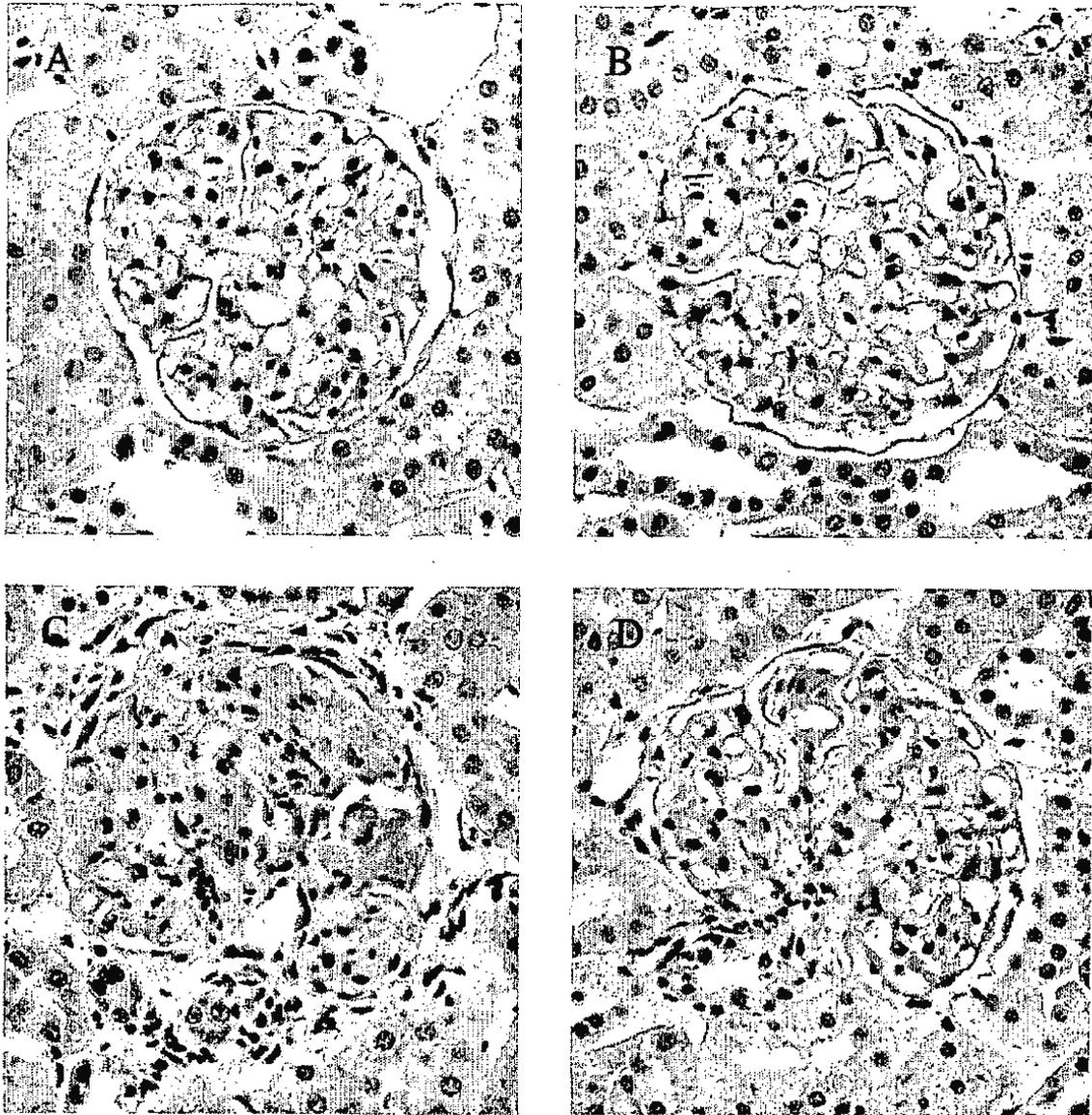


Figura 33

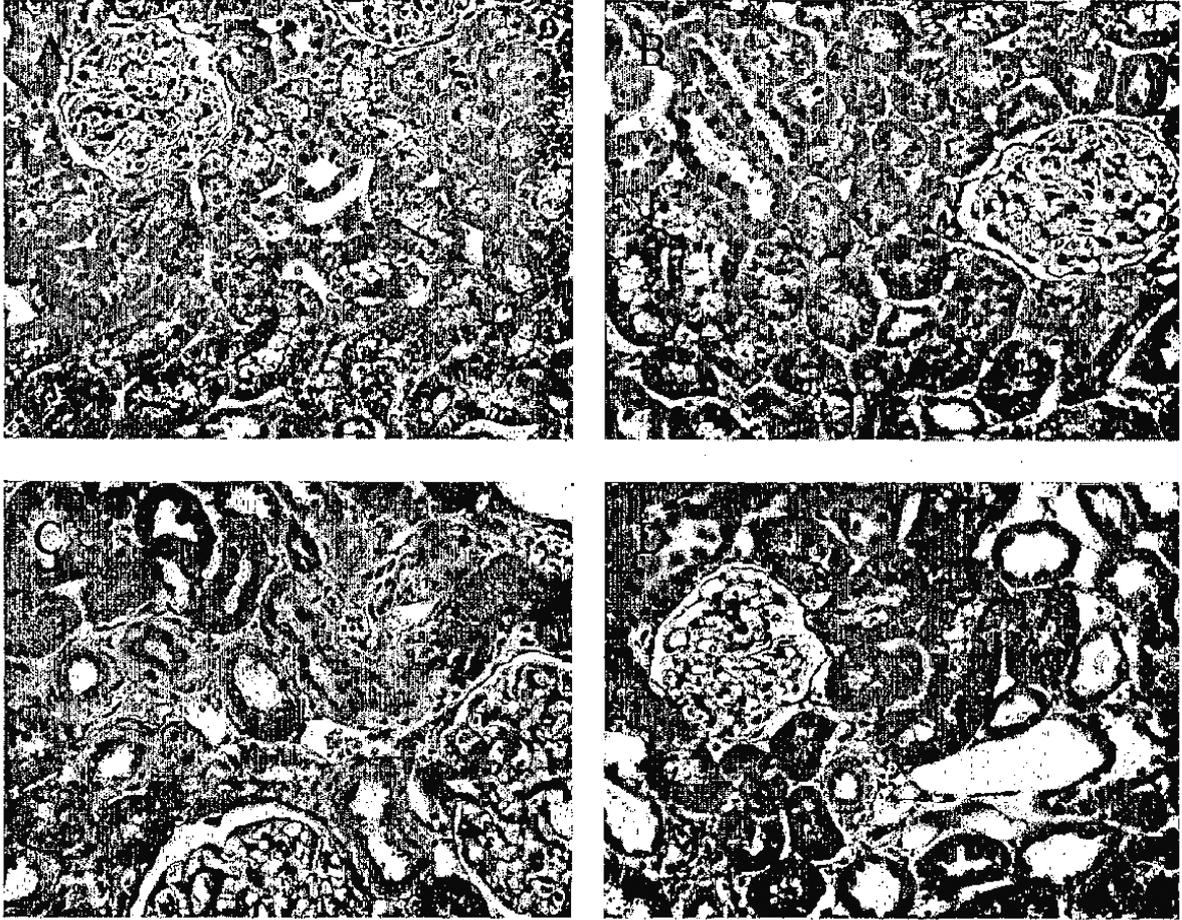


Figura 34