

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 524 342**

51 Int. Cl.:

**C07D 213/69** (2006.01)

**A61K 31/4422** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

**A61P 13/12** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

**A61P 35/00** (2006.01)

**C07D 213/74** (2006.01)

**C07D 401/06** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.07.2010 E 10793481 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.08.2014 EP 2448922**

54 Título: **Derivados fluorados de 3-hidroxi piridin-4-unos**

30 Prioridad:

**03.07.2009 US 222979 P**

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

**05.12.2014**

73 Titular/es:

**APOTEX TECHNOLOGIES INC. (100.0%)  
150 Signet Drive  
Toronto, ON M9L 1T9, CA**

72 Inventor/es:

**TAM, TIM FAT;  
LEUNG-TOUNG, REGIS;  
WANG, YINGSHENG;  
ZHAO, YANQING;  
XIN, TAO;  
SHAH, BIRENKUMAR;  
N'ZEMBA, BLAISE;  
WODZINSKA, JOLANTA MARIA y  
PREMYSLOVA, MARYNA**

74 Agente/Representante:

**IZQUIERDO FACES, José**

**ES 2 524 342 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).

**DERIVADOS FLUORADOS DE 3-HIDROXIPIRIDIN-4-UNOS****Descripción****5 Antecedentes**

10 La ocurrencia de toxicidad de hierro in vivo en el cuerpo humano puede categorizarse en sobre en condiciones de sobrecarga de hierro y sobrecarga de no-hierro. Las condiciones de sobrecarga de hierro son comunes en pacientes de talasemia a través de transfusiones crónicas de sangre y en pacientes de hemocromatosis hereditaria. Las condiciones de sobrecarga de no-hierro incluyen cardiotoxicidad mediada por antraciclina, infecciones virales, enfermedades neurodegenerativas y condiciones proliferativas. El uso potencial de queladores de hierro en el tratamiento de una variedad de enfermedades se analiza en Tam et al., Current Medicinal Chemistry, 2003, 10, 983-995 y Hider et al., BioMetals, 2007, 20, 639-654.

15 En el presente, hay varios fármacos queladores de hierro que han llegado al mercado. Ejemplos de ellos incluyen deferiprona (Ferriprox™), ICL670 (ExJade™), hidrocloreuro de dexrazoxano (Zinecard™) y mesilato de desferrioxamina (Deferal™). Además, solamente dos de esto compuestos, concretamente deferiprona e ICL670, son oralmente activos para la eliminación de hierro en enfermedades con sobrecarga de hierro.

**20 Resumen**

25 En el diseño de 3-hidroxipiridin-4-uno que llevará a una mejora exposición del cerebro, una técnica es mejorar la lipofiliidad del quelador por medio de la introducción de grupo trifluoroetilo en la posición C3 o C5 o C6 de 3-hidroxipiridin-4-uno (US20080242706). Esta invención se basa en parte en compuestos con un grupo trifluoroetilo en la posición N1, o un grupo 2-difluoroetilo en la posición C2 del esqueleto de 3-hidroxipiridin-4-uno. El uso de sustituyentes de bajo peso molecular también se considera en el diseño de nuevos ligandos (L) bidentados de 3-hidroxipiridin-4-uno. Un complejo  $ML_n$  se forma después de la formación de complejo con u metal (M), por ejemplo  $FeL_3$ .

30 Las aminas son conocidas por tener una interacción favorable con grupos líderes de fosfolípidos con carga predominantemente negativa en la barrera hematoencefálica (BHE). En general, las bases penetran mejor en el sistema nervioso central (SNC) (Capítulo 10, Barrera hematoencefálica en propiedades de tipo fármaco: concepto, diseño de estructura y métodos, por Edward H. Kerns y Li Di, Academic Press, Elsevier 2008). Aquí, una serie de derivados con trifluoroetilo en la posición C2 o N2 o C5 o C6 de la columna de 3-hidroxipiridin-4-uno se diseñan y sintetizan. Ejemplos seleccionados de estos compuestos son 2-[1-(dimetilamino)-2,2,2-tifluorometil]-3-hidroxi-1-  
35 metilpiridin-4(1H)-uno (Apo7041), 5-[1-(dimetilamino)-2,2,2-tifluorometil]-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno (Apo7053) y 6-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (Apo7021) y 2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (Apo7067).

40 La invención se basa en parte en un descubrimiento fortuito de que los derivados de amina tales como 2-[1-(dimetilamino)-2,2,2-tifluorometil]-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (Apo7041), son menos favorables que deferiprona en la penetración en BHE en estudios de BHE en ratas con dosis en casete. Los estudios psicoquímicos confirman que Apo7041 ( $pK_a = 3,51$ ) es menos básico en aminas alifáticas normales. Ciertos derivados amino seleccionados de esta invención son bases débiles y tienen  $pK_a$ s en el rango de 3,5 a 6,0.

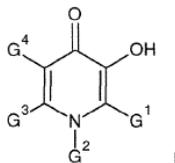
45 Las bases débiles de esta invención son lipofílicas y pueden también poseer la habilidad para acumularse en el compartimento ácido de sistemas biológicos. Además, los quelatos metálicos de compuestos de esta invención pueden tener una propiedad distintiva de ser estables en pHs significativamente inferiores que el quelato metálico de deferiprona. Los compuestos de esta invención pueden ser útiles en condiciones biológicas tales como tratamiento de cáncer, trastornos inflamatorios de pulmón y enfermedad renal donde la terapia requiere una base débil para acumularse en el compartimento ácido y aislar hierro libre bajo condiciones ligeramente ácidas para formar un quelato férrico estable, que da como resultado la eliminación de hierro.

50 Por otro lado, los derivados fluorados de 3-hidroxipiridin-4-uno con una amina básica con  $pK_a > 6,0$  tienen propiedades diferentes que las aminas débilmente básicas tales como Apo7041. Un ejemplo de tal es 2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (Apo7067,  $pK_a = 6,1$ ). Apo7067 es más liofílico que deferiprona y penetra fácilmente en BHE en estudios de BHE en ratas con dosis en casete.

55 Los derivados fluorados no amino de 3-hidroxipiridin-4-uno de esta invención son generalmente más liofílicos que deferiprona y pueden acumularse en la región del cerebro. Ejemplos de esos compuestos son 3-hidroxi-2-metil-1-(2,2,2,-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (Apo6995), 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-1-(2,2,2,-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (Apo7064), 2-(2,2-difluoroetil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (Apo7080) y 2-(2,2-difluoro-1-hidroxietil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (Apo7078). Los compuestos tales como Apo6995 pueden ser útiles como queladores de hierro de bajo peso molecular para la acumulación en el cerebro. Un uso posible es el tratamiento de ataxia de Friedreich, donde el sitio de eliminación o redistribución de hierro es en el cerebro.

En realizaciones ilustrativas de la presente invención se proporciona un compuesto de Fórmula I:

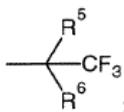
5



10

donde G<sup>1</sup> es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub>, CH(R<sup>7</sup>)CF<sub>2</sub>H, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> o

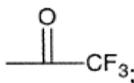
15



20

G<sup>2</sup> es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alquilo, ciclopropilo o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>2</sub>R<sup>2</sup>; G<sup>3</sup> es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH(R<sup>6</sup>)CF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>-A-OH, CH<sub>2</sub>-A-NHR<sup>9</sup> o CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> o

25



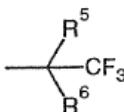
30

35

40

y G<sup>4</sup> es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alquilo, halo o CH(R<sup>8</sup>)CF<sub>3</sub>; n es 1, 2 ó 3; R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo; R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> cicloalquilo, alilo y propargilo; R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>, cuando juntos forman un único grupo de anillo, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo), morfolínilo y piperidinilo; R<sup>3</sup> es H o F; R<sup>4</sup> y R<sup>7</sup> independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H, OH, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil y A—NH-R<sup>10</sup>; y cuando R<sup>4</sup> o R<sup>7</sup> es imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínilo o —A—NH-R<sup>10</sup>; un punto de unión de R<sup>4</sup> o R<sup>7</sup> con el radical CH de G<sup>1</sup> es un átomo n de R<sup>4</sup> o R<sup>7</sup>; R<sup>5</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo; R<sup>6</sup> es H u OH; R<sup>8</sup> se selecciona del grupo consistente en: NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil y A—NH-R<sup>10</sup>; y cuando R<sup>8</sup> es imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil o A—NH-R<sup>10</sup> un punto de unión de R<sup>8</sup> con el radical CH de G<sup>4</sup> es un átomo N de R<sup>8</sup>; R<sup>9</sup> y R<sup>10</sup> son independientemente H o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo; A es —NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CO o un residuo de aminoácido alfa; m es 1, 2 ó 3; y siempre y cuando: al menos uno de G<sup>1</sup>, G<sup>2</sup>, G<sup>3</sup> y G<sup>4</sup> comprenden al menos un radical de flúor; cuando G<sup>1</sup> es CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub> y R<sup>4</sup> es H u OH; entonces (i) G<sup>3</sup> es CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH<sub>2</sub>-A-OH, CH<sub>2</sub>-A-NHR<sup>9</sup> o (ii) G<sup>4</sup> es halo o CH(NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)CF<sub>3</sub>; y cuando G<sup>3</sup> es CH(R<sup>6</sup>)CF<sub>3</sub>, entonces G<sup>1</sup> es CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub>, CH(R<sup>7</sup>)CF<sub>2</sub>H, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> o

45



50

En realizaciones ilustrativas de la presente invención, se proporciona un compuesto aquí descrito para su uso en el tratamiento de una condición médica relacionada con una concentración tóxica de hierro. El uso puede ser para la preparación de un medicamento. La condición médica relacionada con una concentración tóxica de hierro puede seleccionarse del grupo consistente en: cáncer, enfermedad pulmonar, enfermedad renal progresiva y ataxia de Friedreich.

55

Otros aspectos y características de la presente invención serán aparentes para aquellos expertos en la técnica después del análisis de la siguiente descripción de realizaciones específicas de la invención junto con las figuras acompañantes.

60

### Breve descripción de los dibujos

65

La FIG. 1 es una representación esquemática de la zona E<sub>1/2</sub> de fármacos establecidos tales como deferiprona y desferrioxamina B. cuando un quelato férrico tiene un valor E<sub>1/2</sub> que cae por debajo de -320 mV (mV contra NHE), el quelato no es activo en reducción-oxidación y sus propiedades corresponden a la zona E<sub>1/2</sub> de fármacos establecidos tales como deferiprona y desferrioxamina B, y proteína del cuerpo tal como transferrina. Los

compuestos de la Fórmula I tienen valores  $E_{1/2}$  que corresponden a la zona entre ferrioxamina B (quelato de hierro o desferrioxamina B) y Fe(deferiprona)<sub>3</sub>. Tanto deferiprona como Apo7041 son derivados de 3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4-uno. Deferiprona es 3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno y Apo7041 es 2-[1-(dimetilamino)-2,2,2-tifluorometil]-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno.

5 La FIG. 2 es una representación esquemática de la voltametría cíclica (VC) del quelato FE de tres compuestos representativos de Fórmula I, Apo7041 ( $G^2 = \text{Me}$ ,  $G^1 = \text{CH}(\text{NMe}_2)\text{CF}_3$ ,  $G^4 = \text{H}$ ,  $G^3 = \text{H}$ ), Apo7053 ( $G^2 = \text{Me}$ ,  $G^1 = \text{Me}$ ,  $G^4 = \text{CH}(\text{NMe}_2)\text{CF}_3$ ,  $G^3 = \text{H}$ ), Apo7069 ( $G^2 = \text{CH}(\text{NMe}_2)\text{CF}_3$ ,  $G^1 = \text{Me}$ ,  $G^4 = \text{H}$ ,  $G^3 = \text{H}$ ),

10 La FIG. 3A es una representación esquemática de un Método de Job de Apo 7053 5-[1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4-(1H)-uno, un compuesto de Fórmula I.

15 La FIG. 3B es una representación esquemática de un Método de Job para sistema Fe-Apo7041 con  $[\text{Fe}]_{\text{total}} + [\text{Apo7041}]_{\text{total}} = 8 \times 10^{-4} \text{ M}$  en 0,1 M MOPS en pH 7,4.

La FIG. 4 es una representación esquemática del gráfico de especiación Fe del sistema Fe : deferiprona en la proporción de 1 : 10 con  $[\text{Fe}] = 1 \times 10^{-6}$  y  $[\text{deferiprona}] = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ .

20 La FIG. 5 es una representación esquemática del gráfico de especiación Fe del sistema Fe : Apo7041 en la proporción de 1 : 10 con  $[\text{Fe}] = 1 \times 10^{-6}$  y  $[\text{Apo7041}] = 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ .

25 La FIG. 6 es una representación esquemática de la protonación del quelato de Apo7041. El quelato FE de una base débil es un absorbente de protones. Las especies protonadas  $\text{FeL}_3$  por medio de protonación de las fracciones de amina  $\text{FeL}_3$  a  $\text{FeL}_2$  están presentes en medio ácido. La conversión de  $\text{FeL}_3$  a  $\text{FeL}_2$  ocurre solamente en pH ácido muy bajo.

La FIG. 7 es una representación esquemática de la degradación de  $\text{FeL}_3$  a  $\text{FeL}_2$  para 3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4-unos neutrales.

30 La FIG. 8 es una representación esquemática del ligando Apo7041. La masa estérica en la posición C2 está diseñada para bloquear el metabolismo de fase II que implica la glucuronidación del oxígeno C3.

35 La FIG. 9 es una representación esquemática del ácido hidroxibenzoico cuando el ácido benzoico se trata con peróxido de hidrógeno y sales de hierro. El eje y se refiere a la concentración total de ácido 2-hidroxibenzoico, ácido 3-hidroxibenzoico y ácido 4-hidroxibenzoico formado (unidad:  $\mu\text{M}$ ).

40 La FIG. 10 es una representación esquemática de la acción neuroprotectora de deferiprona en células SV-NRA tratadas con MPP+. El tratamiento MPP+ redujo la viabilidad celular cuando se comparó con un control vehículo no tratado. El tratamiento con deferiprona, un fármaco quelador de hierro dio como resultado aproximadamente un aumento del 20% en viabilidad celular ( $p < 0,05$ ).

La FIG. 11 es una representación esquemática que muestra la acción neuroprotectora de Apo7021, un compuesto de Fórmula I, en células SV-NRA tratadas con MPP+.

45 La FIG. 12 es una representación esquemática que muestra la acción neuroprotectora de Apo7060, un compuesto de Fórmula I, en células SV-NRA tratadas con MPP+.

50 La FIG. 13 es una representación esquemática que muestra la acción neuroprotectora de Apo6995, un compuesto de Fórmula I, en células SV-NRA tratadas con MPP+.

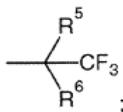
### Descripción detallada

55 Los compuestos de la presente invención comprenden compuestos que tienen una estructura de acuerdo con la Fórmula I:



65 donde  
 $G^1$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub>, CH(R<sup>7</sup>)CF<sub>2</sub>H, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> o

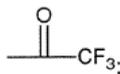
5



10

$G^2$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alquilo, ciclopropilo o  $(CH_2)_nCF_2R^3$ ;  
 $G^3$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH(R<sup>6</sup>)CF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>-A-OH, CH<sub>2</sub>-A-NHR<sup>9</sup> o CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> o

15



y  
 $G^4$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alquilo, halo o CH(R<sup>8</sup>)CF<sub>3</sub>;  
 n es 1, 2 ó 3;

20

$R^1$  y  $R^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo;  $R^1$  y  $R^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> cicloalquilo, alilo y propargilo;

$R^1$  y  $R^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo), morfolínilo y piperidinilo;

25

$R^3$  es H o F;  
 $R^4$  y  $R^7$  independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H, OH, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil y A—NH-R<sup>10</sup>; y cuando  $R^4$  o  $R^7$  es imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínilo o —A-NH-R<sup>10</sup>; un punto de unión de  $R^4$  o  $R^7$  con el radical CH de  $G^1$  es un átomo n de  $R^4$  o  $R^7$ ;

30

$R^5$  es C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo;  
 $R^6$  es H u OH;

$R^8$  se selecciona del grupo consistente en: NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil y A—NH-R<sup>10</sup>; y cuando  $R^8$  es imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil o A—NH-R<sup>10</sup> un punto de unión de  $R^8$  con el radical CH de  $G^4$  es un átomo N de  $R^8$ ;  $R^9$  y  $R^{10}$  son independientemente H o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo;

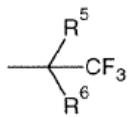
35

A es —NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CO o un residuo de aminoácido alfa;  
 m es 1, 2 ó 3; y  
 siempre y cuando:

40

al menos uno de  $G^1$ ,  $G^2$ ,  $G^3$  y  $G^4$  comprenden al menos un radical de flúor;  
 cuando  $G^1$  es CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub> y  $R^4$  es H u OH; entonces (i)  $G^3$  es CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH<sub>2</sub>-A-OH, CH<sub>2</sub>-A-NHR<sup>9</sup> o (ii)  $G^4$  es halo o CH(NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)CF<sub>3</sub>; y  
 cuando  $G^3$  es CH(R<sup>6</sup>)CF<sub>3</sub>, entonces  $G^1$  es CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub>, CH(R<sup>7</sup>)CF<sub>2</sub>H, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> o

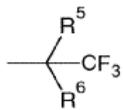
45



50

Cuando  $G^1$  comprende un radical de flúor, entonces  $G^1$  se selecciona del grupo consistente en: CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub>, CH(R<sup>7</sup>)CF<sub>2</sub>H, y

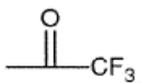
55



60

Cuando  $G^2$  comprende un radical de flúor, entonces,  $G^4$  es  $(CH_2)_nCF_2R^3$ .  
 Cuando  $G^3$  comprende un radical de flúor, entonces  $G^3$  se selecciona del grupo consistente en: CH(R<sup>6</sup>)CF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> y

65



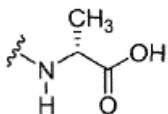
Cuando  $G^4$  comprende un radical de flúor, entonces  $G^4$  es  $CH(R^8)CF_3$ .

Como se usa a lo largo de este documento, a menos que el contexto lo haga claro de otra manera, A puede ser  $-NH-(CH_2)_m-CO-$  donde m es 1, 2 ó 3 o un residuo de aminoácido. A tiene un punto de unión con el compuesto por medio de un átomo de nitrógeno (átomo N). El punto de unión puede ser, por ejemplo, en la terminal N del residuo de aminoácido. Si el aminoácido es lisina u ornitina, es posible que N alfa o N epsilon de lisina o N alfa o N delta de ornitina puede ser un punto de unión. En las fracciones  $A-NHR^9$  o  $A-HNR^{10}$ , el ácido carboxílico del residuo de aminoácido forma una amida con el átomo de nitrógeno de  $NHR^9$  o  $NHR^{10}$ . En las fracciones de A-OH, el terminal C del residuo de aminoácido es un ácido carboxílico;

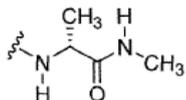
Como aquí se usa, un residuo de aminoácido incluyen, aunque no se limita a, cualquiera de los aminoácidos carboxílicos que ocurren de manera natural alfa, beta y gamma, incluyendo sus isómeros ópticos D y L, y los derivados de N-alquilo de cadena corta y de N fenil alquilo de cadena corta de estos aminoácidos. El residuo de aminoácido se une a través de un nitrógeno del aminoácido. Los aminoácidos que ocurren de manera natural que pueden incorporarse a la presente invención incluyen, aunque no se limitan a, alanina (ala), arginina (arg), asparagina (asn), ácido aspártico (asp), cisteína (cis), cistina, ácido glutámico (glu), glutamina (gln), glicina (gli), histidina (his), isoleucina (iso), leucina (leu), lisina (lis), metionina (met), ornitina (orn), fenilalanina (fe), prolina (pro), serina (ser), treonina (tr), tiroxina, triptófano (trf), tirosina (tir), valina (val), beta-alanina ( $\beta$ -ala) y ácido gamma-aminobutírico (gaba). Los residuos de aminoácido preferentes incluyen prolina, leucina, fenilalanina, isoleucina, ácido gamma-aminobutírico, valina, glicina y fenilglicina.

Todos los aminoácidos alfa excepto glicina contienen al menos un átomo de carbono asimétrico. Como resultado, son ópticamente activos, existiendo en forma D o L como una mezcla racémica. Por consiguiente, algunos de los compuestos de la presente invención pueden prepararse en forma ópticamente activa, o como mezclas racémicas de los compuestos aquí reivindicados.

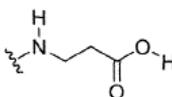
Por ejemplo, el término A-OH donde A es D-alanilo tiene la siguiente estructura:



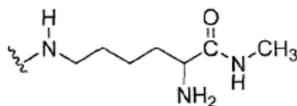
El término A-NHMe donde A es D-alanilo tiene la siguiente estructura:



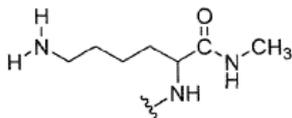
El término A-OH donde A es  $-NH-(CH_2)_m-CO-$  y m es 2 tiene la siguiente estructura:



El término A-NHMe donde A es épsilon-lisilo tiene la siguiente estructura:



El término A-NHMe donde A es alfa-lisilo tiene la siguiente estructura:



5 Como aquí se usa, el término "alquilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente, significa, a menos que se manifieste lo contrario, un radical de hidrocarburo de cadena recta o ramificada y puede incluir radicales di- o multi-equivalentes, que tienen el número de átomos de carbono designados (esto es, C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> o de 1- a 10- miembros lo que significa de uno a diez carbonos). Si no se indica expresamente, el número de carbonos en un grupo alquilo pueden considerarse que es C<sub>1</sub>-C<sub>10</sub> y cualquiera de otros rangos y/o números aquí específicos. Ejemplos de radicales de hidrocarburo incluyen, aunque no se limitan a, grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, homólogos e isómeros de, por ejemplo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo y similares. El término "alquilo", a menos que se indique lo contrario, no pretende incluir derivados de alquilo tales como "heteroalquilo".

10 El término "cicloalquilo", por sí mismo o en combinación con otros términos, representa, a menos que se manifieste lo contrario, versiones cíclicas de "alquilo". Ejemplos de cicloalquilo incluyen, aunque no se limitan a, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares.

15 Los términos "halo" o "halógeno" por sí mismos o como parte de otro sustituyente, significan, a menos que se manifieste lo contrario, un átomo de flúor, cloro, bromo o yodo. Además, términos tales como "haloalquilo" pretenden incluir monohaloalquilo y polihaloalquilo. Por ejemplo, el término "halo(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)alquilo" pretende incluir, aunque no se limita a, trifluorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 4-clorobutilo, 3-bromopropilo y similares.

20 Como aquí se usa, el término "sustituido" se refiere a la sustitución en un átomo de hidrógeno en un compuesto por un grupo sustituyente. Un sustituyente puede ser un átomo de no-hidrógeno o múltiples átomos de los cuales uno es un átomo de no-hidrógeno y uno o más puede comprender uno o más sustituyentes seleccionados del grupo consistente en: R<sup>1</sup>, OR<sup>1</sup>, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, SR<sup>1</sup>, halógeno, SiR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>R<sup>3</sup>, OC(O)R<sup>1</sup>, CO<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, CONR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, NR<sup>1</sup>C(O)<sub>2</sub>R<sup>2</sup>, S(O)<sub>2</sub>R<sup>1</sup>, CN y NO<sub>2</sub>. Como aquí se usan, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> pueden seleccionarse, independientemente, del grupo consistente en: hidrógeno, halógeno, oxígeno, heteroalquilo sustituido o no sustituido, arilo sustituido o no sustituido, alquilo sustituido o no sustituido, grupos alcoxi y tioalcoxi y grupos arilalquilo.

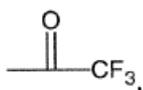
30 "Radical" se refiere al radical de una molécula que está unido a otro radical. En particular, los términos "radical de flúor" se refieren al radical de una molécula que comprende al menos un radical y/o átomo de flúor.

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos cuando G<sup>1</sup> es CH(NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)CF<sub>3</sub>, entonces G<sup>3</sup> y G<sup>4</sup> son independientemente H o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo y G<sup>2</sup> es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo o ciclopropilo.

35 Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando G<sup>2</sup> es (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>2</sub>R<sup>3</sup>, entonces G<sup>1</sup> y G<sup>3</sup> son independientemente H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, CH<sub>2</sub>OH o CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>.

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando G<sup>2</sup> es H, entonces G<sup>4</sup> es H o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo.

40 Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando G<sup>3</sup> es



45 entonces G<sup>1</sup> y G<sup>4</sup> son independientemente H o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo.

50 Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando G<sup>3</sup> es CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, entonces G<sup>1</sup> es NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>.

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando G<sup>1</sup> es CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, entonces G<sup>2</sup> es (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>2</sub>R<sup>3</sup>.

55 Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando G<sup>1</sup> es CH(R<sup>7</sup>)CF<sub>2</sub>H, entonces G<sup>3</sup> y G<sup>4</sup> son independientemente H o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo y G<sup>2</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo o ciclopropilo.

60 Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando G<sup>1</sup> es CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub>, entonces G<sup>2</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo o ciclopropilo; siempre y cuando R<sup>4</sup> sea H u OH, entonces G<sup>3</sup> es CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH<sub>2</sub>-A-OH, CH<sub>2</sub>-A-NHR<sup>9</sup>.

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando G<sup>1</sup> es CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub>, y R<sup>4</sup> es H u OH, entonces G<sup>4</sup> es halo.

65 Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando G<sup>1</sup> o G<sup>3</sup> es CH<sub>2</sub>OH, entonces G<sup>2</sup> es (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>2</sub>R<sup>3</sup>.

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando  $G^1$  es  $NR^1R^2$ , entonces  $G^3$  es  $CH_2CF_3$ ,  $G^4$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo y  $G^2$  es  $C_1-C_4$  alquilo o ciclopropilo.

5 Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando  $G^4$  es  $CH(R^8)CF_3$ , entonces  $G^1$  y  $G^3$  son independientemente H o  $C_1-C_4$  alquilo y  $G^2$  es hidrógeno,  $C_1-C_4$  alquilo o ciclopropilo.

10 Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando  $G^3$  es  $CH_2-A-OH$  o  $CH_2-A-NHR$ , entonces  $G^4$  es independientemente H o  $C_1-C_4$  alquilo,  $G^2$  es  $C_1-C_4$  alquilo o ciclopropilo y  $G^1$  es  $CH(R^4)CF_3$ , donde  $R^4$  es H u OH.

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando  $G^3$  es  $CH_2NR^1R^2$ , y  $G^2$  es  $C_1-C_4$  alquilo o ciclopropilo, entonces  $G^4$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo y  $G^1$  es  $CH(R^4)CF_3$ , donde  $R^4$  es H u OH.

15 Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando  $G^1$  es  $CH(R^4)CF_3$  y  $R^4$  es H u OH, entonces  $G^3$  es  $CH_2NR^1R^2$  o  $G^4$  es halo.

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos donde cuando  $G^3$  es  $CH(R^6)CF_3$ , entonces  $G^1$  es  $CH_2NR^1R^2$  o  $NR^1R^2$ .

20 Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos que tienen una estructura de Fórmula II.



30 donde

$G^1$  es H,  $C_1-C_4$  alquilo,  $-CH_2OH$  o  $-CH_2NR^1R^2$ ;

$G^3$  es H,  $C_1-C_4$  alquilo,  $-CH_2OH$  o  $-CH_2NR^1R^2$ ;

$G^4$  es H,  $C_1-C_4$  alquilo o halo;

35  $R^1$  y  $R^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos;

$R^1$  y  $R^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H,  $C_1-C_4$  alquilo,  $C_3-C_6$  cicloalquilo, alilo y propargilo;

$R^1$  y  $R^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-( $C_1-C_4$  alquilo), morfolínilo y piperidinilo;

40 N es 1, 2 ó 3; y

$R^3$  es H o F.

Algunas realizaciones de la Formula II proporcionan compuestos donde n es 1.

45 Algunas realizaciones de la Formula II proporcionan compuestos donde  $G^4$  es H.

Algunas realizaciones de la Formula II proporcionan compuestos donde  $R^3$  es H.

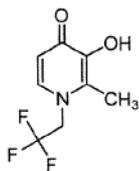
50 Algunas realizaciones de la Formula II proporcionan compuestos donde  $R^3$  es F.

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es metilo,  $R^3$  es F,  $G^2$  es trifluoroetilo y  $G^1$  es H. Este compuesto puede llamarse 5-hidroxi-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4-(1H)-uno.



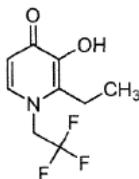
65 Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $R^3$  es F,  $G^2$  es trifluoroetilo y  $G^1$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4-(1H)-uno.

5



10 Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $R^3$  es F,  $G^2$  es trifluoroetilo y  $G^1$  es etilo. Este compuesto puede llamarse 2-etil-3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4-(1H)-uno.

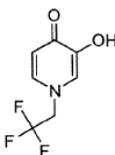
15



20

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $R^3$  es F,  $G^2$  es trifluoroetilo y  $G^1$  es H. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4-(1H)-uno.

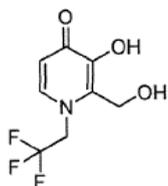
25



30

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $R^3$  es F,  $G^2$  es trifluorometilo y  $G^1$  es  $\text{CH}_2\text{OH}$ . Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4-(1H)-uno.

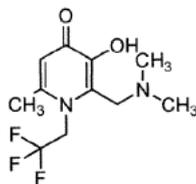
35



40

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es metilo,  $R^3$  es F,  $G^2$  es trifluorometilo y  $G^1$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$  donde  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-6-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4-(1H)-uno.

45

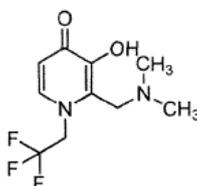


50

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $R^3$  es F,  $G^2$  es trifluorometilo y  $G^1$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$  donde  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4-(1H)-uno.

55

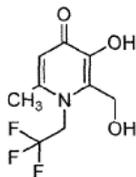
60



65

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es metilo,  $R^3$  es F,  $G^2$  es trifluorometilo y  $G^1$  es  $CH_2OH$ . Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-6-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4-(1H)-uno.

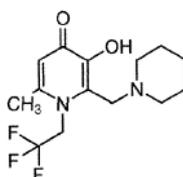
5



10

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es metilo,  $R^3$  es F,  $G^2$  es trifluorometilo y  $G^1$  es  $CH_2NR^1R^2$  donde  $NR^1R^2$  es piperidinilo. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-6-metil-2-(piperidin-1-ilmetil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4-(1H)-uno.

15

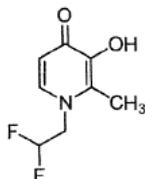


20

25

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $R^3$  es F,  $G^2$  es difluorometilo y  $G^1$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 1-(2,2-difluoroetil)-3-hidroxi-2-metilpiridin-4-(1H)-uno.

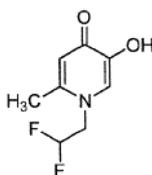
30



35

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es metilo,  $R^3$  es H,  $G^2$  es difluorometilo y  $G^1$  es H. Este compuesto puede llamarse 1-(2,2-difluoroetil)-5-hidroxi-2-metilpiridin-4-(1H)-uno.

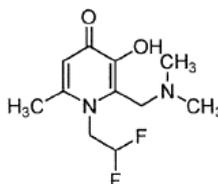
40



45

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula II es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es metilo,  $R^3$  es H,  $G^2$  es difluorometilo y  $G^1$  es  $CH_2NR^1R^2$ ,  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 1-(2,2-difluoroetil)-5-hidroxi-2-metilpiridin-4-(1H)-uno.

50



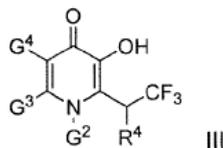
55

60

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos que tienen una estructura de Fórmula III

65

5



10 donde

$G^2$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo o ciclopropilo;

$G^3$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, -CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>-A-NHR<sup>9</sup> o CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>;

$G^4$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo o halo;

15  $R^1$  se selecciona del grupo consistente en: H, OH, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, imidazol, 1,2,4-triazol, piperazina, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquilpiperazina, N-bencilpiperazina, N-fenilpiperazina, 2-piridilpiperazina, y -A-NH-R<sup>10</sup>; y cuando  $R^4$  es NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, imidazol, 1,2,4-triazol, piperazina, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquilpiperazina, N-bencilpiperazina, N-fenilpiperazina, 2-piridilpiperazina o -A-NH-R<sup>10</sup>, un punto de unión de  $R^4$  con el radical -CH de  $G^1$  es un átomo N de  $R^4$ ;

20  $R^1$  y  $R^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos;

$R^1$  y  $R^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> cicloalquilo, alilo y propargilo;

$R^1$  y  $R^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo), morfolínilo y piperidinilo;

25 A es -NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CO- o un residuo de aminoácido alfa;

m es 1, 2 ó 3; y

$R^9$  y  $R^{10}$  son independientemente H o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo.

30 Los compuestos de Fórmula III incluyen compuestos donde  $G^1$  es CH(R<sub>4</sub>)CF<sub>3</sub>. Los compuestos de Fórmula III pueden además subdividirse en tres categorías principales, fórmula IIIA, fórmula IIIB y fórmula IIIC.

Los compuestos de la fórmula IIIA son compuestos de Formula II donde  $G^2$  es C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo o ciclopropilo;  $G^3$  es H o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo; y  $R^4$  se selecciona del grupo consistente en: NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, imidazol, 1,2,4-triazol, piperazina, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>-alquilpiperazina, N-bencilpiperazina, N-fenilpiperazina, 2-piridilpiperazina, y -A-NH-R<sup>10</sup>.

