

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 573 229**

51 Int. Cl.:

**C07D 491/048** (2006.01)

**A61K 31/407** (2006.01)

**A61P 19/02** (2006.01)

**A61P 19/08** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.06.2008 E 08774321 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.03.2016 EP 2167507**

54 Título: **Inhibidores de proteasas de cisteína**

30 Prioridad:

**27.06.2007 US 929437 P**

**20.12.2007 EP 07123771**

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

**06.06.2016**

73 Titular/es:

**MEDIVIR AB (100.0%)**

**P.O. BOX 1086**

**141 22 HUDDINGE, SE**

72 Inventor/es:

**NILSSON, MAGNUS;**

**ODEN, LOURDES;**

**KAHNBERG, PIA y**

**GRABOWSKA, URSZULA**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 573 229 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Inhibidores de proteasas de cisteína

Campo de la invención

5 Esta invención se refiere a inhibidores de proteasas de cisteína, especialmente a las de la superfamilia de la papaína. La invención proporciona compuestos novedosos útiles en la profilaxis o el tratamiento de trastornos que provienen de un desequilibrio de proteasas fisiológicas, tales como catepsina K.

Descripción de la técnica relacionada

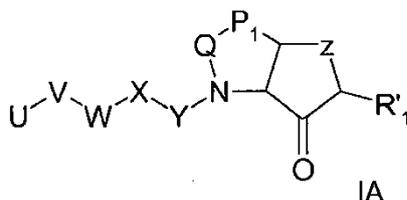
10 La superfamilia de la papaína de proteasas de cisteína está ampliamente distribuida en diversas especies que incluyen mamíferos, invertebrados, protozoos, plantas y bacterias. Numerosas enzimas catepsinas de mamífero, que incluyen las catepsinas B, F, H, K, L, O y S, se han incluido en esta superfamilia, y la regulación inapropiada de su actividad se ha implicado en una variedad de trastornos metabólicos incluyendo artritis, distrofia muscular, inflamación, glomerulonefritis e invasión tumoral. Enzimas patógenas similares a la catepsina incluyen las gingipaínas bacterianas, las falcipaínas de la malaria I, II, III y siguientes, y las proteasas de cisteína de *Pneumocystis carinii*, *Trypanosoma cruzi* y *brucei*, *Crithidia fusciculata*, *Schistosoma* spp.

15 Una regulación inapropiada de la catepsina K se ha implicado en varios trastornos que incluyen la osteoporosis, enfermedades gingivales tales como gingivitis y periodontitis, enfermedad de Paget, hipercalcemia por enfermedad maligna y osteopatía metabólica. Debido a sus niveles elevados en los condrocitos de la membrana sinovial osteoartrítica, la catepsina K está implicada en enfermedades caracterizadas por una degradación excesiva del cartílago o la matriz, tales como osteoartritis y artritis reumatoide.

20 Es posible que el tratamiento de trastornos de los huesos y del cartílago, tales como osteoartritis y osteoporosis requiera una administración durante toda la vida de un inhibidor de la catepsina K, frecuentemente a una población de pacientes en fase geriátrica o cercana a la misma. Esto supone requisitos inusualmente elevados para facilitar la administración de los fármacos destinados a tales trastornos. Por ejemplo, están en marcha intentos de extender los regímenes de dosificación de los fármacos actuales contra la osteoporosis, de la clase bifosfonato, a regímenes de administración semanales o más extensos para ayudar a seguir el tratamiento. Sin embargo, incluso con una dosificación mejorada, siguen existiendo otros efectos secundarios de los bisfosfonatos. Los bisfosfonatos bloquean la renovación ósea en vez de atenuarla como hace un inhibidor de la catepsina K. Para tener los huesos sanos, es importante mantener el proceso de remodelación que los bisfosfonatos bloquean completamente. Además, los bisfosfonatos tienen una semivida muy larga en el hueso, de modo que si se manifiestan efectos tales como osteonecrosis de la mandíbula, es imposible eliminar el bisfosfonato del hueso. Por el contrario, los inhibidores de la catepsina K tienen normalmente un modo de acción de asociación y disociación rápidos, lo que significa que si se debe identificar un problema, se podría detener la dosificación y no habría acumulación del inhibidor en la matriz ósea.

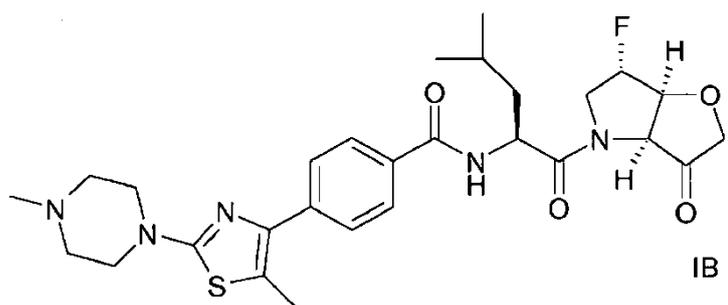
Por tanto, se desean fármacos alternativos contra la osteoporosis y la osteoartritis con propiedades farmacocinéticas y/o farmacodinámicas superiores.

35 En la solicitud de patente internacional nº WO02/057270 se describen compuestos de fórmula IA:



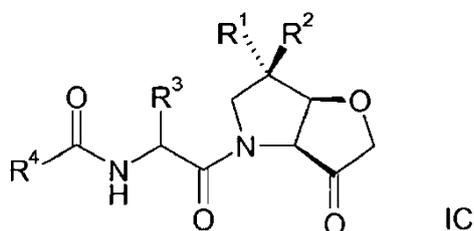
40 en donde UVWXY corresponde ampliamente a P3 y P2 (estas expresiones se explican a continuación) de inhibidores de dipéptidos de proteasas de cisteína, Z es entre otros O, S, metileno o -NR-, R'1 es alquilo, alquilarilo, etc. y P1 y Q son cada uno, entre otros, metileno. Aunque la descripción genérica en esta solicitud de patente postula una gama muy amplia de sustituyentes en P1 y Q, ninguno está individualizado o ejemplificado y no se facilita ninguna orientación sobre su síntesis. De hecho - las únicas sugerencias de síntesis proporcionadas en el documento WO02/05720 no permiten en absoluto una sustitución en P1 o Q. Se supone que los compuestos son útiles, entre otras cosas, para el tratamiento de infecciones por protozoos tales como tripanosomas.

45 El Ejemplo 9 del documento de solicitud de patente internacional nº WO2005/066180 da a conocer, entre otras cosas, un compuesto de fórmula IB:



El compuesto es un inhibidor activo de la catepsina K, pero, como se muestra a continuación, la modificación adicional de la estructura produce mejoras en lo referente a la farmacocinética y/o la farmacodinamia, en particular una estabilidad mejorada en sangre completa y, por lo tanto, una mejor exposición.

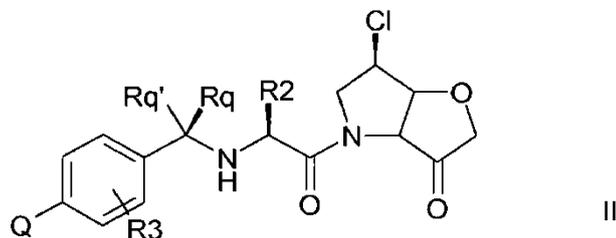
- 5 El documento WO2008/007127, que no se había publicado en la fecha de prioridad de la presente solicitud, describe compuestos de fórmula IC:



que se describen como inhibidores de proteasas de cisteína, en particular, inhibidores de la catepsina K.

Breve descripción de la invención

- 10 De acuerdo con la presente invención, se proporciona un compuesto de Fórmula II:



en donde

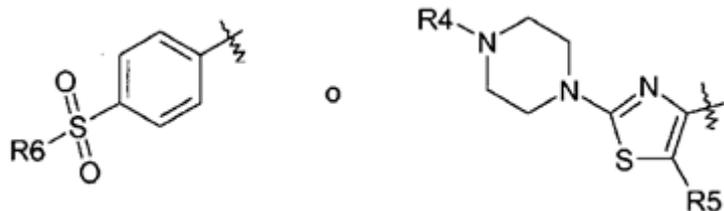
R<sup>2</sup> es la cadena lateral de leucina, isoleucina, ciclohexilglicina, O-metil treonina, 4-fluoroleucina o 3-metoxivalina;

- 15 R<sup>3</sup> es H, metilo o F;

R<sub>q</sub> es CF<sub>3</sub> con la estereoquímica indicada y R<sub>q</sub>' es H; o

R<sub>q</sub> y R<sub>q</sub>' definen conjuntamente ceto;

Q es



- 20 en donde

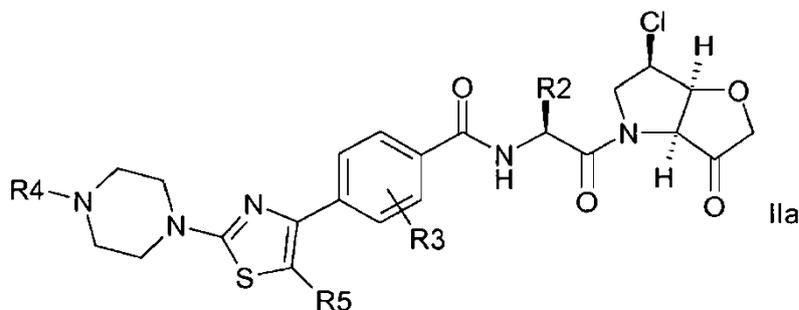
R<sup>4</sup> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sup>5</sup> es H, metilo o F;

R<sup>6</sup> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un N-óxido del mismo.

De acuerdo con un aspecto de la invención, se proporcionan compuestos enantiómeros de fórmula:



5

en donde

R<sup>2</sup> es la cadena lateral de leucina, isoleucina, ciclohexilglicina, O-metil treonina, 4-fluoroleucina o 3-metoxivalina;

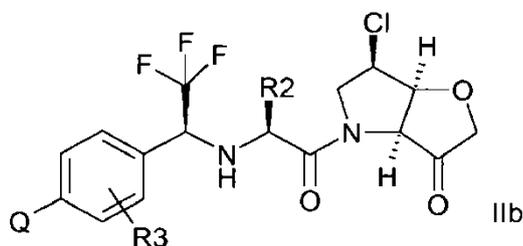
R<sup>3</sup> es H, metilo o F;

10 R<sup>4</sup> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, preferiblemente metilo;

R<sup>5</sup> es H, metilo o F;

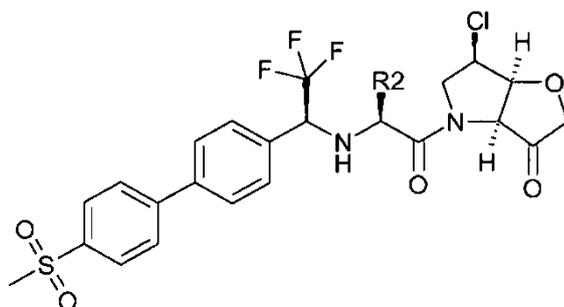
o una sal farmacéuticamente aceptable, un N-óxido o un hidrato de los mismos.

Una realización alternativa de la invención comprende compuestos o sales farmacéuticamente aceptables, N-óxidos o hidratos de compuestos de fórmula IIb



15

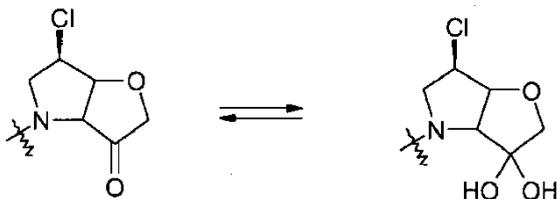
en donde R<sup>2</sup> y R<sup>3</sup> son como se han definido anteriormente y Q es el resto N-alquil-piperazinil-tiazolilo definido en la fórmula IIa o el resto 4-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)sulfonilfenilo, tal y como se describe en el documento WO 07/006716, por ejemplo un compuesto de fórmula:



20 La expresión "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" significa una cadena de alquilo que tiene entre uno y seis átomos de carbono (por ejemplo, un grupo alquilo C<sub>1-4</sub>, o un grupo alquilo C<sub>1-3</sub>). Los grupos alquilo pueden ser de cadena lineal o ramificada. Los grupos alquilo C<sub>1-6</sub> adecuados incluyen, por ejemplo, metilo, etilo, propilo (por ejemplo, n-propilo e isopropilo), butilo (por ejemplo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo y terc-butilo), pentilo (por ejemplo, n-pentilo) y hexilo (por ejemplo, n-hexilo). Un grupo alquilo de particular interés es metilo.

25 Se apreciará que los compuestos de la invención pueden existir como hidratos, tales como los de las fórmulas par-

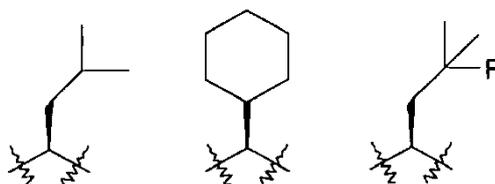
ciales:



y la invención se extiende a todas estas formas alternativas.

5 En una realización preferida de la invención, R<sup>2</sup> es la cadena lateral de leucina, isoleucina, O-metil treonina, 4-fluoroleucina o 3-metoxivalina.

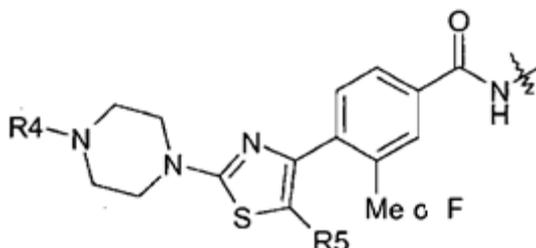
Los valores actualmente preferidos de R<sup>2</sup> incluyen los ilustrados por las estructuras parciales:



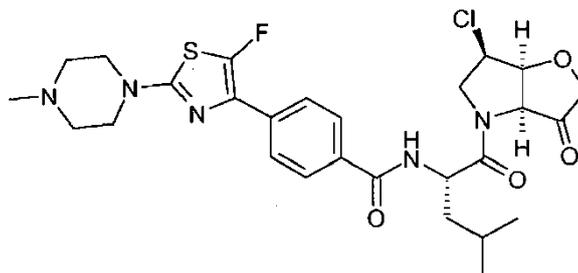
especialmente el valor de R<sup>2</sup> correspondiente a la cadena lateral de L-leucina.

10 Las realizaciones del párrafo inmediatamente anterior se aplican ventajosamente a compuestos en los que R<sup>3</sup> o R<sup>5</sup> son fluoro.