35

Algunas realizaciones de fórmula IIIA son compuestos donde  $G^2$  es metilo.

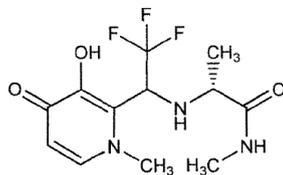
Algunas realizaciones de fórmula IIIA son compuestos donde  $G^3$  es H y  $G^4$  es H.

40

Algunas realizaciones de fórmula IIIA son compuestos donde  $R^4$  es NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>.

45 Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIA es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $G^2$  es metilo,  $R^4$  es A-NHR<sup>10</sup>, A es D-alanilo y  $R^{10}$  es metilo. Este compuesto puede llamarse N-metil-N<sub>2</sub>-[2,2,2-trifluoro-1-(3-hidroxi-1-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridin-2-il)etil]-D-alanina mida y tiene la siguiente estructura:

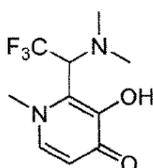
50



55

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIA es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $G^2$  es metilo,  $R^4$  es NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>,  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 2-[1-(dimetilamino)-(2,2,2-trifluoroetil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4-(1H)-uno] y tiene la siguiente estructura:

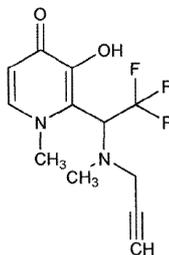
60



65

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIA es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $G^2$  es metilo,  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ,  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es propargilo. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-1-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-[metil(prop-2-in-1-il)amino]etil]piridin-4(1H)-uno y tiene la siguiente estructura:

5

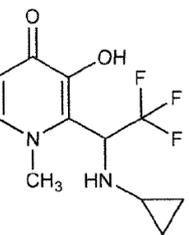


10

15

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIA es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $G^2$  es metilo,  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ,  $R^1$  es H y  $R^2$  es ciclopropilo. Este compuesto puede llamarse 2-[1-(ciclopropilamino)-2,2,2-trifluoroetil]-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno y tiene la siguiente estructura:

20

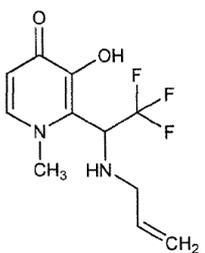


25

30

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIA es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $G^2$  es metilo,  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ,  $R^1$  es H y  $R^2$  es alilo. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-1-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(prop-2-en-1-ilamino)etil]piridin-4(1H) uno y tiene la siguiente estructura:

35

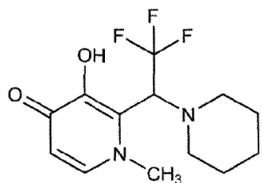


40

45

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIA es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $G^2$  es metilo,  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ,  $NR^1R^2$  es piperidinilo. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-1-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(piperidin-1-il)etil]piridin-4(1H) uno y tiene la siguiente estructura:

50



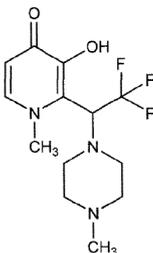
55

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIA es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es H,  $G^2$  es metilo,  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ,  $NR^1R^2$  es N-metilpiperazinilo. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-1-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(4-metilpiperazin-1-il)etil]piridin-4(1H) uno y tiene la siguiente estructura:

60

65

5



10

Compuestos de la fórmula IIIB son compuestos de Fórmula III donde  $G^3$  es  $CH_2-A-OH$ ,  $CH_2-A-NHR^9$  o  $CH_2NR^1R^2$ ;  $G^4$  es H, o  $C_1-C_4$  alquilo; y  $R^4$  es H u OH.

15

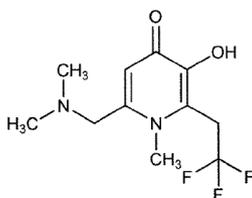
Algunas realizaciones de fórmula IIIB son compuestos donde  $G^2$  es metilo.

Algunas realizaciones de fórmula IIIB son compuestos donde  $G^4$  es H.

20

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Fórmula IIIB es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es  $CH_2NR^1R^2$ ,  $R^1$  es metilo,  $R^2$  es metilo,  $G^2$  es metilo y  $R^4$  es H. Este compuesto puede llamarse 6-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4-(1H) uno y tiene la siguiente estructura:

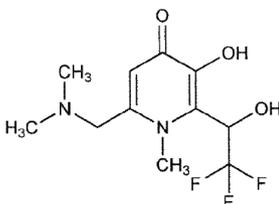
25



30

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Fórmula IIIB es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es  $CH_2NR^1R^2$ ,  $R^1$  es metilo,  $R^2$  es metilo,  $G^2$  es metilo y  $R^4$  es OH. Este compuesto puede llamarse 6-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4-(1H) uno y tiene la siguiente estructura:

35

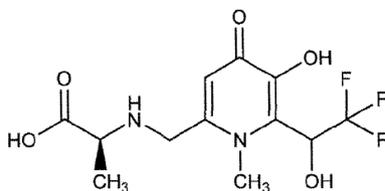


40

45

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Fórmula IIIB es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es  $CH_2-A-OH$ , A es L-alanilo,  $G^2$  es metilo y  $R^4$  es OH. Este compuesto puede llamarse N-[[5-hidroxi-1-metil-4-oxo-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)-1,4-dihidropirin-2-il]metil]-L-alanina y tiene la siguiente estructura:

50



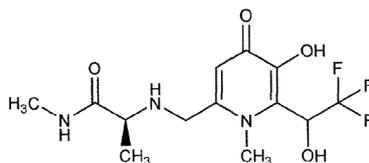
55

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Fórmula IIIB es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $G^3$  es  $CH_2-HNR^9$ , A es L-alanilo,  $R^9$  es metilo,  $G^2$  es metilo y  $R^4$  es OH. Este compuesto puede llamarse N<sup>2</sup>-[[5-hidroxi-1-metil-4-oxo-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)-1,4-dihidropirin-2-il]metil]-N-metil-L-alanina y tiene la siguiente estructura:

60

65

5



10

Compuestos de la fórmula IIIC son compuestos de Fórmula III donde  $G^3$  es H o  $C_1$ - $C_4$  alquilo; y  $G^4$  es halo.

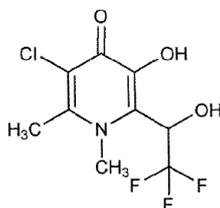
Algunas realizaciones de fórmula IIIC son compuestos donde  $G^2$  es metilo.

Algunas realizaciones de fórmula IIIC son compuestos donde  $G^4$  es cloro.

15

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIC es un compuesto en el que  $G^4$  es cloro,  $G^3$  es metilo,  $G^2$  es metilo y  $R^4$  es H. Este compuesto puede llamarse 3-cloro-5-hidroxi-1,2-dimetil-6-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H) uno y tiene la siguiente estructura:

20

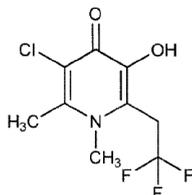


25

30

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIC es un compuesto en el que  $G^4$  es cloro,  $G^3$  es metilo,  $G^2$  es metilo y  $R^4$  es H. Este compuesto puede llamarse 3-cloro-5-hidroxi-1,2-dimetil-6-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H) y tiene la siguiente estructura:

35

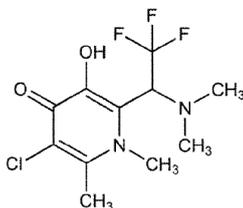


40

45

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIC es un compuesto en el que  $G^4$  es cloro,  $G^3$  es metilo,  $G^2$  es metilo y  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ,  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 3-cloro-6-[1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil]-5-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H) y tiene la siguiente estructura:

50



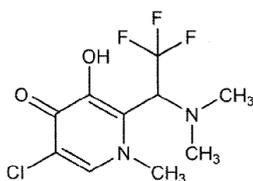
55

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIC es un compuesto en el que  $G^4$  es cloro,  $G^3$  es H,  $G^2$  es metilo y  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ,  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 5-cloro-2-[1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil]-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H) y tiene la siguiente estructura:

60

65

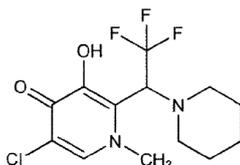
5



10

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIC es un compuesto en el que  $G^4$  es cloro,  $G^3$  es H,  $G^2$  es metilo y  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ,  $NR^1R^2$  es piperidinilo. Este compuesto puede llamarse 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(piperidin-1-il)etil]piridin-4(1H) y tiene la siguiente estructura:

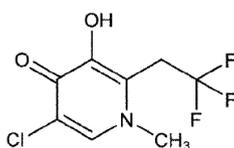
15



20

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IIIC es un compuesto en el que  $G^4$  es cloro,  $G^3$  es H,  $G^2$  es metilo y  $R^4$  es H. Este compuesto puede llamarse 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H) y tiene la siguiente estructura:

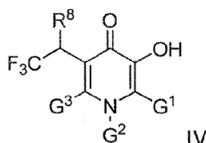
25



30

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos que tienen una estructura de Fórmula IV

35



40

donde

$G^1$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo;

$G^2$  es H,  $C_1-C_4$  alquilo o ciclopropilo;

$G^3$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo;

45

$R^8$  se selecciona del grupo consistente en:  $NR^1R^2$ , imidazol, 1,2,4-triazol, piperazina, N- $C_1-C_4$ -alquilpiperazina, N-bencilpiperazina, N-fenilpiperazina, 2-piridilpiperazina y  $-A-NH-R^{10}$ ; un punto de unión de  $R^8$  con el radical  $-CH$  de  $G^1$  es un átomo N de  $R^8$ ;

$R^1$  y  $R^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos;

50

$R^1$  y  $R^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H,  $C_1-C_4$  alquilo,  $C_3-C_6$  cicloalquilo, alilo y propargilo;

$R^1$  y  $R^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N- $(C_1-C_4)$  alquilo, morfolínilo y piperidinilo;

A es  $-NH-(CH_2)_m-CO-$  o un residuo de aminoácido alfa;

m es 1, 2 ó 3; y

55

$R^{10}$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo.

Algunas realizaciones de fórmula IV son compuestos donde  $G^3$  es H.

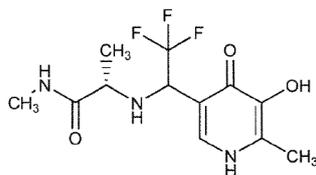
60

Algunas realizaciones de fórmula IV son compuestos donde  $G^1$  es metilo.

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IV es un compuesto en el que  $G^3$  es H;  $G^1$  es metilo,  $G^2$  es H,  $R^8$  es  $A-NHR^{10}$ , A es L-alanilo y  $R^{10}$  es metilo. Este compuesto puede llamarse N-metil-N<sup>2</sup>-[2,2,2-trifluoro-1-(5-hidroxi-6-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridin-3-il)etil]-L-alanina mide y tiene la siguiente fórmula:

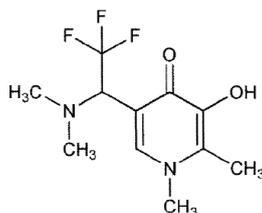
65

5



10 Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IV es un compuesto en el que  $G^3$  es H;  $G^1$  es metilo,  $G^2$  es metilo,  $R^8$  es  $NR^1R^2$ ;  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 5-[1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil]-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno y tiene la siguiente fórmula:

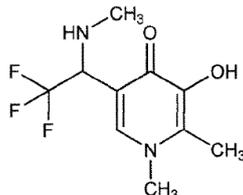
15



20

25 Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IV es un compuesto en el que  $G^3$  es H;  $G^1$  es metilo,  $G^2$  es metilo,  $R^8$  es  $NR^1R^2$ ;  $R^1$  es H y  $R^2$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-1,2-dimetil-5-[2,2,2-trifluoro-1-(metilamino)etil]piridin-4(1H)-uno y tiene la siguiente fórmula:

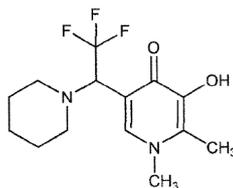
30



35

40 Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IV es un compuesto en el que  $G^3$  es H;  $G^1$  es metilo,  $G^2$  es metilo,  $R^8$  es  $NR^1R^2$ ;  $NR^1R^2$  es piperidinilo. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-1,2-dimetil-5-[2,2,2-trifluoro-1-(piperidin-1-il)etil]piridin-4(1H)-uno y tiene la siguiente fórmula:

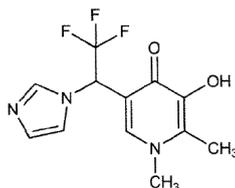
45



50

55 Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IV es un compuesto en el que  $G^3$  es H;  $G^1$  es metilo,  $G^2$  es metilo,  $R^8$  es  $NR^1R^2$ ;  $NR^1R^2$  es imidazolilo. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-1,2-dimetil-5-[2,2,2-trifluoro-1-(1H-imidazol-1-il)etil]piridin-4(1H)-uno y tiene la siguiente fórmula:

60

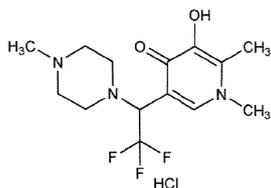


65

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula IV es un compuesto en el que  $G^3$  es H;  $G^1$  es metilo,  $G^2$  es metilo,  $R^8$  es  $NR^1R^2$ ;  $NR^1R^2$  es N-metilpiperacínilo. Este compuesto puede llamarse 3-hidroxi-1,2-dimetil-5-[2,2,2-trifluoro-1-(4-metilpiperazin-1-il)etil]piridin-4(1H)-uno y tiene la siguiente fórmula:

65

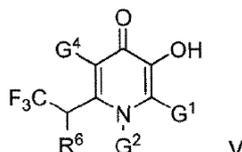
5



10

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos que tienen una estructura de Fórmula V

15



20

donde

$G^1$  es  $CH_2NR^1R^2$  o  $NR^1R^2$ ;

$G^2$  es  $C_1$ - $C_4$  alquilo o ciclopropilo;

$G^4$  es H o  $C_1$ - $C_4$  alquilo;

$R^6$  es u OH; y

25

$R^1$  y  $R^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos;

$R^1$  y  $R^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H,  $C_1$ - $C_4$  alquilo,  $C_3$ - $C_6$  cicloalquilo, alilo y propargilo;

30

$R^1$  y  $R^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-( $C_1$ - $C_4$  alquilo), morfolínilo y piperidínilo.

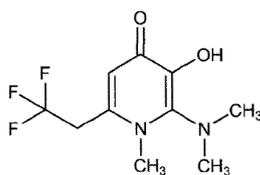
Algunas realizaciones de fórmula IV son compuestos donde  $G^4$  es H.

35

Algunas realizaciones de fórmula IV son compuestos donde  $G^2$  es metilo.

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula V es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $R^6$  es OH,  $G^2$  es metilo,  $G^1$  es  $NR^1R^2$ ,  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-metil-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4-(1H)-uno

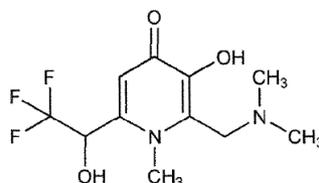
40



45

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula V es un compuesto en el que  $G^4$  es H;  $R^6$  es OH,  $G^2$  es metilo,  $G^1$  es  $CH_2NR^1R^2$ ,  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es metilo. Este compuesto puede llamarse 2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-metil-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4-(1H)-uno

50



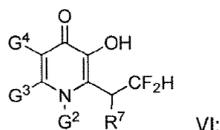
55

60

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos que tienen una estructura de Fórmula VI:

65

5



donde

10  $G^2$  es H,  $C_1$ - $C_4$  alquilo o ciclopropilo;

$G^3$  es H o  $C_1$ - $C_4$  alquilo;

$G^4$  es H o  $C_1$ - $C_4$  alquilo;

15  $R^7$  se selecciona del grupo consistente en: H, OH,  $NR^1R^2$ , imidazolilo, 1,2,4-triazolilo, piperacínilo, N- $C_1$ - $C_4$ -alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínilo y -  $CH_2$ -A-NH- $R^{10}$ ; y cuando  $R^7$  es imidazolilo, 1,2,4-triazolilo, piperacínilo, N- $C_1$ - $C_4$ -alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínilo o -  $CH_2$ -A-NH- $R^{10}$  un punto de unión de  $R^7$  con el radical -CH de  $G^1$  es un átomo N de  $R^7$ ;

$R^1$  y  $R^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos;

20  $R^1$  y  $R^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H,  $C_1$ - $C_4$  alquilo,  $C_3$ - $C_6$  cicloalquilo, alilo y propargilo;

$R^1$  y  $R^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-( $C_1$ - $C_4$  alquilo), morfolinilo y piperidinilo;

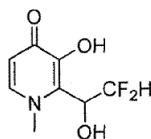
A es -NH-( $CH_2$ ) $m$ -CO- o un residuo de aminoácido alfa;

$m$  es 1, 2 ó 3; y

25  $R^{10}$  es H o  $C_1$ - $C_4$  alquilo.

Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula VI es un compuesto en el que  $G^3$  es H,  $G^4$  es H,  $G^2$  es metilo,  $G^1$  es  $CH(R^7)CF_2H$  y  $R^7$  es hidroxilo. Este compuesto puede llamarse 2-(2,2-difluoro-1-hidroxi-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)) uno y tiene la siguiente fórmula:

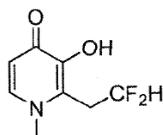
30



35

Otro ejemplo de una realización ilustrativa particular de Formula VI es un compuesto en el que  $G^3$  es H,  $G^4$  es H,  $G^2$  es metilo,  $G^1$  es  $CH(R^7)CF_2H$  y  $R^7$  es H. Este compuesto puede llamarse 2-(2,2-difluoroetil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)) uno y tiene la siguiente fórmula:

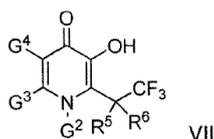
40



45

Algunas realizaciones de Fórmula I proporcionan compuestos que tienen una estructura de Fórmula VII

50



55

donde

60  $G^2$  es H,  $C_1$ - $C_4$  alquilo o ciclopropilo;

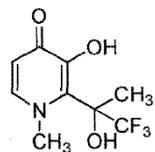
$G^3$  es H o  $C_1$ - $C_4$  alquilo; y

$G^4$  es H o  $C_1$ - $C_4$  alquilo;

Realizaciones ilustrativas particulares de Fórmula VII incluyen compuestos en los que  $G^2$  es metilo,  $G^3$  es H,  $G^4$  es H,  $R^5$  es metilo y  $R^6$  es H u OH. Un ejemplo de una realización ilustrativa particular de Fórmula VII es un

65

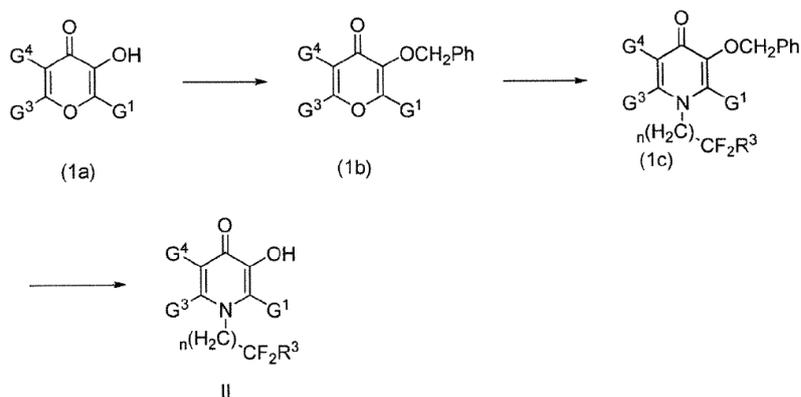
compuesto en el que  $G^2$  es metilo,  $G^3$  es H,  $G^4$  es H,  $R^5$  es metilo y  $R^6$  es OH. ESTe compuesto puede llamarse 3-hidroxi-1-metil-2-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxipropano-2-il)piridin-4-(1H) uno y tiene la siguiente estructura:



En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención comprenden un radical 3-hidroxipiridin-4-uno que tiene un grupo halo, unido a la posición C5 del anillo ( $G^4$  es halo) y un radical de trifluoroetilo, en la posición  $G^1$  o  $G^2$  o  $G^3$ . En algunas de estas realizaciones, el grupo halo es un grupo cloro.

Los siguientes esquemas 1-9 representan ejemplos de métodos que pueden usarse para la preparación de compuestos de las Fórmulas I, II, III, IV, V, VI y VII. Todos los materiales de partida se preparan mediante procedimientos descritos en estos esquemas, mediante procedimientos bien conocidos por aquel experto en química orgánica o pueden obtenerse en el mercado. Todos los compuestos finales de la presente invención pueden prepararse mediante procedimientos descritos en estos esquemas o mediante procedimientos análogos a los mismos.

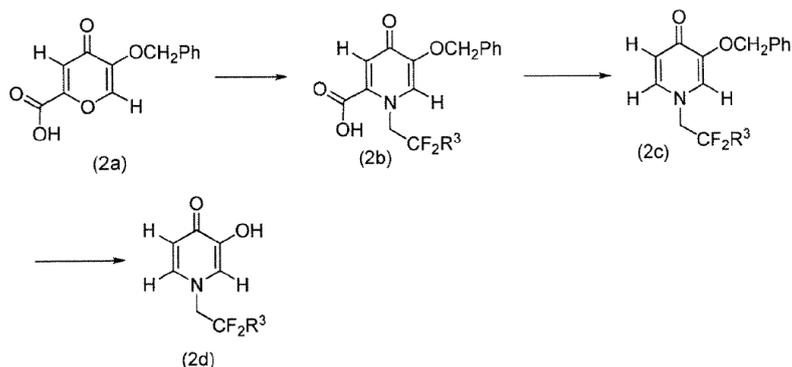
Esquema 1



Los compuestos de Fórmula I donde  $G^2 = -(CH_2)_nCF_2R^3$  pueden prepararse mediante el método mostrado en el Esquema 1, o mediante métodos dados en los ejemplos o mediante métodos análogos. Como se muestra en el Esquema 1, el compuesto (a) donde  $G^1$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo,  $G^3$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo,  $G^4$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo, puede tratarse con hidróxido de sodio o bromuro de bencilo o cloruro de bencilo para dar el compuesto (1b). la inserción de amina con el compuesto (1b) puede conducirse con hidrocloreuro de trifluoroetilamina y una base orgánica tal como piridina en un disolvente inerte para dar el compuesto (1c) donde n es 1 y  $R^3$  es F, que puede desprotegerse mediante hidrólisis con solución ácida hidrocloreúrica o mediante hidrogenación catalítica sobre 10% Pd/C para dar un compuesto de fórmula II. El compuesto de fórmula II es un compuesto de Fórmula I donde  $R^3$  es F, y n es 1.

Como un ejemplo ilustrativo, los compuestos de Fórmula I donde  $G^1$  es H,  $G^3$  es H,  $G^4$  es H, n es 1,  $R^3$  es F pueden prepararse mediante el método mostrado en el Esquema 2.

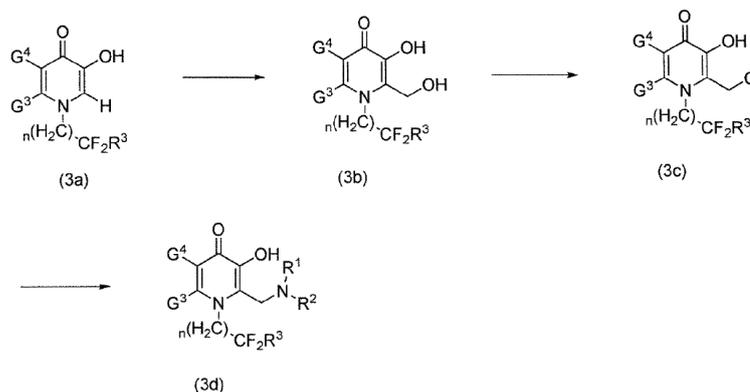
Esquema 2



El compuesto (2a) puede reaccionar con  $\text{CF}_2\text{R}^3\text{CH}_2\text{NH}_2$  en agua para dar un compuesto (2b) que después de calentar en disolvente orgánico inerte tal como dimetilformamida, proporciona el compuesto (2c) que puede desprotegerse con hidrogenación catalítica usando hidrógeno, paladio catalítico en carbón vegetal para dar un compuesto (2d), que es un compuesto de Fórmula II donde n es 1,  $\text{G}^1$  es H,  $\text{G}^3$  es H,  $\text{G}^4$  es H. El compuesto (2d) es también un compuesto de fórmula I donde  $\text{G}^1$  es H,  $\text{G}^3$  es H,  $\text{G}^4$  es H, n es 1,  $\text{G}^2$  es  $-\text{CH}_2\text{CF}_2\text{R}^3$ .

Los compuestos de Fórmula I donde n es 1,  $\text{G}^2$  es  $\text{CH}_2\text{CF}_2\text{R}^3$ ,  $\text{G}^1$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $\text{CH}_2\text{OH}$  o un compuesto de fórmula II donde  $\text{G}^1$  es  $\text{CH}_2\text{OH}$  o  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$  se preparan mediante el método mostrado en el Esquema 3.

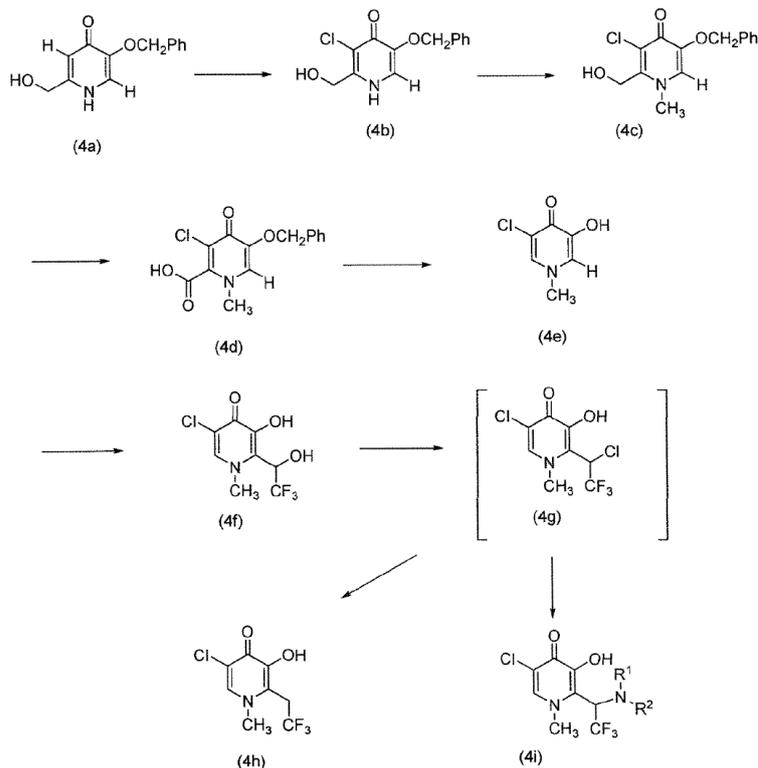
Esquema 3



El compuesto (3a) puede reaccionar con formaldehído e hidróxido de sodio para dar el compuesto (3b). La reacción del compuesto (3b) con cloruro de tionilo en un disolvente inerte tal como acetonitrilo proporciona el compuesto de cloro (3c), que puede enfiarse con una amina  $\text{R}^1\text{R}^2\text{NH}$  para dar el compuesto de la Fórmula (3d), que es un compuesto de Fórmula I donde  $\text{G}^1$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ . El compuesto puede aislarse mediante medios convencionales. Alternativamente, cuando n=1, el compuesto (3a) puede reaccionar directamente con bis(dimetilamino)metano para dar el compuesto (3d) que es un compuesto de Fórmula I donde  $\text{G}^1$  es  $\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$ .

Los compuestos de Fórmula I donde  $\text{G}^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ ,  $\text{R}^4$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ , OH, H o los compuestos de Fórmula III donde  $\text{R}^4$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ , OH, H;  $\text{G}^2$  es H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo;  $\text{G}^3$  es H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo;  $\text{G}^4$  es H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo, halo; pueden prepararse mediante el método mostrado en el Esquema 4. Para fines ilustrativos, el esquema muestra la síntesis de un compuesto de Fórmula I o IIIA o IIIC donde  $\text{G}^3$  es H.

Esquema 4



El compuesto (4a) puede reaccionar con hipoclorito de sodio en 3N NaOH para dar el derivado de cloro (4b), que puede después reaccionar con carbonato de potasio y yoduro de metilo en dimetilformamida para dar el compuesto N-metil (4c). La oxidación TEMPO en un disolvente inerte tal como acetona proporciona el ácido carboxílico (4d). La desprotección ácida y descarboxilación con 6N ácido hidroclicórico proporciona el material de partida (4e). El compuesto (4e) puede reaccionar con  $\text{CF}_3\text{CH}(\text{OCH}_3)\text{OH}$  para dar el diol (4f). El tratamiento de cloruro de tionilo y piridina produce el cloruro (4g). Después de reaccionar el compuesto (4g) con borohidruro de sodio, puede formarse el compuesto (4h). El compuesto (4i) se obtiene de enfriar el cloruro (4g) con  $\text{NR}^1\text{R}^2\text{NH}$ .

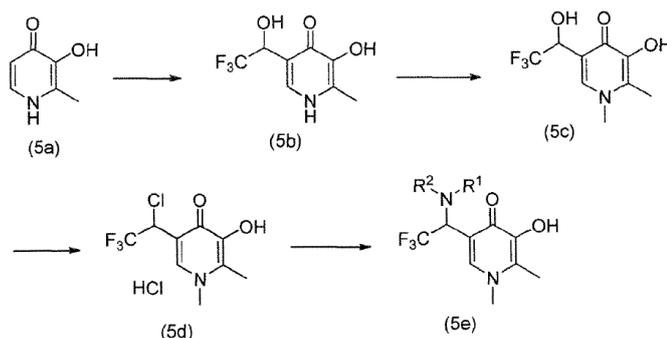
El compuesto (4i) es un compuesto de Fórmula I donde  $\text{G}^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ ,  $\text{R}^4$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$  donde  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  son metilo,  $\text{G}^2$  es metilo,  $\text{G}^3$  es H y  $\text{G}^4$  es cloro. También es un compuesto de fórmula III donde  $\text{R}^4$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$  donde  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  son metilo,  $\text{G}^2$  es metilo,  $\text{G}^3$  es H y  $\text{G}^4$  es cloro.

El compuesto (4h) es un compuesto de Fórmula I donde  $\text{G}^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ ,  $\text{R}^4$  es H,  $\text{G}^2$  es metilo,  $\text{G}^3$  es H,  $\text{G}^4$  es cloro. También es un compuesto de fórmula III donde  $\text{R}^4$  es H,  $\text{G}^2$  es metilo,  $\text{G}^3$  es H,  $\text{G}^4$  es cloro.

El compuesto (4f) es un compuesto de Fórmula I donde  $\text{G}^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ ,  $\text{R}^4$  es OH,  $\text{G}^2$  es metilo,  $\text{G}^3$  es H,  $\text{G}^4$  es cloro. También es un compuesto de fórmula III donde  $\text{R}^4$  es OH,  $\text{G}^2$  es metilo,  $\text{G}^3$  es H,  $\text{G}^4$  es cloro.

El compuesto de Fórmula donde  $\text{G}^4$  es  $\text{CH}(\text{R}^8)\text{CF}_3$ ,  $\text{R}^8$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $\text{G}^3$  es H,  $\text{G}^1$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $\text{G}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o el compuesto de fórmula IV donde  $\text{R}^8$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $\text{G}^3$  es H,  $\text{G}^1$  es metilo,  $\text{G}^2$  es metilo puede prepararse de acuerdo con los procedimientos representativos como se resumen en el Esquema 5 más abajo:

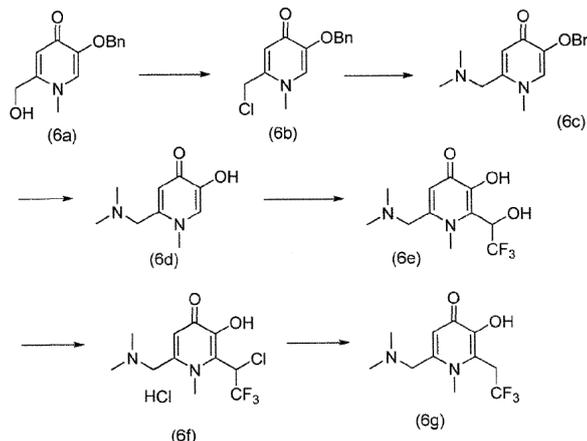
Esquema 5



El compuesto (5c) puede prepararse de acuerdo con el procedimiento resumido en WO20080242706. La reacción del compuesto (5c) con cloruro de tionilo da (5d) que puede enfriarse con una amina  $\text{R}^1\text{R}^2\text{NH}$  para dar el compuesto (5e). El compuesto (5e) es un compuesto de Fórmula I donde  $\text{G}^4 = \text{CH}(\text{R}^8)\text{CF}_3$ ,  $\text{R}^8$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $\text{G}^3$  es H,  $\text{G}^1$  es metilo,  $\text{G}^2$  es metilo. También es un compuesto de fórmula IV donde  $\text{R}^8$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $\text{G}^3$  es H,  $\text{G}^1$  es metilo,  $\text{G}^2 =$  metilo. Cuando  $\text{R}^1$  es metilo,  $\text{R}^2$  es metilo, el compuesto (5e) tiene el nombre químico 5-[1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil]-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno.

Un compuesto de Fórmula I donde  $\text{G}^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ ,  $\text{R}^4$  es H u OH,  $\text{G}^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $\text{G}^3$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $\text{G}^4$  es H o un compuesto de fórmula IIIB donde  $\text{R}^4$  es H u OH,  $\text{G}^2$  es metilo,  $\text{G}^3$  es  $\text{CH}_2\text{NMe}_2$ ,  $\text{G}^4$  es H puede prepararse de acuerdo con los procedimientos representativos como se resumen en el Esquema 6 más abajo:

Esquema 6

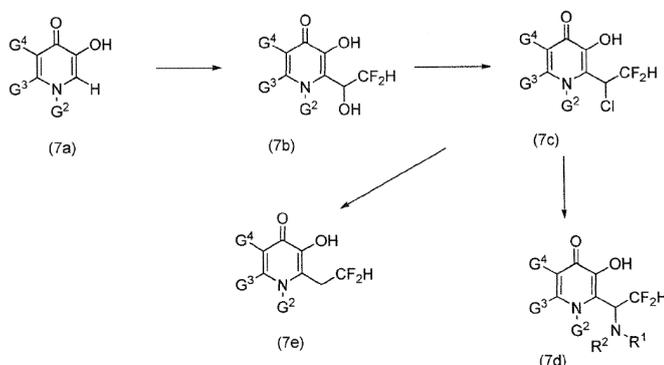


Alcohol (6a) puede convertirse en compuesto de cloro (6b) con cloruro de tionilo. Después de enfriar con dimetilamina, se forma el compuesto (6c), que puede desprotegerse mediante hidrogenación catalítica con paladio en carbón vegetal para dar el compuesto (6d). la reacción del compuesto (6d) con  $\text{CF}_3\text{CH}(\text{OH})\text{OCH}_3$  y carbonato de potasio proporciona el diol (6e), que reacciona con cloruro de tionilo para dar el compuesto (6f). La reducción del compuesto de color con hidrogenación catalítica produce el compuesto (6g). El compuesto (6e) es un compuesto de Fórmula I donde  $G^4$  es H,  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $R^1$  es metilo,  $R^2$  es metilo,  $G^2$  es metilo,  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ ,  $R^4$  es OH. También es un compuesto de fórmula IIIB donde  $G^4$  es H,  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $R^1$  es metilo,  $R^2$  es metilo,  $G^2$  es metilo,  $R^4$  es OH. El compuesto (6e) tiene el nombre químico 6-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno.

El compuesto (6g) es un compuesto de Fórmula I donde  $G^4$  es H,  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $R^1$  es metilo,  $R^2$  es metilo,  $G^2$  es metilo,  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ ,  $R^4$  es H. También es un compuesto de fórmula IIIB donde  $G^4$  = H,  $G^3$  =  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $R^1$  es metilo,  $R^2$  es metilo,  $G^2$  es metilo,  $R^4$  es H. El compuesto (6e) tiene el nombre químico 6-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno.

Un compuesto de Fórmula I donde  $G^3$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo;  $G^4$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo;  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^7)\text{CF}_2\text{H}$ , o un compuesto de Fórmula VI donde  $G^3$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo;  $G^4$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo;  $R^7$  es H, OH,  $\text{NR}^1\text{R}^2$  puede prepararse de acuerdo con los procedimientos representativos como se resume en el Esquema 7 más abajo:

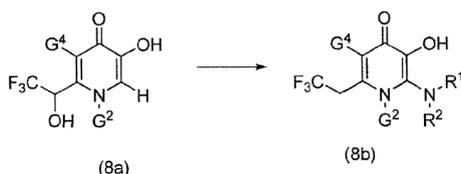
Esquema 7



El compuesto (7a) puede reaccionar con difluoro acetaldehído etil hemiacetal y carbonato de potasio para dar el compuesto de Fórmula (7b). Este intermediario puede convertirse en compuestos (7e) y (7d) de una manera similar a la descrita para la conversión de compuesto (4f) a (4h) y (4i) (Esquema 4). (7b) es un compuesto de Fórmula I donde  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^7)\text{CF}_2\text{H}$ ,  $R^7$  es OH o un compuesto de fórmula VI donde  $R^7$  es OH. (7e) es un compuesto de Fórmula I donde  $R^7$  es H, o un compuesto de Fórmula VI donde  $R^7$  es H y (7d) es un compuesto de Fórmula I donde  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^7)\text{CF}_2\text{H}$ ,  $R^7$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$  o un compuesto de fórmula VI donde  $R^7$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ . Por ejemplo, cuando  $G^2$  es metilo,  $G^3$  es H,  $G^4$  es H en el esquema 1, el compuesto (7e) es 2-(2,2-difluoroetil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)- uno y el compuesto (7b) es 2-(2,2-difluoro-1-hidroxietil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)- uno.

El compuesto de Fórmula I donde  $G^3$  es  $\text{CH}(\text{R}^6)\text{CF}_3$ ,  $R^6$  es H,  $G^1$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$  o un compuesto de fórmula V donde  $R^6$  es H,  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{CF}_3$ ,  $G^1$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$  puede prepararse de acuerdo con los procedimientos representativos como se resume en el Esquema 8 más abajo:

Esquema 8

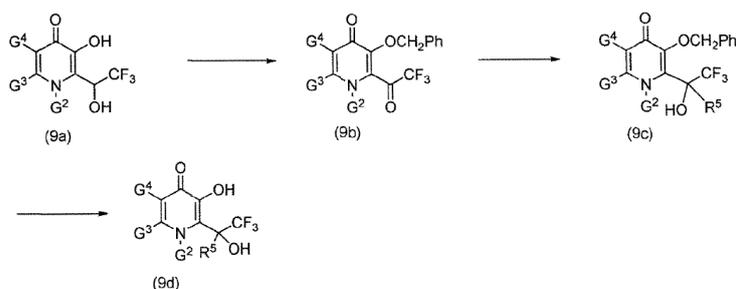


El compuesto (8a) donde  $G^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $G^4$  es H puede primero reaccionar con cloruro de tionilo en un disolvente inerte. El enfriamiento de la reacción con una amina  $\text{R}^1\text{R}^2\text{NH}$  proporciona el compuesto (8b). La estructura de (8b) puede confirmarse mediante NMR y espectrometría MS. El compuesto de Fórmula (8b) es un compuesto de Fórmula I donde  $G^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $G^4$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $R^6$  es H; o un compuesto de fórmula V donde  $R^6$  es H,  $G^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $G^1$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $G^4$  es H. por ejemplo, el compuesto 5-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno es un compuesto (8a) donde  $G^4$  es H,  $G^2$  es metilo. El compuesto (8a) puede convertirse en 2-(dimetilamino)-3-hidroxi-1-metil-6-(2,2,2-trifluorometil)piridin-4(1H)-uno, un compuesto (8b) donde  $R^1$

es metilo,  $R^2$  es metilo,  $G^2$  es metilo,  $G^4$  es hidrógeno con dimetilamina de acuerdo con el método descrito en el Esquema 8.

El compuesto de Fórmula I donde  $G^1$  es  $C(R^5)(R^6)CF_3$ ,  $R^5$  es  $C_1$ - $C_4$  alquilo,  $R^6$  es OH o un compuesto de fórmula VII donde  $R^5$  es  $C_1$ - $C_4$  alquilo,  $R^6$  es OH puede prepararse de acuerdo con los procedimientos representativos como se muestra en el Esquema 9 más abajo:

Esquema 9



El compuesto (9a) puede primero reaccionar con el reactivo de oxidación Dess-Martin para dar el compuesto 9b, que puede reaccionar con el reactivo Grignard  $R^5$ -MgCl o  $R^5$ -MgBr para dar el compuesto 9c. La hidrogenación catalítica de 13 con paladio en carbón vegetal proporciona el compuesto 9d, que es un compuesto de Fórmula I cuando  $R^5$  es  $C_1$ - $C_4$  alquilo,  $R^6$  es OH. Por ejemplo, cuando  $G^2$  es metilo,  $G^3$  es H,  $G^4$  es H,  $R^5$  es metilo en el Esquema 9, el producto (9d) es el compuesto 3-hidroxi-1-metil-2-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropano-2-il)piridin-4(1H)-uno.

Muchos compuestos de esta invención para su uso en esta invención pueden formarse en sales. En tales casos, las composiciones farmacéuticamente de acuerdo con esta invención pueden comprender una sal de tal compuesto, preferentemente una sal fisiológicamente aceptable, que son conocidas en la técnica. Las preparaciones farmacéuticas típicamente comprenderán uno o más transportadores aceptables para el modo de administración de la preparación, que se hará mediante inyección, inhalación, administración tópica, lavado u otros modos adecuados para el tratamiento seleccionado. Los transportadores adecuados son aquellos conocidos en la técnica para su uso en tales modos de administración.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas pueden formularse mediante medios conocidos en la técnica y el médico experto determinará su modo de administración y dosis. Para administración parenteral, un compuesto puede disolverse en agua estéril o solución salina o un vehículo farmacéuticamente aceptable usado para la administración de compuestos solubles en no-agua tales como aquellos usados para vitamina K. Para administración enteral, el compuesto puede administrarse en un comprimido, cápsula o disuelto en forma líquida. El comprimido o cápsula puede tener una cubierta entérica, o estar en una formulación para liberación prolongada. Se conocen muchas formulaciones adecuadas, incluyendo, micropartículas poliméricas o de proteína que encapsula un compuesto que se liberará, pomadas, pastas, geles, hidrogeles o soluciones que pueden usarse tópicamente o localmente para administrar un compuesto. Puede emplearse un parche o implante de liberación prolongada para proporcionar liberación durante un periodo prolongado de tiempo. Muchas técnicas conocidas para aquel experto en la técnica se describen en Remington: the Science & Practice of Pharmacy por Alfonso Gennaro, 20<sup>a</sup> ed., Lippencott Williams & Wilkins, (2000). Las formulaciones para administración parenteral pueden contener, por ejemplo, excipientes, glicoles de polialquileno tales como glicol de polietileno, aceites de origen vegetal o naftalenos hidrogenados. Polímero láctido, copolímero láctido/glicólido o copolímeros polioxietileno-polioxipropileno biocompatibles y biodegradables pueden usarse para controlar la liberación de los compuestos. Otros sistemas de administración parenteral potencialmente útiles para compuestos moduladores incluyen partículas de copolímero de acetato de etileno-vinilo, bombas osmóticas, sistemas de infusión implantable y liposomas. Las formulaciones para inhalación pueden contener excipientes, por ejemplo, lactosa, o pueden ser soluciones acuosas que contienen, por ejemplo, éter de polioxietileno-9-lauril, glicocolato y deoxicocolato, o pueden ser soluciones aceitosas para su administración en forma de gotas nasales o como un gel.

Los compuestos o composiciones farmacéuticas de acuerdo con esta invención o para su uso en esta invención pueden administrarse por medio de un dispositivo o aparato médico tal como un implante, injerto, prótesis, estent, etc. También, pueden concebirse implantes que contendrán y liberarán tales compuestos y composiciones. Un ejemplo sería un implante hecho de un material polimérico adaptado para liberar el compuesto durante un periodo de tiempo.

Una "cantidad efectiva" de una composición farmacéutica de acuerdo con la invención incluye una cantidad terapéuticamente efectiva o una cantidad profilácticamente efectiva. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva, en dosis y durante periodos de tiempo necesarios, para conseguir el resultado

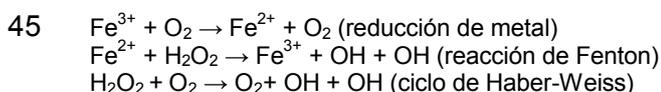
terapéutico deseado, tal como una mejor distribución de hierro o unos niveles reducidos de hierro tóxico. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto puede variar de acuerdo con factores tales como estado de la enfermedad, edad, sexo, peso del sujeto y la habilidad de los compuestos para obtener una respuesta deseada en el sujeto. Los regímenes de dosis pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéuticamente óptima. Una cantidad terapéuticamente efectiva es también aquella en la que cualquier efecto tóxico o perjudicial se sopesa por los efectos terapéuticamente efectivos. Una "cantidad profilácticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva, en dosis y durante periodos de tiempo necesarios, para conseguir el resultado profiláctico deseado, tal como una mejor distribución de hierro o unos niveles reducidos de hierro tóxico. Típicamente, se usa una dosis profiláctica en sujetos antes o en una fase temprana de enfermedad, de manera que una cantidad profilácticamente efectiva será inferior a una cantidad terapéuticamente efectiva.

Se señala que los valores de dosis pueden variar con la severidad de la condición que se aliviará. Para cualquier sujeto particular, los regímenes específicos de dosis pueden ajustarse durante un tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que esté administrando o supervisando la administración de la composición. Los rangos de dosis aquí expuestos son solamente ejemplares y no limitan los rangos de dosis que un médico profesional pueda seleccionar. La cantidad de compuesto(s) activo(s) en la composición puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, edad, sexo y peso del sujeto. Los regímenes de dosis pueden ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. Por ejemplo, puede administrarse un único bolo, pueden administrarse varias dosis divididas o la dosis pueden reducirse o incrementarse proporcionalmente como lo indican las exigencias de la situación terapéutica. Puede ser ventajoso formular composiciones parenterales en forma de unidad de dosis para facilitar la administración y la uniformidad de la dosis.

En general, los compuestos de la invención deberían usarse sin causar toxicidad sustancial. La toxicidad de los compuestos de la invención puede determinarse usando técnicas estándares, por ejemplo, probando en cultivos celulares o animales experimentales y determinando el índice terapéutico, esto es, la proporción entre la DL50 (dosis letal para el 50% de la población) y la DL100 (la dosis letal para el 100% de la población). En cambio, en algunas circunstancias, tales como en condiciones de enfermedad severa, puede ser necesario administrar excesos sustanciales de las composiciones.

Como aquí se usa, un "sujeto" puede ser un humano, primate no-humano, rata, ratón, vaca, caballo, cerdo, oveja, cabra, perro, gato, etc. Se sospecha que el sujeto tenga, o tenga riesgo de tener, una condición médica relacionada con una concentración tóxica de hierro. La condición médica relacionada con una concentración tóxica de hierro puede seleccionarse del grupo consistente en: cáncer, enfermedad pulmonar, enfermedad renal progresiva y ataxia de Friedreich. Los métodos de diagnóstico para varias condiciones médicas relacionadas con una concentración tóxica de hierro y la delineación clínica de varias condiciones médicas relacionadas con una concentración tóxica de hierro y sus diagnósticos son conocidos por aquellos expertos en la técnica.

Una propiedad importante del hierro es su habilidad para donar y aceptar un electrón fácilmente entre las especies ferrosas ( $\text{Fe}^{2+}$ ) y férricas ( $\text{Fe}^{3+}$ ). Esto puede ser una carga ya que el hierro juega un papel fundamental en las reacciones de Fenton y Haber-Weiss al catalizar la producción de radicales de hidroxilo. De este modo, en condiciones donde se facilita la reducción de  $\text{Fe(III)}$  a  $\text{Fe(II)}$ , la generación de estas especies de oxígeno activo (radicales de hidroxilo) puede causar un daño considerable en biomoléculas en el sistema vivo que incluyen membranas celulares, proteínas y ADN.



Los queladores de hierro pueden inhibir o facilitar la participación de hierro en las reacciones de Fenton y Haber-Weiss que producen radicales de oxígeno tóxicos. Ya que ciertos queladores de hierro pueden potencialmente promover la reducción de  $\text{Fe}^{3+}$ , las evaluaciones tempranas sobre si el quelador pueden promover, prevenir o no tener ningún efecto en la reducción de  $\text{Fe}^{3+}$  son esenciales.

Hay varios métodos prototípicos y modelos químicos que se han usado para estudiar la capacidad de los queladores para restringir la participación de hierro en reacciones generativas de radicales por medio de la observación indirecta de formación de radicales (Dean RT y Nicholson P (1994) Free Radicals Res 20:83-101 y Gutteridge JM (1990) Free Radical Res Commun 9:119-125). El uso de voltametría cíclica y ensayo de hidroxilación de ácido benzoico en el examen de los compuestos de fórmula I se ilustran en los ejemplos 30 y 31, respectivamente.

El efecto neuroprotector de compuestos de fórmula I se demuestra en apoptosis inducida por peróxido de hidrógeno en el ensayo con células de neuroblastoma SH-SY5Y en el ejemplo 32A. El efecto protector de compuestos de fórmula I contra toxicidad  $\text{A}\beta$  endógenamente producida se muestra en el ejemplo 32B. La citotoxicidad también la indujo la neurotoxina dopaminérgica  $\text{MPP}^+$  en células SV-NRA. La acción neuroprotectora de compuestos seleccionados de fórmula I se demuestra además en células SV-NRA tratadas con  $\text{MPP}^+$  en el Ejemplo 33 más abajo.

Los estudios de farmacocinética in vivo (FC) y de barrera hematoencefálica (BHE) se condujeron en ratas machos Sprague-Dawley usando dosis en casete por medio de administración oral. El tema de dosis en casete lo ha analizado Manitpisitkul, P. y White, R. E. (Agosto 2004), Drug Discovery, Vol. 9, N° 05, páginas 652-658. Los resultados se resumen en la Tabla más abajo:

5

10

15

20

Estudio de dosis orales en casete de un compuesto de fórmula I en ratas machos Sprague-Dawley, AUC se normaliza a 1 mg/kg dosis				
Cp	AUC cerebro* (ug-h/mL)	AUC plasma* (ug- h/mL)	AUC cerebro/ AUC plasma	CL (L/h-kg)
Apo6995	0,30	0,26	1,2	3,89
Apo7030	0,59 (cal.)	0,59	1,00	1,68
Apo7041	0,45	0,60	0,75	1,67
Apo7080	0,7	0,92	0,76	1,09
Apo7067	0,74	0,5	1,50	2,00
Apo7056	0,77	1,38	0,56	0,72
Clioquinol	0,042	0,028	1,5	3,52

25

#### Lista de compuestos de fórmula 1 analizados en estudios BHE con dosis en casete

30

35

Cp	G <sup>4</sup>	G <sup>3</sup>	G <sup>2</sup>	G <sup>1</sup>
Apo6995	H	H	CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>
Apo7030	H	H	CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>
Apo7041	H	H	CH <sub>3</sub>	CF <sub>3</sub> CH(NHMe <sub>2</sub> )-
Apo7080	H	H	CH <sub>3</sub>	CF <sub>2</sub> HCH <sub>2</sub> -
Apo7067	H	H	CF <sub>3</sub> CH <sub>2</sub>	Me <sub>2</sub> NCH <sub>2</sub> -
Apo7056	CF <sub>3</sub> CH(NHMe)-	H	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>

40

De manera general se aceptó que 1,2-dimetil-3-hidroxipiridin-4-uno y sus derivados alquilo son ligandos bidentados (Ls) y reaccionan con Fe(III) para formar quelatos neutrales 1:3. En el gráfico de especiación como se muestra en la Fig. 4, el porcentaje de especies FeL<sub>3</sub> está cercano a 100 en pH 7,4 cuando se usa deferiprona como ligando. El quelato Fe resultante (FeL<sub>3</sub>) no es activo en reducción-oxidación, como lo demuestra el análisis de volumetría cíclica. Sin embargo, si el pH es inferior a 6,0, una mezcla de especies FeL<sub>2</sub><sup>+</sup> y FeL<sub>3</sub> está ahora presente en la solución. La deferiprona (1,2-dimetil-3-hidropirid-4-uno) es efectiva en la eliminación de Fe(III) en pH < 7,2 en condiciones fisiológicas, pero en un pH inferior, la deferiprona y sus derivados alquilo son significativamente menos efectivos.

45

50

Hilder et al. (J. Pharm. Pharmacol. 200, 52, 263-273; European Journal of Medicinal Chemistry 2008, 42, 1035-1047) presentó el uso de derivados de alquilamino de 3-hidroxipiridin-4-uno. Se ilustran dos gráficos de especiación con dos concentraciones diferentes de 2-etil-3-hidroxi-1-[2-(piperidin-1-il)etil]piridin-4(1H) uno [L] en 1 x 10<sup>-5</sup> M y 7 x 10<sup>-4</sup> M, respectivamente, mientras se mantiene la concentración de [Fe] fija en 1 x 10<sup>-6</sup> M. El quelato FeL<sub>3</sub> tiene un perfil más amplio de estabilidad solamente en pH > 5 y por encima, y cuando [L] es 7 x 10<sup>-4</sup> M (Fig. 9 de J. Pharm. Pharmacol. 2000, 52, 271). Sin embargo, en concentración de [L] en 1 x 10<sup>-5</sup> M, el perfil de estabilidad de FeL<sub>3</sub> es muy similar al del complejo Fe-deferiprona.

55

60

Los compuestos amino seleccionados de esta invención tales como apo7041 tiene estabilidad de quelato FeL<sub>3</sub> que se extiende de pH 5 y superiores. El análisis de datos fotoespectroscópicos del quelato Fe muestra que el 3-hidroxipiridin-4-uno fluorado con grupo amino base débil es un aceptor de protón más fuerte que el átomo de oxígeno en el enlace Fe-O del quelato. Entre pH5 y 7,2, el Fe(III) está atrapado como un quelato férrico en forma de FeL<sub>3</sub> y FeL<sub>3</sub>H. El gráfico de especiación de Apo7041 en la Fig. 5 mostro que no había FeL<sub>2</sub> presente por encima de pH 5,0. Además, la concentración de ligando [L] no afecta al resultado del gráfico de especiación en este estudio químico.

65

El número de aminas básicas débiles disponibles como aceptor de protón es tres en el quelato férrico. Antes de la escisión del enlace Fe-O del quelato 1 : 3, los tres grupos amino tienen que protonarse. La característica

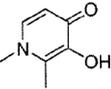
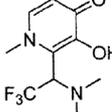
de este compuesto que se comporta como un absorbente interno de protones da como resultado una mejora en la estabilidad del quelato en pH bajo, lo que ofrece una clara ventaja sobre 3-hidroxipiridin-4-unas neutrales tales como deferiprona. La FIG. 6 y FIG. 7 resumen la comparación de los quelatos de amina neutrales y básicos. Después de reducir el pH a aproximadamente 5,0, una cantidad significativa de  $FeL_3$  descompuesto para dar  $FeL_2$  por medio de la división del enlace Fe-O cuando L es un ligando neutral. Sin embargo, los quelatos de los derivados de amina básica de fórmula I en esta invención son estables en pHs más bajo.

La deferiprona sufre metabolismo de Fase II que da como resultado una extensiva glucuronidación en el oxígeno C3 del esqueleto de 3-hidroxipiridin-4-uno. Por lo tanto, se necesita una dosis oral alta de deferiprona para conseguir el efecto terapéutico. Los compuestos seleccionados de esta invención están diseñados para bloquear el oxígeno C3 de glucuronidación por miedo de la introducción de un radical grande de trifluoroetilo C3 o C5 sustituido por un derivado de amina. En estudios de modelismo, un grupo simple de trifluoroetilo tiene la misma masa estérica que un grupo de isopropilo. Por ejemplo, la masa estérica de un sustituyente 1-dimetilamino-2-trifluoroetilo puede prevenir la O-glucuronidación de C3 sin afectar a la formación del quelato férrico  $FeL_3$ . El modelismo en 3D del compuesto  $Fe(Apo7041)_3$  se muestra en la FIG. 8.

Los experimentos de voltametría cíclica muestra que se forma un  $Fe(Apo7041)_3$  estable con  $E_{1/2} = -731$  mV (FIG. 2). Los datos mostraron que el  $Fe(Apo7041)_3$  no es activo en reducción-oxidación y es una entidad química estable. El valor acumulativo  $\log \beta_{130}$  de Apo7041 para Fe(III) es 38,8 (Tabla 29B en ejemplo 29B), que es relativamente más alto que el de la deferiprona con un valor de 37,24 (Tabla 1). A diferencia de otros derivados amino de 3-hidroxipiridin-4-uno presentados por Hider et al, el pKa del radical de amino C2 de Apo7041 es 3,5 en 0,1 M NaCl acuoso. De este modo, en pH 3,5, la forma protonada y la forma no protonada de la amina existe en una proporción de 1 : 1. Con un aumento incremental de unidad en pH, habrá significativamente más base libre presente en el medio.

Los derivados de amino seleccionados de esta invención tienen mejor selectividad metálica cuando se comparan con deferiprona. Las propiedades de enlace de metal de Apo7041 se comparan con las de deferiprona en la Tabla 1. Por ejemplo, el acumulativo  $\log \beta_{120}$  para Zn(II) y Cu(II) es 13,2 y 17,3, respectivamente, para Apo7041, que es de 2 a 3 órdenes inferiores de magnitud cuando se compara con aquellos para deferiprona en 15,0 y 20,5 respectivamente, en 0,1 M NaCl/MeOH acuoso, 1/1, v/v. De este modo, los derivados amino de esta invención son selectivos para Fe(III). La clasificación de acuerdo con las afinidades de enlace son  $Fe(III) \gg Cu(III) \gg Zn(II)$ .

Tabla 1: Comparación de las propiedades de enlace de metal del compuesto de aminoácido Apo7041 y deferiprona.

Propiedades	Deferiprona	Apo7041
		
pKa <sup>a</sup>	pKa <sub>1</sub> = 10,6 pKa <sub>2</sub> = 4,0	pKa <sub>1</sub> = 10,1 pKa <sub>2</sub> = 3,2 pKa <sub>3</sub> = 2,0
Cu <sup>2+</sup> quelación <sup>a</sup>	Logβ <sub>1</sub> = 10,8 Logβ <sub>2</sub> = 20,5 pCu <sup>2+</sup> = 9,9	Logβ <sub>111</sub> = 14,1 Logβ <sub>122</sub> = 27,9 Logβ <sub>121</sub> = 23,0 Logβ <sub>120</sub> = 17,3 pCu <sup>2+</sup> = 7,7
Zn <sup>2+</sup> quelación <sup>a</sup>	Logβ <sub>1</sub> = 8,1 Logβ <sub>2</sub> = 15,0 pZn <sup>2+</sup> = 6,3	Logβ <sub>111</sub> = 13,1 Logβ <sub>121</sub> = 19,6 Logβ <sub>120</sub> = 13,2 pZn <sup>2+</sup> = 6,0
Fe <sup>2+</sup> quelación <sup>a</sup>	pKa <sub>1</sub> = 10,6 pKa <sub>2</sub> = 4,0 Logβ <sub>111</sub> = 13,1 Logβ <sub>121</sub> = 19,6 Logβ <sub>120</sub> = 13,2	pFe <sup>3+</sup> = 23,4
<sup>a</sup> Excepto para pFe <sup>3+</sup> , los valores pKas y log β se determinaron en mezcla 0,1M NaCl/MeOH acuoso, 1/1, v/v <sup>b</sup> Para pFe <sup>3+</sup> , los valores pKas y log β se determinaron en 0,1M NaCl acuoso. Para detalles, véase Ejemplo 29B		

Una utilidad de los compuestos de esta invención puede ser en el tratamiento de pacientes con insuficiencia renal en los que la presencia de hierro se detecta en la orina. La detección del contenido de proteína y hierro libre en orina como un método posible de controlar insuficiencia renal se ha presentado en US 6.906.052.

5 Una función biológica del riñón es retener proteína. El término "proteinuria" significa la presencia de un exceso de proteínas de suero en la orina, y puede ser una señal de daño renal (del riñón). La lesión en el glomérulo o túbulo o páncreas puede afectar de manera adversa a la habilidad del riñón para retener proteína. En la orina de animales con síndrome nefrítico, el pH de la orina puede variar entre pH 5,2 y 7,8. Los experimentos animales han demostrado que el hierro está unido a transferrina en un pH de 6,5. Cuando el pH desciende por debajo de 6,0 hay una marcado aumento en hierro no unido. El hierro desasociado de transferrina es capaz de causar daño de radical libre potencialmente serio al riñón. El quelador molecular pequeño bajo tal como deferiprona se ha usado para quelar hierro libre como una posible terapia de tratamiento.

15 Cooper et al. presentó la especiación urinaria de hierro (American Journal of Kidney Disease, 25, 1995, 314-319) en síndrome nefrítico cuando el hierro se presenta al fluido tubular en una forma no reactiva en asociación con transferrina como resultado del escape de proteína glomerular. En ratas nefríticas, el hierro permanece unido a la transferrina a través del nefrón y se excreta como tal en la orina en pH alcalino. Cuando el pH de la orina desciende por debajo de 6, el hierro empieza a desasociarse de transferrina. Como se ha mencionado anteriormente, el hierro libre es activo en reducción-oxidación y puede causar una progresión adicional de las insuficiencias renales.

20 Un compuesto de base débil puede acumularse en un compartimiento ácido para ejercer su acción biológica. Los compuestos neutrales y las bases fuertes no se acumulan de tal manera. Por ejemplo, el agente antisecretor omeprazol es una base débil que se concentra en el compartimiento ácido de la célula parietal para ejercer sus propiedades farmacológicas. Los derivados amino de 3-hidroxipiridin-4-uno de esta invención favorecen la acumulación en sitios donde el compartimiento es ligeramente ácido. Un ejemplo de tal puede ser el nefrón de pacientes con insuficiencia renal.

25 Los derivados amino de 3-hidroxipiridin-4-uno de esta invención tienen al menos una de un número de proteínas: (a) son aminas débiles que pueden acumularse en el compartimiento ácido de un sistema biológico; (b) los quelatos FeL3 1:2 son estable en pH bajo entre 5 y 7,2 cuando se comparan con el quelato de derivados neutrales de alquilo de 3-hidroxipiridin-4-uno tal como deferiprona; (c) no son activos en reducción-oxidación como lo evidencia el estudio voltamétrico cíclico; (d) llevan un sustituyente voluminoso en la posición C2 o C5 que puede bloquear la glucuronidación del C3-OH, y puede de este modo requerir una dosis terapéutica de fármaco inferior; (e) mayor índice de depuración que deferiprona en estudios farmacocinéticos de dosis en casete. De este modo, los compuestos de esta invención pueden tener una propensión a sufrir excreción urinaria, y se entiende que el sitio relevante de hierro libre para enfermos con insuficiencia renal es el riñón.

30 Otra utilidad posible de los compuestos amino de esta invención es en el tratamiento de cáncer y trastornos inflamatorios de pulmón. Buss et al., analizó el papel de quelación de hierro en terapia de cáncer (Current Medicinal Chemistry, 2003, 121, 1021-1034). El daño del ADN después de esfuerzo oxidante implica un metal de transición tal como hierro. Los lisosomas contienen una concentración comparativamente alta de hierro activo en reducción-oxidación, lo que generalmente se genera de la degradación de proteínas de que contienen hierro. El compartimiento ácido de los lisosomas facilita además reacciones oxidativas catalizadas de hierro (Kurz et al., Biochem. J. (2004) 378, 1039-1045). Se ha presentado que el quelador de hierro DFO inhibe la síntesis de ADN y la proliferación celular. DFO es una base débil con un terminal de amino libre y pueden acumularse en el lisosoma para ejercer su mecanismo de quelación. Desafortunadamente, DFO es un quelador hexadentado peptídico grande y no penetrará fácilmente en la célula. Los compuestos amina de esta invención son compuestos de bajo peso molecular. La naturaleza básica débil de los compuestos y su carácter lipofílico permiten que el compuesto se acumule en el compartimiento ácido de los lisosomas.

35 Richardson et al., presentó que la acumulación celular más importante de hierro activo en oxidación-reducción puede existir en lisosomas, haciendo los orgánulos vulnerables al estrés oxidativo (Expert Opinion on Investigational Drugs, Agosto 2005, Vol. 14, N° 8, páginas 997-1008). El estrés oxidativo dará como resultado daño en los tejidos. Como resultado, la terapia quelante de hierro que se dirige al lisosoma puede ser una posible estrategia de tratamiento para enfermedades inflamatorias de pulmón. Los queladores de hierro de bajo peso molecular permeables a las células de base débil pueden acumularse en el compartimiento ácido de lisosomas, y por lo tanto ser más efectivos que desferrioxamina como agentes citoprotectores. Por lo tanto, otra utilidad posible para las bases débiles de esta invención es el uso de tales compuestos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias de pulmón.

40 La mayores de los derivados no-amino de N<sup>1</sup>-trifluoroetil o C<sup>2</sup>-difluoroetil de 3-hidroxipiridin-4-uno de esta invención son intermediarios para la síntesis de los derivados amino. Además, los compuestos de fórmula I donde G<sup>1</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilo y G<sup>2</sup> es trifluoroetilo o G<sup>1</sup> es difluoroetilo y G<sup>2</sup> es C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alquilo son ejemplos de derivados de 3-hidroxipiridin-4-uno sin una cadena lateral de amina. Algunos de estos derivados neutrales de 3-hidroxipiridin-4-uno de esta invención son significativamente más lipofílicos que deferiprona. En estudios de BHE con dosis en casete, muestran una mayor proporción de concentración de cerebro con plasma, haciéndoles más favorables para su

acumulación en el cerebro. Estos compuestos pueden dirigirse a la acumulación en el cerebro y usarse hacia un tratamiento de enfermedades tales como ataxia de Friedreich donde el quelador se usa para reducir ataxia y hierro del cerebelo en el cerebro.

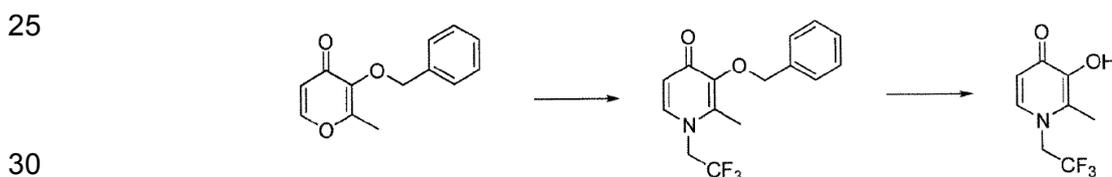
5 Todos los compuestos de esta invención tienen especificidad para el complejo de Fe(III) con C3 OH pKas fenólicos favorables y  $pFe(III) > 19$ , una formación lisa de quelato férrico 1:3 como los evidencia el método de Job, y un valor  $D_{7,4} > 0,1$ . Además, los estudios de selectividad de metal muestran que el compuesto no quela metales esenciales tales como calcio, magnesio y cinc.