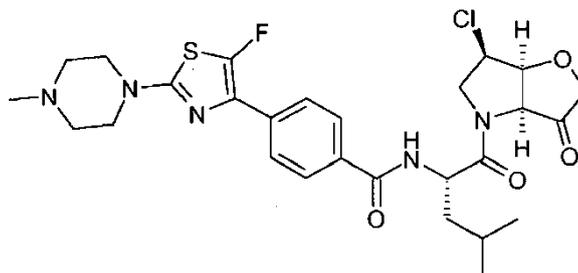
Normalmente la variable R<sup>3</sup> tal como metilo o fluoro, si está presente, está situada en la posición *meta* con respecto al enlace amida bencílico, como se muestra a continuación en la estructura parcial:



Un compuesto representativo de esta realización tiene la fórmula:



15 En ciertas realizaciones de la invención, R<sup>5</sup> es F, especialmente cuando R<sup>3</sup> es H y/o R<sup>4</sup> es metilo. Un compuesto representativo de esta realización tiene la fórmula:



Las realizaciones preferidas de la invención incluyen las indicadas a continuación, en cada caso con la estereoquímica representada anteriormente en la fórmula II:

- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 5 N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 10 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-propil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-2-metilpropil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 15 N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metil-butil]-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 20 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-propil]-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-2-metilpropil]-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 25 N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metil-butil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 30 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-propil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-2-metilpropil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-3-metil-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 35 N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-3-metil-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metil-butil]-3-metil-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 40 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-propil]-3-metil-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-2-metilpropil]-3-metil-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-3-metil-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 45 N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-3-metil-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metil-butil]-3-metil-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-

- 1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-propil]-3-metil-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 5 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-2-metilpropil]-3-metil-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butyl]-3-metil-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-3-metil-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 10 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metil-butyl]-3-metil-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-propil]-3-metil-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 15 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-2-metilpropil]-3-metil-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butyl]-3-fluoro-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-3-fluoro-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 20 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metil-butyl]-3-fluoro-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-propil]-3-fluoro-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 25 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-2-metil-propil]-3-fluoro-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butyl]-3-fluoro-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-3-fluoro-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 30 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metil-butyl]-3-fluoro-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-propil]-3-fluoro-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 35 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-2-metilpropil]-3-fluoro-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butyl]-3-fluoro-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-3-fluoro-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 40 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metil-butyl]-3-fluoro-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-propil]-3-fluoro-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 45 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-2-metoxi-2-metilpropil]-3-fluoro-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;

y sales farmacéuticamente aceptables, N-óxidos e hidratos de los mismos.

Otras realizaciones preferidas, con la estereoquímica representada anteriormente incluyen:

- 5 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 10 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-3-metil-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-3-metil-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 15 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-3-metil-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-3-fluoro-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-3-fluoro-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida;
- 20 y sales farmacéuticamente aceptables, hidratos y N-óxidos de los mismos.

Realizaciones preferidas de la invención incluyen los compuestos de fórmula II indicados:

- 25 N-[1-6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzamida;
- N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzamida
- N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida; o
- 30 una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un N-óxido de los mismos.

Realizaciones particularmente preferidas de la invención incluyen el compuesto de fórmula II indicado N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-3-fluoro-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida; o una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un N-óxido del mismo.

- 35 Realizaciones particularmente preferidas de la invención incluyen el compuesto de fórmula II indicado N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida; o una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un N-óxido del mismo.

Aspectos adicionales de la invención incluyen una composición farmacéutica que comprende un compuesto tal y como se ha definido anteriormente y un vehículo o un diluyente farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 40 Un aspecto adicional de la invención es el uso de un compuesto tal y como se ha definido anteriormente para el tratamiento o la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos mediados por la catepsina K, tales como:

osteoporosis,

enfermedades gingivales tales como gingivitis y periodontitis,

enfermedad de Paget,

45 hipercalcemia por enfermedad maligna,

enfermedad ósea metabólica,

enfermedades caracterizadas por una degradación excesiva del cartílago o la matriz, tales como osteoartritis y artritis reumatoide,

cánceres óseos incluyendo neoplasia,

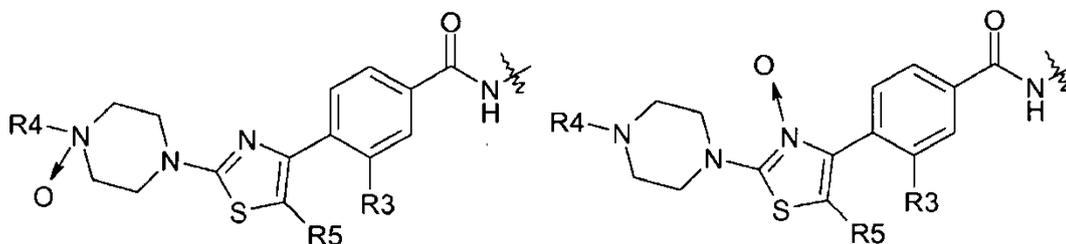
5 dolor, especialmente dolor crónico.

Los compuestos de la invención pueden formar sales que forman un aspecto adicional de la invención. Sales apropiadas farmacéuticamente aceptables de los compuestos de Fórmula II incluyen sales de ácidos orgánicos, especialmente ácidos carboxílicos, incluyendo pero no limitados a acetato, trifluoroacetato, lactato, gluconato, citrato, tartrato, maleato, malato, pantotenato, isetionato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, butirato, digluconato, ciclo-  
10 pentanato, glucoheptanato, glicerofosfato, oxalato, heptanoato, hexanoato, fumarato, nicotinato, palmoato, pectinato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, tartrato, lactobionato, pivolato, canforato, undecanoato y succinato, ácidos sulfónicos orgánicos tales como metanosulfonato, etanosulfonato, sulfonato de 2-hidroxietano, canforsulfonato, 2-naftalensulfonato, bencenosulfonato, p-clorobencenosulfonato y p-toluensulfonato; y ácidos inorgánicos tales como clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, sulfato, bisulfato, hemisulfato, tiocianato, persulfato, ácidos fosfórico y sulfónico.

Los compuestos de la invención se pueden aislar en algunos casos en forma de hidrato. Los hidratos se preparan normalmente por recristalización en una mezcla de disolvente acuoso/orgánico usando disolventes orgánicos tales como dioxina, tetrahidrofurano o metanol. Los hidratos también se pueden generar *in situ* mediante la administración a un paciente de la cetona correspondiente.

Los N-óxidos de compuestos de la invención se pueden preparar por métodos conocidos por los expertos normales en la técnica. Por ejemplo, los N-óxidos se pueden preparar mediante el tratamiento de una forma no oxidada del compuesto de la invención con un agente oxidante (por ejemplo, ácido trifluoroacético, ácido permaleico, ácido perbenzoico, ácido peracético, ácido meta-cloroperóxibenzoico o similares) en un disolvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, un hidrocarburo halogenado tal como diclorometano) a aproximadamente 0°C. Alternativamente, los  
25 N-óxidos de los compuestos de la invención se pueden preparar a partir del N-óxido de un material de partida apropiado.

Ejemplos de N-óxidos de la invención incluyen los que tienen las estructuras parciales:



Los compuestos de la invención en forma no oxidada se pueden preparar a partir de N-óxidos de los compuestos de la invención correspondientes, mediante tratamiento con un agente reductor (por ejemplo, azufre, dióxido de azufre, trifenilfosfina, borohidruro de litio, borohidruro de sodio, bicloruro de fósforo, tribromuro o similares) en un disolvente orgánico inerte adecuado (por ejemplo, acetonitrilo, etanol, dioxano acuoso o similares) de 0 a 80°C.

Hay que señalar que las posiciones de los radicales en cualquier resto molecular utilizado en las definiciones pueden estar en cualquier parte de dicho resto, siempre que sean químicamente estables.

Los radicales utilizados en las definiciones de las variables incluyen todos los isómeros posibles a no ser que se indique lo contrario.

Cuando cualquier variable aparece más de una vez en cualquier componente, cada definición es independiente.

A menos que se mencione o se indique de otra manera, la denominación química de un compuesto incluye la mezcla de todas las formas estereoquímicamente isómeras posibles que dicho compuesto puede poseer. Dicha mezcla puede contener todos los diastereómeros y/o enantiómeros de la estructura molecular básica de dicho compuesto. Todas las formas estereoquímicamente isómeras de los compuestos de la presente invención, tanto en forma pura como mezcladas entre sí, se entiende que están incluidas dentro del alcance de la presente invención.

Las formas estereoisómeras puras de los compuestos y productos intermedios que se han mencionado en la presente memoria, se definen como isómeros sustancialmente exentos de otras formas enantiómeras o diastereómeras de la misma estructura molecular básica de dichos compuestos o productos intermedios. En particular, la expresión "estereoisómicamente pura" se refiere a compuestos o productos intermedios que tienen un exceso de estereoisómero de al menos 80% (es decir, un mínimo de 90% de un isómero y un máximo de 10% de los otros isómeros

posibles) hasta un exceso estereoisómero del 100% (es decir, 100% de un isómero y nada del otro), más en particular, compuestos o productos intermedios que tienen un exceso estereoisómero desde 90% hasta 100%, incluso más en particular que tienen un exceso estereoisómero desde 94% hasta 100% y lo más particular que tienen un exceso estereoisómero desde 97% hasta 100%. Las expresiones "enantioméricamente puro" y "diastereoméricamente puro" se deben entender de manera similar, pero teniendo entonces en cuenta el exceso enantiomérico y el exceso diastereomérico, respectivamente, de la mezcla en cuestión.

Los compuestos de la invención se pueden preparar como sus estereoisómeros individuales haciendo reaccionar una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar una pareja de compuestos diastereoisómeros, separando los diastereómeros y recuperando el enantiómero ópticamente puro. Aunque la resolución de enantiómeros se puede llevar a cabo usando derivados diastereoisómeros covalentes de los compuestos de Fórmula (I), se prefieren los complejos disociables (por ejemplo, cristalinos; sales diastereoisómeras). Los diastereómeros tienen propiedades físicas distintas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y se pueden separar fácilmente aprovechando estas diferencias. Los diastereómeros se pueden separar por cromatografía, por ejemplo HPLC o, preferiblemente, mediante técnicas de separación/resolución basadas en diferencias de solubilidad. El enantiómero ópticamente puro se recupera entonces, junto con el agente de resolución, a través de cualquier medio adecuado que no dé lugar a racemización. Una descripción más detallada de las técnicas aplicables a la resolución de estereoisómeros de compuestos a partir de su mezcla racémica se puede encontrar en Jean Jacques Andre Collet, Samuel H. Wilen, *Enantiomers, Racemates and Resolutions*, John Wiley & Sons, Inc. (1981).

Aunque es posible que el agente activo se administre solo, es preferible presentarlo como parte de una formulación farmacéutica. Tal formulación comprenderá el agente activo definido anteriormente junto con uno o más vehículos/excipientes aceptables y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. El o los vehículos deben ser aceptables en el sentido de ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no ser perjudiciales para el receptor.

Las formulaciones incluyen las adecuadas para una administración rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa e intradérmica), pero preferiblemente la formulación es una formulación administrada por vía oral. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, comprimidos y cápsulas de liberación sostenida, y se pueden preparar a través de cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de la farmacia.

Tales métodos incluyen la etapa de asociar el agente activo definido anteriormente con el vehículo. En general, las formulaciones se preparan asociando de forma uniforme e íntima el agente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos y después, si es necesario, dando forma al producto. Se dan a conocer métodos para preparar una composición farmacéutica que comprende introducir un compuesto de Fórmula II o su sal farmacéuticamente aceptable en conjunto o asociación con un soporte o un vehículo farmacéuticamente aceptable. Si la preparación de formulaciones farmacéuticas implica la mezcla a fondo de excipientes farmacéuticos y el ingrediente activo en forma de sal, entonces normalmente se prefiere usar excipientes que no son de naturaleza básica, es decir, ácidos o neutros.

Las formulaciones para administración oral en la presente invención se pueden presentar como unidades discretas tales como cápsulas, sellos o comprimidos, conteniendo cada una una cantidad predeterminada del agente activo; como polvo o gránulos; como una solución o una suspensión del agente activo en un líquido acuoso o un líquido no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión líquida de agua en aceite, y como un bolo, etc.

Con respecto a composiciones para administración oral (por ejemplo, comprimidos y cápsulas), la expresión vehículo adecuado incluye vehículos tales como excipientes comunes, por ejemplo, agentes aglutinantes, por ejemplo jarabe, acacia, gelatina, sorbitol, tragacanto, polivinilpirrolidona (Povidona), metilcelulosa, etilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropil-metilcelulosa, sacarosa y almidón; cargas y vehículos, por ejemplo, almidón de maíz, gelatina, lactosa, sacarosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, fosfato dicálcico, cloruro de sodio y ácido algínico; y lubricantes tales como estearato de magnesio, estearato de sodio y otros estearatos metálicos, ácido esteárico, estearato de glicerol, fluido de silicona, ceras, talco, aceites y sílice coloidal. Agentes aromatizantes tales como menta, aceite de gaulteria, aroma de cereza o similares también se pueden utilizar. Puede ser deseable añadir un agente colorante para hacer que la forma de dosificación sea fácilmente identificable. Los comprimidos también se pueden recubrir por métodos bien conocidos en la técnica.

Un comprimido se puede preparar mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes accesorios. Los comprimidos se pueden preparar comprimiendo en una máquina adecuada el agente activo en forma de flujo libre tal como un polvo o gránulos, opcionalmente mezclado con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, conservante, tensioactivo o agente dispersante. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Los comprimidos pueden estar opcionalmente recubiertos o ranurados y se pueden formular de manera que proporcionen una liberación lenta o controlada del agente activo.

Otras formulaciones adecuadas para la administración oral incluyen pastillas para chupar que comprenden el agente

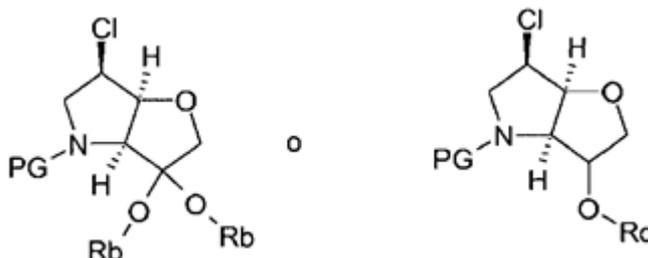
activo en una base aromatizada, normalmente sacarosa y goma arábica o tragacanto; pastillas que comprenden el agente activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y acacia; y enjuagues bucales que comprenden el agente activo en un vehículo líquido adecuado.

5 La dosificación apropiada para los compuestos o formulaciones de la invención dependerá de la indicación y del paciente y se determina fácilmente mediante ensayos convencionales en animales y se confirma con ensayos clínicos en seres humanos. Las dosificaciones que proporcionan concentraciones intracelulares (para la inhibición de proteasas fisiológicas de la superfamilia de la papaína) del orden 0,01 a 100  $\mu\text{M}$ , más preferiblemente de 0,01-10  $\mu\text{M}$ , tal como 0,1-25  $\mu\text{M}$ , son normalmente deseables y factibles.

10 Los compuestos de la invención se preparan a través de una variedad de reacciones químicas en solución y en fase sólida.

Los compuestos se preparan normalmente como elementos básicos que reflejan los restos P1, P2 y P3 del producto inhibidor final. Sin que por ello se desee estar ligado a la teoría, o adjudicar modos de unión provisionales para variables específicas, los conceptos teóricos P1, P2 y P3 tal y como se emplean en este documento se proporcionan solo por comodidad y tienen sustancialmente el significado convencional de Schlecter & Berger e indican las porciones del inhibidor que se cree que llenan los subsitios S1, S2 y S3, respectivamente, de la enzima, en donde S1 es adyacente al sitio de escisión y S3 está distanciado del sitio de escisión. Los compuestos definidos por la Fórmula II se entiende que están dentro del alcance de la invención, independientemente del modo de unión.

En términos generales, el elemento básico P1 tendrá la fórmula:



20 en donde

PG es un grupo protector de N convencional o la amina libre;

los dos grupos Rb definen un cetal, tal como el *bis* metil cetal o juntos definen un cetal cíclico tal como 1,3-dioxolano;

25 y Rc es un grupo protector de hidroxilo, o menos comúnmente es H o representa la función ceto del inhibidor del producto final, en los casos en que el elemento básico P1 es la cetona, que se alarga con P2 y P3.