10 Aunque aquí se desvelan varias realizaciones de la invención, pueden hacerse muchas adaptaciones y modificaciones dentro del alcance de la invención de acuerdo con el conocimiento general común de aquellos expertos en la técnica. Los rangos numéricos son inclusivos de los números que definen el rango. Las palabras “que comprende(n)” como aquí se usan son términos indefinidos, sustancialmente equivalentes a la expresión “que incluye(n), aunque no se limita(n) a”, y la palabra “comprende” tiene un significado correspondiente. Como aquí se usan, las formas singulares “un”, “una”, “el”, “la” incluyen referentes plurales a menos que el contexto claramente dictamine lo contrario. De este modo, por ejemplo, la referencia a “una cosa” incluye más de tal cosa.

15 Aquí se describen varias realizaciones y ejemplos alternativos de la invención. Estas realizaciones y ejemplos son ilustrativos y no deberían interpretarse como limitativos del alcance de la invención.

### 20 Ejemplo 1

#### Preparación de 3-hidroxi-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno



#### (a) Preparación de 3-(benciloxi)-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno

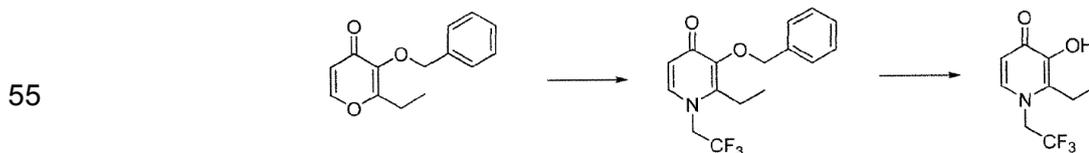
35 3-(Benciloxi)-2-metil-4H-pirano-4-uno (1,00 g, 4,6 mmol) se mezcló con hidrocloreto de trifluorometilamina (1,35 g, 10,0 mmol) en piridina (10 mL). La mezcla de la reacción se calentó en un matraz sellado a 75 °C durante 5 horas. La mezcla se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice con 5% metanol en acetato de etilo como eluyente para dar 3-(benciloxi)-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (0,82 mg) como un sólido beige. Producción = 60%;  $^1H$  NMR ( $CDCl_3$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,02 – 7,58 (m, 6H), 6,42 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 5,20, 4,30 (q, J = 8,3 Hz, 2H) y 2,10 (s, 3H).

#### (b) Preparación de 3-hidroxi-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno

40 3-(Benciloxi)-2-metil-4H-pirano-4-uno (820 mg, 2,8 mmol) se mezcló con 10% paladio en carbón vegetal (húmedo, 84 mg) en metanol (20 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo hidrógeno en 30 psi en un aparato Parr durante 35 minutos. La mezcla se filtró a través de Celite™ y el filtrado se concentró. El residuo se trituró con éter para dar 3-hidroxi-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (511 mg) como un sólido blanquecino. Producción = 89%;  $^1H$  NMR ( $DMSO-D_6$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,60 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 6,20 (d, J = 7,4 Hz), 4,99 (q, J = 8,8 Hz, 2H) y 2,29 (s, 3H).

### 50 Ejemplo 2

#### Preparación de 3-hidroxi-2-etil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno



#### (a) De una manera similar al ejemplo 1(a),

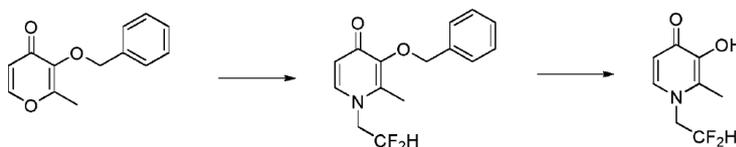
60 3-(benciloxi)-2-etil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (1,10 g) se preparó a partir de 3-(benciloxi)-2-etil-4H-pirano-4-uno (1,20 g, 5,2 mmol) y 2,2,2-hidrocloreto de trifluoroetilamina (3,57 g, 26,1 mmol) en piridina (10 mL). Producción = 67%;  $^1H$  NMR ( $MeOD-D_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,07 – 7,59 (m, 6H), 6,51 (d, J=7,7 Hz, 1H), 5,20 (s, 2H), 4,38 (q, J = 7,7 Hz, 2H), 2,58 (q, J = 7,5 Hz, 2H) y 0,97 (t, J = 7,5 Hz, 3H); MS m/z 312  $[M+1]^+$ .

65 (b) De una manera similar a la descrita en el ejemplo 1(b),

2-etil-3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (0,30 g) se preparó a partir de 3-(benciloxi)-2-etil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (0,90 g, 2,9 mmol) con 10% paladio en carbón vegetal (húmedo, 90 mg) en metanol (5 mL) y etanol (35 mL) bajo hidrógeno en 8 psi durante 1,5 horas. Producción = 47%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,58 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 6,41 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 4,92 (q,  $J = 8,1$ , 2H), 2,72 (t,  $J = 7,5$  Hz, 2H) y 1,20 (t,  $J = 7,5$  Hz, 3H); MS  $m/z$  222  $[\text{M}+1]^+$ .

### Ejemplo 3

#### Preparación de 1-(2,2-difluoroetil)-3-hidroxi-2-metilpiridin-4(1H)-uno



#### (a) Preparación de 3-(benciloxi)-1-(2,2-difluoroetil)-2-metilpiridin-4(1H)-uno

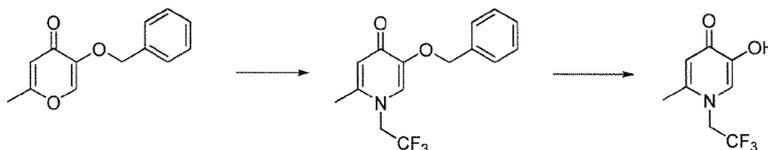
3-(Benciloxi)-2-metil-4H-pirano-4-uno (432 mg, 2,0 mmol) se mezcló con 2,2-difluoroetilamina (655 mg, 8,0 mmol) en hidrocloreuro de trietilamina (1,10 g, 8,0 mmol) en piridina (6 mL) en un vial sellado. La mezcla de la reacción se calentó a 110 °C durante la noche. El sólido se filtró y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró bajo presión reducida y el residuo se mezcló con agua, y después se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua y salmuera. El producto se purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice con 5% metanol en acetato de etilo como eluyente para dar 3-(benciloxi)-1-(2,2-difluoroetil)-2-metilpiridin-4(1H)-uno (337 mg) como un sólido amarillo pálido. Producción = 60%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,66 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H), 7,16-7,55 (m, 5H), 6,46 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H), 5,55 (t,  $J = 55,0$  Hz, 1H), 4,45 (t,  $J = 14,8$  Hz, 1H) y 2,20 (s, 3H); MS  $m/z$  280  $[\text{M}+1]^+$ .

#### (b) De una manera similar al ejemplo 1(b),

1-(2,2-difluoroetil)-3-hidroxi-2-metilpiridin-4(1H)-uno (160 mg) se preparó a partir de 3-(benciloxi)-1-(2,2-difluoroetil)-2-metilpiridin-4(1H)-uno (337 mg, 1,2 mmol) con 10% Pd/C (húmedo, 90 mg) en metanol bajo 1 atmósfera de hidrógeno usando un globo durante 5 minutos. Producción = 70%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,60 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 6,39 (d,  $J = 7,3$  Hz, 1H), 6,23 (tt,  $J = 54,0$ , 2,9 Hz, 1H), 4,51 (td,  $J = 14,8$ , 2,9 Hz, 2H) y 2,43 (s, 3H); MS  $m/z$  190  $[\text{M}+1]^+$ .

### Ejemplo 4

#### Preparación de 5-hidroxi-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno



#### (a) Preparación de 5-(benciloxi)-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno.

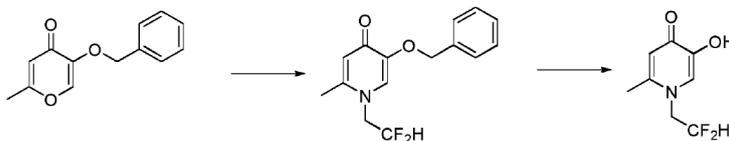
5-(Benciloxi)-2-metil-4H-pirano-4-uno (4,32 g, 20,0 mmol) se mezcló con trifluoroetilamina (6,92 g, 70,0 mmol) en 6N HCl (11,7 mL) y etanol (5,8 mL). La mezcla de la reacción se calentó en un matraz sellado a 100 °C durante 20 horas. La mezcla se concentró después en vacío y el residuo se diluyó con agua. El sólido se filtró, lavó con agua y éter para dar 5-(benciloxi)-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno como sólido blanco. Producción = 84%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,99 (s, 1H), 7,14-7,65 (m, 5H), 6,80 (s, 1H), 4,91-5,25 (m, 4H), 2,53 (s, 3H).

(b) 5-(Benciloxi)-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (45,8 g, 164 mmol) se mezcló con 6N HCl (100 mL) e isopropanol (20 mL). La mezcla se calentó a 110 °C en baño de aceite durante 8 horas y después se concentró mediante un evaporador rotatorio. El residuo se trituró con acetona y éter para dar hidrocloreuro de 5-hidroxi-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno. Producción = 65%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 8,18 (s, 1H), 7,21 (s, 1H), 5,31 (q,  $J = 8,2$  Hz, 2H) y 2,67 (s, 3H).

### Ejemplo 5

#### Preparación de 1-(2,2-difluoroetil)-5-hidroxi-2-metilpiridin-4(1H)-uno

5



(a) De una manera similar a la descrita en el ejemplo 4(a),

10 5-(benciloxi)-1-(2,2-difluoroetil)-2-metilpiridin-4(1H)-uno (2,20 g) se preparó a partir de una mezcla de 5-(benciloxi)-2-metil-4H-pirano-4-uno (3,00 g, 13,8 mmol), difluoroetilamina (2,48 g, 55,2 mmol), hidrocloreto de trietilamina (5,58 g, 55,2 mmol) y piridina (15 mL). Producción = 58%;  $^1\text{H NMR}$  (90 MHz, MeOD- $\text{D}_4$ )  $\delta$  (ppm): 7,53 (s, 1H), 7,27-7,45 (m, 5H), 6,36 (s, 1H), 5,56-6,77 (tt,  $J = 54,9, 3,6$  Hz, 1H), 5,094 (s, 2H), 4,24-4,60 (td,  $J = 14,9, 2,7, 2\text{H}$ ) y 2,36 (s, 3H); MS  $m/z$  280  $[\text{M}+1]^+$ .

15

(b) De una manera similar a la descrita en el ejemplo 1(b),

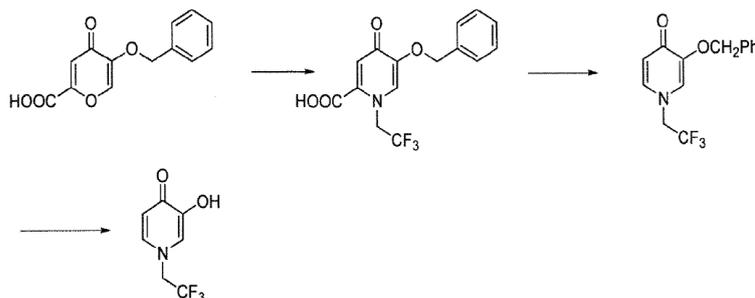
20 1-(2,2-difluoroetil)-5-hidroxi-2-metilpiridin-4(1H)-uno (230 g) se preparó a partir de 5-(benciloxi)-1-(2,2-difluoroetil)-2-metilpiridin-4(1H)-uno (500 mg, 1,80 mmol) con 10% Pd/C (húmedo, 50 mg) en metanol (40 mL) bajo hidrógeno en 5 psi presión en un aparato Parr durante 27 minutos. Producción = 99%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,46 (s, 1H), 6,37 (s, 1H), 5,62-6,83 (tt,  $J = 54,9, 3,6$  Hz, 1H), 4,26-4,60 (td,  $J = 15,3, 2,4$  Hz, 2H) y 2,38 (s, 3H); MS  $m/z$  190  $[\text{M}+1]^+$ .

20

### Ejemplo 6

#### Preparación de 3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno

25



30

35

40 (a) 5-(Benciloxi)-4-oxo-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1,4-dihidropiridin-2-ácido carboxílico (10,5 g, 42,7 mmol) se disolvió en solución de hidróxido de sodio (1,71 g, 42,7 mmol en 77 mL de agua desionizada). Se añadió hidrocloreto de 2,2,2- trifluoroetilamina (23,1 g, 171 mmol) y la suspensión resultante se agitó a 70 °C (temperatura de baño en aceite) en un matraz sellado durante 17 horas. La mezcla de la reacción se filtró después y el sólido blanquecino se lavó con agua desionizada (20 mL x 5) para dar 5-(benciloxi)-4-oxo-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1,4-dihidropiridin-2-ácido carboxílico (6,00 g). Producción = 43%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  7,30 (s, 1H), 6,76-7,09 (m, 5H), 6,71 (s, 1H), 4,93 (d,  $J = 8,4$  Hz, 2H) y 4,65 (s, 2H); MS  $m/z$  328  $[\text{M}+1]^+$ .

45

50 (b) 5-(Benciloxi)-4-oxo-1-(2,2,2-trifluoroetil)-1,4-dihidropiridin-2-ácido carboxílico (4,70 g, 14,4 mmol) se mezcló con DMF (25 mL) y se calentó a 130 °C (temperatura de baño) durante 3 horas. La mezcla se concentró bajo presión reducida usando un evaporador rotatorio y el residuo se mezcló con acetato de etilo (50 mL). Después se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente y se filtró. El filtrado se concentró para dar 3-(benciloxi)-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (3,58 g). Producción = 69%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm) 7,57-7,84 (m, 2H), 7,22-7,57 (m, 5H), 6,25 (br. s, 1H) y 4,69-5,28 (m, 4H); MS  $m/z$  284  $[\text{M}+1]^+$ .

50

55 (c) 3-(Benciloxi)-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (1,2 g, 4,2 mmol) se mezcló con 10% paladio en carbón vegetal (húmedo, 0,12 g) en etanol (70 mL). La mezcla resultante se hidrogenó en 15 psi de presión de hidrógeno durante 1,5 horas. El paladio se extrajo mediante filtración a través de una capa de Celite™ y la torta de Celite™ se lavó con metanol (5 mL x 3). El filtrado se evaporó para dar 3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (0,78 g) como sólido blanco. Producción = 95%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ , 400 MHz)  $\delta$  (ppm) 7,60 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H), 7,46 (s, 1H), 6,23 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H) y 4,80-5,00 (m, 2H); MS  $m/z$  194  $[\text{M}+1]^+$ .

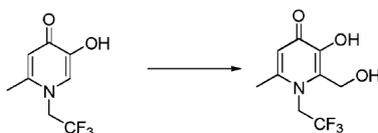
60

### Ejemplo 7

#### Preparación de 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-6-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno

65

5

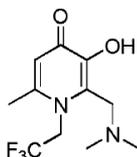


10 5-Hidroxi-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno hidrocloreto (4,87 g, 20,0 mmol) se mezcló con 37%  
formaldehído (30 mL) y 6N hidróxido de sodio (7 mL, 42,0 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a 37 °C durante  
12 horas y después se dejó a temperatura ambiente durante 12 horas más. El sólido se filtró y el filtrado se acidificó  
a pH aproximadamente 5 a 6. La solución se concentró con gel de sílice y el producto se purificó mediante  
15 cromatografía de columna con una mezcla gradiente de 5-10% metanol en acetato de etilo como eluyente para dar  
el compuesto del título 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-6-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (3,02 g) como sólido  
melocotón pálido. Producción 63,5%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-D<sub>6</sub> + D<sub>2</sub>O, 90 MHz) δ (ppm) 6,20 (s, 1H), 5,15 (q, J = 8,8 Hz,  
2H), 4,33-4,92 (m, 2H) y 2,37 (s, 3H);  
MS m/z 238 [M+1]<sup>+</sup>.

### Ejemplo 8

#### 20 A. Preparación de 2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-6-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno

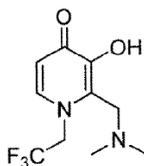
25



30 5-Hidroxi-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno hidrocloreto (415 mg, 1,7 mmol) se mezcló con  
N,N,N',N'-tetrametilmetanodiamina (4 mL) en etanol (10 mL) y se calentó a 80 °C durante 21 horas. La mezcla de la  
reacción se concentró mediante evaporador rotatorio y el residuo se trituró con agua para dar 2-[(dimetilamino)metil]-  
3-hidroxi-6-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (315 mg) como sólido blanco. Producción = 70%; <sup>1</sup>H NMR  
35 (DMSO-D<sub>6</sub> + D<sub>2</sub>O, 90 MHz) δ (ppm) 6,20 (s, 1H), 5,15 (q, J = 8,8 Hz, 2H), 4,69 (br. s, 2H) y 2,37 (s, 3H); MS m/z 265  
[M+1]<sup>+</sup>.

#### 40 B. Preparación de 2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno

45

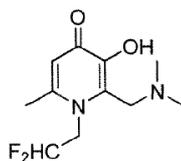


45

De una manera similar, 2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (0,21 g) se  
preparó a partir de 3-hidroxi-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (0,60 g, 3,1 mmol) reaccionado con N,N,N',N'-  
tetrametilmetanodiamina (8,50 mL, 62,2 mmol) en etanol (10 mL) a 75 °C durante 20 horas. Producción = 27%; <sup>1</sup>H  
50 NMR (MeOD-D<sub>4</sub>, 90 MHz) δ (ppm): 7,81 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,52 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 5,07 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 4,60 (s,  
2H) y 2,94 (s, 6H); MS m/z 251 [M+1]<sup>+</sup>.

#### 55 C. Preparación de 1-(2,2-difluoroetil)2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-6-metilpiridin-4(1H)-uno

60

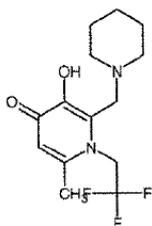


60

De una manera similar, 1-(2,2-difluoroetil)2-[(dimetilamino)metil]-3-hidroxi-6-metilpiridin-4(1H)-uno (0,41 g)  
se preparó a partir de 1-(2,2-difluoroetil)-5-hidroxi-2-metilpiridin-4(1H)-uno (0,40 g, 2,1 mmol) y N,N,N',N'-  
tetrametilmetanodiamina (4,3 mL, 31,7 mmol) en etanol (10 mL) a 75 °C durante 19 horas. Producción = 78%; <sup>1</sup>H  
65 NMR (DMSO-D<sub>6</sub>, 90 MHz) δ ppm: 6,45 (tt, J = 55,1, 3,5 Hz, 1H), 6,24 (s, 1H), 4,74 (td, J = 14,6, 3,5 Hz, 2H), 3,55 (s,  
2H), 2,37 (s, 3H), 2,17 (s, 6H); MS m/z 247 [M+1]<sup>+</sup>.

**Ejemplo 9****Preparación de 3-hidroxi-6-metil-2-(piperidin-1-ilmetil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno**

5



10

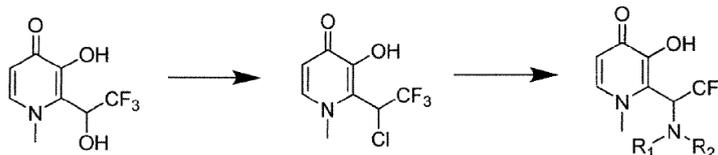
15 3-Hidroxi-2-(hidroximetil)6-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (375 mg, 1,6 mmol) se mezcló con acetonitrilo a 80 °C y se añadió el cloruro de tionilo (753 mg, 6,3). La mezcla de la reacción se agitó durante 5 minutos y después se concentró mediante un evaporador rotatorio para dar 2-(clorometil)-3-hidroxi-6-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno hidrocioruro. El compuesto de cloruro se añadió a una solución de piperidina (672 mg, 7,9 mmol) en isopropanol (5 mL) a temperatura ambiente. Cinco minutos más tardes, la mezcla de la reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con agua dos veces y salmuera, se secó y concentró. El residuo se trituró con éter/hexanos para dar 3-hidroxi-6-metil-2-(piperidin-1-ilmetil)-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (165 mg) como sólido naranja pálido. Producción = 34%; <sup>1</sup>H NMR (MeOD-D<sub>4</sub>, 90 MHz) δ (ppm): 6,37 (s, 1H), 3,72 (br. s, 2H), 2,45 (br. m, 7H) y 1,51 (br. m, 6H); MS m/z 305 [M+1]<sup>+</sup>.

20

**Ejemplo 10****Preparación de N-metil-N2-[2,2,2-trifluoro-2-(3-hidroxi-1-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridin-2-il)etil]-D-alaninamida y N-metil-N2-[2,2,2-trifluoro-2-(3-hidroxi-1-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridin-2-il)etil]-L-alaninamida (Apo6998 y Apo6999)**

25

30



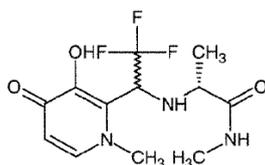
35

40 A una solución de 3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno hidrocioruro (1000,0 g, 0,62 mol) disuelto en una solución de 6N NaOH (206,9 mL) en baño de agua helada se añadió trifluoro acetaldehído etil hemiacetal (131,9 mL, 1,24 mmol). La solución resultante se calentó a 95 °C durante la noche. La mezcla de la reacción se enfrió después, y en el baño de agua helada el pH de la mezcla se ajustó a aproximadamente 5 usando una solución 6N HCl. El sólido precipitado se recogió mediante filtración, y el sólido se lavó minuciosamente con agua desionizada (100 mL x 2), y después se secó bajo vacío a 43 °C durante la noche para proporcionar 3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-dihidroxi)etil)piridin-4(1H)-uno (94,8 g) como un sólido blanco. Producción = 68%; <sup>1</sup>H NMR (90 MHz, MeOD-D<sub>4</sub>) δ (ppm): 7,60 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 6,40 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 5,92 (q, J = 8,2 Hz, 1H), 3,98 (s, 3H); MS m/z 224 [M+1]<sup>+</sup>, 158 (100%).

40

45

50



55 A una suspensión enfriada en hielo de 3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-dihidroxi)etil)piridin-4(1H)-uno (1,60 g, 7,2 mmol) en 50 mL de acetonitrilo se añadió en forma de gotas SOCl<sub>2</sub> (0,80 mL, 10,8 mmol) seguido de piridina (0,6 mL, 7,2 mmol). La suspensión resultante se agitó durante 0,5 horas y después se sometió a reflujo durante 2 horas. La mezcla de la reacción se evaporó hasta secarse. A una suspensión del residuo en 10 mL de acetonitrilo se añadió una suspensión de L-H-Ala-NHMe.HCl (1,19 g, 8,6 mmol) y Et<sub>3</sub>N (4,0 mL, 28,7 mmol) en 20 mL de acetonitrilo. La mezcla resultante se agitó a TA durante la noche. La mezcla de la reacción se evaporó hasta secarse, y el residuo se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (10% conc NH<sub>4</sub>OH en IPA como eluyente) para proporcionar 2,20 g de los dos diastereoisómeros, Apo6988 y Apo6999. Una muestra de cada diastereoisómero se obtuvo a través de una purificación adicional mediante Biotage usando cartucho C18 en fase inversa.

60

65

Isómero más polar por HPLC (T<sub>a</sub> = 3,43 min) (110 mg). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOD-D<sub>4</sub>) δ (ppm): 7,68 (d, J =

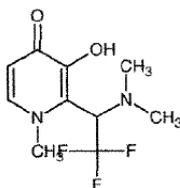
7,1 Hz, 1H), 6,41 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 4,68-4,80 (m, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,41-3,56 (m, 1H), 2,57 (s, 3H), 1,30 (d, J = 6,1 Hz, 3H); MS m/z 330 [M+Na]<sup>+</sup>, 308 [M+1]<sup>+</sup>, 126 (100%).

5 Isómero menos polar por HPLC (Ta = 3,68 min) (100 mg). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, MeOD-D<sub>4</sub>) δ (ppm): 7,70 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 6,44 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 4,60-4,70 (m, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,20-3,24 (m, 1H), 2,75 (s, 3H), 1,28 (d, J = 6,1 Hz, 3H); MS m/z 330 [M+Na]<sup>+</sup>, 308 [M+1]<sup>+</sup>, 126 (100%).

10 Condición de HPLC: Columna: Simetría C18, 5 μm; 3,9 mm x 150 mm; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min; Fase móvil: A = 0,035% HClO<sub>4</sub>, B = Acetonitrilo; Gradiente (min-B%): 0-10-10-100, 12-100, 14-50.

### Ejemplo 11

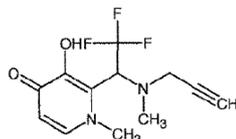
#### Preparación de 2-[1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil]-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (Apo7041)



15 A una suspensión de 3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi)etilpiridin-4(1H)-uno (5,00 g, 22,4 mmol) en 40 mL de acetonitrilo en baño de agua helada se añadió reactivo de Vilsmeier (4,30 g, 33,6 mmol) en forma de porción. La mezcla resultante se agitó durante 2 horas antes de añadirse a una suspensión de hidrocloreto de dimetilamina (6,00 g, 73,6 mmol) y Et<sub>3</sub>N (15,0 mL, 107,6 mmol) en 30 mL de acetonitrilo. La suspensión resultante se agitó a TA durante la noche. El sólido se filtró y el filtrado se concentró hasta secarse. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (10% MeOH en EtOAc como eluyente) para proporcionar el compuesto del título. Apo7041 (1,8 g). Producción = 32%; <sup>1</sup>H NMR (80 MHz, CD<sub>3</sub>OD-D<sub>4</sub>) δ (ppm): 7,63 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 6,41 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 4,78 (q, J = 8,1 Hz, 1H), 3,99 (s, 3H), 2,41 (s, 6H); MS m/z 273 [M+Na]<sup>+</sup>, 251 [M+1]<sup>+</sup>, 206 (100%).

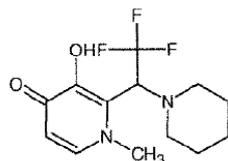
### Ejemplo 12

#### A. Preparación de 3-hidroxi-1-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-[metil(prop-2-in-1-il)amino]etil]piridin-4(1H)-uno (Apo7057)



40 A 20 mL de acetonitrilo enfriado en un baño de agua helada se añadió DMF (0,42 mL, 5,4 mmol) seguido de cloruro de oxalilo (0,47 mL, 5,4 mmol) en forma de gotas. A esta suspensión resultante se añadió 3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi)etilpiridin-4(1H)-uno (1,0 g, 4,5 mmol) en una parte. La mezcla se agitó después durante 2 horas. Después se añadió Et<sub>3</sub>N (2,50 mL, 17,9 mmol) a esta mezcla de reacción seguido de N-metil propargilamina (0,75 mL, 9,0 mmol). La mezcla de la reacción se agitó a TA durante la noche. El sólido se filtró y el filtrado se concentró hasta secarse. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (5% MeOH en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como eluyente) para proporcionar el compuesto del título. Apo7057 (570 mg) como un polvo naranja. Producción = 46,4%; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO + unas pocas gotas de D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 7,6 (br. s., 1H), 6,25 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 5,15 (br. s., 1H), 3,87 (s, 3H), 3,337-3,67 (m, 2H); 3,23 (br. s. 1H), 2,32 (br. s., 3H); MS m/z 275 [M+1]<sup>+</sup>, 206 (100%).

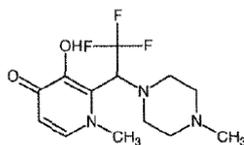
#### B. Preparación de 3-hidroxi-1-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(piperidin-1-il)etil]piridin-4(1H)-uno (Apo7058)



55 De una manera similar, Apo7058 se preparó a partir de 3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi)etilpiridin-4(1H)-uno (1,0 g, 4,5 mmol) y piperidina (0,88 mL, 8,9 mmol). El compuesto del título Apo7058 (700 mg) se obtuvo como un sólido blanco después de purificación mediante cromatografía flash (4% MeOH en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como eluyente). Producción = 54%; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>, 75 °C) δ (ppm):

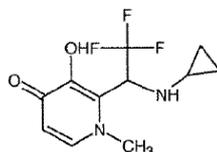
7,59 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 6,19 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 4,82 (q, J = 9,0 Hz, 1H), 3,88 (s, 3H), 2,46-2,84 (m, 4H), 1,29-1,74 (m, 6H) MS m/z 291[M+1]<sup>+</sup>, 206 (100%).

**C. Preparación de 3-hidroxi-1-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(4-metilpiperazina-1-il)etil]piridin-4(1H)-uno (Apo7073)**



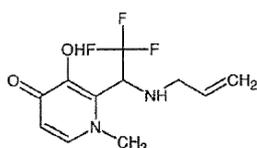
De una manera similar, Apo7073 se preparó a partir de 3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno (1,0 mL, 9,0 mmol). El compuesto del título Apo7073 (401 mg) se obtuvo después de purificación mediante columna C18 inversa de Biotage. Producción = 29%; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-D<sub>6</sub>, 75 °C) δ (ppm): 7,63 (d, J = 6,8 Hz, 1H), 6,21 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 4,94 (q, J = 8,5 Hz, 1H), 3,86 (s, 3H), 3,05 (br. s., 4H), 2,92 (br. s., 4H), 2,64 (s, 3H); MS m/z 306[M+1]<sup>+</sup>, 206 (100%).

**D. Preparación de 2-[1-(ciclopropilamina)-2,2,2-trifluoroetil]-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (Apo7074)**



De una manera similar, Apo7074 se preparó a partir de 3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno (1,0 g, 4,5 mmol) y ciclopropilamina (0,62 mL, 9,0 mmol). El compuesto del título Apo7074 (470 mg) se obtuvo después de purificación mediante cromatografía flash (5% MeOH en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como eluyente). Producción = 40%; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO + unas pocas gotas de D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 7,67 (d, J = 6,8 Hz, 1H); 6,25 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 4,70 (q, J = 8,1 Hz, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,04 (r. s., 1H), 0,34-0,43 (m, 4H); MS m/z 263 [M+1]<sup>+</sup>, 206 (100%).

**E. Preparación de 3-hidroxi-1-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(prop-2-en-1-ilamino)etil]piridin-4(1H)-uno (Apo7075).**



De una manera similar, Apo7075 se preparó a partir de 3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno (1,0 g, 4,5 mmol) y alilamina (0,67 mL, 9,0 mmol). El compuesto del título Apo7075 (497 mg) se obtuvo después de purificación mediante cromatografía flash (5% MeOH en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> como eluyente). Producción = 42%; <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO + unas pocas gotas de D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 7,65 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 6,24 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 5,70-5,80 (m, 1H), 5,14 (d, J = 17,4 Hz, 1H), 5,06 (d, J = 10,1 Hz, 1H), 4,63 (q, J = 8,2 Hz, 1H), 3,67 (s, 3H), 3,15-3,19 (m 2H); MS m/z 263 [M+1]<sup>+</sup>, 206 (100%).

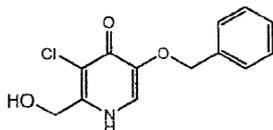
**Ejemplo 13 (intermediarios sintéticos)**

**A. Preparación de 5-(benciloxi)-3-cloro-2-metilpiridin-4(1H)-uno**

A una solución de 5-(benciloxi)-2-metilpiridin-4(1H)-uno (9,00 g, 41,8 mmol) en 2M de hidróxido de sodio (62,5 mL, 125 mmol) bajo baño de agua helada, se añadió una solución de 10-14% hidrocloreto de sodio (62,5 mL) lentamente durante 20 minutos. La mezcla de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante otra hora. La mezcla de la reacción se neutralizó cuidadosamente con 6N de HCl a pH de aproximadamente 7 con enfriamiento externo para mantener la temperatura interna por debajo de 25 °C. El sólido se filtró y lavó con agua (3 x), después se secó en un horno de vacío durante la noche. Por lo tanto, se obtuvo 5-(benciloxi)-3-cloro-2-metilpiridin-4(1H)-uno (9,03 g) como un sólido blanco. Producción = 86%; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-D<sub>6</sub>, 90 MHz) δ ppm: 11,74 (br. s., 1H), 7,14-7,68 (m, 6H), 5,02 (s, 2H) y 2,33 (s, 3H).

**B. Preparación de 5-(benciloxi)-3-cloro-2-(hidroximetil)piridin-4(1H)-uno**

5

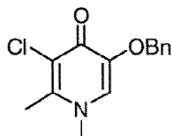


10

De una manera similar, 5-(benciloxi)-3-cloro-2-(hidroximetil)piridin-4(1H)-uno (10,50 g) se preparó a partir de 5-(benciloxi)-2-(hidroximetil)piridin-4(1H)-uno (11,56 g, 50 mmol) y una solución de 10-14% hipoclorito de sodio (75 mL) en una solución 2M de hidróxido de sodio (75 mL). Producción = 81%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 11,35 (br. s., 1H), 7,05-7,66 (m, 6H), 5,79-6,32 (m, 1H), 5,03 (s, 2H) y 4,54 (s, 2H).

### C. Preparación de 5-(benciloxi)-3-cloro-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno

15



20

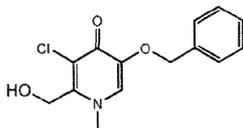
25

5-(Benciloxi)-3-cloro-2-metilpiridin-4(1H)-uno (3,00 g, 12,0 mmol) se suspendió en 25 mL de DMF. Se añadió carbonato de potasio (3,30 g, 24,0 mmol) seguido de la adición de yodometano (1,53 mL, 24,0 mmol). El progreso de la reacción se controló mediante TLC (30% acetato de etilo en hexanos). Después de su finalización, la reacción se dejó agitando a temperatura ambiente. Se añadió agua y se formó un precipitado blanco. El sólido se recogió mediante filtración con succión, se dejó secar al aire y después se secó bajo vacío. De este modo, se obtuvo 5-(benciloxi)-3-cloro-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno (2,00 g). Producción = 63%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,61 (s, 1H), 7,27-7,46 (m, 5H), 5,21 (s, 2H), 3,75 (s, 3H) y 2,54 (s, 3H).

30

### D. Preparación de 5-(benciloxi)-3-cloro-2-(hidroximetil)-1-metilpiridin-4(1H)-uno

35



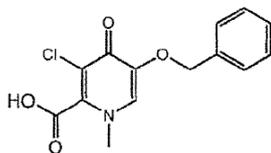
40

De una manera similar, 5-(benciloxi)-3-cloro-2-(hidroximetil)-1-metilpiridin-4(1H)-uno (7,52 g) se preparó a partir de 5-(benciloxi)-3-cloro-2-(hidroximetil)piridin-4(1H)-uno (10,0 g, 37,6 mmol), yodometano (10,7 g, 75,2 mmol) y carbonato de potasio (10,3 g, 75,2 mmol) en DMF (50 mL). Producción = 72%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,7,7 (s, 1H), 7,17-7,58 (m, 5H), 5,65 (br. s, 1H), 5,04 (s, 2H), 4,70 (br. S, 1H) y 3,81 (s, 3H).

45

### E. Preparación de 5-(benciloxi)-3-cloro-1-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridina-2-ácido carboxílico.

50



55

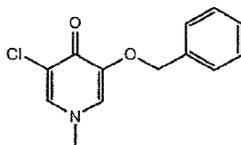
60

A una mezcla de 5-(benciloxi)-3-cloro-2-(hidroximetil)-1-metilpiridin-4(1H)-uno (4,90 g, 17,5 mmol), TEMPO (120 mg, 0,77 mmol) y bromuro de potasio (120 mg, 1,00 mmol) en acetona (50 mL) y bicarbonato de sodio saturado (40 mL) por debajo de 7 °C se añadió en forma de gotas una solución de 10-14% hipoclorito de sodio (50 mL) durante 30 minutos. Después de agitarse durante 2 horas, la mezcla de la reacción se diluyó con agua y se ajustó a pH de aproximadamente 1,5 con 6N de HCl. El sólido se filtró y lavó con agua para dar 5-(benciloxi)-3-cloro-1-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridina-2-ácido carboxílico (2,89 g) como un sólido blanco. Producción = 56%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,79 (s, 1H), 7,16-7,62 (m, 5H), 5,03 (s, 2H) y 3,67 (s, 3H); MS m/z 294  $[\text{M}+1]^+$ .

### F. Preparación de 3-(benciloxi)-5-cloro-1-metilpiridin-4(1H)-uno

65

5



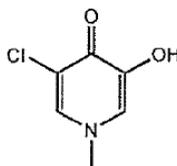
10 5-(Benciloxi)-3-cloro-1-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridina-2-ácido carboxílico (3,50 g, 11,9 mmol) se calentó en DMF (10 mL) durante una hora. La mezcla de la reacción se concentró mediante evaporación rotatoria y el residuo se trituró con acetato de etilo/éter para dar 3-(benciloxi)-5-cloro-1-metilpiridin-4(1H)-uno (2,80 g) como un sólido marrón pálido. Producción = 94%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 8,08 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 7,68 (d,  $J = 1,8$  Hz, 1H), 7,19-7,58 (m, 5H), 5,01 (s, 2H) y 3,67 (s, 3H).

15

#### Ejemplo 14 (intermediarios sintéticos)

##### A. Preparación de 3-cloro-5-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno.

20



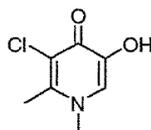
25

30 3-(benciloxi)-5-cloro-1-metilpiridin-4(1H)-uno (2,70 g, 10,8 mmol) se mezcló en 6N de HCl (15 mL) y etanol (10 mL). Después de someterse a reflujo durante 2 horas, la mezcla de la reacción se concentró mediante un evaporador rotatorio. El residuo se mezcló con agua (5 mL) y se transformó en base a pH 8-9 con amonio concentrado. Apareció un precipitado blanquecino, y la mezcla se concentró e nuevo en vacío para eliminar los volátiles. El sólido blanquecino se recogió mediante filtración con succión y se secó para dar 3-cloro-5-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (1,32 g). Producción = 76,6%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 7,68 (s, 1H), 7,47 (s, 1H) y 3,67 (s, 3H).

35

##### B. Preparación de 3-cloro-5-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno

40



45

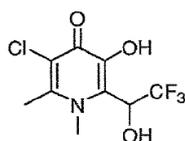
De una manera similar, 3-cloro-5-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno (600 mg), se preparó sometiendo a reflujo una mezcla de 5-(benciloxi)-3-cloro-1,2-dimetilpiridina-4(1H)-uno (2,00 g, 7,6 mmol) con 6N de HCl (20 mL) y metanol (10 mL) a 100 °C durante 2 horas. Producción = 46%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 8,08 (s, 1H), 4,08 (s, 3H) y 2,72 (s, 3H); MS  $m/z$  174  $[\text{M}+1]^+$ .

50

#### Ejemplo 15

##### A. Preparación de 3-cloro-5-hidroxi-1,2-dimetil-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno

55

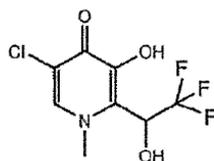


60

65 3-Cloro-5-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno (500 mg, 2,80 mmol) se suspendió en trifluoroacetaldehído metil hemiacetal (3 mL). Se añadió carbonato de potasio (119 mg, 0,86 mmol) y la mezcla se calentó a 120 °C. Después de 2,5 horas, la mezcla de la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente, después se diluyó con metanol y se filtró. El filtrado se concentró hasta secarse y se diluyó con acetona. La solución se filtró y el filtrado se concentró para dar 3-cloro-5-hidroxi-1,2-dimetil-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno (650 mg) como un

sólido rosa. Producción = 85%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 5,9 (q,  $J = 9,1$  Hz, 1H), 4,01 (s, 3H) y 2,65 (s, 3H); MS-ESI  $m/z$  272  $[\text{M}+1]^+$ .

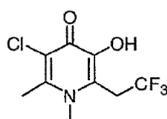
#### B. Preparación de 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-etil)piridin-4(1H)-uno



De una manera similar, 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-etil)piridin-4(1H)-uno (1,40 g) se preparó a partir de 3-cloro-5-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (1,27 g, 8,0 mmol) y trifluoroacetaldehído metil hemiacetal (12,7 mL) en presencia de carbonato de potasio (0,22 g, 1,6 mmol). Producción = 68%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 8,10 (s, 1H), 5,80 (q,  $J = 8,7$  Hz, 1H) y 3,88 (s, 3H); MS  $m/z$  258  $[\text{M}+1]^+$ .

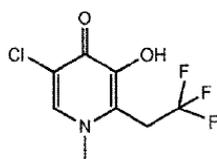
#### Ejemplo 16

##### A. Preparación de 3-cloro-5-hidroxi-1,2-dimetil-6-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno.



3-Cloro-5-hidroxi-1,2-dimetil-6-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (300 mg, 1,10 mmol) se suspendió en 10 mL de acetonitrilo y se añadió cloruro de tionilo (398  $\mu\text{L}$ , 5,50 mmol) en forma de gotas. La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 2 horas, la reacción se concentró. El crudo se diluyó con 10 mL de metanol y se añadió brohidruro de sodio (329 mg, 8,80 mmol) en porciones pequeñas. Después de 15 horas, la reacción se filtró y el filtrado se concentró en vacío. El sólido resultante se disolvió en metanol y se añadió acetato de tilo, se filtró y concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice usando una mezcla de 30% EtOAc en MeOH como eluyente. Las fracciones ricas en producto se combinaron y evaporaron hasta secarse. El producto residuo se volvió a cristalizar del metanol/acetato de etilo para dar 3-cloro-5-hidroxi-1,2-dimetil-6-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (172 mg) como un sólido blanco. Producción = 61%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 4,1 (q,  $J = 9,0$  Hz, 2H), 3,99 (s, 3H) y 2,77 (s, 3H); MS  $m/z$  256  $[\text{M}+1]^+$ .

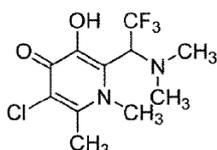
##### B. Preparación de 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno



De una manera similar, 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (117 mg) se preparó a partir de 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-etil)piridin-4(1H)-uno (580 mg, 2,30 mmol). Producción = 22%;  $^1\text{H NMR}$  (MeOD- $\text{D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 8,04 (s, 1H), 3,91 (q,  $J = 9,9$  Hz, 2H) y 3,84 (s, 3H); MS  $m/z$  242  $[\text{M}+1]^+$ .

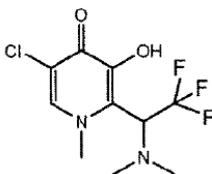
#### Ejemplo 17

##### A. Preparación de 3-cloro-6-[1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil]-5-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno



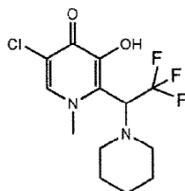
3-Cloro-5-hidroxi-1,2-dimetil-6-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (618 mg, 2,3 mmol) se mezcló con piridina (276  $\mu$ L, 3,4 mmol) en acetonitrilo (10 mL) a temperatura ambiente. Se añadió cloruro de tionilo (249  $\mu$ L, 3,41 mmol) en forma de gotas. Después de agitarse a temperatura ambiente durante 30 minutos, la mezcla de la reacción se concentró mediante evaporación rotatoria. El residuo se secó bajo vacío y después se mezcló con etanol (20 mL) bajo baño de agua helada. Se añadió una solución de dimetilamina etanólica (5,6 M, 4,06 mL, 22,8 mmol) a aproximadamente 5 °C y la mezcla se agitó durante 20 minutos. La mezcla de la reacción se concentró mediante evaporación rotatoria. El residuo se mezcló con agua (10 mL) y el pH de la solución se ajustó a 5,5. El sólido precipitado se recogió mediante filtración con succión y se lavó con agua, después se trituroó con éter/hexanos para dar 3-cloro-6-[1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil]-5-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno (380 mg) como un sólido blanquecino. Producción = 56%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 4,88 (q,  $J = 8,6$  Hz, 1H), 4,08 (s, 3H), 2,65-2,81 (m, 3H) y 2,39 (s, 6H); MS  $m/z$  299  $[\text{M}+1]^+$ .

#### B. Preparación de 5-cloro-2-(1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno



De una manera similar, 5-cloro-2-(1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (290 mg) se preparó a partir de 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (386 mg, 1,5 mmol). Producción = 68%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{MeOD-D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 8,04 (s, 1H), 4,69-4,85 (m, 1H), 4,05 (br. s, 3H) y 2,42 (br. s, 6H); MS  $m/z$  285  $[\text{M}+1]^+$ .

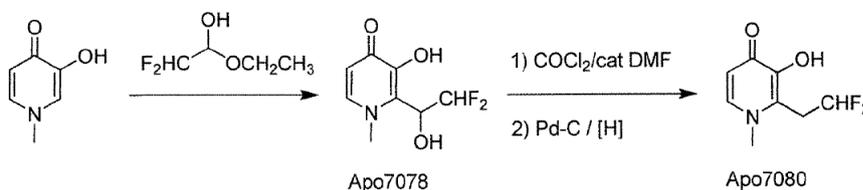
#### C. Preparación de 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-(piperidin-1-il)etil)piridin-4(1H)-uno



De una manera similar, 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-(piperidin-1-il)etil)piridin-4(1H)-uno (302 mg) se preparó a partir de 5-cloro-3-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (386 mg, 1,5 mmol). Producción = 60%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{MeOD-D}_4$ , 90 MHz)  $\delta$  (ppm): 8,03 (br. s, 1H), 4,57-4,83 (m, 1H), 3,74-4,35 (m, 3H), 2,2-3,02 (m, 4H) y 1,44-1,89 (m, 6H); MS  $m/z$  325  $[\text{M}+1]^+$ .

#### Ejemplo 18

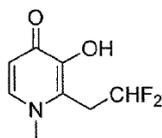
##### A. Preparación de 2-(2,2-difluoro-1-hidroxietil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (Apo7978)



Una suspensión sellada de 3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (1,00 g, 8,0 mmol) y carbonato de potasio (0,11 g, 0,8 mmol) en 2,4 mL de difluoroacetaldehído etil hemiacetal se calentó a 50 °C durante 18 horas. Los componentes volátiles se evaporaron bajo presión reducida. El residuo se disolvió en 3 mL de agua desionizada y después se enfriaron en un baño de agua helada y el pH se ajustó a 5-6 con una solución 1N de HCl. El precipitado se recogió mediante filtración con succión y se secó. De este modo, se obtuvo el compuesto Apo7078 (410 mg) como un sólido blanco. Producción = 25%;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm): 7,62 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H), 6,41 (d,  $J = 7,1$  Hz, 1H), 6,30 (dt,  $^3J = 55,8$  Hz,  $^2J = 5,1$  Hz, 1H), 5,45 (dt,  $^2J = 5,1$  Hz,  $^3J = 11,4$  Hz, 1H), 3,96 (s, 3H); MS  $m/z$  206  $[\text{M}+1]^+$ , 188 (100%).

**B. Preparación de 2-(2,2-difluoroetil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (Apo7080)**

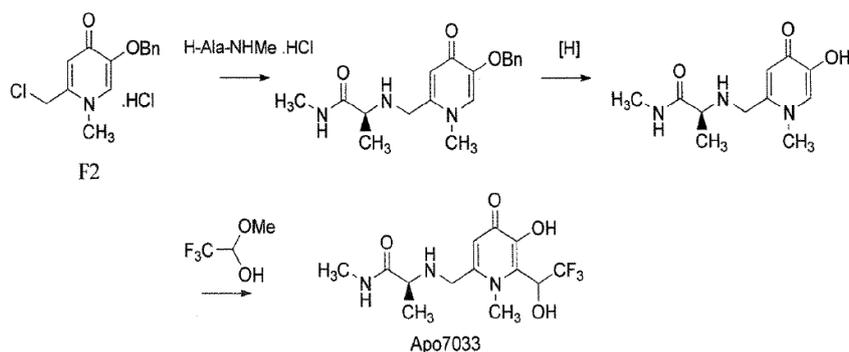
5



10 A 10 mL de acetonitrilo en baño de agua helada se añadió DMF (0,14 mL, 1,8 mmol) seguido de cloruro de oxalilo (0,15 mL, 1,8 mmol) en forma de gotas. A esta suspensión resultante se añadió 2-(2,2-difluoro-1-hidroxietil)-3-hidroxi-1-metilpiridin-4(1H)-uno (0,30 g, 1,5 mmol) en una parte y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas. Se recogió un sólido mediante filtración y se disolvió en 150 mL de acetonitrilo. A esta solución resultante se añadió Pd/C (10%, húmedo, 0,20 g, 66,7% p/p), y la mezcla se sometió a hidrogenación bajo 40 psi presión de hidrógeno durante 2 horas. El catalizador se filtró y el filtrado se evaporó hasta secarse. El residuo se disolvió en agua desionizada y el pH se ajustó a 5-6 usando una solución 6N de NaOH. El precipitado se recogió mediante filtración con succión para proporcionar el producto crudo (100 mg) como un sólido blanquecino. El crudo se purificó de nuevo mediante cartucho C18 de fase inversa de Biotage para proporcionar el compuesto del título, Apo7080 (66 mg) como sólido blanco. Producción = 24%;  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm): 7,65 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 6,41 (d,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 6,19 (tt,  $J = 56,5, 4,7$  Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,51 (dt,  $^3J = 15,9$  Hz,  $^2J = 4,6$  Hz, 2H); MS  $m/z$  190  $[\text{M}+1]^+$ , 188 (100%).

25 **Ejemplo 19**  
**Preparación de N-2-[[5-hidroxi-1-metil-4-oxo-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)-1,4-dihidropiridin-2-il]metil]-N-metil-L-alaninamida (Apo7033)**

30



35

40

45 Una mezcla de 5-(benciloxi)-2-(clorometil)-1-metilpiridin-4(1H)-uno hidrocloreto (7,55 g, 25,0 mmol), H-Ala-NHMe.HCl (5,14 g, 37,0 mmol) y diisopropiletilamina (12,5 mL, 72,0 mmol) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  (50 mL) se calentó a 85 °C bajo una atmósfera de nitrógeno durante la noche. Los volátiles se eliminaron en vacío, y el residuo se pre-purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice usando una mezcla de MeOH y acetato de etilo como eluyente (gradiente de disolvente de 10, 15 y 20% MeOH en acetato de etilo). Las fracciones ricas en producto se combinaron y evaporaron hasta secarse. Una purificación adicional mediante cromatografía de columna en gel de sílice usando una mezcla de  $\text{H}_2\text{O}$  y  $\text{CH}_3\text{CN}$  (1-5% contenido  $\text{H}_2\text{O}$  y después un 10% MeOH en solución de diclorometano proporcionó (S)-2-((5-(benciloxi)-1-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridin-2-il)metilamino)-N-metilpropanamida (7,17 g) en producción de 87%. MS  $m/z$  352  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 330 (100%)  $[\text{M}+1]^+$ , 228, 138, 91.

55 Una mezcla de (S)-2-((5-(benciloxi)-1-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridin-2-il)metilamino)-N-metilpropanamida (7,04 g, 21,4 mmol) y 10% Pd/C (0,90 g) en MeOH (70 mL) se sometió a hidrogenación en un aparato Par a 50 psi de presión de hidrógeno durante 2 horas. La mezcla de la reacción se filtró sobre celite y el filtrado se concentró en vacío. El sólido resultante se secó en un horno de vacío a 44 °C durante la noche. De este modo, se obtuvo (S)-2-((5-(hidroxi)-1-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridin-2-il)metilamino)-N-metilpropanamida como un sólido naranja (4,90 g) en una producción de 96%.  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{COOD}$ )  $\delta$  (ppm): 7,77 (s, 1H), 7,03 (s, 1H), 4,30-4,34 (m, 3H,  $\text{OCH}_2 + \text{CHCH}_3$ ), 3,98 (s, 3H), 2,80 (s, 3H), 1,56 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ ); MS  $m/z$  262  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 240 (100%)  $[\text{M}+1]^+$ , 138, 110.

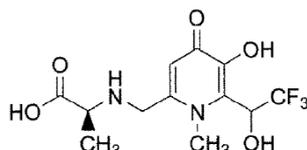
60 Una mezcla de (S)-2-((5-(hidroxi)-1-metil-4-oxo-1,4-dihidropiridin-2-il)metilamino)-N-metilpropanamida (3,13 g, 13,1 mmol), trifluoroacetaldehído metil hemiacetal (3,6 mL, 38 mmol) y carbonato de potasio (2,62 g, 19,0 mmol) en  $\text{CH}_3\text{CN}$  (35 mL) se calentó a 75-80 °C durante la noche. El análisis de la reacción mediante TLC usando una mezcla disolvente de 28-30% conc.  $\text{NH}_4\text{OH}$  en IPA como eluyente indicó un consumo incompleto del material de partida. Se añadió una parte más de trifluoroacetaldehído metil hemiacetal (4 mL), y la mezcla se purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice usando una mezcla de MeOH y acetato de etilo como eluyente (gradiente disolvente de 10, 15, 20% MeOH en acetato de etilo). De este modo, se obtuvo el compuesto del título N-2-[[5-

65

hidroxi-1-metil-4-oxo-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)-1,4-dihidropiridin-2-il]metil}-N-metil-L-alaninamida como un sólido amarillento (1,53 g) en una producción de 35%.  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,79 (t,  $J = 4,4$ , 1H, NH), 6,30 (s, 1H), 5,87 (q,  $J = 8,7$  Hz, 1H,  $\text{CHCF}_3$ ), 3,82 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,61-3,65, dd,  $^2J = 14,5$  y  $^4J = 1,9$  Hz, 1H, 0,5  $\text{NHCH}_2$ ), 3,47-3,52 (t aparente,  $J = 15,2$  Hz, 1H, 0,5  $\text{NHCH}_2$ ), 3,08 (q,  $J = 6,8$  Hz, 1H,  $\text{CHCH}_3$ ), 2,59 (d,  $J = 4,2$  Hz, 3H,  $\text{NHCH}_3$ ), 1,12 (dd,  $^2J = 6,8$  y  $^4J = 2,3$  Hz, 3H,  $\text{CHCH}_3$ ),  $^{13}\text{C NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$  (ppm): 175,0 (C=O), 169,6 (C=O), 149,2, 147,3, 125,0 (q,  $J = 283$  Hz,  $\text{CHCF}_3$ ), 113,1 (CH), 64,2 (q,  $J = 33$  Hz,  $\text{CHCF}_3$ ), 56,9 (CH), 48,9 ( $\text{CH}_2$ ), 36,6 ( $\text{NCH}_3$ ), 25,8 ( $\text{NHCH}_3$ ), 19,6 ( $\text{CH}_3$ ); MS  $m/z$  360  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 338 (100%)  $[\text{M}+1]^+$ , 236.

### Ejemplo 20

#### N-2-[[5-hidroxi-1-metil-4-oxo-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)-1,4-dihidropiridin-2-il]metil]-L-alanina (Apo7032)

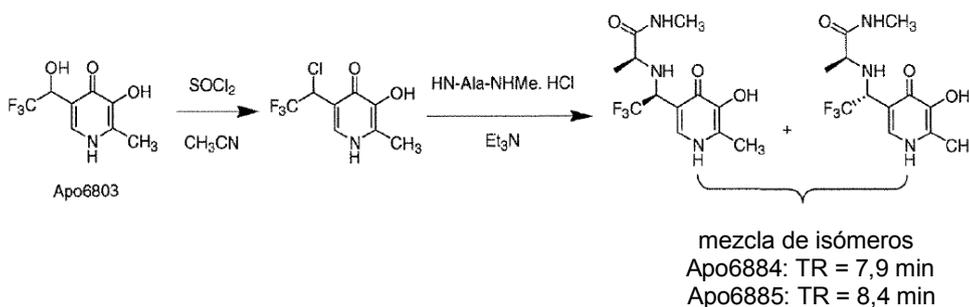


El experimento se repitió en la última etapa del ejemplo previo (ejemplo 19) (escala 2,9 mmol) excepto que la mezcla se purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice usando una mezcla de 28-30% con.  $\text{NH}_4\text{OH}$  e IPA como eluyente (gradiente disolvente de 10, 15 y 20 y 25%  $\text{NH}_4\text{OH}$  en IPA). En este caso, se obtuvo el compuesto ácido del título

N-2-[[5-hidroxi-1-metil-4-oxo-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)-1,4-dihidropiridin-2-il]metil]-L-alanina como un sólido naranja (0,7 g) en producción de 78%. MS  $m/z$  347  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ , 325 (100%)  $[\text{M}+1]^+$ , 236.

### Ejemplo 21

#### Preparación de diastereoisómeros de N-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(5-hidroxi-6-metil-4-oxo-1,4-dihidro-piridin-3-il)-etilamino]-propionamida (Apo6884 y Apo6885)



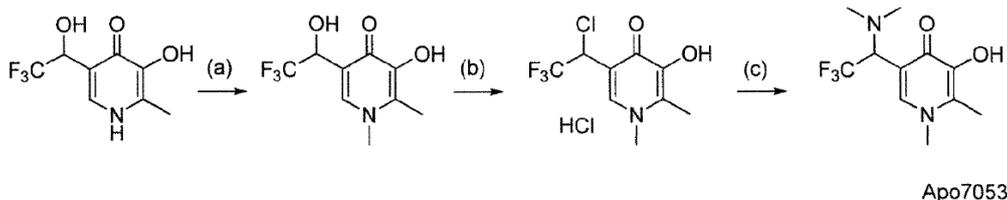
Se añadió cloruro de tionilo (2,5 mL, 33,7 mmol) a una suspensión de 3-hidroxi-2-metil-5-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-etil)-1H-piridin-4-uno (1,50 g, 6,7 mmol) en acetonitrilo (33 mL) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó durante 30 minutos de manera que resulto una solución clara. El progreso de la reacción se controló mediante TLC (metanol : diclorometano, 1:10, p:p), lo que indicó el consumo del material de partida. La mezcla de la reacción se evaporó hasta secarse para dar el crudo 5-(1-cloro-2,2,2-trifluoro-etil)-3-hidroxi-2-metil-1H-piridin-4-uno como un sólido.

El sólido se disolvió en acetonitrilo (35 mL) y se añadió H-Ala-NHMe sal de ácido hidroclicórico (1,15 g, 8,3 mmol) seguido de trietilamina (4,0 mL, 28,7 mmol). La mezcla heterogénea se agitó durante 60 minutos, mientras el progreso de la reacción se controló mediante el método HPLC. El análisis HPLC de la mezcla cruda de reacción indicó la presencia de dos picos de producto en una proporción de aproximadamente 4/3, y con una TR de 7,9 y 8,4 min., respectivamente. La mezcla de la reacción se filtró para eliminar los materiales sólidos, y el filtrado se evaporó hasta secarse para dar un sólido. El sólido se disolvió en acetato de etilo, y la solución orgánica se extrajo con una solución 20% de cloruro de sodio (3 x 40 mL). Las fracciones acuosas se combinaron (pH 6 y el pH se ajustó a 7 con una solución de NaOH). La solución acuosa después se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 mL). Las fracciones de acetato de etilo se combinaron y evaporaron hasta secarse para dar N-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(5-hidroxi-6-metil-4-oxo-1,4-dihidro-piridin-3-il)-etilamino]-propionamida como un par de diastereoisómeros (850 mg, producción 41%, Método HPLC: Columna: XTerra MS C18, 4,6 x 250 mm; A = Fase acuosa: 4mM Tris, 2 mM EDTA, pH 7,44; B = Fase orgánica:  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; Velocidad de flujo = 1,0 mL/min; Volumen de inyección = 5  $\mu\text{L}$ ; Longitud de onda ( $\lambda$ ): 220, 254, 280, 450 nm. Método gradiente; min-B% 0-5, 15-55, 25,05-5, 30-5. Apo6884, TR = 7,9 min., AUC = 445 en  $\lambda = 280$  nm y Apo6885, TR = 8,4 min, AUC = 35% en  $\lambda = 280$  nm). Se obtuvieron muestras de los dos diastereoisómeros después de repetir la purificación usando el sistema Biotage® (cartucho C18 de fase inversa; una mezcla de acetonitrilo y agua desionizada como eluyente; elución gradiente). Apo6884: 82 mg, TR = 7,9 min., pureza

HPIC (AUC): 99% en  $\lambda = 280$  nm;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$  (ppm): 11,59 (br s, 1H), 7,74 (br s, 1H), 7,56 (s, 1H), 4,62 (m, 1H), 3,12 (m, 2H), 2,49 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,09 (d,  $J = 6,3$  Hz, 3H); MS-ESI  $m/z$  308  $[\text{M}+1]^+$ , 249, 206 (100%), 103. Apo6885: 95 mg, TR = 8,4 min, pureza HPLC (AUC): 99% en  $\lambda = 280$  nm;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$  (ppm): 11,65 (br s, 1H), 7,67 (s, 1H), 7,63 (br s, 1H), 4,43 (m, 1H), 3,39 (m, 1H), 2,93 (m, 1H), 2,62 (d,  $J = 4,7$  Hz, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,07 (d,  $J = 6,9$  Hz, 3H), MS-ESI  $m/z$  308,0  $[\text{M}+1]^+$ , 249, 206 (100%), 103.

### Ejemplo 22

#### Preparación de 5-[1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil]-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno (Apo7053)



(a) A una suspensión de 3-hidroxi-2-metil-5-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H) (5,33g, 23,9 mmol) y acetonitrilo (50 mL) se añadió carbonato de potasio (4,96 g, 35,9 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente y se añadió yodometano (15 mL, 239,8 mmol). El progreso de la reacción se controló mediante HPIC (Columna: XTerra MS C18, 4,6 x 250 mm; A = Fase acuosa; 4 mM Tris, 2 mM EDTA, pH 7,4; B = Fase orgánica:  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; Velocidad de flujo = 1,0 mL/min; Volumen de inyección = 5  $\mu\text{L}$ ; Longitud de onda ( $\lambda$ ): 220, 254, 280, 450 nm. Método gradiente; min-B% 0-5, 15-55, 25,05-5, 30-5.

Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 hora, el análisis HPLC de la mezcla de la reacción indicó aproximadamente 80% de conversión. La mezcla de la reacción se filtró. Se recogieron tanto el sólido como el filtrado. El sólido se lavó con acetonitrilo (40 mL x 2), seguido de agua DI y finalmente con éter para dar 3-hidroxi-1,2-dimetil-5-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno. Cultivo 1, 1,14 g, Producción = 20%.

El filtrado se combinó con las soluciones de lavado de acetonitrilo y se concentró para secarse para dar un sólido. El sólido se lavó con agua DI y éter para dar un segundo cultivo del producto deseado (2,46 g, 44%). Producción total (cultivos 1 y 2) = 64%;  $^1\text{H NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  (ppm): 7,79 (s, 1H), 5,43 (q,  $J = 7,2$  Hz, 1H), 3,88 (s, 3H), 2,44 (s, 3H).

(b) Cloruro de tionilo (7,5 mL, 102,7 mmol) se añadió en forma de gotas a una suspensión de 3-hidroxi-1,2-dimetil-5-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno (300 g, 12,7 mmol) y acetonitrilo (110 mL) con enfriamiento externo usando un baño de agua de grifo bajo una manta de nitrógeno. El progreso de la reacción se controló mediante TLC (eluyente: metanol:diclorometano, 1:10, v:v). Después de la adición de  $\text{SOCl}_2$ , resultó una solución clara, y gradualmente se formó un sólido blanco después de una agitación adicional. La mezcla de la reacción se concentró repetidamente en acetonitrilo para dar un sólido, que después se recogió y lavó con acetonitrilo (15 mL x 2). De este modo, se obtuvo 5-(1-cloro-2,2,2-trifluoroetil)-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno hidrocloreto como un sólido blanco (2,89 g). Producción = 78%;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$  (ppm): 8,17 (s, 1H), 6,19 (q,  $J = 7,5$  Hz, 1H), 3,84 (s, 3H), 2,35 (s, 3H).

(c) Una mezcla de 5-(1-cloro-2,2,2-trifluoroetil)-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno hidrocloreto (395 mg, 1,4 mmol) y acetonitrilo (30 mL) se añadió a un 40% peso dimetilamina en agua (3,5 mL, 27,7 mmol). La solución resultante amarillenta se agitó vigorosamente, y el progreso de la reacción se controló mediante TLC (eluyente: metanol/diclorometano, 1/10, v/v). El material de partida se consumió por completo después de 5 minutos. La mezcla de la reacción se concentró para dar un sólido. El sólido se disolvió en diclorometano (30 mL), que después se lavó con un 10% solución de cloruro de amonio (15 mL x 2). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, filtró y concentró para dar 5-[1-(dimetilamino)-2,2,2-trifluoroetil]-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno (Apo7053) como un producto sólido (200 mg). Producción = 56%; Método HPLC 1, TR = 10,2 min, pureza HPLC (AUC): 98,3% en 280 nm;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,68 (s, 1H), 4,86 (q,  $J = 10,1$  Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 2,29 (s, 3H), 2,23 (s, 6H). MS-ESI  $m/z$  265  $[\text{M}+1]^+$ , 220 (100%), 192.

De una manera similar, se prepararon los siguientes compuestos:

(i) 3-Hidroxi-1,2-dimetil-5-[2,2,2-trifluoro-1-(piperidin-1-il)etil]piridin-4(1H)-uno (Apo7074) se preparó a partir de la reacción de 5-(1-cloro-2,2,2-trifluoroetil)-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno hidrocloreto (304 mg, 1,0 mmol) y piperidina (2,0 mL, 20,3 mmol). La reacción se completó después de 20 minutos y se obtuvo Apo7074 como un producto sólido (232 mg). Producción = 73%; Método HPLC 1, pureza HPLC (AUC) = 99,4% en 280 nm;  $^1\text{H NMR}$  (DMSO- $\text{D}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,66 (s, 1H), 4,83-4,94 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 2,56 (m, 2H), 2,41 (m, 2H), 2,27 (s, 3H), 1,46 (br, 4H), 1,28 (br, 2H); MS-ESI  $m/z$  305  $[\text{M}+1]^+$  (100%), 220.