P2 es normalmente una L-leucina, L-isoleucina, O-metil-L-treonina, L-3-hidroxisvalina, 4-fluoroleucina o L-ciclohexilglicina protegida en N, y P3 comprende normalmente un grupo de terminación, tal como un derivado de ácido benzoico con el resto N-alkil-piperazinil-E ya introducido o provisto de un sintón para ello en la posición *para*.

30 Los elementos básicos individuales, adecuadamente protegidos se pueden preparar primero y acoplarse entre sí posteriormente, preferiblemente con la secuencia P2+P1  $\rightarrow$  P2-P1 seguida de ácido N-alkil-piperazinil-tiazolil-benzoico\*+P2-P1  $\rightarrow$  N-alkil-piperazinil-tiazolil-benzoato-P2-P2-P1, en donde \* indica una forma activada, con el fin de minimizar la racemización en P2.

35 El acoplamiento entre dos aminoácidos, un aminoácido y un péptido, o dos fragmentos de péptido se puede llevar a cabo usando procedimientos de acoplamiento convencionales tales como el método de la azida, el método del anhídrido de ácido carbónico-carboxílico mixto (cloroformiato de isobutilo), el método de carbodiimida (diciclohexilcarbodiimida, diisopropilcarbodiimida o carbodiimida soluble en agua), el método del éster activo (éster de p-nitrofenilo, imido éster N-hidroxisuccínico), el método de reactivo K de Woodward, el método de carbonildiimidazol, reactivos de fósforo o métodos de oxidación-reducción. Algunos de estos métodos (especialmente el método de carbodiimida) se pueden mejorar mediante la adición de 1-hidroxibenzotriazol o 4-DMAP. Estas reacciones de acoplamiento se pueden realizar en solución (fase líquida) o en fase sólida.

45 Más explícitamente, la etapa de acoplamiento implica el acoplamiento por deshidratación de un carboxilo libre de un reactivo con el grupo amino libre del otro reactivo, en presencia de un agente de acoplamiento para formar la unión con un enlace amida. Descripciones de tales agentes de acoplamiento se encuentran en libros de texto generales sobre química de péptidos, por ejemplo, M. Bodanszky, "Peptide Chemistry", 2ª ed. rev., Springer-Verlag, Berlín, Alemania (1993), de aquí en adelante referido simplemente como Bodanszky, cuyos contenidos se incorporan como referencia en esta memoria. Ejemplos de agentes de acoplamiento adecuados son N,N'-diciclohexilcarbodiimida, 1-hidroxibenzotriazol en presencia de N,N'-diciclohexilcarbodiimida o N-etil-N'-[(3-dimetilamino)propil]carbodiimida. Un

agente de acoplamiento práctico y útil es el hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio comercialmente disponible, ya sea por sí mismo o en presencia de 1-hidroxibenzotriazol o 4-DMAP. Otro agente de acoplamiento práctico y útil, comercialmente disponible es tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio. Aún otro agente de acoplamiento práctico y útil es hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio, comercialmente disponible.

La reacción de acoplamiento se lleva a cabo en un disolvente inerte, por ejemplo, diclorometano, acetonitrilo o dimetilformamida. Se añade un exceso de una amina terciaria, por ejemplo, diisopropiletilamina, N-metilmorfolina, N-metilpirrolidina o 4-DMAP para mantener la mezcla de reacción a un pH de aproximadamente 8. La temperatura de la reacción está comprendida normalmente entre 0°C y 50°C, y el tiempo de reacción está comprendido normalmente entre 15 min y 24 h.

Los grupos funcionales de los aminoácidos constituyentes no naturales, generalmente se deben proteger durante las reacciones de acoplamiento para evitar la formación de enlaces no deseados. Los grupos protectores que se pueden usar se detallan en Greene, "Protective Groups in Organic Chemistry", John Wiley & Sons, Nueva York (1981) y "The Peptides: Analysis, Synthesis, Biology", vol. 3, Academic Press, Nueva York (1981), en lo sucesivo referidos simplemente como Greene, cuyas descripciones se incorporan en esta memoria como referencia.

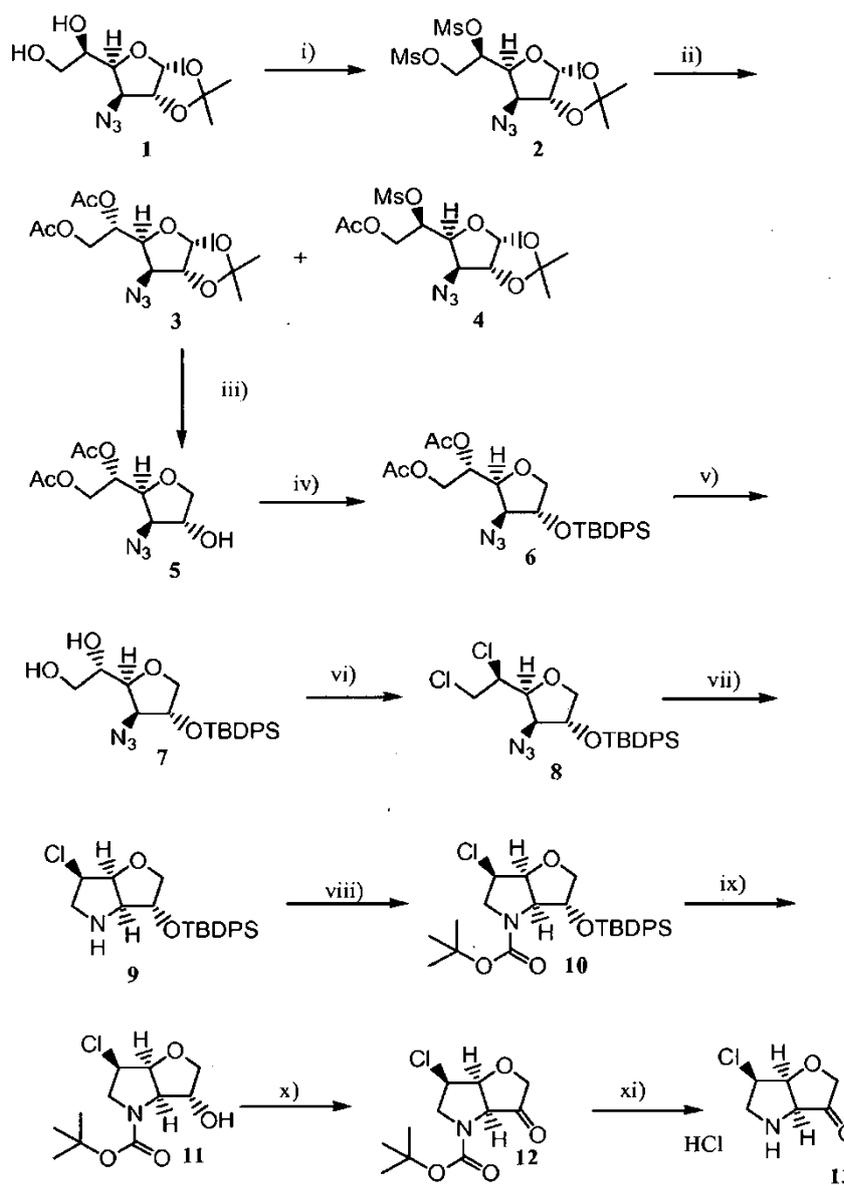
El grupo alfa-carboxilo del residuo C-terminal está protegido generalmente como un éster que se puede escindir para proporcionar el ácido carboxílico. Los grupos protectores que se pueden usar incluyen: 1) ésteres de alquilo tales como metilo, trimetilsililo y terc-butilo, 2) ésteres de aralquilo tales como bencilo y bencilo sustituido, o 3) ésteres que se pueden escindir con una base suave o medios reductores suaves tales como ésteres de tricloroetilo y de fenacilo.

El grupo alfa-amino de cada aminoácido que se va a acoplar está protegido normalmente en N. Cualquier grupo protector conocido en la técnica se puede utilizar. Ejemplos de tales grupos incluyen: 1) grupos acilo tales como formilo, trifluoroacetilo, ftalilo y p-toluenosulfonilo; 2) grupos carbamato aromáticos tales como benciloxicarbonilo (Cbz o Z) y benciloxicarbonilos sustituidos, y 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc); 3) grupos carbamato alifáticos tales como terc-butiloxicarbonilo (Boc), etoxicarbonilo, diisopropilmetoxicarbonilo y aliloxicarbonilo; 4) grupos carbamato de alquilo cíclico tales como ciclopentiloxicarbonilo y adamantiloxicarbonilo; 5) grupos alquilo tales como trifenilmetilo y bencilo; 6) trialkilsililo tal como trimetilsililo; y 7) grupos que contienen tiol tales como feniltiocarbonilo y ditiasuccinilo. El grupo protector de alfa-amino preferido es o bien Boc o Fmoc. Muchos derivados de aminoácidos adecuadamente protegidos para la síntesis de péptidos están comercialmente disponibles.

El grupo protector de alfa-amino se escinde normalmente antes de la siguiente etapa de acoplamiento. Cuando se usa el grupo Boc, los métodos de elección son ácido trifluoroacético, puro o en diclorometano, o HCl en dioxano o en acetato de etilo. La sal de amonio resultante se neutraliza entonces o bien antes del acoplamiento *in situ* con soluciones básicas tales como tampones acuosos, o aminas terciarias en diclorometano o acetonitrilo o dimetilformamida. Cuando se utiliza el grupo Fmoc, los reactivos de elección son piperidina o piperidina sustituida en dimetilformamida, pero se puede utilizar cualquier amina secundaria. La desprotección se lleva a cabo a una temperatura entre 0°C y la temperatura ambiente por lo general de 20 a 22°C.

Una vez que se ha completado la secuencia del inhibidor, cualquier grupo protector restante se elimina de cualquier manera que venga dictada por la elección de los grupos protectores. Estos procedimientos son bien conocidos por los expertos en la técnica.

La primera etapa en la síntesis de los compuestos de la invención, tales como los de la fórmula general II, es normalmente la preparación en solución de un elemento básico P1 funcionalizado, por ejemplo, tal y como se muestra en el esquema siguiente:



i) MsCl, Pyr ii) NaOAc, Ac<sub>2</sub>O, DMF, 130 C iii) BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>SiH, DCM iv) TBDPS-Cl, Im-H, DMF v) NaOMe vi) SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, Pyr, DCM vii) PPh<sub>3</sub>, MeOH, H<sub>2</sub>O, a continuación Et<sub>3</sub>N, 50 C viii) Boc<sub>2</sub>O, Et<sub>3</sub>N ix) TBAF, THF x) Periodinano de Dess-Martin xi) método a: MeOH, TMOF, p-TsOH, a continuación Et<sub>3</sub>N, Boc<sub>2</sub>O, a continuación, cromatografía y, finalmente, MeOH, AcCl, método b: MeOH, AcCl, TMOF

5

Aunque el esquema anterior se ha ilustrado con una estrategia diferente de grupo protector empleando acetilo, mesilo, TBDPS y Boc, será evidente que se pueden emplear otras permutaciones de grupos protectores convencionales, como describe Greene (ibid). Además, puede ser conveniente emplear el dimetil hemiacetal del grupo cetona durante el acoplamiento de los residuos P2 y P3 y para regenerar la función cetona en una etapa posterior.

10 El alargamiento del elemento básico con los elementos básicos P2 y P3 se lleva a cabo normalmente en presencia de un agente de acoplamiento adecuado, por ejemplo, hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitrispirrolidinofosfonio (PyBOP), hexafluorofosfato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametil-uronio (HBTU), hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil-uronio (HATU), clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC) o 1,3-diciclohexilcarbodiimida (DCC), opcionalmente en presencia de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) y una base tal como N,N-diisopropiletilamina, trietilamina, N-metilmorfolina y similares. La reacción se lleva a cabo normalmente entre 20 y 30°C, preferiblemente a aproximadamente 25°C, y requiere de 2 a 24 h para completarse. Disolventes de reacción adecuados son disolventes orgánicos inertes, tales como disolventes halogenados orgánicos (por ejemplo, cloruro de metileno, cloroformo y similares), acetonitrilo, N,N-dimetilformamida, disolventes etéreos tales como tetrahidrofurano, dioxano y similares.

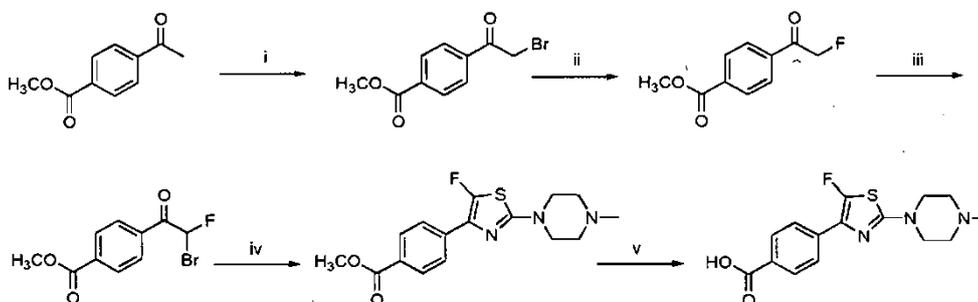
20 Alternativamente, la etapa de acoplamiento por elongación anterior se puede llevar a cabo convirtiendo en primer lugar el elemento básico P3/P2 en un derivado de ácido activo tal como éster de succinimida y luego haciéndolo

reaccionar con la amina de P1. La reacción normalmente requiere de 2 a 3 horas para completarse. Las condiciones utilizadas en esta reacción dependen de la naturaleza del derivado de ácido activo. Por ejemplo, si se trata de un derivado de cloruro de ácido, la reacción se lleva a cabo en presencia de una base adecuada (por ejemplo trietilamina, diisopropilamina, piridina y similares). Disolventes adecuados de la reacción son disolventes orgánicos polares tales como acetonitrilo, N,N-dimetilformamida, diclorometano o cualquier mezcla adecuada de los mismos.

Los elementos básicos P2 en forma de L-aminoácidos protegidos en N están disponibles comercialmente, por ejemplo, L-leucina, L-isoleucina, L-ciclohexilglicina, O-metil-L-treonina y otros están disponibles comercialmente con numerosas variantes de grupos protectores, tales como CBz, Boc o Fmoc. Otras variantes de R<sup>2</sup> se preparan fácilmente a partir de materiales de partida comercialmente disponibles. Por ejemplo compuestos en los que R<sup>2</sup> es -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub> se pueden preparar haciendo reaccionar el ácido (S)-(+)-2-amino-3-hidroxi-3-metilbutanoico protegido con CBz con 3,3-dimetoxi-hexahidro-furo(3,2b)pirrol para formar la unidad P2-P1 deseada. El alcohol de la cadena lateral P2 se puede metilar entonces usando yoduro de metilo bajo condiciones convencionales de hidruro de sodio, imidazol, THF para obtener el P2 deseado sin una racemización sustancial del centro alfa. Este resto P2-P1 puede avanzar entonces por la síntesis, tal y como se describe en esta memoria, es decir, retirando CBz y acoplando.

Una síntesis de elementos básicos de Fmoc y N-Boc-gammafluoroleucina se muestran en Truong et al., Synlett 2005 nº 8 1278-1280.

La preparación de los elementos básicos P3 se describe en el documento WO05/66180 o se preparan fácilmente por métodos análogos. Por ejemplo, el siguiente esquema muestra la preparación de un tiazolilo sustituido con fluoro:

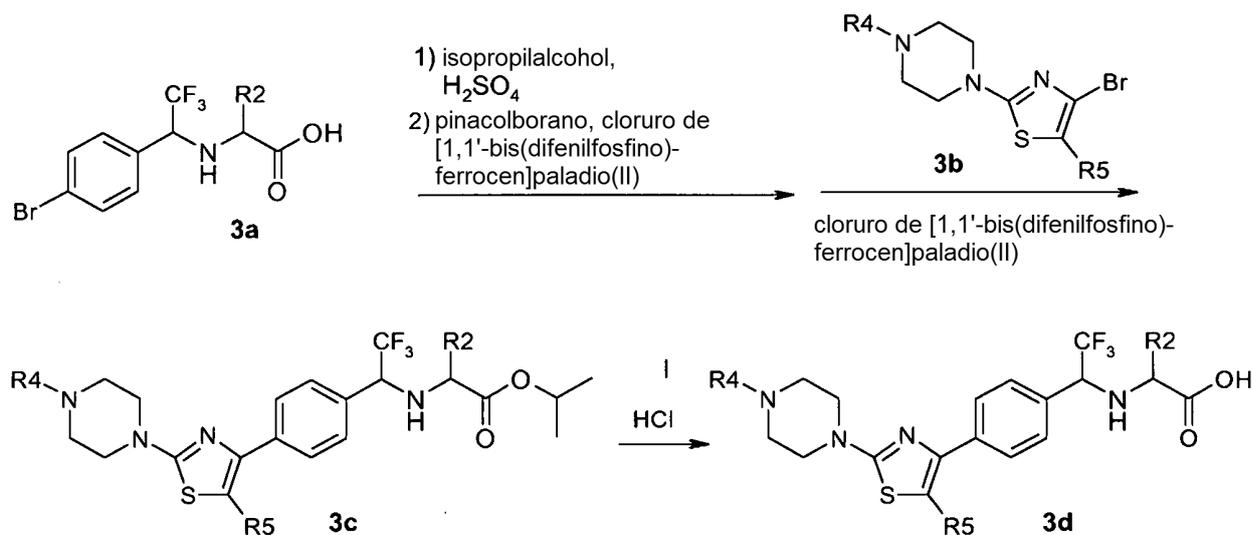


- i. HOAC, Br<sub>2</sub>, TA, 2 h, 55% de rendimiento; ii. KF, 18-corona-6, CH<sub>3</sub>CN, 90°C, 16 h, 31% de rendimiento; iii. HOAC, Br<sub>2</sub>, 45°C, 4 h, 100% de rendimiento; iv. 4-metilpiperazin-1-carbotioamida, etanol, 70°C, 2 h, 74% de rendimiento, v. LiOH, THF, H<sub>2</sub>O, TA, 16 h, 79% de rendimiento.

#### Síntesis de ácido 4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzoico

El material de partida, 4-acetilbenzoato de metilo, está disponible comercialmente. La bromación en la posición  $\alpha$  de la cetona se consigue con bromo en ácido acético para proporcionar el éster metílico de ácido 4-(2-bromo-acetil)-benzoico deseado. El tratamiento posterior del éster metílico de ácido 4-(2-bromo-acetil)-benzoico con fluoruro de potasio en presencia de 18-corona-6 a 90°C, proporciona el éster metílico de ácido 4-(2-fluoro-acetil)-benzoico después de una cromatografía en columna. La bromación repetida en la posición  $\alpha$  de la cetona se consigue con bromo en ácido acético para proporcionar el éster metílico de ácido 4-(2-bromo-fluoro-acetil)-benzoico deseado. La formación del tiazol se lleva a cabo normalmente por calentamiento del éster metílico de ácido 4-(2-bromo-2-fluoro-acetil)-benzoico con 4-metilpiperazin-1-carbotioamida a 70°C durante 2 horas. Al enfriar, el éster metílico de ácido 4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzoico precipita. La desprotección del éster metílico se lleva a cabo utilizando una solución de hidróxido de litio y el ácido deseado, el ácido 4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzoico se obtiene generalmente con un buen rendimiento como la sal diclorhidrato después de reacciones adicionales con ácido clorhídrico.

Los documentos WO05/066159 y WO05/065578 describen la preparación de compuestos en los que las unidades P2 y P3 están unidas entre sí a través de un resto C(CF<sub>3</sub>), incluyendo aquellos en los que P3 es una bifenilsulfona. Un ejemplo de la preparación de un elemento básico P2-P3 de este tipo, adecuado para la preparación de compuestos de fórmula II, en donde R<sub>q</sub> es trifluorometilo y R<sub>q</sub>' es H, se muestra en el esquema 3.



Esquema 3

La protección de la función ácido del derivado de bromo (3a), preparado de acuerdo con el procedimiento descrito en Bioorg. Med. Chem Lett. 2006, 16, 1985, por reacción con, por ejemplo, alcohol isopropílico en presencia de un ácido tal como ácido sulfúrico, proporciona el éster correspondiente. Un derivado de tiazol deseado se puede acoplar entonces al grupo aromático del éster proporcionado utilizando, por ejemplo, condiciones de acoplamiento de Stille o Suzuki. Por ejemplo, el éster del derivado de bromo 3a puede reaccionar con un reactivo de borano tal como pinacolborano en presencia de cloruro de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocen]paladio II para proporcionar el derivado de dioxoborolano correspondiente. La sustitución posterior del grupo borónico por un derivado de tiazol deseado (3b) en presencia de cloruro de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocen]paladio II proporciona entonces el derivado de biarilo (3c). Los derivados de tiazol (3b) se pueden preparar, por ejemplo, como se describe en J. Med. Chem. 2005, 48, 7520-7534. La eliminación del grupo protector de ácido, por ejemplo, mediante tratamiento con un ácido tal como ácido clorhídrico en dioxano, proporciona el elemento básico P2-P3 listo para el acoplamiento con un elemento básico P1, para proporcionar los compuestos de la invención. El documento WO07/006716 muestra la preparación y el acoplamiento de elementos básicos P3 y P3-P2 de este tipo.

La expresión "grupo protector de N" o "protegido en N" tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a aquellos grupos destinados a proteger el extremo N-terminal de un aminoácido o un péptido, o a proteger un grupo amino frente a reacciones indeseables durante los procedimientos sintéticos. Los grupos protectores de N comúnmente utilizados se describen en Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis" (John Wiley & Sons, Nueva York, 1981), que se incorpora en esta memoria como referencia. Los grupos protectores de N incluyen grupos acilo tales como formilo, acetilo, propionilo, pivaloilo, t-butilacetilo, 2-cloroacetilo, 2-bromoacetilo, trifluoroacetilo, tricloroacetilo, ftalilo, o-nitrofenoxiacetilo, α-clorobutirilo, benzoilo, 4-clorobenzoilo, 4-bromobenzoilo, 4-nitrobenzoilo y similares; grupos sulfonilo tales como benzenosulfonilo, p-toluenosulfonilo y similares, grupos formadores de carbamato tales como benciloxicarbonilo, p-clorobenciloxicarbonilo, p-metoxibenciloxicarbonilo, p-nitrobenciloxicarbonilo, 2-nitrobenciloxicarbonilo, p-bromobenciloxicarbonilo, 3,4-dimetoxibenciloxicarbonilo, 4-metoxibenciloxicarbonilo, 2-nitro-4,5-dimetoxibenciloxicarbonilo, 3,4,5-trimetoxibenciloxicarbonilo, 1-(p-bifenilil)-1-metiletoxicarbonilo, α,α-dimetil-3,5-dimetoxibenciloxicarbonilo, benzhidriloxicarbonilo, t-butoxicarbonilo, diisopropilmetoxicarbonilo, isopropiloxicarbonilo, etoxicarbonilo, metoxicarbonilo, aliloxicarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxicarbonilo, fenoxicarbonilo, 4-nitrofenoxicarbonilo, fluorenil-9-metoxicarbonilo, ciclopentiloxicarbonilo, adamantiloxicarbonilo, ciclohexiloxicarbonilo, feniltiocarbonilo y similares; grupos alquilo tales como bencilo, trifenilmetilo, benciloximetilo y similares; y grupos sililo tales como trimetilsililo y similares. Grupos protectores de N preferidos incluyen formilo, acetilo, benzoilo, pivaloilo, t-butilacetilo, fenilsulfonilo, bencilo (bz), t-butoxicarbonilo (BOC) y benciloxicarbonilo (Cbz).

Los grupos protectores de hidroxilo y/o carboxilo también se revisan extensivamente en Greene ibid e incluyen éteres tales como éteres de metilo, éteres de metilo sustituidos, tales como metoximetilo, metiltiommetilo, benciloximetilo, t-butoximetilo, 2-metoxietoximetilo y similares, éteres de sililo tales como éteres de trimetilsililo (TMS), t-butildimetilsililo (TBDMS) tribencilsililo, trifenilsililo, t-butildifenilsililo, triisopropilsililo y similares, éteres de etilo sustituidos, como por ejemplo, éteres de 1-etoximetilo, 1-metil-1-metoxietilo, t-butilo, alilo, bencilo, p-metoxibencilo, difenilmetilo, trifenilmetilo y similares, grupos aralquilo tales como tritilo y pixilo (derivados de 9-hidroxi-9-fenilxanteno, especialmente el cloruro). Grupos éster protectores de hidroxilo incluyen ésteres tales como formiato, bencilformiato, cloroacetato, metoxiacetato, fenoxiacetato, pivaloato, adamantoato, mesitoato, benzoato y similares. Grupos carbonato protectores de hidroxilo incluyen metil vinilo, alilo, cinamilo, bencilo y similares.

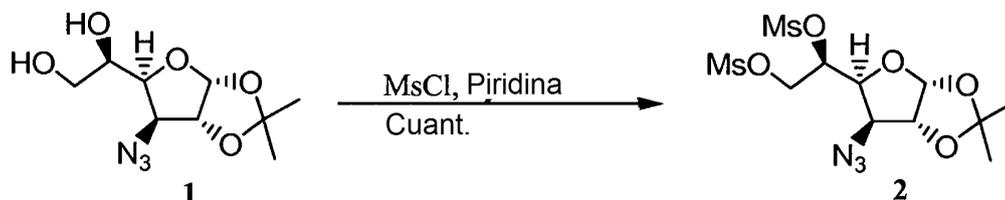
Descripción detallada de las realizaciones

Varias realizaciones de la invención se describirán a continuación, solamente a modo de ilustración haciendo referencia a los siguientes Ejemplos.

### Ejemplo 1

Preparación del elemento básico P1:

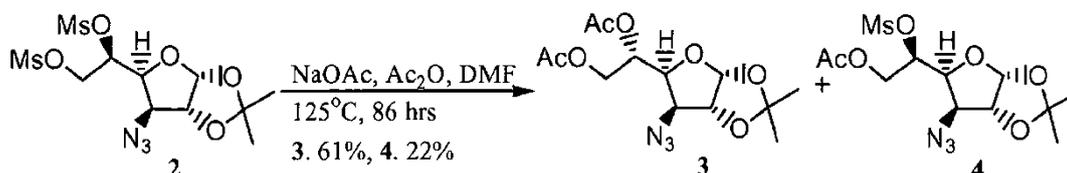
5 Etapa a)



1 (7,0 g, 28,5 mmol) (3-azido-3-desoxi-1,2-O-(1-metiletiliden)-α-D-alofuranosa, preparada como se describe en Tronchet, Jean M. J.; Gentile, Bernard; Ojha-Poncet, Joelle; Moret, Gilles; Schwarzenbach, Dominique; Barbalat-Rey, Françoise; Tronchet, Jeannine Carbohydrate Research (1977), 59(1), 87-93) se disolvió en piridina seca (50 mL) y la solución se enfrió a 0°C. Cloruro de mesilo se añadió lentamente a la solución y se permitió que la solución se calentara hasta temperatura ambiente. La reacción se agitó durante una noche y después de 14 h se añadió MeOH (10 mL) seguido por EtOAc (150 mL). La solución se lavó tres veces con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (ac) 2 M (3 x 100 mL) y dos veces con NaHCO<sub>3</sub> sat. (ac) (2 x 100 mL) y después la fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró al vacío. Después de colocar el producto durante una noche en una bomba de alto vacío para eliminar los disolventes residuales, se obtuvo el producto 2 como un aceite de color amarillo pálido con rendimiento cuantitativo (11,5 g).

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,34 (s, 3H), 1,51 (s, 3H), 3,07 (s, 3H), 3,16 (s, 3H), 4,18 (d, 1H, J = 3,1), 4,36 (dd, 1H, J = 8,6, 3,2), 4,42 (dd, 1H, J = 12,0, 5,0), 4,67 (dd, 1H, J = 11,9, 2,3), 4,74 (d, 1H, J = 3,7), 5,11 (ddd, 1H, J = 8,6, 5,0, 2,3), 5,89 (d, 1H, J = 3,6).

Etapa b)

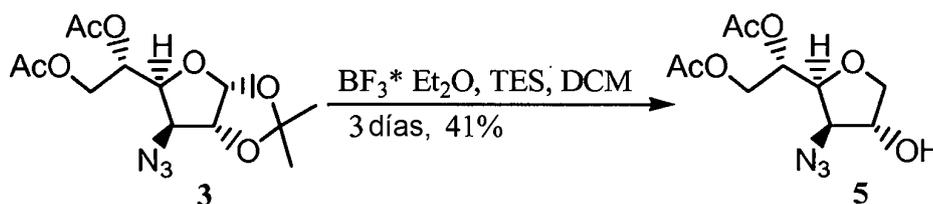


El compuesto 2 (11,5 g, 28,5 mmol) se disolvió en DMF (50 mL). Se añadió NaOAc (23,4 g, 285 mmol) y Ac<sub>2</sub>O (48,6 mL, 0,514 mol) a la solución, que se calentó entonces a 125°C durante 86 h. Una parte del disolvente se eliminó por evaporación rotatoria antes de la adición de 500 mL de EtOAc. La solución muy oscura se filtró a través de Celite. La fase orgánica se lavó a continuación con H<sub>2</sub>O (3 x 350 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y el disolvente se retiró por evaporación rotatoria. Los productos crudos se purificaron mediante cromatografía instantánea en columna (heptano:acetato de etilo 7:3 -> 2:1) proporcionando el compuesto 3 deseado con un rendimiento del 61% (5,70 g) y el compuesto 4 con un rendimiento del 22% (2,34 g).

Compuesto 3: <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,34 (s, 3H), 1,53 (s, 3H), 2,09 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 3,94 (d, 1H, J = 3,4), 4,19 (dd, 1H, J = 12,2, 5,0), 4,32 (dd, 1H, J = 8,0, 3,3), 4,37 (dd, 1H, J = 12,3, 3,5), 4,73 (d, 1H, J = 3,6), 5,32-5,37 (m, 1H), 5,94 (d, 1H, J = 3,8).

Compuesto 4: <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,34 (s, 3H), 1,51 (s, 3H), 2,10 (s, 3H), 3,10 (s, 3H), 4,11 (d, 1H, J = 3,6), 4,21 (dd, 1H, J = 12,8, 6,2), 4,32 (dd, 1H, J = 8,3, 3,2), 4,65 (dd, 1H, J = 12,7, 2,2), 4,73 (d, 1H, J = 3,5), 5,09 (ddd, 1H, J = 8,3, 6,1, 2,3), 5,89 (d, 1H, J = 3,5).