(ii) 3-Hidroxi-1,2-dimetil-5-[2,2,2-trifluoro-1-(1H-imidazol-1-il)etil]piridin-4(1H)-uno (Apo7055) se preparó a partir de 5-(1-cloro-2,2,2-trifluoroetil)-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno hidrocloreto (505 mg, 1,7 mmol) e imidazol (3,5 g, 51,4 mmol). La reacción se paró cuando el análisis de cromatografía HPLC (Método 1) de la mezcla de la reacción indicó una conversión superior a 98%. La mezcla de la reacción se concentró para dar un sólido. El sólido se disolvió

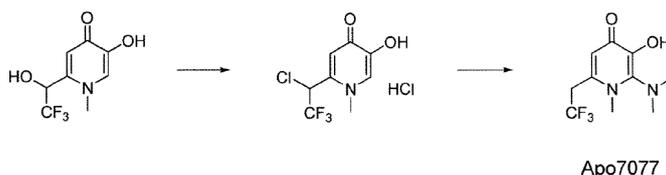
en agua desionizada (4 mL), y el pH de la solución se ajustó a 6,5 con 6,00N de una solución de ácido hidroclicó. La solución resultante se extrajo repetidamente con diclorometano (15 mL x 4,30 mL x 2). Las fracciones orgánicas se combinaron, secaron sobre sulfato de sodio, filtraron y concentraron. El compuesto deseado Apo7075 se obtuvo como un sólido a partir de diclorometano (320 mg). Producción = 64%; pureza HPLC (AUC): 99,7% en 280 nm); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-D<sub>6</sub>) δ (ppm): 8,15 (s, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 6,96 (s, 1H), 6,66 (q, J = 9,1 Hz, 1H), 3,76 (s, 3H), 2,29 (s, 3H). MS-ESI m/z 288 [M+1]<sup>+</sup>, 220 (100%).

(iii) 3-Hidroxi-1,2-dimetil-5-[2,2,2-trifluoro-1-(metilamino)etil]piridin-4(1H)-uno (Apo7056) se preparó a partir de 5-(1-cloro-2,2,2-trifluoroetil)-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno hidroclicuro (400 mg, 1,4 mmol) y metilamina (3,0 mL, 34,4 mmol). La reacción se completó esencialmente después de 15 minutos. La mezcla de la reacción se concentró para dar un sólido. Se obtuvo una muestra de producto Apo7056 libre de sales mediante purificación usando el instrumento Biotage<sup>®</sup> (fase inversa C18; eluyente: agua y acetonitrilo; gradiente, 100 : 0 a 100 : 4). (48 mg). Método HPLC 1, TR = 8,52 min., pureza HPLC (AUC): 99,3% en 280 nm); <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 7,77 (s, 1H), 4,58 (q, J = 8,0 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 2,44 (s, 3H), 2,35 (s, 3H). MS-ESI m/z 251,2 [M+1]<sup>+</sup>, 220,2 (100%).

(iv) 3-Hidroxi-1,2-dimetil-5-[2,2,2-trifluoro-1-(4-metilpiperazina-1-il)etil]piridin-4(1H)-uno hidroclicuro (Apo7063) se preparó a partir de 5-(1-cloro-2,2,2-trifluoroetil)-3-hidroxi-1,2-dimetilpiridin-4(1H)-uno hidroclicuro (550 mg, 1,9 mmol) y se añadió 1-metilpiperazina (3,0 mL, 27,0 mmol). La reacción se paró cuando el análisis de cromatografía HPLC (Método 1) de la mezcla de la reacción completó la conversión. La mezcla de la reacción se concentró para dar un sólido. Al sólido se añadió metanol (2 mL), la mezcla se sometió a vórtice y se filtró. De este modo, se obtuvo Apo7063 como un sólido (280 mg). Producción = 41%; HPLC Método 1, pureza (AUC): 99,8% en 280 nm); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-D<sub>6</sub> + unas gotas de D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 7,69 (s, 1H), 4,93 (q, J = 9,7 Hz, 1H), 3,70 (s, 3H), 2,60-3,40 (b, 8H), 2,69 (s, 3H), 2,29 (s, 3H); MS-ESI m/z 320 [M+1]<sup>+</sup> (100%), 220.

### Ejemplo 23

#### Preparación de 2-(dimetilamino)-3-hidroxi-1-metil-6-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno (Apo7077)

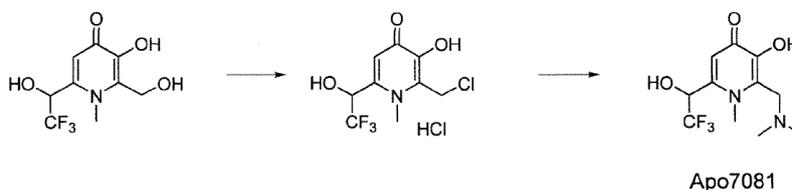


Se añadió cloruro de tionilo (1,6 mL, 21,9 mmol) en forma de gotas a una suspensión de 5-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi)etilpiridin-4(1H)-uno (0,82 g, 3,7 mmol) y acetonitrilo (30 mL) bajo una manta de nitrógeno. La reacción se calentó a reflujo y resultó una solución clara. El progreso de la reacción se controló mediante TLC (eluyente: metanol: diclorometano, 1 : 10, v : v). La mezcla de la reacción se concentró repetidamente en acetonitrilo para dar un sólido, que se usó en la siguiente etapa sin más purificación. <sup>1</sup>H NMR (DMSO-D<sub>6</sub>) δ (ppm): 8,35 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 6,77 (m, 1H), 4,12 (s, 3H).

Una solución de producto de cloruro de la etapa previa en acetonitrilo se añadió a una solución de dimetilamina (40% peso en agua, 9,0 mL, 71,1 mmol). La mezcla se agitó vigorosamente. El progreso de la reacción se controló mediante TLC (eluyente: metanol/diclorometano, 1/10, v/v) y mediante HPLC (Método 1, TR de Apo7077 = 13,37 min, conversión fue aproximadamente 78%). La mezcla de la reacción se concentró hasta secarse. El residuo se absorbió en diclorometano (30 mL), después se lavó con agua desionizada. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio, filtró y concentró para dar un sólido crudo. La purificación del crudo mediante cromatografía de columna en gel de sílice (eluyente: metanol/diclorometano, 5/100, v/v) proporcionó Apo7077 (280 mg). Producción = 30%; HPLC pureza (AUC): 99,2% en 280 nm); <sup>1</sup>H NMR (DMSO-D<sub>6</sub>) δ (ppm): 6,23 (s, 1H), 3,93 (q, J = 10,7 Hz, 2H), 3,63 (s, 3H), 2,74 (s, 6H); <sup>19</sup>F NMR ((DMSO-D<sub>6</sub>) δ (ppm): -63-37 (t, J = 50,8 Hz); MS-ESI m/z 251 [M+1]<sup>+</sup> (100%), 236, 221, 207, 166.

### Ejemplo 24

#### Preparación de 2-((dimetilamino)metil)-3-hidroxi-1-metil-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi)etilpiridin-4(1H)-uno (Apo7081)

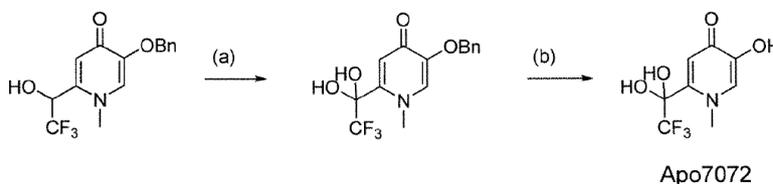


Se añadió cloruro de tionilo (0,48 mL, 6,6 mmol) en forma de gotas a una suspensión de 3-hidroxi-2-(hidroximetil)-1-metil-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno (1,50 g, 5,9 mmol) en acetonitrilo (45 mL). El progreso de la reacción se controló mediante TLC (eluyente: metanol : diclorometano; 15 : 100, v : v) y el material de partida se consumió después de 5 minutos. La mezcla de la reacción se concentró repetidamente en acetonitrilo para dar un sólido, que después se lavó con acetonitrilo (15 mL x 1). De este modo, se obtuvo 2-(clorometil)-3-hidroxi-1-metil-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno hidrocloreto como un sólido blanco (1,18 g).

El último compuesto se disolvió en acetonitrilo (20 mL) y se añadió a una solución de dimetilamina (40% peso en agua, 15 mL, 118,5 mmol). La solución resultante amarillenta se agitó vigorosamente, y el progreso de la reacción se controló mediante el Método HPLC: Columna: XTerra MS C18, 4,6 x 250 nm; A = Fase acuosa; 4 mM Tris, 2 mM EDTA, pH 7,4; B = Fase orgánica: CH<sub>3</sub>CN; Velocidad de flujo = 1,0 mL/min; Volumen de inyección = 5 µL; Longitud de onda (λ): 220, 254, 280, 450 nm. Método gradiente; min-B% 0-5, 15-55, 25,05-5, 30-5. (TR de Apo7081 = 9,45 min, HPLC pureza (AUC): aproximadamente 60% en λ = 280 nm). La mezcla de la reacción se concentró para dar un sólido. Al sólido se añadió agua desionizada (15 mL) y metanol (100 mL), la mezcla resultante se agitó y filtró. El filtrado se recogió y concentró en vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna en gel de sílice (eluyente: metanol/diclorometano, 5/100, v/v). De este modo, se obtuvo Apo7081 (24m g). Método HPLC 1, TR = 9,59 min, pureza (AUC): 98,6% a 280 nm; <sup>1</sup>H NMR (CD<sub>3</sub>OD) δ (ppm): 6,82 (s, 1H), 5,54 (q, J = 6,2 Hz, 1H), 3,96 (s, 3H), 3,76 (s, 32H), 2, 32 (s, 6H); MS-ESI m/z 281 [M+1]<sup>+</sup> 236 (100%), 208.

## Ejemplo 25

### Preparación de 5-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1,1-dihidroxietil)piridin-4(1H)-uno (Apo7072)



(a) A una suspensión enfriada con sal helada de 5-(benciloxi)-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)piridin-4(1H)-uno (1,20 g, 3,9 mmol) y una solución de 10% bicarbonato de sodio (4 mL) en acetona (36 mL) colocadas en un RB 1-N de 250 mL equipado con una barra de agitación magnética para dar una suspensión se añadió una solución de bromato de potasio (99 mg, 0,6 mmol) disuelto en agua desionizada (3 mL). Una solución de TEMPO (31 mg, 0,2 mmol) en acetona (1 mL) se añadió a la suspensión seguido de una solución de hipoclorito de sodio (0,96 M, 6,5 mL, 6,24 mmol). Se usó HPLC para controlar el progreso de la reacción (HPLC Columna: XTerra MS C18, 4,6 x 250 nm; A = Fase acuosa; 4 mM Tris, 2 mM EDTA, pH 7,4; B = Fase orgánica: CH<sub>3</sub>CN; Velocidad de flujo = 1,0 mL/min; Volumen de inyección = 5 µL; Longitud de onda (λ): 220, 254, 280, 450 nm. Método isocrático; acuoso : orgánico = 75 : 25, TR de SM = 10,30 min, TR del producto = 11,37 min, la conversión fue < 99%). La mezcla de la reacción se filtró. El filtrado se recogió y concentró para dar un semi-sólido. El semi-sólido se suspendió en diclorometano (40 mL) y salmuera (30 mL). La mezcla se agitó y el sólido se recogió mediante filtración con succión. El sólido se lavó con agua desionizada (15 mL x 4) y con éter (15 mL x 4). De este modo, se obtuvo 5-(benciloxi)-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1,1-dihidroxietil)piridin-4(1H)-uno (0,93 g). Producción = 73%; Método HPLC 2, pureza (AUC) = 99,4% en 280 nm; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-D<sub>6</sub>) δ (ppm): 8,45 (s, 2H), 7,67 (s, 1H), 7,4 (m, 5H), 6,66 (s, 1H), 5,04 (s, 2H), 3,85 (s, 3H); MS-ESI m/z 330 [M+1]<sup>+</sup>, 91 (100%).

(b) Desbencilación de 5-(benciloxi)-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1,1-dihidroxietil)piridin-4(1H)-uno (700 mg, 2,1 mmol) se realizó en una solución de ácido hidrocloreto (4M, 22mL) calentando hasta reflujo. Se usó HPLC para controlar el progreso de la reacción (Método HPLC, TR de SM = 11,47 min, TR del producto = 3,26 min, conversión < 98%). La solución resultante se concentró para dar aceite. Aproximadamente la mitad del residuo aceitoso se comparó y disolvió en agua desionizada. El pH de la solución resultante se ajustó a 6 con 6N de una solución de hidróxido de sodio (160 µL). El sólido apareció después de agitar. El sólido se recogió mediante filtración, se lavó minuciosamente con agua desionizada y éter. De este modo, se obtuvo una muestra de 5-hidroxi-1-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1,1-dihidroxietil)piridin-4(1H)-uno (Apo7072) (118 mg). Producción = 46%; Método HPLC: Columna: XTerra MS C18, 4,6 x 250 nm; A = Fase acuosa; 4 mM Tris, 2 mM EDTA, pH 7,4; B = Fase orgánica: CH<sub>3</sub>CN; Velocidad de flujo = 1,0 mL/min; Volumen de inyección = 5 µL; Longitud de onda (λ): 220, 254, 280, 450 nm. Método isocrático; acuoso : orgánico = 75 : 25, pureza (AUC) = 99,5% en 280 nm; <sup>1</sup>H NMR (DMSO-D<sub>6</sub> + unas pocas gotas de D<sub>2</sub>O) δ (ppm): 7,47 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 3,82 (s, 3H); MS-ESI m/z 240 [M+1]<sup>+</sup>, 222 (100%), 125.

## Ejemplo 26

### A. Determinación pKa mediante Titulación Potenciométrica

Los valores pKa de ligandos se determinaron mediante titulación potenciométrica cuando podía prepararse una concentración de ligando > 1 x 10<sup>-2</sup> M en agua. En un experimento típico, la solución muestra (1,00 x 10<sup>-2</sup> M) se preparó mediante el siguiente método: Apo7041 (125,4 mg) se pesó en un matraz volumétrico de 50 mL, se añadió aproximadamente 40 mL de 0,1 N de NaCl. La mezcla se sometió a sonicación durante 10 minutos para dar una

solución clara incolora. Se añadió más del 0,1 M NaCl al volumen y la solución resultante se sometió a vórtice para mezclar. 40 mL de la solución se transfirió a una célula de titulación T70 usando una pipeta digital de 10 mL. Se añadió una solución 6,000 N de hidróxido de sodio (127  $\mu$ L, 1,9 equiv) y se registró el pH (11,82) de la solución. La solución se dejó equilibrar a 22 °C durante 5 minutos.

5 La solución después se tituló contra una solución 6,000 N de ácido hidroclicórico a 22 °C usando un autotitador Mettler Toledo T70, hasta que se alcanzó el pH 1,5. Se registraron el volumen de ácido añadido y la lectura del pH. De este modo, se tomaron 501 mediciones para este experimento.

10 Los datos establecidos de pH contra volumen ácido se analizaron usando software Hyperquad 2000 (versión 2,1, Peter Gans, Universidad de Leeds). Los valores pKa se obtuvieron usando el modelo:  $L^- + H^+ \rightleftharpoons LH$  (pKa<sub>1</sub>),  $LH + H^+ \rightleftharpoons LH_2^+$  y  $LH_2^+ + H^+ \rightleftharpoons LH_3^{2+}$  (pKa<sub>3</sub>). De este modo, Apo7041 tiene pKa<sub>1</sub> = 9,39, pKa<sub>2</sub> = 3,52 y pKa<sub>3</sub> = 1,66 como se determina potenciométricamente.

## 15 B. Determinación pKa mediante Titulación Espectrofotométrica

Los valores pKa de ligandos pueden determinarse mediante titulación espectrofotométrica cuando tanto el ácido conjugado como la base absorben la región visible UV. En un experimento típico, la solución muestra se preparó mediante el siguiente método: la solución patrón Apo7041 (12,74 mg) se pesó en un matraz volumétrico de 10 mL y se añadió 0,1 M de una solución NaCl al volumen. La mezcla se sometió a sonicación y vórtice para dar una solución clara incolora. La concentración de Apo7041 de la solución patrón fue  $5,1 \times 10^{-3}$  M.

20 Solución muestra Apo7041: 727  $\mu$ L de la solución patrón anterior se transfirió a un matraz volumétrico de 50 mL usando una pipeta digital de 1000  $\mu$ L y se añadió 0,1 M NaCl al volumen. La solución resultante se sometió a vórtice para mezclarse para dar una solución muestra. La concentración de Apo7041 de la solución muestra es  $7,4 \times 10^{-5}$  M. 20 mL de la solución muestra se transfirieron a un vaso de precipitación de 35 mL usando una pipeta digital de 10 mL. La solución muestra circuló entre el vaso de precipitación y la célula de flujo usando un sistema Sipper.

30 La solución muestra se tituló contra una solución de ácido hidroclicórico estándar a 22 °C para alcanzar pH 1,11. Después de cada adición de ácido la solución se dejó equilibrar hasta que se alcanzó una lectura constante de pH. El pH y el espectro UV-Vis se registraron para cada medición. La solución se valoró hasta que no hubo ningún cambio obvio en los espectros después de varias adiciones posteriores de ácido. De este modo, se registraron 30 mediciones.

35 Los datos resultantes establecidos se analizaron después usando pHAB (Peter Gans, Universidad de Leeds). Los valores pKa se obtuvieron usando el modelo:  $LH + H^+ \rightleftharpoons LH_2^+$  y  $LH_2^+ + H^+ \rightleftharpoons LH_3^{2+}$  (pKa<sub>3</sub>). De este modo, Apo7041 tiene pKa<sub>2</sub> = 3,51 y pKa<sub>3</sub> = 1,23 como se determina espectrofotométricamente.

## 40 Ejemplo 27 Estequiometría de complejos Fe mediante el método de Job

En un experimento típico, las soluciones complejas Fe-Apo7053 se prepararon mezclando una solución patrón de  $Fe^{2+}$  (absorción atómica estándar, 989  $\mu$ g/ml en 1% peso HCl, Aldrich), y una solución patrón de Apo7053 ( $7,88 \times 10^{-3}$  M en 0,1 M MOPS, pH 7,4). Se prepararon doce soluciones muestra. Mientras la suma de la concentración total de hierro ( $[hierro]_{total}$ ) y la concentración total de ligando ( $[L]_{total}$ ) en cada una de las 12 soluciones muestras se mantuvo constante ( $8,00 \times 10^{-4}$  M), la fracción molar del ligando,  $\alpha$  ( $\alpha = ([L]_{total}) / ([L]_{total} + [hierro]_{total})$ ), para las 12 soluciones muestras fue diferente, y se prepararon como 0,0, 0,1, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,6, 0,7, 0,75, 0,8, 0,9 y 1,0, respectivamente. El volumen total para cada una de las 12 soluciones muestras fue 5 mL, usando MOPS (0,1 M, pH 7,4) como el disolvente. El pH de las 12 soluciones se ajustó a pH 7,4 con NaOH. Las soluciones muestras se sometieron a vórtice a ta durante 2,5 horas, después se dejaron a ta durante la noche. Las soluciones muestras se centrifugaron a 4000 rpm durante 15 minutos. El espectro UV-Vis se registró a 22 °C para cada una de las 12 soluciones.

55 Se creó un gráfico de Job con la absorbancia en 458 nm como el eje y y  $\alpha$  como el eje x. Se encontró una absorbancia máxima en  $\alpha = 0,75$ , lo que correspondete a una proporción hierro : ligando de 1 : 3 en los complejos. El resultado del gráfico de Job se muestra en la FIG. 3A.

60 Procediendo de la misma manera, se creó el gráfico de Job para Fe-Apo7041, y se muestra en la FIG. 3B.

## Ejemplo 28 Determinación de coeficiente de distribución, $D_{7,4}$

65 El tampón  $K_2HPO_4$  (50 mM, pH = 7,4) y 1-octanol se usaron como la fase acuosa y la fase orgánica, respectivamente. El tampón  $K_2HPO_4$  y 1-octanol se mezclaron y pre-saturaron entre sí antes de su uso.

En un experimento típico, una solución acuosa de Apo6995 (3-hidroxi-2-metil-1-(2,2,2-trifluoroetil)piridin-4(1H)-uno) se preparó pesando 3 mg del compuesto en un tubo de test de 10 mL. Después se mezcló con tampón  $K_2HPO_4$  (2 mL) y se sometió a sonicación durante 30 minutos con vórtices frecuentes. La solución después se filtró a través de filtro de jeringa HPLC (filtro de jeringa 4 mm PVDF 0,45  $\mu$ M) para obtener la solución acuosa. Se analizó mediante HPLC (Columna: Waters Symmetry C18, 5  $\mu$ M, 3,9 x 50 mm; Fase móvil: 0,035%  $HClO_4/ACN$ ; Método gradiente: tiempo en minutos – ACN en % 0-10, 10-90, 12-90, 14-10, 16-10; Velocidad de flujo: 1 mL/min; volumen de inyección = 2  $\mu$ L; longitud de onda detectora: 270 nm) para obtener la altura pico ( $H_i$ ).

Un mL de esta solución acuosa se pipeteó en otro tubo de test de 10 mL y se mezcló con 1 mL de 1-octanol. La mezcla después se sometió a vórtice durante 1 hora. La solución se centrifugó a 2000 rpm durante 10 minutos. Una cantidad pequeña de la capa acuosa inferior se pipeteó cuidadosamente y se analizó mediante HPLC para obtener la altura pico ( $H_F$ ). El coeficiente de distribución,  $D_{7,4}$ , se calculó usando la siguiente ecuación:  $D_{7,4} = (H_i - H_F)/H_F$ .

De una manera similar,  $D_{7,4}$  se determinó para los siguientes compuestos:

Apo#	$D_{7,4}$	Log $D_{7,4}$
Deferiprona	0,17	-0,77
6995	2,51	0,40
7030	5,93	0,77
7040	8,76	0,94
7060	4,93	0,69
7066	4,69	0,67
7067	2,82	0,45
7069	0,66	-0,18
7070	1,72	0,23
70,83	1,70	0,23

### Ejemplo 29 Determinación de constantes de complejación de metales

#### A. Instrumentos y químicos:

Para titulación espectrofotométrica, se usaron un medidor de pH (Accumet Research AR15, 13-636-AR15, Fisher) y un electrodo de combinación (Accumet Electrodo de Combinación de Cristal de tamaño estándar 13-620-285, Fisher) para mediciones de pH. Antes de su uso, el electrodo se calibró con tres soluciones amortiguadoras estándar (pH 4,00, pH 7,00 y pH 10,00, Fisher). El titulador se añadió manualmente usando pipetas digitales (Eppendorf). Se usó un espectrofotómetro visible UV (Agilent 8453) para mediciones de absorbancia de UV-Vis.

Se usó un sistema Sipper (89068 Agilent) siempre que se midieron absorbancias dependientes de pH. Se usó un vórtice (Vórtice multi-tubo VX-2500, VWR Scientific Products) para la preparación de soluciones muestra en el coeficiente de distribución y en los experimentos del gráfico de Job.

Para titulación potenciométrica, se usaron un auto-titulador (Mettler Toledo T70) y un electrodo de combinación (Mettler Toledo DG 115-SC). Antes de su uso el electrodo se calibró con tres soluciones amortiguadoras estándar (pH 4,00, pH 7,00 y pH 10,00, Fisher). El titulador se añadió automáticamente usando T70. Se registraron los datos establecidos de pH contra volumen titulador.

Las soluciones patrón de metal se compraron en Aldrich: solución estándar de absorción atómica de hierro (1000  $\mu$ g/ml de Fe en 1 % peso HCl); solución estándar de absorción atómica de aluminio (1000  $\mu$ g/ml de Al en 1 % peso HCl); solución estándar de absorción atómica de calcio (1000  $\mu$ g/ml de Ca en 1 % peso HCl); solución estándar de absorción atómica de cobre (1000  $\mu$ g/ml de Cu en 1 % peso  $HNO_3$ ); solución estándar de absorción atómica de magnesio (1000  $\mu$ g/ml de Mg en 1 % peso  $HNO_3$ ); solución estándar de absorción atómica de manganeso (1000  $\mu$ g/ml de Mn en 1 % peso  $HNO_3$ ); solución estándar de absorción atómica de cinc (1000  $\mu$ g/ml de Zn en 1 % peso HCl). Las soluciones estándares de hidróxido de sodio y ácido hidroclicórico se compraron en VWR Scientific Products. MOPS (3-[N-Morfolino]ácido propanosulfónico) se compró en Sigma-Aldrich.

**B. Determinación de constantes de formación gradual para sistema Fe-Apo7041 mediante titulación espectrofotométrica en solución 0.1 M NaCl.**

5 Las constantes de formación gradual para sistemas de ligando  $M^{n+}$  se determinaron mediante titulación espectrofotométrica cuando los complejos metálicos tienen una absorbancia fuerte en la región visible debido a la transferencia de carga de ligando a metal.

10 En un experimento típico, la solución muestra se preparó de acuerdo con el siguiente procedimiento: el compuesto Apo7041 (12,96 mg) se pesó en un matraz volumétrico de 50 mL y se añadieron aproximadamente 40 mL de 0,1 M NaCl. La mezcla se sometió a sonicación durante 10 minutos para dar una solución incolora clara. La solución patrón de hierro (absorción atómica estándar, Aldrich, 565  $\mu$ L, 10,000  $\mu$ mol) se pipeteó en la solución, seguido de la adición de 1,000 N NaOH (170  $\mu$ L). Se añadió más del 0,1 M NaCl al volumen y la solución resultante se sometió a vórtice para mezclarse. La proporción molar entre el hierro total y el Apo7041 total fue 1,5/1. La mezcla se sometió a vórtice a ta durante 1 hora. 20 mL de la solución muestra se transfirieron a un vaso de precipitación de 35 mL usando una pipeta digita de 10 mL. La solución muestra circuló entre el vaso de precipitación y la célula de flujo usando un sistema Sipper. La solución muestra se tituló contra soluciones de ácido hidroclicórico a 22 °C hasta que se alcanzó el pH 0,021. Después de cada adición de ácido, la solución se dejó equilibrar hasta que se alcanzó una lectura constante de pH. El pH y el espectro UV-Vis se registraron para cada medición. Para cada medición se añadió suficiente ácido para que hubiera un leve descenso en la absorbancia del espectro. En total, se realizaron 68 mediciones hasta acabar el experimento.

25 Los datos resultantes establecidos se analizaron después usando pHAB. Las constantes de formación para el sistema Fe-Apo7041 se optimizaron usando el modelo mostrado en la primera columna de la tabla. Los resultados se muestran en la Tabla 29B más abajo.

**Tabla 29B**

El modelo	símbolo	valor
$Fe^{3+} + LH \rightleftharpoons (FeLH)^{3+}$	$\text{Log } \beta_{111}$	18,1
$(FeLH)^{3+} + LH \rightleftharpoons (FeL_2H_2)^{3+}$	$\text{Log } \beta_{122}$	35,0
$(FeL_2H_2)^{3+} + H^+ \rightleftharpoons (FeL_3H_3)^{3+}$	$\text{Log } \beta_{133}$	50,5
$(FeL_3H)^+ + H^+ \rightleftharpoons (FeL_3H_3)^{2+}$	$\text{Log } \beta_{132}$	48,3
$(FeL_3)^0 + H^+ \rightleftharpoons (FeL_3H)^+$	$\text{Log } \beta_{131}$	44,5
$Fe^{3+} + 3L^- \rightleftharpoons (FeL_3)^0$	$\text{Log } \beta_{130}$	38,8
$L^- + H^+ \rightleftharpoons LH$	$pK_{a1}$	9,39
$LH + H^+ \rightleftharpoons LH_2^+$	$pK_{a1} + pK_{a2}$	12,91
$LH_2^+ + H^+ \rightleftharpoons LH_3^{2+}$	$pK_{a1} + pK_{a2} + pK_{a3}$	14,57

45 **C. Determinación de constantes de formación gradual para sistema Cu-Apo7041 mediante titulación potenciométrica en 0,1 M mezcla NaCl/MeOH acuosa, 1/1, v/v**

50 Las constantes de formación gradual para sistemas de ligando  $Cu^{2+}$  se determinaron mediante titulación potenciométrica cuando los complejos metálicos ( $\geq 0,002$  M) no precipitan durante la titulación. En un experimento típico, la solución muestra se preparó mediante el siguiente método: Apo7041 (126,1 mg, 0,50 mmol) se pesó en un matraz volumétrico de 50 mL, y se añadieron aproximadamente 35 mL de un disolvente mezclado (0,1 M NaCl acuoso : MeOH, 1:1, v:v). La mezcla se sometió a sonicación durante 10 minutos para dar una solución incolora clara. La solución patrón de cobre (absorción atómica estándar, Aldrich, 6,33 mL, 0,10 mmol) se pipeteó en la solución. Se añadió más del disolvente mezclado al volumen y la solución resultante se sometió a vórtice para mezclarse. La proporción molar entre el cobre total y el Apo7041 total fue 1/5. 40 mL de la solución se transfirieron a una célula de titulación T70 usando una pipeta digita de 10 mL. Se añadió una solución de hidróxido de sodio 6,000 N (300  $\mu$ L) y se registró el pH (12,17) de la solución. La solución se dejó equilibrar a 22 °C durante 5 minutos.

60 La solución después se tituló contra una solución 6,000 N de ácido hidroclicórico a 22 °C usando un auto-titador Mettler Toledo 70, hasta que se alcanzó el pH 1,5. El volumen del ácido añadido y la lectura del pH se registraron. De este modo, se realizaron 533 mediciones para este experimento.

65 Los valores  $pK_a$  de Apo7041 en el mismo disolvente mezclado también se determinaron mediante titulación potenciométrica usando el procedimiento descrito en la Ejemplo 1.

Los datos establecidos de pH contra volumen ácido para el sistema Cu-Apo7041 se analizaron usando software Hyperquad 2000 (versión 2.1, Peter Gans, Universidad de Leeds). Las constantes de formación para el sistema Cu-Apo7041 se optimizaron usando el modelo mostrado en la primera columna de la Tabla 29C. Los resultados de muestran en la segunda y tercera columna.

5

Tabla 29C

El modelo	símbolo	valor
$(\text{CuL}_2\text{H})^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons (\text{CuL}_2\text{H}_2)^{2+}$	$\text{Log } \beta_{122}$	27,9
$(\text{CuL}_2)^0 + \text{H}^+ \rightleftharpoons (\text{CuL}_2\text{H})^+$	$\text{Log } \beta_{121}$	23,0
$\text{Cu}^{2+} + 2\text{L}^- \rightleftharpoons (\text{CuL}_2)^0$	$\text{Log } \beta_{120}$	17,3
$\text{L}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}$	$\text{pKa}_1$	10,1
$\text{LH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_2^+$	$\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2$	13,3
$\text{LH}_2^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_3^{2+}$	$\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2 + \text{pKa}_3$	15,3

10

15

20

#### D. Determinación de constantes de formación gradual para sistema Zn-Apo7041 mediante titulación potenciométrica en 0,1 M mezcla NaCl/MeOH acuosa, 1/1, v/v

Las constantes de formación gradual para sistemas de ligando  $\text{Zn}^{2+}$  se determinaron mediante titulación potenciométrica cuando los complejos metálicos ( $\geq 0,002$  M) no precipitan durante la titulación. En un experimento típico, la solución muestra se preparó mediante el siguiente método: Apo7041 (126,3 mg, 0,50 mmol) se pesó en un matraz volumétrico de 50 mL, y se añadieron aproximadamente 35 mL de un disolvente mezclado (0,1 M NaCl acuoso : MeOH, 1:1, v:v). La mezcla se sometió a sonicación durante 10 minutos para dar una solución incolora clara. La solución patrón de cinc (absorción atómica estándar, Aldrich, 6,64 mL, 0,10 mmol) se pipeteó en la solución seguido de la adición de solución de hidróxido de sodio (6,000 N, 300  $\mu\text{L}$ ). Se añadió más del disolvente mezclado al volumen y la solución resultante se sometió a vórtice para mezclarse. La proporción molar entre el cinc total y el Apo7041 total fue 1/5. 40 mL de la solución se transfirieron a una célula de titulación T70 usando una pipeta digita de 10 mL. Se añadió una solución de hidróxido de sodio 6,000 N (160  $\mu\text{L}$ ) y se registró el pH (11,95) de la solución. La solución se dejó equilibrar a 22 °C durante 5 minutos.

25

30

35

La solución después se tituló contra una solución 6,000 N de ácido hidroclicórico a 22 °C usando un autotitador Mettler Toledo 70, hasta que se alcanzó el pH 1,5. El volumen del ácido añadido y la lectura del pH se registraron. De este modo, se realizaron 523 mediciones para este experimento.

40

Los datos establecidos de pH contra volumen ácido para el sistema Zn-Apo7041 se analizaron usando software Hyperquad 2000 (versión 2.1, Peter Gans, Universidad de Leeds). Las constantes de formación para el sistema Zn-Apo7041 se optimizaron usando el modelo mostrado en la primera columna de la Tabla 29C. Los resultados de muestran en la segunda y tercera columna.

45

Tabla 29D

El modelo	símbolo	valor
$\text{Zn}^{2+} + \text{LH} \rightleftharpoons (\text{ZnLH})^{2+}$	$\text{Log } \beta_{111}$	13,1
$(\text{ZnL}_2)^0 + \text{H}^+ \rightleftharpoons (\text{ZnL}_2\text{H})^+$	$\text{Log } \beta_{121}$	19,6
$\text{Zn}^{2+} + 2\text{L}^- \rightleftharpoons (\text{ZnL}_2)^0$	$\text{Log } \beta_{120}$	13,2
$\text{L}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}$	$\text{pKa}_1$	10,1
$\text{LH} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_2^+$	$\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2$	13,3
$\text{LH}_2^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}_3^{2+}$	$\text{pKa}_1 + \text{pKa}_2 + \text{pKa}_3$	15,3

50

55

#### Cálculo de $\text{pM}^{n+}$

$\text{pM}^{n+}$  se define como  $-\log[\text{M}(\text{H}_2\text{O})_m]^{n+}$  en condiciones fisiológicas, esto es: pH 7,4, una concentración de ligando de 10  $\mu\text{M}$  y una concentración de metal de 1  $\mu\text{M}$ . Para calcular  $\text{pM}^{n+}$  para un sistema  $\text{ML}_n$ , se necesitan los valores  $\beta_n$  y  $\text{pKa}$  ( $\beta_n$  son las constantes de formación para  $\text{M}^{n+} + n \text{L}^- \rightleftharpoons \text{ML}_n$ ;  $\text{pKa}$  son las constantes de equilibrio para  $\text{L}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{LH}^{(n-1)+}$ ). El  $\text{pM}^{n+}$  se calcula usando el software Hyss (HYSS© 2000 Protonic Software).