Etapa c)

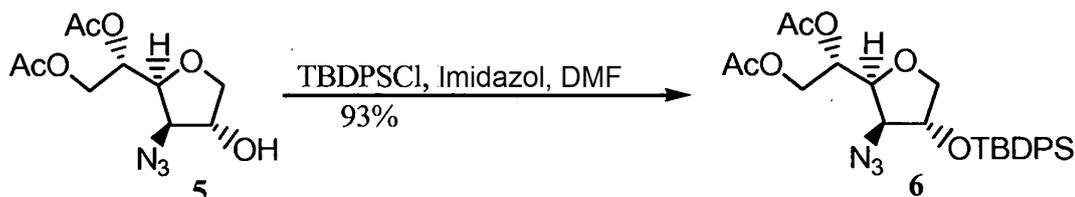


Se añadió trietilsilano (27,6 mL, 173 mmol) al compuesto 3 (5,70 g, 17,3 mmol) disuelto en DCM seco (40 mL). El matraz de fondo redondo se colocó bajo una atmósfera inerte (N<sub>2</sub>) en un baño de hielo, y se dejó enfriar, antes de la

adición lenta de  $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$  (23,1 mL, 173 mmol). La reacción procedió lentamente y se agitó durante 3 días. Después de este tiempo, el material de partida estaba todavía presente. La adición lenta de  $\text{NaHCO}_3$  (sat, ac) (70 mL) estuvo seguida por la adición de cucharadas de  $\text{NaHCO}_3$  sólido hasta que cesó el desarrollo de gases. La fase acuosa se extrajo con DCM (150 mL) y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  (sat, ac) (70 mL) añadiendo posteriormente  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (sat, ac) (70 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (heptano:acetato de etilo (2:1) para proporcionar un rendimiento del 41% (1,95 g) del compuesto **5**. Se aislaron también 0,69 g de material de partida inalterado.

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 2,08 (s, 3H), 2,11 (s, 3H), 3,72 (dd, 1H,  $J = 10,0, 2,6$ ), 3,95 (dd, 1H,  $J = 4,6, 2,1$ ), 4,17-4,27 (m, 3H), 4,37 (dd, 1H,  $J = 12,1, 3,7$ ), 4,52- 4,57 (m, 1H), 5,26- 5,31 (m, 1H).

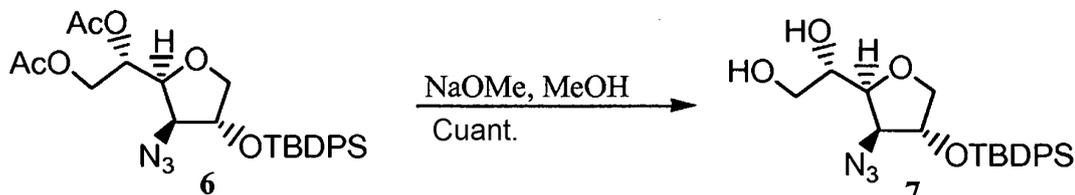
10 Etapa d)



Se añadió imidazol (1,46 g, 21,4 mmol) a una solución del compuesto **5** (1,95 g, 7,14 mmol) en DMF (50 mL). TBDPSCI se añadió después de un par de minutos y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió acetato de etilo (200 mL) a la reacción y la solución se lavó con ácido cítrico (ac) al 10% (3 x 50 mL) y  $\text{NaHCO}_3$  (sat, ac) (50 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (heptano:acetato de etilo (4:1) para proporcionar **6** con un rendimiento del 92% (3,39 g).

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 1,09 (s, 9H), 2,04 (s, 3H), 2,05 (s, 3H), 3,71 (dd, 1H,  $J = 4,3, 2,1$ ), 3,78 (dd, 1H,  $J = 9,5, 2,2$ ), 3,99 (dd, 1H,  $J = 9,6, 4,6$ ), 4,12 (dd, 1H,  $J = 12,2, 5,1$ ), 4,28- 4,33 (m, 2H), 4,36- 4,40 (m, 1H), 5,17- 5,22 (m, 1H), 7,37- 7,51 (m, 6H), 7,58- 7,74 (m, 4H).

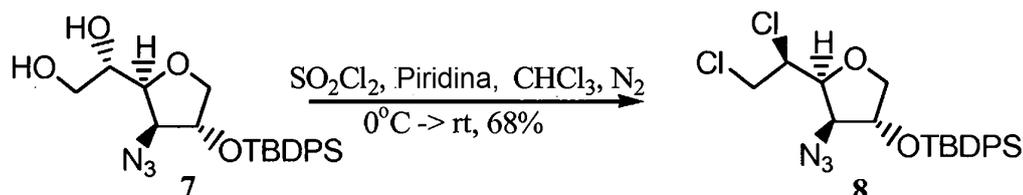
20 Etapa e)



NaOMe (10 mL, 0,5 M en MeOH) se añadió a una solución de **6** (3,39 g, 6,63 mmol) disuelto en MeOH (60 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h antes de neutralizar la solución mediante la adición de Dowex 50 WX8 (forma  $\text{H}^+$ ) hasta que se alcanzó un pH neutro. Las perlas se separaron por filtración y el disolvente se retiró por evaporación rotatoria seguida de alto vacío. El producto **7** se obtuvo con un rendimiento cuantitativo (2,66 g).

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 1,08 (s, 9H), 3,64 (dd, 1H,  $J = 11,5, 5,5$ ), 3,71 (dd, 1H,  $J = 11,4, 3,9$ ), 3,73- 3,77 (m, 2H), 3,85- 3,90 (m, 1H), 3,95 (dd, 1H,  $J = 9,6, 4,7$ ), 4,15 (dd, 1H,  $J = 6,1, 4,2$ ), 4,39- 4,43 (m, 1H), 7,37- 7,51 (m, 6H), 7,58- 7,74 (m, 4H).

30 Etapa f)

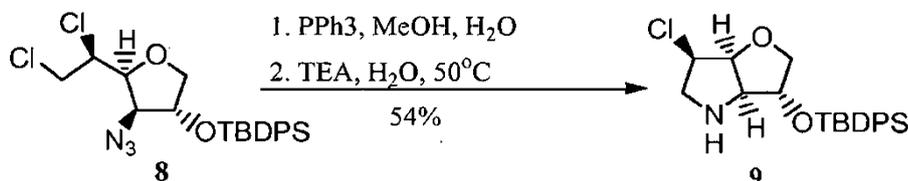


El compuesto **7** (1,4 g, 3,27 mmol), se disolvió en cloroformo (10 mL) y piridina (4,77 mL, 58,9 mmol), se enfrió en un baño de hielo seco, acetona. Se añadió  $\text{SO}_2\text{Cl}_2$  (1,56 mL, 19,6 mmol) y se retiró el baño a partir de entonces. La mezcla de reacción se agitó durante una noche y se volvió más oscura con el tiempo. Después de 16 h, la mezcla de reacción se diluyó con DCM (15 mL) y se lavó con ácido cítrico al 10% (ac) (15 mL) y  $\text{NaHCO}_3$  (sat, ac) (15 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró al vacío. El aceite marrón se disolvió en MeOH (10 mL) y aprox. 0,5 mL de NaI (0,8% en MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1)) se añadieron a la solución que se agitó durante 15 minutos. Después, el disolvente se evaporó y el producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (hep-

tano:acetato de etilo (4:1) para proporcionar un rendimiento del 68% de compuesto **8**.

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 1,10 (s, 9H), 3,80- 3,85 (m, 2H), 3,89 (dd, 1 H,  $J = 12,1, 5,8$ ), 3,96 (dd, 1H,  $J = 9,7, 3,8$ ), 4,00 (dd, 1H,  $J = 12,3, 2,6$ ), 4,15 (ddd, 1H,  $J = 9,7, 5,9, 2,6$ ), 4,32- 4,36 (m, 2H), 7,35- 7,52 (m, 6H), 7,58- 7,75 (m, 4H)

5 Etapa g)

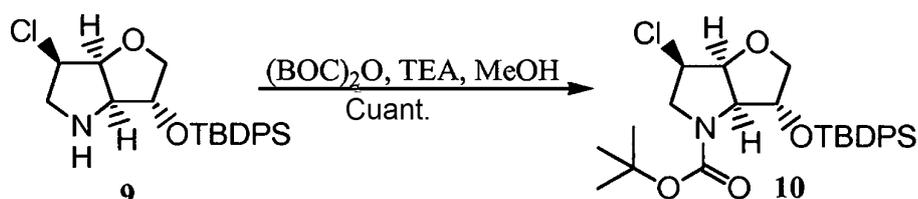


Se añadió  $\text{PPh}_3$  (882 mg, 3,36 mmol) a una solución del compuesto **8** (1,04 g, 2,24 mmol) disuelto en MeOH (50 mL) y  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. LC-MS mostró que no había material de partida pero muy poco producto ciclado. TEA (9,38 mL, 67,2 mmol) y  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL) se añadieron a la solución que se calentó a  $50^\circ\text{C}$ . Después de 4 h, LC-MS no mostró aminas sin ciclar. El disolvente se evaporó y se purificó el producto crudo mediante cromatografía instantánea (heptano:acetato de etilo (3:2)) para proporcionar el producto **9** con un rendimiento del 54% (0,49 g). LRMS (M+H) 402.

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 1,06 (s, 9H), 2,71 (dd, 1H,  $J = 11,1, 10,4$ ), 3,18 (dd, 1H,  $J = 11,2, 7,0$ ), 3,73 (d, 1H,  $J = 4,7$ ), 3,78 (dd, 1H,  $J = 9,8, 3,5$ ), 3,84 (dd, 1H,  $J = 9,8, 2,0$ ), 3,95 (ddd, 1H,  $J = 10,2, 7,1, 4,1$ ), 4,16- 4,19 (m, 1H), 4,66 (dd, 1H,  $J = 4,4, 4,4$ ), 7,35-7,46 (m, 6H), 7,61-7,67 (m, 4H).

15

Etapa h)

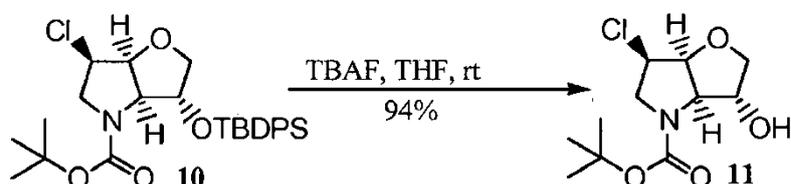


Anhidrido de BOC (0,52 g, 2,40 mmol) se añadió a una solución del compuesto **9** (0,48 g, 1,20 mmol) disuelto en 50 mL de MeOH:TEA (9:1). La reacción se agitó durante una noche y después el disolvente se eliminó mediante concentración a vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (heptano:acetato de etilo (4:1-> 2:1)) para proporcionar el producto **10** con un rendimiento cuantitativo (0,60 g).

20

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 1,07 (s, 9H), 1,24- 1,46 (m, 9H)\*, 3,05 (dd, 1H,  $J = 10,4, 10,4$ ), 3,56 (d, 1H,  $J = 9,7$ ), 3,70- 3,89 (m, 1H)\*, 3,90- 4,15 (m, 2H)\*, 4,24- 4,89 (m, 3H)\*, 7,34- 7,47 (m, 6H), 7,59- 7,78 (m, 4H). \* Indica rotámeros.

Etapa i)



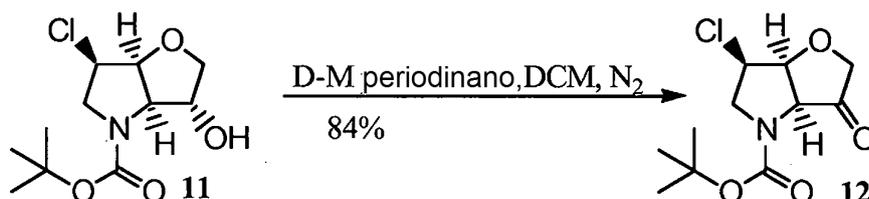
25

Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio (1,79 mL, 1,79 mmol) a una solución del compuesto **10** (0,60 g, 1,19 mmol) disuelto en THF (12 mL). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h antes de eliminar el disolvente por concentración a vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (heptano:acetato de etilo (1:1 -> 0:1)) y se obtuvo un rendimiento del 94% (0,29 g) de compuesto **11**.

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 1,45- 1,52 (m, 9H)\*, 3,16- 3,32 (m, 1H)\*, 3,83- 4,22 (m, 5H)\*, 4,41- 4,54 (m, 1H)\*, 4,66- 4,71 (m, 1H)\*. \* Indica rotámeros.

30

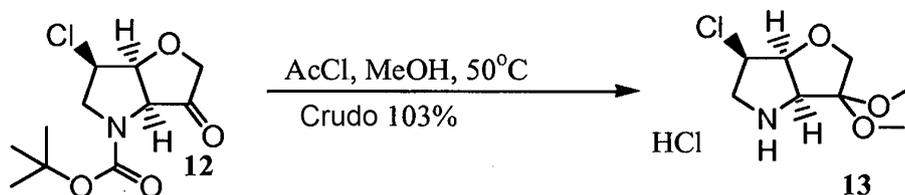
Etapa j)



Se añadió periodinano de Dess-Martin (0,60 g, 1,42 mmol) a una solución del compuesto **11** (0,34 g, 1,29 mmol) disuelto en DCM seco. La reacción se agitó bajo atmósfera de N<sub>2</sub> durante 2 h, cuando se estimó que la reacción se había completado por tlc. La solución se lavó 3 veces (3 x 20 mL) con una mezcla 1:1 de 10% de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (ac) y NaHCO<sub>3</sub> (sat, ac). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea (heptano:acetato de etilo (3:1) para proporcionar un rendimiento del 84% (284 mg) de compuesto **12**.

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 1,48 (s, 9H), 3,45 (dd, 1H, J = 11,3, 9,0), 4,01 - 4,17 (m, 2H), 4,19- 4,41 (m, 3H), 4,68-4,87 (m, 1H).

Etapa k)



Una solución mezclada previamente de AcCl (42 µL, 0,601 mmol) y MeOH (5 mL) se añadió a una solución del compuesto **12** (263 mg, 1,01 mmol). Después de agitar durante 2 h, se añadió AcCl adicional (0,98 mL, 14 mmol) y de nuevo después de agitar durante 16 h, se añadió AcCl adicional (9,8 mL, 140 mmol). La reacción se completó poco después, se concentró a vacío y posteriormente cualquier disolvente residual se eliminó mediante alto vacío para proporcionar un rendimiento crudo del 103% (253 mg) de compuesto **13**.

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) 3,34 (s, 3H), 3,40 (s, 3H), 3,76 (d, 1H, J = 10,6), 3,72- 3,90 (m, 1H), 4,15 (d, 1H, J = 10,4), 4,34 (d, 1H, J = 4,6), 4,50- 4,60 (m, 1H), 4,69- 4,75 (m, 1H), 4,83 (s, 1H).

### Ejemplo 2

Acoplamiento de P-2 con L-Leu

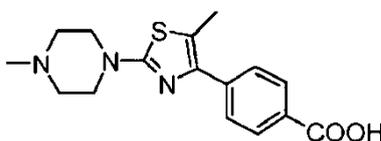


Se añadió DIEA (304 µL, 1,84 mmol) y BOC-Leu (117 mg, 0,506 mmol) al crudo **13** (112 mg, 0,460 mmol), se disolvió en DMF (6 mL). El matraz de reacción se enfrió en un baño de hielo durante 10 minutos antes de la adición de HATU (193 mg, 0,506 mmol). La reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente antes de concentrar a vacío. El residuo crudo se disolvió en CHCl<sub>3</sub> (15 mL) y se lavó con ácido cítrico (ac) al 10% (10 mL) y NaHCO<sub>3</sub> (sat, ac) (10 mL). La fase orgánica se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea (heptano:acetato de etilo (2:1-> 1:1) para proporcionar el producto **14** con un rendimiento del 62% (121 mg).