65

Los datos obtenidos de las determinaciones anteriores para Apo7041, un compuestos de fórmula I, pueden encontrarse en la Tabla 1.

### Ejemplo 30

#### Voltametría cíclica

Un criterio en el diseño de compuestos de fórmula 1 se ocupa del control de reducción-oxidación del sistema Fe-quelato en pH 7,4 a un valor negativo por debajo de -320 mv (contra NHE) para prevenir cualquier reacción con especies de oxígeno. El hierro existe en múltiples estados incluyendo  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$ . El par hierro(II)/hierro (III) pueden actuar como un par de agente reductor y agente oxidante de electrón. De acuerdo con Crumbliss (<http://www.medicine.uiowa.edu/FRRB/VirtualSchool/Crumbliss-Fe.pdf>) y Pierre (BioMetals, 12, 195-199, 1999), la quelación selectiva de hierro con control de potencial de reducción-oxidación es un medio para prevenir que el hierro participe en un ciclo catalítico para producir radicales tóxicos de hidroxilo y/o especies reactivas de oxígeno (ERO) (por ejemplo, por medio de la reacción Fenton o el ciclo Haber Weiss). El sistema Fe(III)-tris-quelato con un potencial de reducción-oxidación por debajo de -320 mv (contra NHE o -540 mv contra Ag/AgCl) en pH 7,4 no se reducirá por ningún agente biológico reductor tal como NADPH/NADH, por lo que no participará en el ciclo Haber Weiss para generar ERO (especies reactivas de oxígeno). En el cuerpo de un mamífero, el hierro está unido a diferentes proteínas tales como transferina en sangre humana para asegurar que permanezca en una forma que no pueda reaccionar con ninguna molécula de oxígeno. El valor  $E_{1/2}$  de Fe-transferina es -500 mv (contra NHE o -720 mv contra Ag/AgCl).

El potencial de reducción-oxidación de complejos de hierro puede medirse mediante voltametría cíclica (VC). El uso de VC para asegurar los potenciales de reducción-oxidación de quelatos de hierro deferiprona, desferrioxamina y Apo7041 (un compuesto representativo de esta invención) como queladores respectivamente, se ilustra en la FIG. 1. Los quelatos de hierro tales como Fe-desferrioxamina (DFO) y Fe-(deferiprona)<sub>3</sub> tiene valores  $E_{1/2}$  de potencial de reducción-oxidación en -480 mv (contra NHE) y -628 mv (contra NHE), respectivamente en pH 7,4. Los compuestos de fórmula I tales como Fe(Apo7041)<sub>3</sub> tienen un valor  $E_{1/2}$  de -530 mv (contra NHE) ligeramente más negativos cuando se compara con el de desferrioxamina. El voltamograma cíclico de Fe-DFO, Fe-(deferiprona)<sub>3</sub> y Fe(Apo7041)<sub>3</sub> pueden encontrarse en la FIG. 1. Una ventaja de los queladores de esta invención es que los potenciales de reducción-oxidación de sus quelatos de hierro están en el rango negativo extremo en pH fisiológico 7,4, por lo que sus quelatos de hierro no participarán en el ciclo de reducción-oxidación para generar especies reactivas de oxígeno en pH fisiológico. Cuando se combinan con otras propiedades nuevas como las descritas en esta invención, los compuestos de fórmula I son agentes efectivos en la eliminación de hierro a través de un mecanismo de quelación.

#### Determinación de $E_{1/2}$ de Fe(Apo7041)<sub>3</sub>

##### A. Materiales e instrumentos

Se compró ferricianuro de potasio (III) en Aldrich. Se compró mesilato de deferoxamina (DFO) en Sigma. La solución estándar de absorción atómica de hierro (contiene 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de Fe en 1% peso HCl) se compró en Aldrich. Las mediciones electroquímicas se realizaron con un analizador voltamétrico cíclico (BAS, CV-50W Potentionstat). Se usó software BAS CV-50W Versión 2.31. Se usaron los siguientes electrodos para determinar los potenciales de reducción-oxidación de los complejos de hierro: electrodo de referencia Ag/AgCl (BAS, MF-2052); electrodo auxiliar de platino (BAS, MW-1032); y electrodo de trabajo de carbono cristalino (BAS, MF-2012). Se usaron un medidor de pH (Accumet Research AR15, 13-636-AR15, Fisher Scientific) y un electrodo de pH (electrodo de combinación AccupHast, 13-620-297, Fisher Scientific) para el ajuste de pH de las soluciones muestras.

##### B. Preparación de soluciones muestras

2,0 mM solución de Fe(DFO) en 0,1 M NaCl (pH 7,4) 148,1 mg de mesilato de desferrioxamina (pureza=95%) se pesó de manera precisa en un matraz volumétrico de 100 mL. El sólido se disolvió en aproximadamente 30 mL de 0,1 M NaCl para dar una solución incolora clara. A la solución se añadió 11,114 mL de la solución de hierro estándar. La solución se diluyó con 0,1 M NaCl hasta la marca de 100 ml en el matraz volumétrico. La solución resultante se sometió a vórtice para asegurar una mezcla completa. La solución se transfirió a un vaso de precipitación de 200 ml. El pH de la solución después se ajustó a aproximadamente 7,1 añadiendo soluciones estándares de hidróxido de sodio. El vaso de precipitación después se cubrió con parafilm y la solución se dejó agitando durante la noche. El pH de la solución se ajustó a 7,40 el siguiente día del test. La proporción molar calculada entre hierro<sub>total</sub> y DFO<sub>total</sub> fue 1:1,07.

1,0 mM solución de Fe(Apo7041)<sub>3</sub> en 0,1 M NaCl (pH 7,4) Apo7041 (19,8 mg, 0,079 mmol) se pesó de manera precisa en un matraz de 25 mL con fondo redondo. El sólido se disolvió en aproximadamente 14 mL de 0,1 M NaCl para dar una solución incolora clara. A la solución se añadió una solución de hierro estándar (847  $\mu\text{L}$ , 0,015 mmol) seguido de la adición de solución de hidróxido de sodio (6,000 N, 44  $\mu\text{L}$ ). La solución resultante se sometió a vórtice para asegurar una mezcla completa. El pH de la solución se registró (7,5). La proporción molar calculada entre hierro<sub>total</sub> y Apo7041<sub>total</sub> fue 1/5,3. De una manera similar, se preparó una solución de 2,0 mM de Fe(deferiprona)<sub>3</sub> en 0,1 M NaCl (pH 7,4).

##### C. Determinación de potenciales de reducción-oxidación de complejos de hierro

5 Todos los potenciales en el texto se dan contra el electrodo de referencia Ag/AgCl. Los potenciales de reducción-oxidación de  $K_3Fe(CN)_6$  en 1,0 M nitrato de potasio se midieron al inicio de cada día de trabajo para verificar el funcionamiento apropiado del voltámetro cíclico. Se determinaron los potenciales pico de reducción-oxidación de la solución de complejos de hierro en pH 7,4, esto es, Fe(DFO), Fe(deferiprona)<sub>3</sub> y Fe(Apo7041)<sub>3</sub>. Por ejemplo, la solución muestra Fe(Apo7041)<sub>3</sub> se purgó con argón durante aproximadamente 15 minutos. Se usó una trampa de disolvente que contenía 0,1 M NaCl para reducir la evaporación. Los voltamogramas cíclicos de la solución muestra se registraron usando electrodo de carbono cristalino (electrodo de trabajo), electrodo Ag/AgCl (electrodo de referencia) y electrodo de platino (electrodo auxiliar). Se usaron los siguientes parámetros para instrumentos: E Inic (mV) = 0; E Alto (mV) = 0; E Bajo (mV) = -1200; P/N Inic = N; V (mV/s) = 200; N° de Segmentos de Extensión = 3; Sensibilidad (μA/V) = 100; Velocidad de Agitación = 50 rpm.

15 La FIG. 1 muestra los voltamogramas cíclicos de complejos de hierro(III)L<sub>n</sub> en pH 7,4; a) Fe(Apo7053)<sub>3</sub>; b) Fe(Apo7041)<sub>3</sub>; c) Fe(Apo7069)<sub>3</sub>. Se midieron el potencial de pico de reducción ( $E_p^{red}$ ), el potencial de pico de oxidación ( $E_p^{ox}$ ), la diferencia absoluta ( $\Delta E_p$ ) entre  $E_p^{red}$  y  $E_p^{ox}$ , y el potencial de reducción-oxidación ( $E_{1/2}$ ) de los cuatro complejos de hierro. El valor  $E_{1/2}$  se calculó como  $(E_p^{red} + E_p^{ox})/2$ .

20 Los voltamogramas cíclicos de a) Fe(Apo7053)<sub>3</sub>; b) Fe(Apo7041)<sub>3</sub>; c) Fe(Apo7069)<sub>3</sub> representan un único proceso reversible de transferencia de electrones para cada complejo: Fe(III)L<sub>n</sub> / Fe(II)L<sub>n</sub>. El valor  $E_{1/2}$  Fe(DFO) de referencia determinado en este laboratorio es -698 mV contra el electrodo de referencia Ag/AgCl, que está en excelente concordancia con el valor de la bibliografía (-688 mV) (A. L. Crumbliss et al, Inorganic Chemistry), 2003, 42, 42-50). El valor  $E_{1/2}$  de Fe(Apo7041)<sub>3</sub> es -731 mV, que es ligeramente más electronegativos que el de Fe(DFO).

25 Las propiedades electromagnéticas de los complejos de hierro(III)L<sub>n</sub> en 0,1 m NaCl acuoso en pH 7,4 se enumeran más abajo. Fe(DFO), {DFO = deferrioxamina B}; Fe(L1)<sub>3</sub>, {L1 = deferiprona};  $K_3Fe(CN)_6$  se usan como controles para la validación del estudio.

Complejo	$E_{red}$ (mV)	$E_{ox}$ (mV)	$\Delta E$ (mV)	$E_{1/2}$ (mV) vs. Ag/AgCl	$E_{1/2}$ (mV) vs. NHE
$K_3Fe(CN)_6$	197	282	85	+20	+240
FeDFO	-754	-642	112	-698	-478
Fe(L1) <sub>3</sub>	-841	-752	89	-797	-577
Fe(7041) <sub>3</sub>	-789	-672	117	-731	-511
Fe(7053) <sub>3</sub>	-856	-761	95	-809	-589
Fe(7069) <sub>3</sub>	-793	-706	87	-750	-530

### 40 Ejemplo 31 Ensayo de hidroxilación de ácido benzoico

45 El ácido benzoico es un depurador de radical hidroxilo y reacciona con radical hidroxilo para dar ácidos benzoicos 2-hidroxi, 3-hidroxi y 4-hidroxi. El ensayo de hidroxilación de ácido benzoico es un ensayo químico diseñado para detectar el daño causado por el radical hidroxilo (Dean y Nicholson, Free Radical Research 1994, vol 20, 83-101). Por ejemplo, deferiprona suprime la formación de ácidos hidroxibenzoicos en presencia de sales de hierro y peróxido de hidrógeno, mientras que EDTA y sales de hierro permiten que tales reacciones de hidroxilación tengan lugar.

50 El ensayo de cribado implica el uso de sal de hierro, ácido benzoico, peróxido de hidrógeno y el quelador y mide la habilidad del quelador para inhibir la formación de hidroxibenzoato como un indicador para prevenir la formación de radical hidroxilo en una sistema vivo.

55 El compuesto de fórmula I tiene propiedades similares a deferiprona y suprime la formación de ácido hidroxibenzoico cuando el ácido benzoico se trata con peróxido de hidrógeno y sales de hierro. Los resultados se muestran en la Figura 9. Los compuestos de fórmula I muestran un efecto inhibitor para la transformación de radical hidroxilo de ácido benzoico. De este modo, estos compuestos son protectores hacia la oxidación de radical hidroxilo en sistemas biológicos.

60 En resumen, este procedimiento se basa en la habilidad de radicales hidroxilos para hidroxilar benzoato para dar productos de ácido benzoico 2-, 3- y 4-hidroxilados. El ácido benzoico (1 mM) se incubó durante un tiempo de hasta 81 horas a temperatura ambiente en la oscuridad en 10 mM de búfer de fosfato (pH 7,4) con 6 mM peróxido de hidrógeno, cloruro férrico (30 μM) y el quelador Fe (30 μM). HPLC es el método que se elige para controlar y cuantificar la cantidad de productos 2-, 3- y 4-hidroxilados formados con el paso del tiempo en la mezcla de la reacción, y pueden verificarse contra ácido benzoico auténtico y sus productos hidroxilados por medio de sus respectivos tiempos y áreas de retención bajo la curva. Además, se usan varios controles: (i) un control sin solución

patrón Fe y quelador Fe añadidos; (ii) un control sin quelador Fe añadido; (iii) EDTA como control positivo; y (iv) deferiprona como control negativo. El sistema Fe-EDTA es un generador de radical hidroxilo y es conocido por promover la hidroxilación de ácido benzoico. Bajo las condiciones de experimentación, el quelato Fe de los compuestos de fórmula I (Apo7041, Apo7050, Apo7053 y Apo7077) no promueven la hidroxilación de ácido benzoico.

### Ejemplo 32

#### A. Efecto neuroprotector de compuestos de fórmula I en apoptosis inducida por peróxido de hidrógeno en células de neuroblastoma SH-SY5Y

El peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) es un EOR (estrés oxidativo reactivo) y puede inducir apoptosis en muchos tipos diferentes de célula. Una de las estrategias del diseño de fármacos para SNC es el uso de compuestos con propiedades antioxidantes como un tratamiento posible de enfermedades neurodegenerativas severas y crónicas (Kang et al., Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2004, 14, 2261-2264). Esto implica el análisis de los compuestos de esta invención para su efecto protector frente a la muerte celular inducida por el estrés oxidativos en células humanas de neuroblastoma SH-SY5Y. Células humanas de neuroblastoma SH-SY5Y se cultivaron en DMEM (ATCC)/F12 (Cellgro) con 10% SBF. Las células se colocaron en placas en 30.000 células/cm<sup>2</sup> y crecieron durante 1 día en el medio de cultivo regular antes de la adición del compuesto. Las células se trataron rutinariamente con el compuesto del test, en un rango pre-determinado de concentraciones, en presencia o ausencia de 50  $\mu$ M peróxido d hidrógeno en un medio basal que no contenía SBF durante 16-22 horas. Después se midió la viabilidad celular usando el método rutinario MTT (Mosmann, T., Ensayo Colorimétrico Rápido para Crecimiento y Supervivencia Celular: Aplicación para Ensayos de Proliferación y Citotoxicidad". J. Immunol. Meth. 1983, 65, 55-63).

Para los análisis de datos, la viabilidad celular en relación con el control no tratado con  $H_2O_2$  o el compuesto del test, se marcó contra la concentración del compuesto. La concentración protectora umbral (TH) se definió como la mayor concentración en la que el compuesto no mostró un efecto protector significativos (esto es, la siguiente concentración alta tenía un efecto protector estadísticamente significativo) contra lesión de peróxido de hidrógeno. La concentración efectiva máxima ( $CE_{100}$ ) fue una concentración en la que el compuesto mostró el máximo efecto protector. La citotoxicidad del compuesto del test se evaluó en ausencia de peróxido de hidrógeno. La concentración citotóxica ( $CC_1$ ) se definió como la concentración más baja de compuesto que da como resultado la viabilidad significativamente por debajo de 80%. La concentración citotóxica ( $CC_2$ ) fue la concentración más baja de compuesto que da como resultado la viabilidad significativamente por debajo de 80% en células tratadas con  $H_2O_2$ .

#### B. Evaluación de los compuestos en la protección contra toxicidad A $\beta$ producida endógenamente

Las placas amiloides se forman mediante la agregación de péptidos pequeños, llamados péptidos  $\beta$  amiloides, que se producen cuando la proteína precursora amiloidea (PPA) se divide por la acción de dos enzimas, enzima que divide  $\beta$ -PPA y  $\gamma$ -secretasa. Una técnica para el tratamiento de Alzheimer es, por lo tanto, limitar la producción de A $\beta$  de su precursor inhibiendo una o ambas de estas enzimas, mientras que otra técnica es inhibir la agregación de A $\beta$  mediante el uso de queladores de metal.

En este ensayo, se fabrican genéticamente células humanas de neuroblastoma (células MC-65) para expresar condicionalmente péptido  $\beta$  amiloide (A $\beta$ ). La producción de A $\beta$  se suprime con tetraciclina (TET+). La activación de producción de A $\beta$  da como resultado la muerte celular "suicidio MC-65".

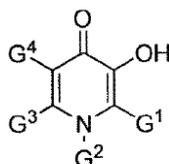
El efecto protector de compuestos frente a amiloide  $\beta$  producida endógenamente (A $\beta$ ) se evaluó en células humanas de neuroblastoma MC-65. Las células MC-65 se han transformado establemente para expresar condicionalmente niveles altos de proteína de fusión de de precursor amiloideo parcial (PA) (Bryce Sopher et al., Brain Res Mol Brain Res. 1994, 207-17). Esta proteína se procesa además proteolíticamente en las células para formar un conjunto de péptidos A $\beta$  derivados de PA. La expresión condicional de PA en estas células está bajo el control del sistema promotor que responde a tetraciclina y da como resultado una citotoxicidad pronunciada. La actividad del promotor se regula estrechamente por la presencia de la tetraciclina antibiótica (TET) en el medio de cultivo. En presencia de TET, el promotor está en el estado basal y no se sintetiza ningún péptido beta amiloideo. En ausencia de TET, el promotor está en estado inducido, dando como resultado la acumulación de péptidos A $\beta$  en las células, cambios degenerativos en la morfología celular y una reducción en la supervivencia.

Las células humanas de neuroblastoma transfectadas (MC-65) se cultivaron en DMEM (ATCC) complementado con aminoácidos no esenciales y 10% SFB (VWR) en presencia de TET (1  $\mu$ g/mL). Para el experimento, las células se colocaron en placas en 35.000 célula7ycm<sup>2</sup> y crecieron durante 1 día en el medio de cultivo regular antes de la adición del compuesto. El día del ensayo, se retiró el sobrenadante del cultivo de los pozos y las células se lavaron minuciosamente una vez con la matriz de la incubación del compuesto que no contenía SFB ni TET. Las células MC-65 se trataron con un compuesto del test en un rango pre-determinado de concentraciones en un medio basal que no contenía SFB y en ausencia o presencia de 1  $\mu$ g/mL TET aproximadamente 48 horas. Después se midió la viabilidad celular usando el método MTT.

Para el análisis de datos, las viabilidades celulares en relación con el control no tratado con un compuesto del test y mantenido en presencia de TET se marcaron contra la concentración de compuesto.

La concentración protectora umbral (TH) se definió como la mayor concentración en la que el compuesto no mostró un efecto protector significativos (esto es, la siguiente concentración alta tenía un efecto protector estadísticamente significativo) en el grupo mantenido en ausencia de TET. La concentración efectiva máxima (CE<sub>100</sub>) fue una concentración en la que el compuesto mostró el máximo efecto protector. La citotoxicidad del compuesto del test se evaluó en las células mantenidas en presencia de TET. La concentración citotóxica (CC1) se definió como la concentración más baja de compuesto que da como resultado la viabilidad significativamente por debajo de 80%. CC2 es la concentración más baja de compuesto que da como resultado la viabilidad significativamente por debajo de 80% en células que expresan PA (esto es, cultivadas sin tetraciclina).

### Estructuras químicas de compuestos



Apo#	G <sup>1</sup>	G <sup>2</sup>	G <sup>3</sup>	G <sup>4</sup>
6994	H	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	Me	H
6995	Me	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	H	H
6998	CH(CF <sub>3</sub> )-D-ala-NHMe	Me	H	H
7021	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	Me	CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>	H
7022	CH(OH)CF <sub>3</sub>	Me	CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>	H
7030	Et	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	H	H
7032	CH(OH)CF <sub>3</sub>	Me	CH <sub>2</sub> -L-ala-OH	H
7033	CH(OH)CF <sub>3</sub>	Me	CH <sub>2</sub> -L-ala-NHMe	H
7035	CH(OH)CF <sub>3</sub>	H	CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>	H
7038	CH(OH)CF <sub>3</sub>	Me	Me	Cl
7040	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	Me	Me	Cl
7041	CH(NMe <sub>2</sub> )CF <sub>3</sub>	Me	H	H
7053	Me	Me	H	CH(NMe <sub>2</sub> )CF <sub>3</sub>
7054	Me	Me	H	CH(piperidinil)CF <sub>3</sub>
7055	Me	Me	H	CH(imidazolil)CF <sub>3</sub>
7056	Me	Me	CH(NMe)CF <sub>3</sub>	H
7057	CH(propargilamino)CF <sub>3</sub>	Me	H	H
7058	CH(piperidinil)CF <sub>3</sub>	Me	H	H
7059	CH(NMe <sub>2</sub> )CF <sub>3</sub>	Me	Me	Cl
7060	CH(NMe <sub>2</sub> )CF <sub>3</sub>	Me	H	Cl
7061	CH(piperidinil)CF <sub>3</sub>	Me	H	Cl
7063	Me	Me	H	CH(N-metilpiperacinilo)CF <sub>3</sub>
7065	CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	Me	H
7066	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	Me	H	Cl
7067	CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>	Me	H	H
7069	Me	CH <sub>2</sub> CHF <sub>2</sub>	H	H
7071	CH <sub>2</sub> (piperidinil)	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	Me	H
7073	CH(N-metilpiperacinilo)CF <sub>3</sub>	Me	H	H

(continuación)

Apo#	G <sup>1</sup>	G <sup>2</sup>	G <sup>3</sup>	G <sup>4</sup>
7074	CH(ciclopropilamino)CF <sub>3</sub>	Me	H	H
7075	CH(alilamino)CF <sub>3</sub>	Me	H	H
7077	NMe <sub>2</sub>	Me	CH <sub>2</sub> CF <sub>3</sub>	H
7080	CH <sub>2</sub> CHF <sub>2</sub>	Me	H	H
7083	CH <sub>2</sub> NMe <sub>2</sub>	CH <sub>2</sub> CHF <sub>2</sub>	Me	H

Resultados de efector neuroprotector de compuestos de fórmula I en apoptosis inducida por peróxido de hidrógeno en células de neuroblastoma SH-SY5Y

Apo#	TH (μM)	EC <sub>100</sub> (μM)	CC1 (μM)	CC2 (μM)
6994	40	160	160	640
6995	20	160	320	320
6998	10	80	20	100
7021	2,5	640	80	>640
7022	5	160	40	320
7030	10	320	640	>640
7032	160	640	10	>640
7035	20	640	40	>640
7038	20	320	40	>640
7040	10	640	160	>640
7041	10	80	160	320
7053	10	40	2,2	>640
7054	2,5	640	5	>640
7055	2,5	40	10	>640
7057	3	20	5	80
7058	5	640	20	>640
7059	10	320	40	640
7060	20	320	80	>640
7061	10	640	10	10
7066	10	40	160	160
7067	10	40	160	>640
7069	40	160	80	>640
7071	3	20	20	80
7073	5	640	40	>640
7074	3	640	20	>640
7075	3	640	20	>640
7080	10	320	40	>640
7033	160	640	40	>640
7063	5	640	40	>640
7065	5	40	40	>640

**Resultados de prueba de ensayo MC65 en la protección contra toxicidad A $\beta$  producida endógenamente**

Apo#	TH ( $\mu$ M)	EC <sub>100</sub> ( $\mu$ M)	CC1 ( $\mu$ M)	CC2 ( $\mu$ M)
6994	1	10	>80	>80
6995	0,1	20	80	80
7021	0,1	10	10	20
7022	0,1	20	10	40
7030	1	20	40	40
7032	0,1	10	80	40
7035	0,1	10	40	20
7040	1	40	40	80
7041	0,1	10	10	80
7053	0,1	10	40	20
7054	0,1	1	20	20
7055	1	20	40	40
7056	0,1	10	80	80
7057	1	10	20	20
7058	1	10	80	80
7059	1	10	10	40
7060	1	10	40	20
7061	1	10	40	20
7066	0,1	10	80	80
7067	0,1	10	80	80
7069	0,1	40	80	80
7071	1	10	40	20
7073	0,1	10	40	20
7074	0,1	10	10	20
7075	0,1	10	10	20
7077	1	10	80	80
7080	0,1	10	40	40
7083	0,1	10	40	40

**Ejemplo 33****Influencia de MPP<sup>+</sup> (5 mM) en viabilidad celular SV-NRA y las acciones neuroprotectoras de compuestos de fórmula I (Apo6995, Apo7060, 7021) en células SV-NRA tratadas con MPP<sup>+</sup>**

Células SV-NRA se colocaron en placas en una placa de 96 pozos en una densidad de 10.000 células/pozo en 100  $\mu$ L de DME (dimetoxietano), glucosa alta x 1 líquida (Sigma) complementada con 10% SFB inactivado por calor y 1 x solución antibiótico/antimicótico (Sigma). Al día siguiente, las células se lavaron con medio EMEM (medio esencial mínimo de Eagle; libre de fenol rojo, suero y glutamina) y se trató durante 24 horas con 5 mM MPP<sup>+</sup> (1-metil-4-fenilpiridinio) en medio EMEM en ausencia o presencia de un compuesto quelante de hierro testado. Todos los compuestos se tetaron en las siguientes concentraciones: 10 $\mu$ M, 20 $\mu$ M y 40 $\mu$ M. Después de 24 horas de incubación, la viabilidad celular se determinó con ensayo MTT ((3-(4,5-Dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro, un tetrazol amarillo) que mide la actividad mitocondrial (Carmichae et al. Cancer Research 1987, 47, 936-942). La solución MMT (10  $\mu$ L, 5 mg/mL) se añadió a los pozos y se incubó durante 2 horas. El producto formazán se solubilizó con 100 $\mu$ L DE 10% SDS (sodio dodecil sulfato) en 0,01M HCl. La densidad óptica se determinó en 570 nm usando un lector de placa Multiscan Ascent (Labsystems) y los datos recogidos se corrigieron para la señal de fondo medida en 650 nm. Todos los datos se expresan como % de control.

El tratamiento MMP+ dio como resultado un descenso de aproximadamente 40%-50% en viabilidad celular en comparación con el control tratado con el vehículo. El co-tratamiento con queladores de hierro protegió a las células de toxicidad MPP<sup>+</sup>. El tratamiento con 20  $\mu$ M deferiprona, un fármaco quelador de hierro, dio como resultado un aumento de aproximadamente 20% en viabilidad celular ( $p < 0,05$ ). El tratamiento con queladores de hierro Apo7060, Apo6995 y Apo7021 en concentraciones de 10, 20 y 40  $\mu$ M también aumentó la viabilidad celular en 20-30% ( $p < 0,05$ ) en comparación con células tratadas solamente con MPP<sup>+</sup>. Los resultados representativos se muestran en la Fig. 10, 11, 12 y 13.

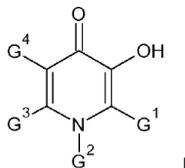
5  
10  
15  
20  
25  
30  
35  
40  
45  
50  
55  
60  
65

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula I:

5

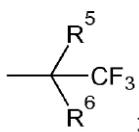
10



donde

15  $G^1$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub>, CH(R<sup>7</sup>)CF<sub>2</sub>H, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> o

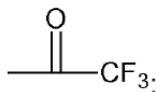
20



25

$G^2$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, ciclopropilo o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>2</sub>R<sup>3</sup>;  
 $G^3$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH(R<sup>6</sup>)CF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>-A-OH, CH<sub>2</sub>-A-NHR<sup>9</sup> o CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub> o

30



y

35  $G^4$  es H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>alquilo, halo o CH(R<sup>8</sup>)CF<sub>3</sub>;

$n$  es 1, 2 ó 3;

$R^1$  y  $R^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo;

$R^1$  y  $R^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H, C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo, C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> cicloalquilo, alilo y propargilo;

40  $R^1$  y  $R^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo), morfolínilo y piperidínilo;

$R^3$  es H o F;

$R^4$  y  $R^7$  independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H, OH, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil y A—NH-R<sup>10</sup>;

45 y cuando  $R^4$  o  $R^7$  es imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínilo o —A—NH-R<sup>10</sup>; un punto de unión de  $R^4$  o  $R^7$  con el radical CH de  $G^1$  es un átomo n de  $R^4$  o  $R^7$ ;

$R^5$  es C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo;

$R^6$  es H u OH;  $R^8$  se selecciona del grupo consistente en: NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil y A—NH-R<sup>10</sup>; y cuando  $R^8$  es imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N-C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil o A—NH-R<sup>10</sup> un punto de unión de  $R^8$  con el radical CH de  $G^4$  es un átomo N de  $R^8$ ;

$R^9$  y  $R^{10}$  son independientemente H o C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> alquilo;

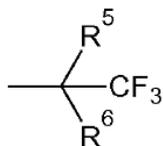
A es —NH-(CH<sub>2</sub>)<sub>m</sub>-CO o un residuo de aminoácido alfa;

$m$  es 1, 2 ó 3; y

55 siempre y cuando:

al menos uno de  $G^1$ ,  $G^2$ ,  $G^3$  y  $G^4$  comprenden al menos un radical de flúor; cuando  $G^1$  es CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub> y  $R^4$  es H u OH; entonces (i)  $G^3$  es CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH<sub>2</sub>-A-OH, CH<sub>2</sub>-A-NHR<sup>9</sup> o (ii)  $G^4$  es halo o CH(NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>)CF<sub>3</sub>; y cuando  $G^3$  es CH(R<sup>6</sup>)CF<sub>3</sub>, entonces  $G^1$  es CH<sub>2</sub>NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup>, CH(R<sup>4</sup>)CF<sub>3</sub>, CH(R<sup>7</sup>)CF<sub>2</sub>H, NR<sup>1</sup>R<sup>2</sup> o

60



65

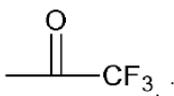
2. El compuesto de la reivindicación 1 donde  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{NR}^1\text{R}^2)\text{CF}_3$ , entonces  $G^3$  y  $G^4$  son independientemente H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo y  $G^2$  es H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o ciclopropilo.

5 3. El compuesto de la reivindicación 1 ó 2 donde:

- a) cuando  $G^2$  es  $(\text{CH}_2)_n\text{CF}_2\text{R}^3$ , entonces  $G^1$  y  $G^3$  son independientemente H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $\text{CH}_2\text{OH}$  o  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ; o  
 b) cuando  $G^2$  es H, entonces  $G^4$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo.

10 4. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 donde:

- a) cuando  $G^3$  es



- entonces  $G^1$  y  $G^4$  son independientemente H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo; o  
 b) cuando  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{CF}_3$ , entonces  $G^1$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ .

20 5. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 donde:

- a) cuando  $G^1$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , entonces  $G^2$  es  $(\text{CH}_2)_n\text{CF}_2\text{R}^3$ ; o  
 b) cuando  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^7)\text{CF}_2\text{H}$ , entonces  $G^3$  y  $G^4$  son independientemente H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo y  $G^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o ciclopropilo; o  
 c) cuando  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ , entonces  $G^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o ciclopropilo; siempre y cuando  $\text{R}^4$  sea H u OH, entonces  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $\text{CH}_2\text{-A-OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{-A-NHR}^9$ ; o  
 d) cuando  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ , y  $\text{R}^4$  es H u OH, entonces  $G^4$  es halo; o  
 e) cuando  $G^1$  o  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{OH}$ , entonces  $G^2$  es  $(\text{CH}_2)_n\text{CF}_2\text{R}^3$ ; o  
 f) cuando  $G^1$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ , entonces  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{CF}_3$ ,  $G^4$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo y  $G^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o ciclopropilo.

25 6. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 donde cuando  $G^4$  es  $\text{CH}(\text{R}^8)\text{CF}_3$ , entonces  $G^1$  y  $G^3$  son independientemente H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo y  $G^2$  es hidrógeno,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o ciclopropilo.

35 7. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 donde:

- a) cuando  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{-A-OH}$  o  $\text{CH}_2\text{-A-NHR}$ , entonces  $G^4$  es independientemente H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $G^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o ciclopropilo y  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ , donde  $\text{R}^4$  es H u OH; o  
 b) cuando  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , y  $G^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o ciclopropilo, entonces  $G^4$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo y  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ , donde  $\text{R}^4$  es H u OH.

40 8. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 donde cuando  $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$  y  $\text{R}^4$  es H u OH, entonces  $G^3$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$  o  $G^4$  es halo.

45 9. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 donde cuando  $G^3$  es  $\text{CH}(\text{R}^6)\text{CF}_3$ , entonces  $G^1$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$  o  $\text{NR}^1\text{R}^2$ .

50 10. El compuesto de la reivindicación 1 donde

$G^1$  es H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $-\text{CH}_2\text{OH}$  o  $-\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ;

$G^2$  es  $(\text{CH}_2)_n\text{-CF}_2\text{R}^3$ ;

$G^3$  es H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $-\text{CH}_2\text{OH}$  o  $-\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ;

$G^4$  es H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o halo;

$\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos;

$\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $\text{C}_3\text{-C}_6$  cicloalquilo, alilo y propargilo;

$\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-( $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo), morfolino y piperidinilo;

n es 1, 2 ó 3; y

$\text{R}^3$  es H o F.

60 11. El compuesto de la reivindicación 10 donde n es 1.