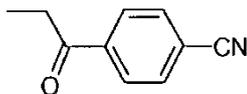
### Ejemplo 3

Elemento básico P3

Ácido 4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzoico



## Etapa a) 4-Cianopropiofenona



5 Como se ha descrito para la preparación de 4-cianoacetofenona (*Synth. Commun* 1994, 887-890), una mezcla de 4-bromopropiofenona (5,65 g, 26,4 mmol),  $Zn(CN)_2$  (1,80 g, 15,3 mmol) y  $Pd(PPh_3)_4$  (2,95 g, 2,6 mmol) se calentó a reflujo a 80°C en DMF desoxigenada (35 mL, almacenada sobre tamices moleculares de 4 Å, burbujeada con Ar antes del uso) durante 18 h. La mezcla se repartió entre tolueno (100 mL) y  $NH_4OH$  2 N (100 mL). La fase orgánica se extrajo con  $NH_4OH$  2 N (100 mL), se lavó con NaCl acuoso saturado (2 x 100 mL), se secó y se concentró a vacío. Una reacción a escala 10 mmol se realizó de manera similar y los productos crudos se combinaron. La cromatografía instantánea (330 g de sílice, 6/1 de éter de petróleo - EtOAc) proporcionó el compuesto deseado como un sólido blanco (5,17 g, 89%).

10  $^1H$  RMN ( $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm: 1,22 (t, 3H, J = 7,2 Hz), 3,00 (c, 2H, J = 7,3 Hz), 7,75 (d, 2H, J = 8,8 Hz), 8,03 (d, 2H, J = 8,4 Hz)

$^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm: 7,8, 32,1, 116,1, 117,9, 128,3, 132,4, 139,7, 199,2

## Etapa b) Ácido 4-propionilbenzoico

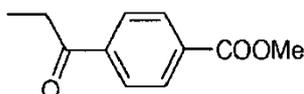


15 4-Cianopropiofenona (4,67 g, 29,3 mmol) se calentó a reflujo con  $NaOH$  2 N (90 mL, 180 mmol) y dioxano (90 mL) a 95°C durante una noche. La mezcla se diluyó con agua (150 mL), se lavó con éter (75 mL), se acidificó a pH 2 con HCl concentrado, y se extrajo con éter (3 x 75 mL). La fase orgánica se lavó con NaCl acuoso saturado (3 x 75 mL), se secó y se concentró para proporcionar un sólido amarillo (5,12 g, 98%).

20  $^1H$  RMN ( $CDCl_3 + CD_3OD$ )  $\delta$  ppm: 1,18 (t, 3H, J = 7,2 Hz), 2,99 (c, 2H, J = 7,1 Hz), 7,95 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 8,08 (d, 2H, J = 8,8 Hz)

$^{13}C$  RMN ( $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm: 7,9, 32,1, 127,7, 130,0, 134,0, 140,0, 168,0, 200,8

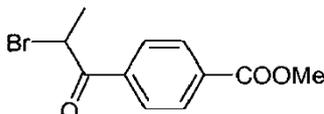
## Etapa c) 4-Propionilbenzoato de metilo



25 El ácido benzoico anterior (890 mg, 5 mmol),  $NaHCO_3$  (1,26 g, 15 mmol) y yodometano (935  $\mu$ L, 15 mmol) en DMF (10 mL) se agitaron a TA durante una noche. La mezcla se diluyó con NaCl acuoso saturado (50 mL) y se extrajo con éter (3 x 50 mL). La fase orgánica se lavó con agua (50 mL), se secó y se concentró. La cromatografía instantánea (90 g de sílice, 2/1 de éter de petróleo - EtOAc) proporcionó un sólido blanco (744 mg, 77%).

$^1H$  RMN ( $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm: 1,24 (t, 3H, J = 7 Hz), 3,03 (c, 2H, J = 7 Hz), 3,95 (s, 3H), 8,0 y 8,12 (ABc, 4H)

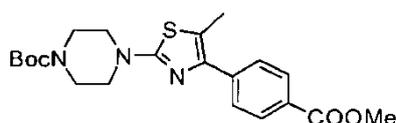
## 30 Etapa d) 4-(2-Bromopropionil)benzoato de metilo



35 4-Propionilbenzoato de metilo (744 mg, 3,87 mmol), tribromhidrato de pirrolidona (1,98 g) y 2-pirrolidinona (380 mg, 4,5 mmol) en THF (38 mL) se calentaron a 50°C bajo atmósfera de nitrógeno durante 3 h. La mezcla se enfrió, se filtró, se concentró a vacío, y luego se volvió a disolver en éter (50 mL). La solución de éter se lavó sucesivamente con agua (20 mL),  $Na_2S_2O_5$  saturado acuoso (20 mL), NaCl saturado acuoso (20 mL) y agua (20 mL), se secó y se concentró a vacío para proporcionar un aceite amarillo (1,025 g) que se usó directamente en el acoplamiento de Hantzsch. Este material contenía 91% de la bromocetona deseada, 5% de la cetona de partida y 4% de 4-bromo-1-butanol, según lo determinado por  $^1H$  RMN.

$^1H$  RMN ( $CDCl_3$ )  $\delta$  ppm: 1,92 (d, 3H, J = 7 Hz), 3,96 (s, 3H), 5,28 (c, 1H, J = 7 Hz), 8,07 y 8,14 (ABc, 4H)

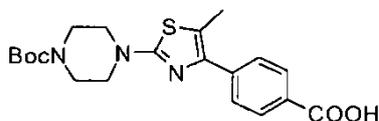
40 Etapa e) Éster metílico de ácido 4-[2-(4-*tert*-butoxicarbonilpiperazin-1-il)-5-metilthiazol-4-il]benzoico



5 Toda la  $\alpha$ -bromocetona anterior y el éster terc-butílico de ácido 4-tionocarbonilpiperazin-1-carboxílico (*J. Med. Chem.*, 1998, 5037-5054, 917 mg, 3,73 mmol) se sometió a reflujo en 36 mL de THF a 70°C durante 2 h, bajo atmósfera de N<sub>2</sub>. El material precipitado se filtró y el filtrado se concentró a vacío para proporcionar un sólido amarillo. La cromatografía instantánea en columna (sílice, éter de petróleo 5/1 - EtOAc) proporcionó 624 mg de sólidos de color amarillo claro. La cromatografía del precipitado (sílice, 2/1 éter de petróleo - EtOAc) proporcionó otros 32 mg de compuesto. El rendimiento total es del 44%.

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 1,46 (s, 9H), 2,43 (s, 3H), 3,42, (m, 4H), 3,54 (m, 4H), 3,90 (s, 3H), 7,68 y 8,04 (ABc, 4H).

Etapa f) Ácido 4-[2-(4-*tert*-butoxicarbonilpiperazin-1-il)-5-metiltiazol-4-il]benzoico



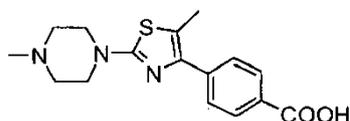
10 El éster metílico anterior (564 mg, 1,35 mmol) se calentó con 1,35 mL de NaOH 2 N, 5 mL de THF y 3,65 mL de agua a 60°C durante 4 h. La mezcla de reacción se evaporó, se vertió en 20 mL de NaCl saturado acuoso y 20 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, y después se acidificó a pH 3 con ácido cítrico al 5%, en un baño de hielo. Las capas se separaron y la fase orgánica se extrajo adicionalmente con 2 x 10 mL de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (10 mL), se secaron y se concentraron a vacío para proporcionar un sólido amarillo claro (537 mg, 98%).

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 1,48 (s, 9H), 2,47 (s, 3H), 3,47 (m, 4H), 3,57 (m, 4H), 7,74 y 8,12 (ABc, 4H).

<sup>13</sup>C RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm: 12,6, 28,3, 42,8, 48,1, 80,3, 119,1, 127,8, 128,2, 130,1, 140,5, 145,6, 154,6, 167,2, 171,4.

LCMS: (M + H)<sup>+</sup> 404, (M - H)<sup>-</sup> 402.

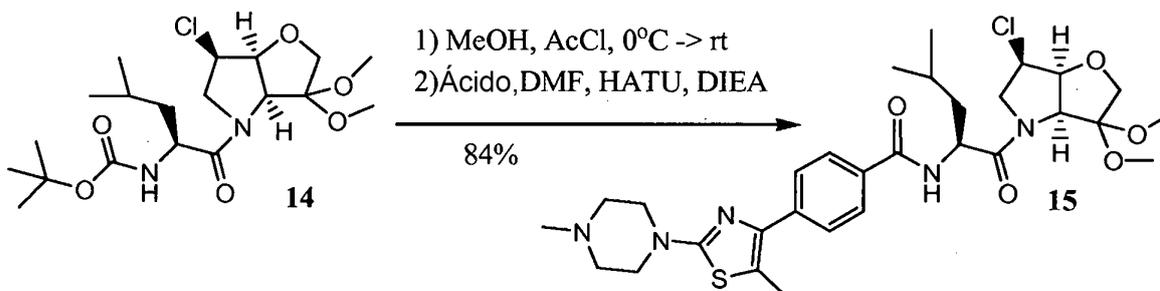
Etapa g) Ácido 4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzoico



20 El éster terc-butílico de ácido 4-[4-(4-carboxifenil)-5-metiltiazol-2-il]-piperazin-1-carboxílico (0,421 mmol) se disolvió en HCl 4 M en 1,4-dioxano, y se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Después, el disolvente se eliminó a vacío, y el residuo ácido 4-(5-metil-2-piperazin-1-il-tiazol-4-il)-benzoico se suspendió en metanol (10 mL) y se trató con tampón AcOH/AcONa (pH ~5,5, 5 mL) y formaldehído (0,547 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, después se trató con NaCNBH<sub>3</sub> (0,547 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después, el disolvente se eliminó a vacío, y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto del título (0,403 mmol, 95%).

MS(ES) m/z 318 (100%, [M+H]<sup>+</sup>).

#### Ejemplo 4

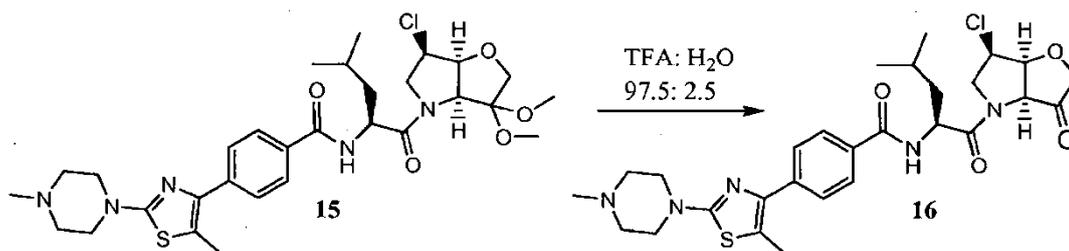


30 Se añadió cloruro de acetilo (0,4 mL) gota a gota a una solución del compuesto **14** (0,121 g, 0,288 mmol) en metanol (4 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó después a temperatura ambiente durante una noche, y después se concentró a vacío. El residuo se volvió a disolver dos veces en DMF seca (5 mL) y se concentró hasta sequedad, después se disolvió de nuevo en DMF (6 mL). Se añadió HCl de ácido 4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-

benzoico (112 mg, 0,316 mmol) y DIEA (190  $\mu$ L, 1,15 mmol) a la solución antes de enfriar a 0°C y se añadió HATU (120 mg, 0,316 mmol). La reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente antes de eliminar el disolvente por evaporación rotatoria. La mezcla cruda se disolvió en  $\text{CHCl}_3$  (15 mL) y se lavó con ácido cítrico (ac) al 10% (10 mL) y  $\text{NaHCO}_3$  (sat, ac) (10 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se evaporó. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (acetato de etilo:acetona 1:1 + 0,2% de TEA) para proporcionar el producto como un aceite/sólido incoloro con un rendimiento del 84% (150 mg). LRMS (M+H) 620.

RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) para el rotámero mayoritario (13:1 mezcla de rotámeros): 0,98 (d, 3H,  $J = 6,5$ ), 1,04 (d, 3H,  $J = 6,4$ ), 1,55- 1,89 (m, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,42 (s, 3H), 2,49- 2,54 (m, 2H), 3,25 (s, 3H), 3,43 (s, 3H), 3,45- 3,51 (m, 3H), 3,72 (d, 1H,  $J = 10,5$ ), 3,91 (d, 1H,  $J = 10,5$ ), 4,05- 4,15 (m, 1H), 4,46- 4,53 (m, 1H), 4,59 (dd, 1H,  $J = 5,2, 5,1$ ), 4,74 (d, 1H,  $J = 5,6$ ), 4,96- 5,04 (m, 1H), 6,83 (d, 1H,  $J = 8,0$ ), 7,68 (d, 2H,  $J = 8,3$ ), 7,79 (d, 2H,  $J = 8,5$ ).

#### Ejemplo 5

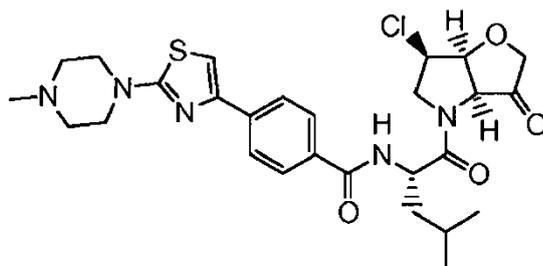


El compuesto **15** (137 mg, 0,220 mmol) se disolvió en 20 mL de TFA:H<sub>2</sub>O (97,5:2,5) y se agitó durante 4 horas. El disolvente se eliminó a vacío y el producto crudo se absorbió previamente sobre sílice para purificarlo mediante cromatografía instantánea en columna (EtOAc:acetona (1:2) con 0,2% de TEA) para proporcionar el producto (liofilizado a partir de dioxano) en forma de un sólido de color blanquecino con un rendimiento del 71% (90 mg).

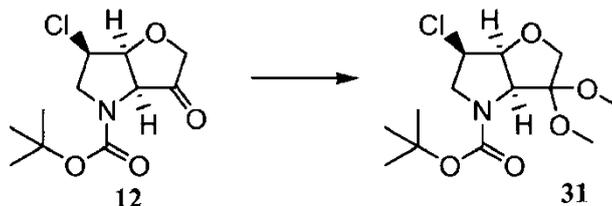
RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) para el rotámero mayoritario (10:1 mezcla de rotámeros): 0,98 (d, 3H,  $J = 6,5$ ), 1,02 (d, 3H,  $J = 6,2$ ), 1,58- 1,86 (m, 3H), 2,34 (s, 3H), 2,42 (s, 3H), 2,50- 2,54 (m, 2H), 3,44- 3,53 (m, 2H), 3,68 (dd, 1H,  $J = 10,4, 8,8$ ), 4,11 (d, 1H,  $J = 17,2$ ), 4,29 (d, 1H,  $J = 17,3$ ), 4,36- 4,44 (m, 1H), 4,59 (dd, 1H,  $J = 10,5, 7,1$ ), 4,81 (d, 1H,  $J = 5,8$ ), 4,87- 4,97 (m, 2H), 6,83 (d, 1H,  $J = 7,9$ ), 7,68 (d, 2H,  $J = 8,4$ ), 7,79 (d, 2H,  $J = 8,5$ ).

#### Ejemplo 6

N-[(S)-1-((3aS,6R,6aS)-6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzamida



25 Etapa a)

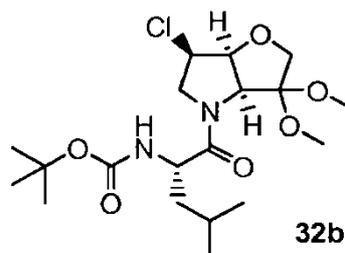


A una solución agitada de compuesto **12** crudo (aproximadamente 0,56 mmol) en ortoformiato de trimetilo (0,8 mL) y metanol (3 mL) se añadió monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (p-TsOH, 0,007 g, 0,037 mmol), después se calentó a 50°C durante una noche. La mezcla de reacción se controló después mediante TLC (3:2 de hexano:acetato de etilo, tinción con ninhidrina). La mezcla de reacción se calentó a 60°C y se añadió un total de 21 mg de p-TsOH durante 4 h, lo que proporcionó el cetal no protegido con Boc como el producto mayoritario (indicado por TLC). La mezcla de reacción se enfrió después a temperatura ambiente y se añadió trietilamina (0,32 mL, 2,24 mmol) seguido de dicarbonato de di-*tert*-butilo (0,184 g, 0,84 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 2,5 h, después se concentró a vacío y se preabsorbió sobre sílice. La cromatografía instantánea

nea en columna del residuo (elución en gradiente por etapas, acetato de etilo en hexano, 20-25%), seguida de concentración a vacío de las fracciones adecuadas y la eliminación del disolvente residual por secado adicional en una línea de vacío durante una noche, proporcionó el producto **31** en forma de un sólido blanquecino (0,069 g, 0,022 mmol, 40% en 2 etapas).

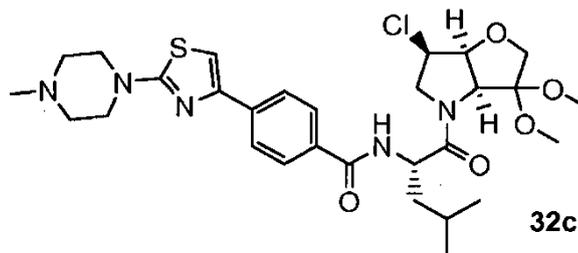
- 5 Datos de RMN (400 MHz, 298 K, CDCl<sub>3</sub>): <sup>1</sup>H, δ 1,47 (s, 9 H), 3,16 (m, 1 H), 3,30 (s, 3 H), 3,37 (s, 3 H), 3,72 (d, 1 H, J 9,3 Hz), 3,86 (m, 1 H), 3,98 (m, 1 H), 4,15 (m, 1 H), 4,44 (d, 1 H, J 5,4 Hz), 4,61 (m, 1 H).

Etapa b)



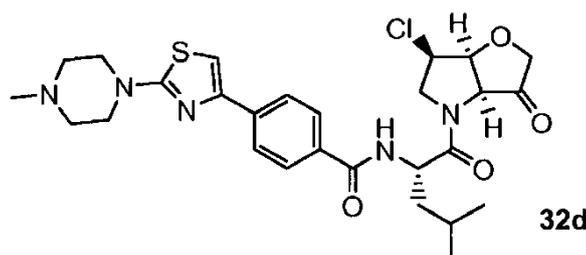
- 10 A una solución agitada de compuesto **31** (0,074 g, 0,24 mmol) en metanol (2,7 mL) a 0°C se añadió gota a gota cloruro de acetilo (0,3 mL) durante 1 minuto. La mezcla de reacción se controló por TLC (hexano-acetato de etilo 3:2 y diclorometano-metanol 95:5, tinción con ninhidrina) y después de 4,5 h, el material de partida se había consumido completamente. La mezcla de reacción se concentró después a vacío, a continuación, se volvió a disolver en dioxano con unas pocas gotas de H<sub>2</sub>O y se liofilizó. El sólido blanquecino amorfo obtenido y *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-L-leucina monohidrato (0,066 g, 0,26 mmol) se disolvió en DMF (3 mL) y se concentró a vacío. Después, el residuo se redisolvió en DMF (3 mL) y se añadió *N*-etil-diisopropilamina (0,13 mL, 0,72 mmol). A esta solución se añadió hexafluorofosfato de *N*-O-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio (HATU, 0,12 g, 0,31 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se mantuvo a 0°C durante 40 min, y 75 minutos adicionales a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó después con acetato de etilo (25 mL), se lavó sucesivamente con ácido cítrico ac. al 10% (3 x 15 mL) e hidrogenocarbonato sódico saturado ac. (3 x 15 mL) y luego se secó (sulfato de sodio), se filtró y se concentró a vacío. La cromatografía instantánea en columna sobre gel de sílice del residuo usando 2:1 de hexano-acetato de etilo como eluyente, seguido de concentración a vacío de las fracciones apropiadas, proporcionó el compuesto **32b** como un jarabe incoloro (0,089 g, 0,21 mmol, 88%) que se utilizó directamente en la siguiente etapa.

Etapa c)



- 25 A una solución del compuesto **32b** (0,089 g, 0,21 mmol) en metanol (2,7 mL) a 0°C, se añadió gota a gota cloruro de acetilo (0,3 mL) durante 0,5 minutos. La mezcla de reacción se agitó después a TA durante 5,5 h (supervisada con TLC: diclorometano-metanol 95:5, se tiñó utilizando molibdato de amonio-sulfato de cerio en ácido sulfúrico ac. al 10%), y después se concentró a vacío. El residuo se volvió a disolver en dioxano (5 mL) y se añadió una pequeña cantidad de agua, y a continuación se liofilizó la solución. El sólido incoloro amorfo obtenido y la sal HBr de ácido 4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)tiazol-4-il]benzoico (0,089 g, 0,23 mmol) se disolvió en DMF (3 mL) y a continuación se añadió *N*-etil-diisopropilamina (0,15 mL, 0,85 mmol) y después la solución se enfrió a 0°C y se añadió HATU (0,105 g, 0,275 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 h y una 1 h adicional a temperatura ambiente (supervisada con TLC: diclorometano-metanol 95:5, visualizada con luz UV y tinción utilizando molibdato de amonio-sulfato de cerio en ácido sulfúrico ac. al 10%). La mezcla de reacción se diluyó después con acetato de etilo (25 mL), se lavó con 3:1 hidrogenocarbonato de sodio saturado/salmuera (3 x 20 mL), después se secó (sulfato de sodio), se filtró y se concentró a vacío. La cromatografía instantánea en columna del residuo utilizando elución en gradiente por etapas (metanol en diclorometano, 0-5%), seguida de concentración a vacío de las fracciones apropiadas y liofilización a partir de dioxano (5 mL) y unas pocas gotas de agua, proporcionó el producto **32c** como un sólido amorfo incoloro (0,121 g, 0,20 mmol, 94%).

- 40 Etapa d)

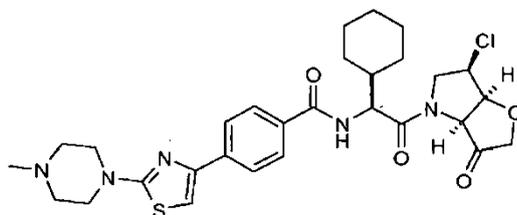


32d

- A **32c** (0,114 g, 0,188 mmol) se añadió una solución de 97,5:2,5 de TFA:agua (6 mL) a TA, la solución obtenida se controló por LC-MS y después de agitar durante 2 h a temperatura ambiente la mezcla de reacción se concentró a vacío. El residuo se volvió a disolver en acetato de etilo (25 mL), se lavó con hidrogenocarbonato sódico saturado ac. (3 x 15 mL) y salmuera (1 x 15 mL), después se secó (sulfato de sodio), se filtró y se concentró a vacío. El residuo obtenido como un sólido amorfo se disolvió en DMSO-acetonitrilo-agua-dioxano (aprox. 12 ml) y se purificó por HPLC preparativa-MS (Columna: Sunfire 19 x 100 mm (C<sub>18</sub>), eluyente A: acetato de amonio 10 mM en agua, eluyente B: acetato de amonio 10 mM en 9:1 de acetonitrilo-agua, gradiente: 30% de B a 80% de B en 8 minutos, flujo: 20 mL/min). Las fracciones apropiadas se concentraron a vacío. El residuo se volvió a disolver en dioxano con unas gotas de agua, se congeló y se liofilizó, proporcionando el compuesto **32d** como un sólido amorfo amarillo blanquecino (0,055 g, 0,10 mmol, 52%). Una parte alícuota del producto obtenido se disolvió en CDCl<sub>3</sub> y se analizó por RMN, lo que indicaba que el producto salía en la forma ceto (forma de hidrato indetectable) en una mezcla 9:1 de rotámeros. Los datos de RMN se refieren al rotámero mayoritario. Cuando se analizó por HPLC-MS, la forma de hidrato es la forma mayoritaria.
- Datos de RMN (500 MHz, 293 K, CDCl<sub>3</sub>): <sup>1</sup>H, δ 0,96 (d, 3 H, CH<sub>3</sub>-CH), 1,02 (d, 3 H, CH<sub>3</sub>-CH) 1,62-1,78 (m, 3 H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2,37 (s, 3 H, CH<sub>3</sub>-N), 2,56 (m, 4 H, 2 x CH<sub>2</sub>-N), 3,59 (m, 4 H, 2 x CH<sub>2</sub>-N), 3,70 (m, 1 H, CHH-CHCl), 4,13 (d, 1 H, CHH-O), 4,31 (d, 1 H, CHH-O), 4,42 (m, 1 H, CHCl), 4,60 (m, 1 H, CHH-CHCl), 4,82 (m, 1 H, CHCl-CH), 4,90-4,96 (m, 2 H, CH-C=O y CHNH), 6,85-6,89 (m, 2 H, NH y tiazol-H), 7,78 (d, 2 H, Ar-H), 7,89 (d, 2 H, Ar-H). LR-MS: Calculado para C<sub>27</sub>H<sub>35</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S: 560,2. Encontrado: 560,3 [M+H], Calculado para C<sub>27</sub>H<sub>37</sub>ClN<sub>5</sub>O<sub>5</sub>S: 578,2. Encontrado: 578,3.

### Ejemplo 7

N-[2-((3aS,6R,6aS)-6-Cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-S-ciclohexil-2-oxo-etil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida

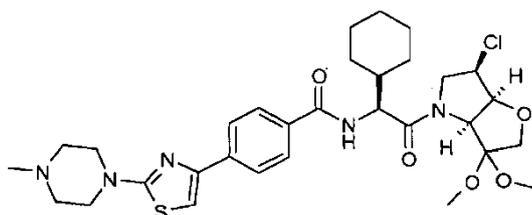


- Etapa a) Éster terc-butílico de ácido [2-((3aS,6R,6aS)-6-cloro-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-S-ciclohexil-2-oxo-etil]-carbámico (7a)

La sal HCl de (3aS,6R,6aS)-6-cloro-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol (**13**) (0,23 mmol) y Boc-ciclohexil-Gly-OH (64,4 mg, 0,25 mmol) se coevaporó a partir de DMF, se volvió a disolver en 3 mL de DMF, y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió DIEA (160 μL, 0,92 mmol), seguido por HATU (108 mg, 0,28 mmol). Después de 20 minutos, la mezcla se agitó a TA durante 2 h 20 min, y se concentró a vacío. El residuo se disolvió en EtOAc (10 mL), se lavó sucesivamente con ácido cítrico al 10% (5 mL), NaHCO<sub>3</sub> saturado (5 mL) y NaCl saturado (2 x 5 mL). La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. La cromatografía instantánea en columna (sílice, 2/1 pentano - EtOAc) proporcionó un sólido blanco (86,6 mg, 84% de rendimiento).

LCMS [M+23]<sup>+</sup> = 469

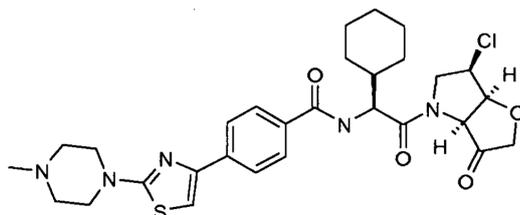
- Etapa b) N-[2-((3aS,6R,6aS)-6-Cloro-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-S-ciclohexil-2-oxo-etil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida (7b)



5 Se añadió cloruro de acetilo (0,25 mL) a una solución enfriada con hielo del éster terc-butílico de ácido carbámico anterior (86,6 mg, 0,194 mmol) en metanol (2,20 mL). La mezcla se agitó a TA durante 3 h 45 min y se evaporó. La liofilización a partir de dioxano-agua proporcionó la sal HCl de amina desprotegida que después se coevaporó primero a partir de DMF con la sal HBr de ácido 4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)tiazol-4-il]benzoico (83 mg, 0,22 mmol) y después se volvió a disolver en 2,5 mL de DMF. La mezcla se enfrió en un baño de hielo, se añadió DIEA (140  $\mu$ L, 0,80 mmol), seguido de HATU (83,8 mg, 0,22 mmol). Después de 15 minutos, la mezcla se agitó a TA durante 2,5 h. La mezcla se concentró, se disolvió en EtOAc (20 mL), se lavó sucesivamente con NaHCO<sub>3</sub> saturado (10 mL) y NaCl saturado (2 x 10 mL). La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentró. La cromatografía instantánea en columna (sílice, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> - MeOH - Et<sub>3</sub>N) proporcionó sólidos de color blanco (121,2 mg, 99% de rendimiento).

10 LCMS [M+1]<sup>+</sup> = 632

Etapa c) N-[2-((3aS,6R,6aS)-6-Cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-1-S-ciclohexil-2-oxo-etil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida (7c)



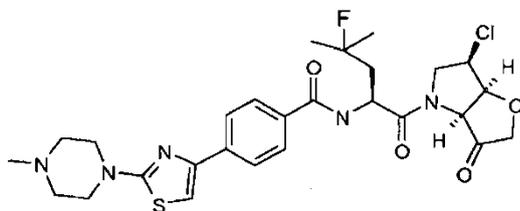
15 El dimetoxi éter anterior (115 mg, 0,182 mmol) se desprotegió en una solución de TFA-agua (97,5:2,5 v/v, 6,0 mL) mediante agitación a TA durante 2 h 15 min. La mezcla se concentró, se disolvió en EtOAc (25 mL), se lavó sucesivamente con NaHCO<sub>3</sub> saturado (3 x 15 mL) y NaCl saturado (15 mL). La fase orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporó. El material crudo se purificó por HPLC-MS (columna Sunfire PrepC<sub>18</sub> OBD 5  $\mu$ m 19 x 100 mm; gradiente de 60 a 80% de B en A, fases móviles A NH<sub>4</sub>OAc 10 nM en agua y B NH<sub>4</sub>OAc 10 nM en 90% de MeCN) para proporcionar el compuesto final como un sólido blanco (63 mg, rendimiento del 59%).