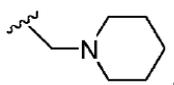
65 12. El compuesto de la reivindicación 11 donde  $G^4$  es H.

13. El compuesto de la reivindicación 12 donde  $R^3$  es H.

14. El compuesto de la reivindicación 12 donde  $R^3$  es F.

15. El compuesto de la reivindicación 14 donde:

- a)  $G^1$  es hidrógeno y  $G^3$  es metilo; o  
 b)  $G^1$  es metilo y  $G^3$  es H; o  
 c)  $G^1$  es etilo y  $G^3$  es H; o  
 d)  $G^1$  es H y  $G^3$  es H; o  
 e)  $G^1$  es  $-\text{CH}_2\text{OH}$  y  $G^3$  es H; o  
 f)  $G^1$  es  $-\text{CH}_2\text{NMe}_2$  y  $G^3$  es metilo; o  
 g)  $G^1$  es  $-\text{CH}_2\text{NMe}_2$  y  $G^3$  es H; o  
 h)  $G^1$  es  $-\text{CH}_2\text{OH}$  y  $G^3$  es metilo;  
 i)  $G^1$  es



y  $G^3$  es metilo.

16. El compuesto de la reivindicación 13 donde:

- a)  $G^1$  es metilo y  $G^3$  es H; o  
 b)  $G^1$  es H y  $G^3$  es metilo; o  
 c)  $G^1$  es  $-\text{CH}_2\text{NMe}_2$  y  $G^3$  es metilo.

17. El compuesto de la reivindicación 1 donde

- $G^1$  es  $\text{CH}(\text{R}^4)\text{CF}_3$ ;  
 $G^2$  es H, C1-C4 alquilo o ciclopropilo;  
 $G^3$  es H, C1-C4 alquilo,  $\text{CH}_2\text{-A-OH}$ ,  $\text{CH}_2\text{-A-NHR}^9$  o  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ;  
 $G^4$  es H, C1-C4 alquilo o halo;  
 $\text{R}^4$  se selecciona del grupo consistente en: H, OH,  $\text{NR}^1\text{R}^2$ , imidazol, 1,2,4-triazol, piperazina, N-C1-C4-alquilpiperazina, N-bencilpiperazina, N-fenilpiperazina, 2-piridilpiperazina, y  $-\text{A-NH-R}^{10}$ ; y cuando  $\text{R}^4$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ , imidazol, 1,2,4-triazol, piperazina, N-C1-C4-alquilpiperazina, N-bencilpiperazina, N-fenilpiperazina, 2-piridilpiperazina o  $-\text{A-NH-R}^{10}$ , un punto de unión de  $\text{R}^4$  con el radical  $-\text{CH}$  de  $G^1$  es un átomo N de  $\text{R}^4$ ;  
 $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos;  
 $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H, C1-C4 alquilo, C3-C6 cicloalquilo, alilo y propargilo;  
 $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo que incluye la N a la que están unidos, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-(C1-C4 alquilo), morfolino y piperidinilo;  
 A es  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_m-\text{CO}-$  o un residuo de aminoácido alfa;  
 m es 1, 2 ó 3; y  
 $\text{R}^9$  y  $\text{R}^{10}$  son independientemente H o C1-C4 alquilo.

18. El compuesto de la reivindicación 17 donde  $G^2$  es C1-C4 alquilo o ciclopropilo;  $G^3$  es H o C1-C4 alquilo; y  $\text{R}^4$  se selecciona del grupo consistente en: H, OH,  $\text{NR}^1\text{R}^2$ , imidazol, 1,2,4-triazol, piperazina, N-C1-C4-alquilpiperazina, N-bencilpiperazina, N-fenilpiperazina, 2-piridilpiperazina, y  $-\text{A-NH-R}^{10}$ .

19. El compuesto de la reivindicación 18 donde  $G^2$  es metilo.

20. El compuesto de la reivindicación 19 donde  $G^3$  es H y  $G^4$  es H.

21. El compuesto de la reivindicación 20 donde  $\text{R}^4$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ .

22. El compuesto de la reivindicación 20 donde  $\text{R}^4$  es  $\text{A-NHR}^{10}$ ; A es D-alanilo; y  $\text{R}^{10}$  es metilo.

23. El compuesto de la reivindicación 21 donde:

- a)  $\text{R}^1$  es metilo y  $\text{R}^2$  es metilo; o  
 b)  $\text{R}^1$  es H y  $\text{R}^2$  es ciclopropilo; o

- c)  $R^1$  es H y  $R^2$  es alilo; o  
 e)  $NR^1R^2$  es piperidinilo; o  
 f)  $NR^1R^2$  es N-metilpiperacinilo.

- 5 **24.** El compuesto de la reivindicación 17 donde  $G^3$  es  $CH_2-A-OH$ ,  $CH_2-A-NHR^9$  o  $CH_2NR^1R^2$ ;  $G^4$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo; y  $R^4$  es H u OH.
- 25.** El compuesto de la reivindicación 24 donde  $G^2$  es metilo.
- 10 **26.** El compuesto de la reivindicación 25 donde  $G^4$  es H.
- 27.** El compuesto de la reivindicación 26 donde:
- 15 a)  $G^3$  es  $CH_2NR^1R^2$ ;  $R^1$  es metilo; y  $R^4$  es H; o  
 b)  $G^3$  es  $CH_2NR^1R^2$ ;  $R^1$  es metilo; y  $R^4$  es OH; o  
 c)  $G^3$  es  $CH_2-A-OH$ ; A es D-alanilo; y  $R^4$  es OH; o  
 d)  $G^3$  es  $CH_2-A-NHR^9$ ; A es D-alanilo;  $R^9$  es metilo; y  $R^4$  es OH.
- 28.** El compuesto de la reivindicación 17 donde  $G^3$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo; y  $G^4$  es halo.
- 20 **29.** El compuesto de la reivindicación 28 donde  $G^2$  es metilo.
- 30.** El compuesto de la reivindicación 29 donde  $G^4$  es cloro.
- 25 **31.** El compuesto de la reivindicación 30 donde:
- a)  $G^3$  es metilo; y  $R^4$  es OH; o  
 b)  $G^3$  es metilo; y  $R^4$  es H; o  
 c)  $G^3$  es metilo; y  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ;  $R^1$  es metilo; y  $R^2$  es metilo; o  
 30 d)  $G^3$  es H; y  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ;  $R^1$  es metilo; y  $R^2$  es metilo; o  
 e)  $G^3$  es H; y  $R^4$  es  $NR^1R^2$ ; y  $NR^1R^2$  es piperidinilo; o  
 f)  $G^3$  es H; y  $R^4$  es H.
- 32.** El compuesto de la reivindicación 1 donde
- 35  $G^1$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo;  
 $G^2$  es H,  $C_1-C_4$ alquilo o ciclopropilo;  
 $G^3$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo;  
 $G^4$  es  $-CH(CF_3)(R^8)$ ;  
 $R^8$  se selecciona del grupo consistente en:  $NR^1R^2$ , imidazol, 1-2-4-triazol, piperazina, N- $C_1-C_4$  alquilpiperazina, N-bencilpiperazina, N-fenilpiperazina, 2-piridilpiperazina y  $A-NH-R^{10}$ ; un punto de unión de  $R^8$  con el radical CH de  $G^1$  es un átomo N de  $R^8$ ;  
 $R^1$  y  $R^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo que incluyen la N a la que están unidos;  
 40  $R^1$  y  $R^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H,  $C_1-C_4$  alquilo,  $C_3-C_6$  cicloalquilo, alilo y propargilo;  
 $R^1$  y  $R^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo, se seleccionan del grupo consistente en: piperacinilo, piperacinilo sustituido por N- $(C_1-C_4)$  alquilo), morfolino y piperidinilo;  
 A es  $-NH-(CH_2)_m-CO-$  o un residuo de aminoácido alfa;  
 45 m es 1, 2 ó 3; y  
 $R^{10}$  es H o  $C_1-C_4$  alquilo.
- 33.** El compuesto de la reivindicación 32 donde  $G^3$  es H.
- 55 **34.** El compuesto de la reivindicación 33 donde  $G^1$  es metilo.
- 35.** El compuesto de la reivindicación 34 donde:
- 60 a)  $G^2$  es H;  $R^8$  es  $-A-NH-R^{10}$ ; A es L-alanilo; y  $R^{10}$  es metilo; o  
 b)  $G^2$  es metilo;  $R^8$  es  $NR^1R^2$ ;  $R^1$  es metilo y  $R^2$  es metilo; o  
 c)  $G^2$  es metilo;  $R^8$  es  $NR^1R^2$ ;  $R^1$  es H y  $R^2$  es metilo; o  
 d)  $G^2$  es metilo;  $R^8$  es  $NR^1R^2$ ; y  $NR^1R^2$  es piperidinilo; o  
 e)  $G^2$  es metilo;  $R^8$  es  $NR^1R^2$ ; y  $NR^1R^2$  es imidazolilo; o  
 65 f)  $G^2$  es metilo;  $R^8$  es  $NR^1R^2$ ; y  $NR^1R^2$  es N-metilpiperacinilo.
- 36.** El compuesto de la reivindicación 1 donde

- $G^1$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ , o  $\text{NR}^1\text{R}^2$ ;  
 $G^2$  es  $\text{C}_1\text{-C}_4$ alquilo o ciclopropilo;  
 $G^3$  es  $-\text{CH}(\text{CF}_3)(\text{R}^6)$ ;  
 $G^4$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo;  
 $R^6$  es H u OH; y  
 $R^1$  y  $R^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo incluyendo la N a la que se unen;  
 $R^1$  y  $R^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $\text{C}_3\text{-C}_6$  cicloalquilo, alilo y propargilo;  
 $R^1$  y  $R^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-( $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo), morfolino y piperidinilo.
- 5
- 10
37. El compuesto de la reivindicación 36 donde  $G^4$  es H.
- 15
38. El compuesto de la reivindicación 37 donde  $G^2$  es metilo.
39. El compuesto de la reivindicación 38 donde:
- 20
- a)  $G^1$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ ;  $R^1$  es metilo;  $R^2$  es metilo; y  $R^6$  es H; o  
 b)  $G^1$  es  $\text{CH}_2\text{NR}^1\text{R}^2$ ;  $R^1$  es metilo;  $R^2$  es metilo; y  $R^6$  es OH.
40. El compuesto de la reivindicación 1 donde  
 $G^1$  es  $-\text{CH}(\text{CF}_2\text{H})(\text{R}^7)$ ;  
 $G^2$  es H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o ciclopropilo;  
 $G^3$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo;  
 $G^4$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo;  
 $R^7$  se selecciona del grupo consistente en: H, OH,  $\text{NR}^1\text{R}^2$ , imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N- $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil y  $-\text{CH}_2\text{-A}-\text{NH}-\text{R}^{10}$ ; y cuando  $R^7$  es  $\text{NR}^1\text{R}^2$ , imidazolilo, 1-2-4-triazolilo, piperacínilo, N- $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilpiperacínilo, N-bencilpiperacínilo, N-fenilpiperacínilo, 2-piridilpiperacínil o  $-\text{CH}_2\text{-A}-\text{NH}-\text{R}^{10}$  un punto de unión de  $R^7$  con el radical CH de  $G^1$  es un átomo N de  $R^7$ ;  
 $R^1$  y  $R^2$  son (a) dos grupos independientes o (b) juntos forman un único grupo de anillo incluyendo la N a la que se unen;  
 $R^1$  y  $R^2$ , cuando son grupos independientes, independientemente se seleccionan del grupo consistente en: H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo,  $\text{C}_3\text{-C}_6$  cicloalquilo, alilo y propargilo;  
 $R^1$  y  $R^2$ , cuando juntos forman un único grupo de anillo, se seleccionan del grupo consistente en: piperacínilo, piperacínilo sustituido por N-( $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo), morfolino y piperidinilo.  
 A es  $-\text{NH}-(\text{CH}_2)_m\text{-CO-}$  o un residuo de aminoácido alfa;  
 M es 1, 2 ó 3; y  
 $R^{10}$  es H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo.
- 25
- 30
- 35
- 40
41. El compuesto de la reivindicación 40 donde:
- 45
- a)  $G^2$  es metilo,  $G^3$  es H,  $G^4$  es H y  $R^7$  es OH; o  
 b)  $G^2$  es metilo,  $G^3$  es H,  $G^4$  es H y  $R^7$  es H.
42. El compuesto de la reivindicación 1 donde  
 $G^1$  es  $\text{C}(\text{R}^5)(\text{R}^6)(\text{CF}_3)$   
 $G^2$  es H,  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo o ciclopropilo;  
 $G^3$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo; y  
 $G^4$  es H o  $\text{C}_1\text{-C}_4$  alquilo.
- 50
- 55
43. El compuesto de la reivindicación 42 donde  $G^2$  es metilo;  $G^3$  es H;  $G^4$  es H;  $R^5$  es metilo; y  $R^6$  es H u OH.
44. El compuesto de la reivindicación 43 donde  $R^6$  es OH.
45. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 44 para su uso en el tratamiento de una condición médica relacionada con una concentración tóxica de hierro.
- 60
46. Uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 44 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una condición médica relacionada con una concentración tóxica de hierro.
- 65
47. El compuesto de la reivindicación 45 o el uso de la reivindicación 46 donde la condición médica relacionada con una concentración tóxica de hierro se selecciona del grupo consistente en: cáncer, enfermedad pulmonar, enfermedad renal progresiva y ataxia de Friedreich.

FIG. 1

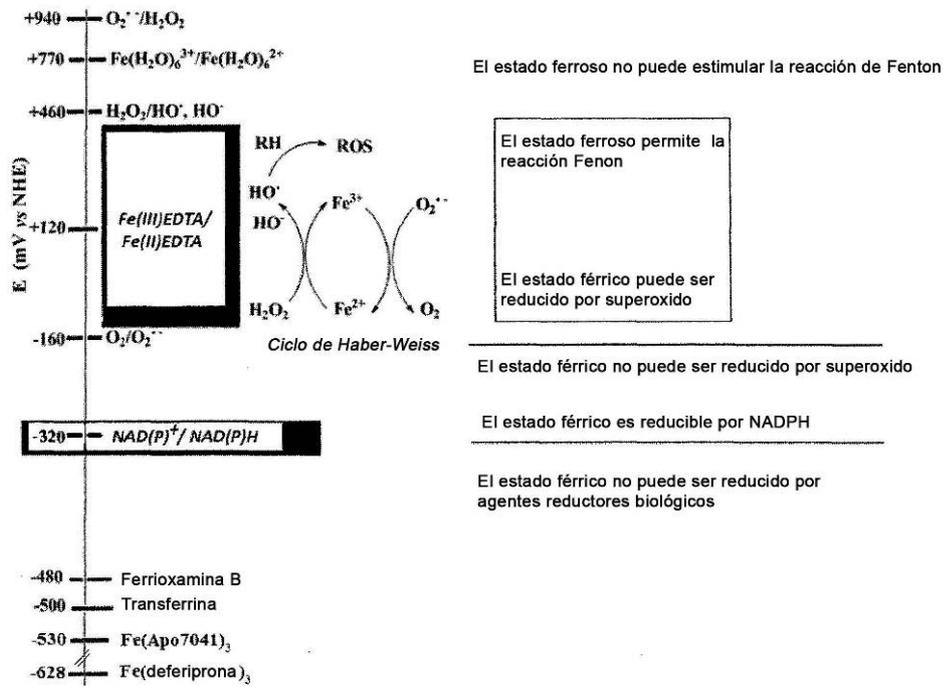


FIG. 2

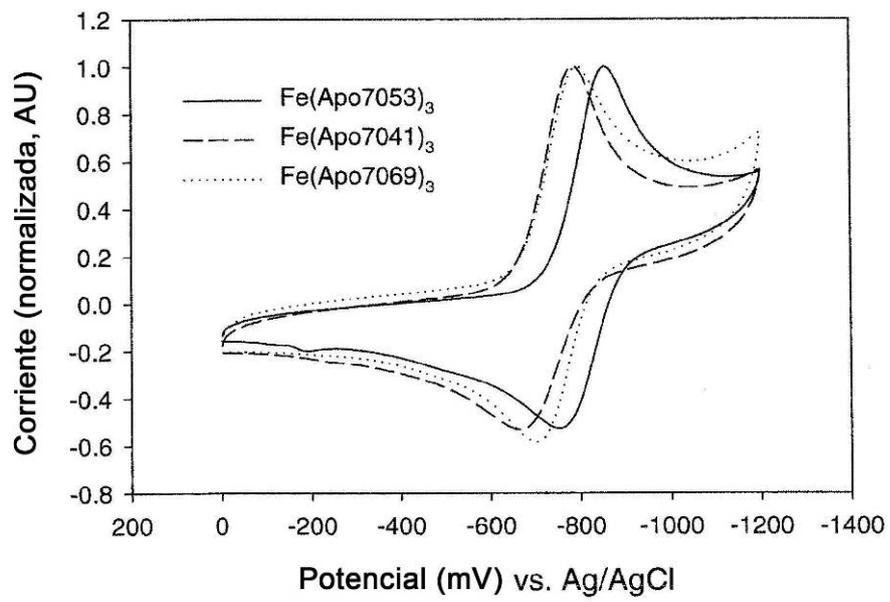


FIG. 3A

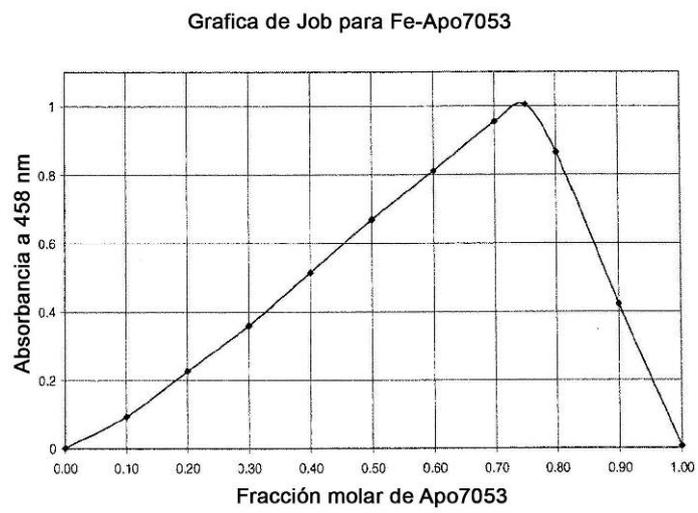


FIG. 3B

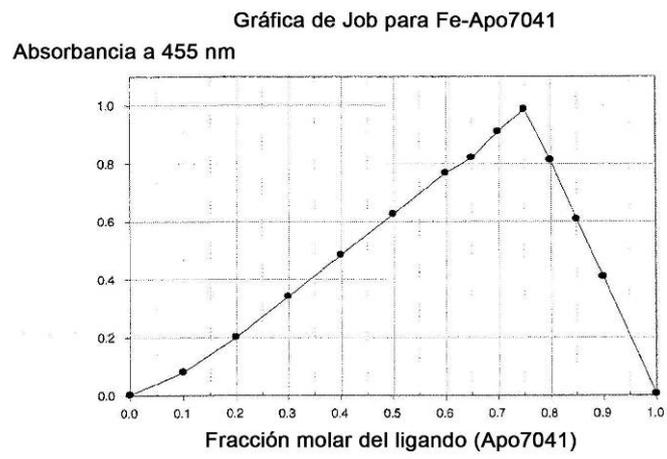


FIG.4

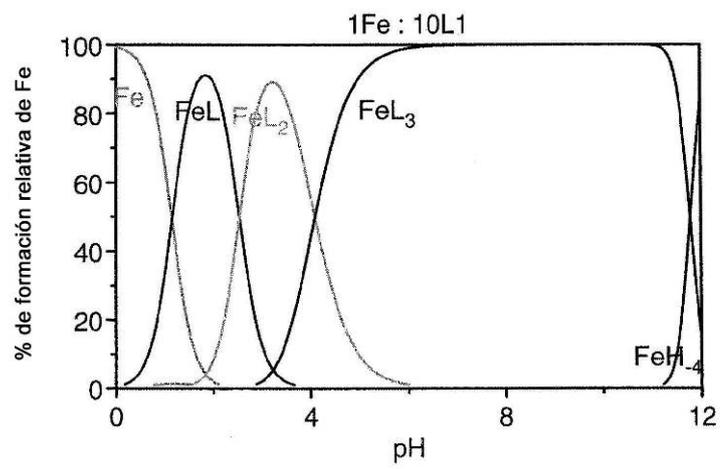


FIG. 5

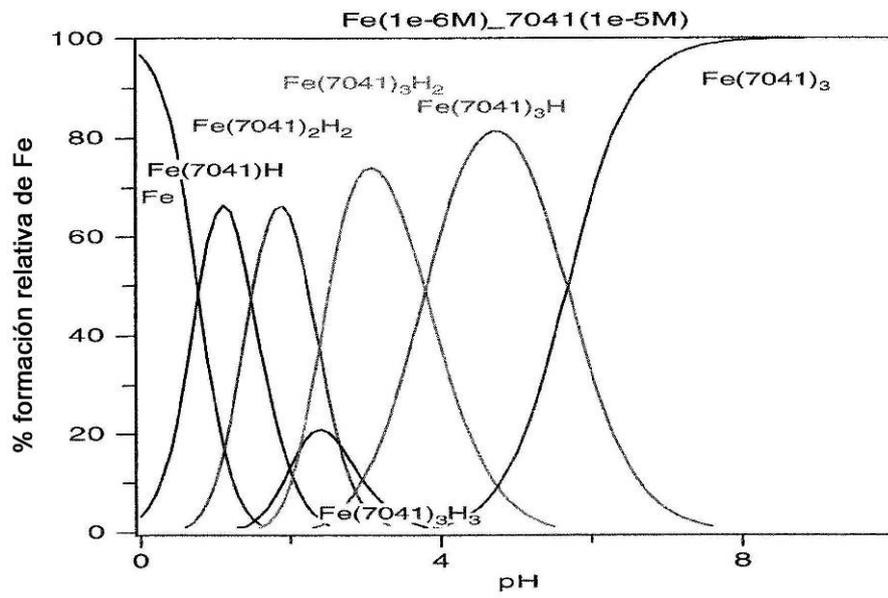


FIG. 6

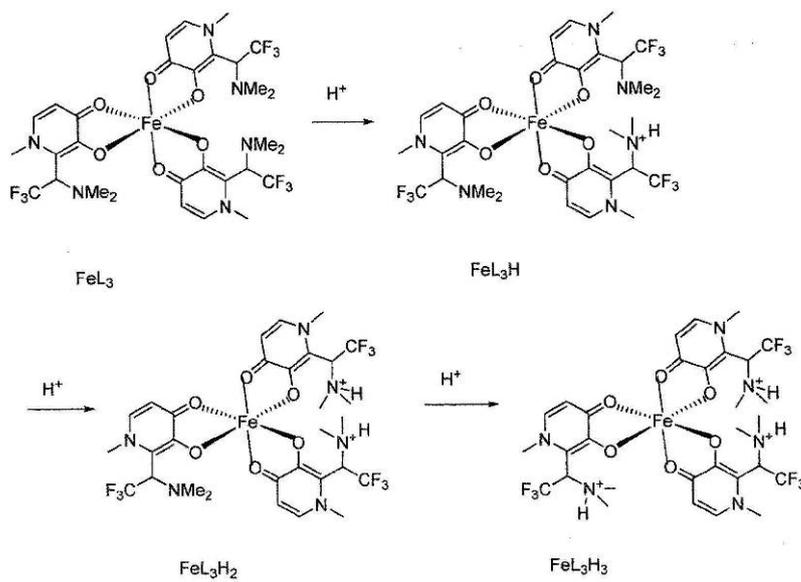


FIG. 7

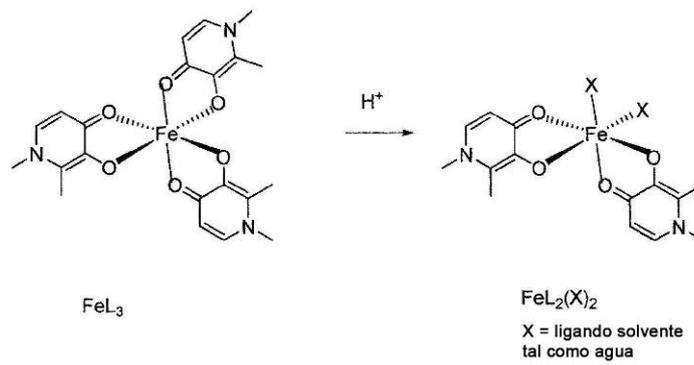


FIG. 8

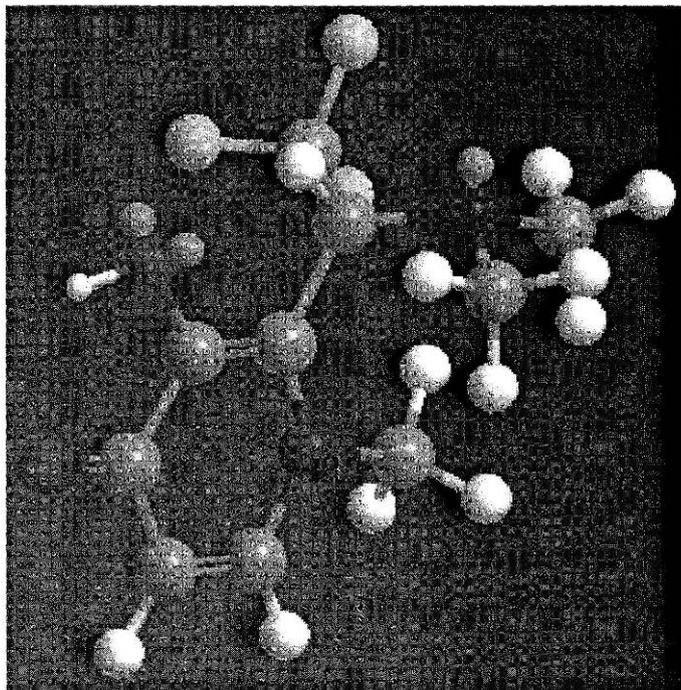


FIG. 9

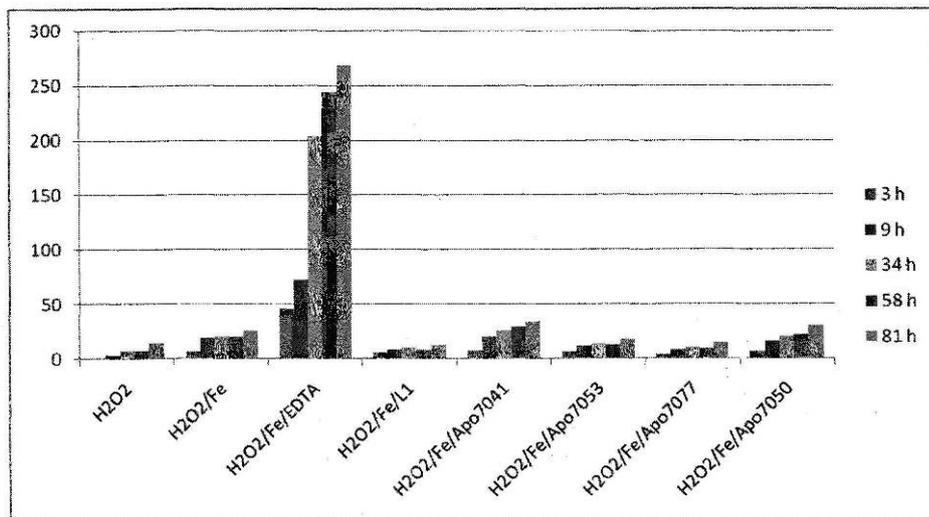


FIG. 10

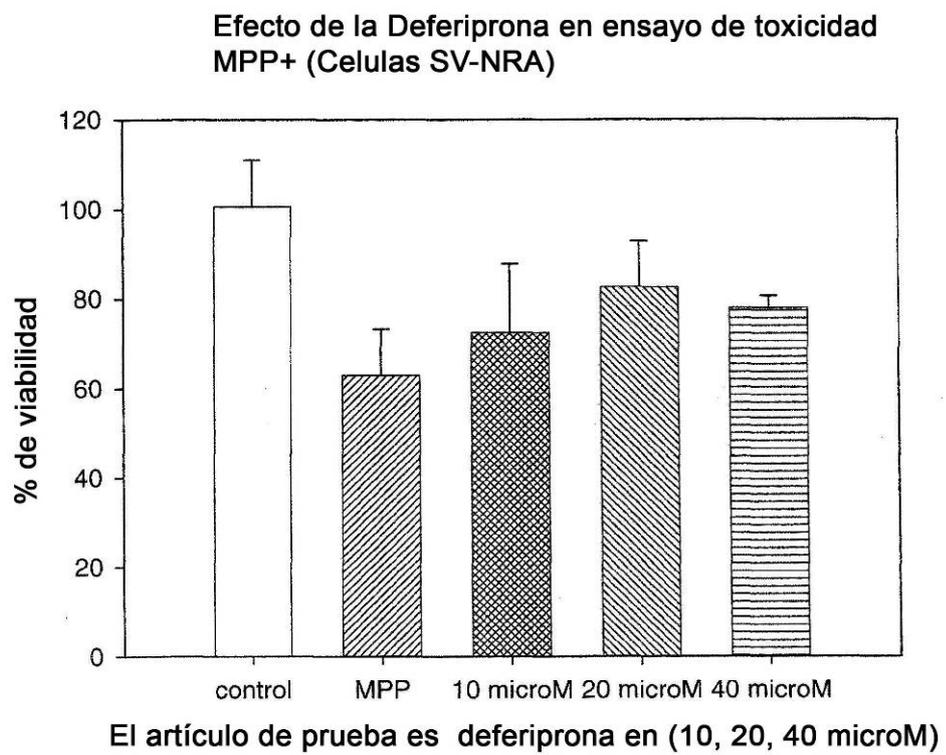


FIG. 11

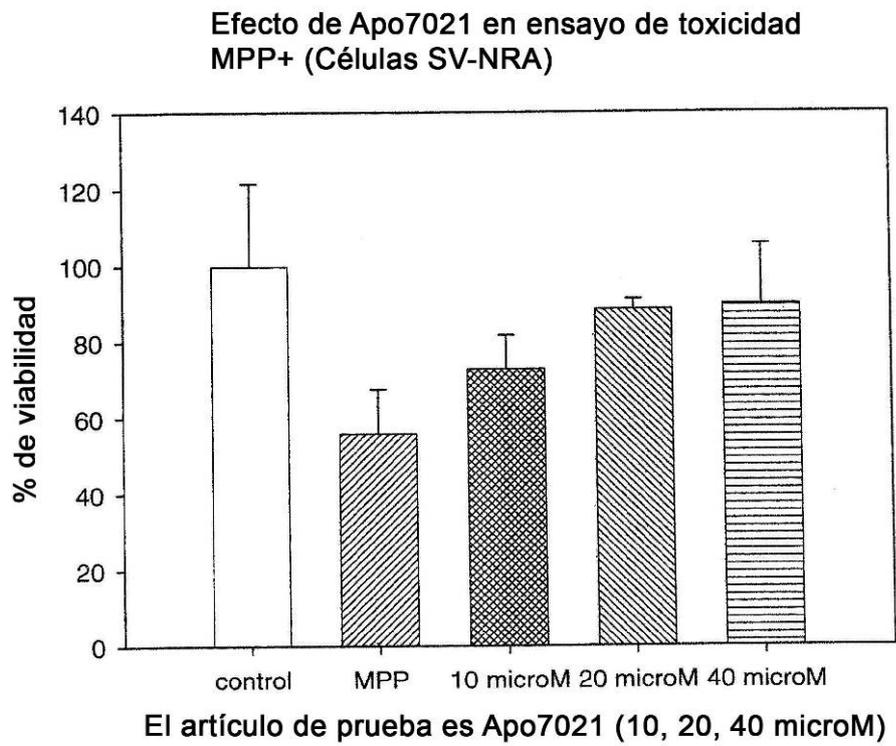
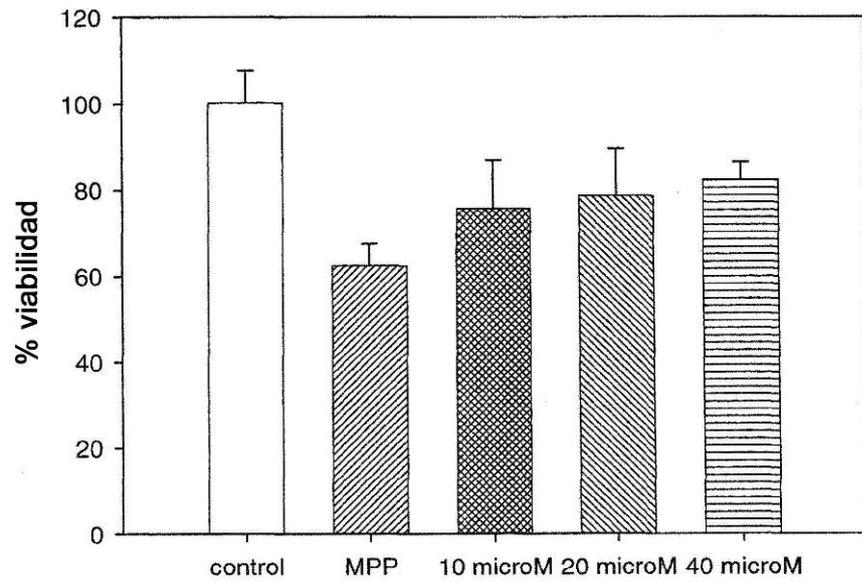


FIG. 12

Efecto de Apo7060 en ensato de toxicidad  
MPP+ (SV-NRAs)



El artículo de prueba es Apo7060 (10, 20, 40 microM)

FIG. 13