20 LCMS ES<sup>+</sup> = 604 (hidrato) y ES<sup>+</sup> = 586 (cetona)

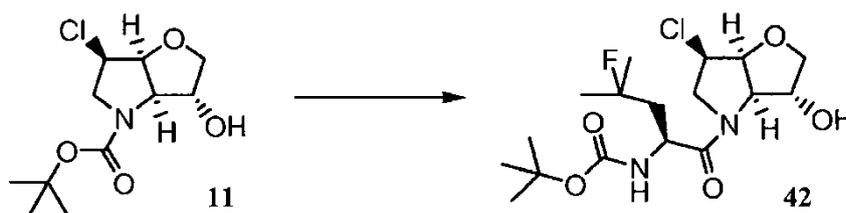
1H RMN (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  ppm 7,90 y 7,78 (ABc, 2H cada uno), 6,89 (s, 1H), 6,83 (d, 1H, NH), 4,91 (m, 1H), 4,86 (m, 1H), 4,69 (m, 1H), 4,62 (dd, 1H), 4,40 (m, 1H), 4,32 y 4,14 (ABc, 1H cada uno), 3,72 (dd, 1H), 3,60 (m, 4H), 2,58 (m, 4H), 2,38 (s, 3H), 2,10 - 1,04 (m, 11 H)

## 25 Ejemplo 8

N-[(S)-1-((3aS,6R,6aS)-6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzamida

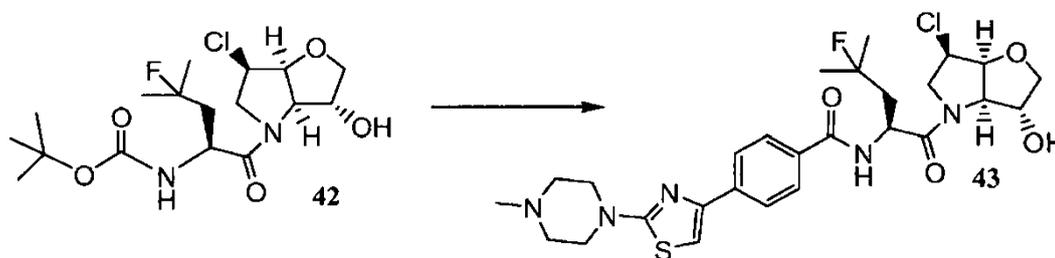


Etapa a)



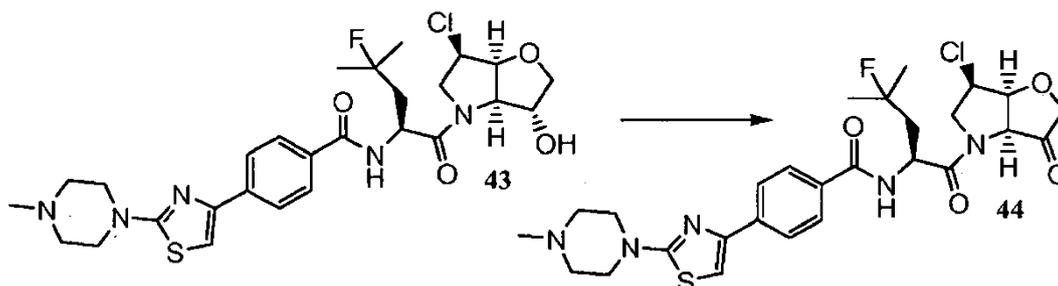
Se añadió cloruro de acetilo (0,4 mL) gota a gota a una solución del compuesto **11** (60 mg, 0,228 mmol) en metanol (4 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas, se concentró, se disolvió nuevamente en 1,4-dioxano y se liofilizó durante una noche. El residuo se disolvió en 5 mL de DMF. Se añadió  $\gamma$ -fluoro-BOC-Leu-OH (Truong et al Synlett 2005 n° 8 1279-1280, 50 mg, 0,201 mmol) y DIEA (133  $\mu$ L, 0,802 mmol) a la solución antes de enfriar a 0°C y se añadió HATU (80 mg, 0,211 mmol). La reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente antes de concentrar el disolvente a vacío. El producto se disolvió en EtOAc (20 mL) y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  (sat, ac) (10 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró a vacío. El producto se purificó mediante cromatografía instantánea (acetato de etilo) para proporcionar el producto **42** con un rendimiento del 99% (79 mg).

Etapa b)



Se añadió cloruro de acetilo (0,4 mL) gota a gota a una solución del compuesto **42** (79 mg, 0,199 mmol) en metanol (4 mL) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas, se concentró, se disolvió nuevamente en 1,4-dioxano y se liofilizó durante una noche. El residuo se disolvió en 5 mL de DMF. HBr de ácido 4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzoico (76 mg, 0,198 mmol). Se añadió DIEA (119  $\mu$ L, 0,721 mmol) a la solución antes de enfriar a 0°C y se añadió HATU (72 mg, 0,189 mmol). La reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente antes de eliminar el disolvente a vacío. El producto se disolvió en  $\text{CHCl}_3$  (15 mL) y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  (sat, ac) (10 mL). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se evaporó. El producto se purificó mediante cromatografía instantánea (cloroformo:etanol 7:3 + 0,1% de TEA) para producir **43** adecuadamente puro que se podía utilizar directamente en la siguiente etapa.

Etapa c)



El compuesto **43** (104 mg, 0,198 mmol) (no puro) se disolvió en 9 mL de DCM:DMSO (2:1). Se añadió TEA (111  $\mu$ L, 0,797 mmol) seguido por  $\text{SO}_3$ \*piridina (48 mg, 0,299 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente y se controló por LC-MS. Después de 4 horas, se añadió otra porción (48 mg) de  $\text{SO}_3$ \*piridina y después de 4 horas más, otra porción. Después de 22 horas (durante una noche) se añadió una porción adicional y después de 2 horas más se añadió una porción final. La solución se vertió en un embudo de separación con 40 mL de DCM y se lavó con 20 mL de  $\text{NaHCO}_3$  (sat, ac). La fase orgánica se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtró y se concentró al vacío. El producto se purificó por HPLC semipreparativa en una columna Sunfire C18 con fases móviles A (90:10 de  $\text{H}_2\text{O}$ :acetonitrilo,  $\text{NH}_4\text{Ac}$  10 mM) y B (10:90 de  $\text{H}_2\text{O}$ : acetonitrilo,  $\text{NH}_4\text{Ac}$  10 mM) partiendo de 40-75% de B. El producto se obtuvo como un sólido blancuzco con un rendimiento del 29% (30 mg).

RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 1,37- 1,52 (m, 6H), 2,10- 2,30 (m, 2H), 2,37 (s, 3H), 2,58- 2,63 (m, 2H), 3,57- 3,62 (m, 2H), 3,73 (dd, 1 H,  $J = 10,5, 8,7$ ), 4,10 (d, 1 H,  $J = 16,9$ ), 4,28 (d, 1 H,  $J = 16,9$ ), 4,43- 4,50 (m, 1H), 4,71 (dd, 1 H,  $J = 10,6, 6,9$ ), 4,78 (d, 1H,  $J = 6,0$ ), 4,87-4,93 (m, 1H), 4,95- 5,03 (m, 1H), 6,86 (s, 1H), 7,37 (d, 1H,  $J = 7,3$ ), 7,73 (d, 2H,

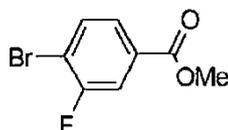
$J = 8,3$ ,  $7,82$  (d, 2H,  $J = 8,6$ ). LRMS (M+H) 578.

### Ejemplo 9

#### Un elemento básico P3 alternativo

#### Sal HCl de ácido 3-fluoro-4-[2-(4-metilpiperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzoico

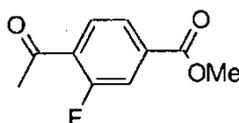
- 5 Etapa a) 4-Bromo-3-fluorobenzoato de metilo (9a)



- 10 El ácido 4-bromo-3-fluorobenzoico (2,46 g, 11,2 mmol) se disolvió en MeOH (9 mL) y tolueno (4 mL) y se enfrió en un baño de hielo. Se añadió (trimetilsilil)diazometano (11 mL, 2,0 M en hexanos, 22 mmol) gota a gota hasta que el color amarillo persistió. La solución se agitó a temperatura ambiente durante 40 minutos y después se concentró a vacío. Un segundo lote de ácido carboxílico (2,43 g) se trató de manera similar. El producto crudo de los dos lotes se combinó y se sometió a cromatografía instantánea (sílice, 5/1 de pentano - EtOAc) para proporcionar el éster metílico como sólidos de color blanco (4,92 g, 95% de rendimiento).

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) delta ppm 7,77 (m, 1H), 7,71 (m, 1H), 7,64 (m, 1H), 3,93 (s, 3H).

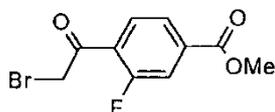
- Etapa b) 4-Acetoxi-3-fluorobenzoato de metilo (9b)



- 15 Cloruro de alilo (105  $\mu\text{L}$ , 1,28 mmol) y TFA (20  $\mu\text{L}$ , 0,26 mmol) se añadieron a una suspensión de polvo de zinc (480 mg, 7,34 mmol) y bromuro de cobalto(II) anhidro (96,6 mg, 0,44 mmol) en MeCN (4 mL), en atmósfera de gas inerte. Después de agitar a temperatura ambiente durante 10 min, el bromuro de arilo (1,003 g, 4,30 mmol disuelto en 5 mL de MeCN) procedente de (a) se añadió, seguido por anhídrido acético (0,45 mL, 4,79 mmol) y más MeCN (1 mL). La mezcla se agitó durante una noche, se inactivó con HCl 1 M (20 mL), y después se extrajo con EtOAc (3 x 20 mL). La fase orgánica se lavó sucesivamente con  $\text{NaHCO}_3$  saturado acuoso (20 mL) y NaCl saturado (2 x 20 mL), se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentró. La cromatografía instantánea (sílice, 6/1 a 4/1 de éter de petróleo - EtOAc) proporcionó bromuro recuperado (161,1 mg, 16%) y la cetona deseada (sólidos blancos, 305,5 mg, 36%).

- 25 RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) delta ppm:  $^1\text{H}$  (400 MHz) 7,94-7,86 (m, 2H), 7,80 (dd, 1H,  $J = 11,2$ , 1,6 Hz), 3,95 (s, 3H), 2,67 (d, 3H,  $J = 4,4$  Hz);  $^{19}\text{F}$  (376 MHz) -109,2 (m);  $^{13}\text{C}$  (100 MHz) 195,4 (d,  $J = 3,7$  Hz), 165,1 (d,  $J = 2,2$  Hz), 161,6 (d,  $J = 255$  Hz), 135,8 (d,  $J = 8,1$  Hz), 130,7 (d,  $J = 2,9$  Hz), 129,0 (d,  $J = 14$  Hz), 125,2 (d,  $J = 3,6$  Hz), 117,9 (d,  $J = 26$  Hz), 52,7 (s), 31,4 (d,  $J = 7,3$  Hz).

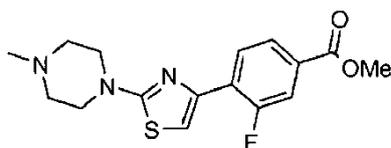
- Etapa c) 4-(2-Bromoacetoxi)-3-fluorobenzoato de metilo (9c)



- 30 THF (10 mL) y 2-pirrolidinona (91  $\mu\text{L}$ , 1,20 mmol) se añadieron a una mezcla de la cetona procedente de b) (198 mg, 1,01 mmol) y tribromhidrato de pirrolidona (532 mg, 1,07 mmol). Después de calentar a 60-65°C durante 2 h, la mezcla se concentró a vacío y después se repartió entre EtOAc (20 mL) y  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  saturado (10 mL). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (10 mL). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con NaCl saturado (2 x 10 mL), se secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentraron. La cromatografía instantánea (sílice, 7/1 de éter de petróleo - EtOAc) proporcionó sólidos de color blanco (0,2634 g) que contenían 84% del bromuro deseado (como se determinó por integración de picos de  $^{19}\text{F}$  RMN).

RMN ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm:  $^1\text{H}$  (400 MHz) 7,93 (m, 1H), 7,88 (m, 1H), 7,79 (dd, 1H,  $J = 11,2$ , 1,6 Hz), 4,50 (d, 2H,  $J = 2,4$  Hz), 3,94 (s, 3H);  $^{19}\text{F}$  (376 MHz) -108,4 (m).

- Etapa d) 3-Fluoro-4-[2-(4-metilpiperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzoato de metilo (9d)

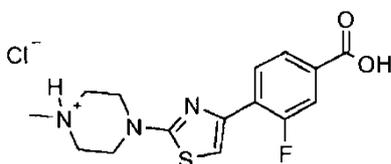


5 Se añadió EtOH (5,0 mL) a la bromocetona anterior (193 mg, 0,70 mmol) y amida de ácido 4-metil-piperazin-1-carbotioico (113 mg, 0,71 mmol) y la mezcla se calentó a 70°C durante 2h 15 min. Los precipitados se filtraron, se lavaron con EtOH frío, y se secaron a vacío y se caracterizaron. El procedimiento se repitió a una escala mayor para 1,75 g de bromocetona (6,36 mmol).

RMN (1/1 CDCl<sub>3</sub> - CD<sub>3</sub>OD) δ ppm: <sup>1</sup>H (400 MHz) 8,20 (m, 1H), 7,86 (dd, 1H, J = 8,4, 1,6 Hz), 7,76 (dd, 1H, J = 11,4, 1,8 Hz), 7,38 (d, 1H, J = 2,4 Hz), 4,23 (a, 2H), 3,95 (s, 3H), 3,65 (a, 4H), 3,32 (a, 2H), 2,98 (s, 3H); <sup>19</sup>F (376 MHz) -114,0 (m). LCMS [M+H]<sup>+</sup> = 336.

10 Los precipitados de ambas preparaciones se combinaron y se suspendieron en NaHCO<sub>3</sub> saturado (50 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), y se evaporó para proporcionar el compuesto del título en forma de sólidos de color crema (1,76 g).

Etapa e) Sal HCl de ácido 3-fluoro-4-[2-(4-metilpiperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzoico (9e)

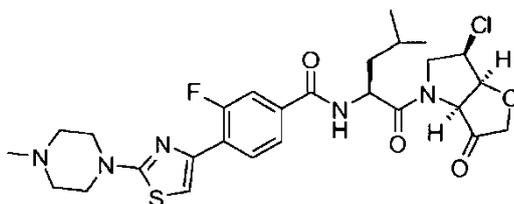


15 El éster metílico (1,76 g, 5,25 mmol) (9d) se calentó a 80°C con HCl 6 M (40 mL) durante 5,5 h. Se añadió más HCl 6 M (10 mL) y la mezcla se calentó a 90°C durante 1 h 15 min. Después de enfriar, la mezcla se evaporó a vacío y se liofilizó a partir de agua para proporcionar el producto final en forma de sólidos de color crema con un rendimiento cuantitativo.

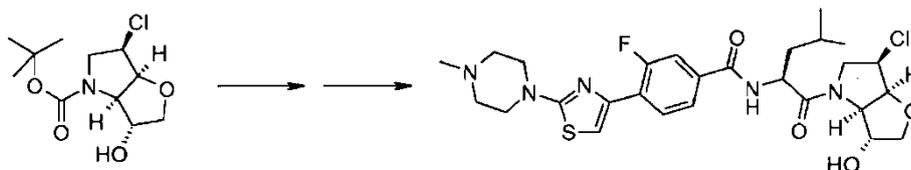
20 RMN (DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm: <sup>1</sup>H (400 MHz) 11,60 (a, 1H), 8,18 (t, 1H, J = 8,0 Hz), 7,82 (dd, 1H, J = 8,4, 1,6 Hz), 7,72 (dd, 1H, J = 12,0, 1,6 Hz), 7,48 (d, 1H, J = 2,8 Hz), 4,11 (m, 2H), 3,58 (m, 2H), 3,49 (m, 2H), 3,19 (m, 2H), 2,80 (d, 3H, J = 4,4 Hz); <sup>19</sup>F (376 MHz) -113,5 (m); <sup>13</sup>C (100 MHz) 168,9, 166,0, 159,0 (d, J = 250 Hz), 143,4, 131,4 (d, J = 8 Hz), 129,8, 125,8 (d, J = 11 Hz), 125,6, 116,6 (d, J = 24 Hz), 111,1 (J = 15 Hz), 51,1, 45,0, 41,9. LCMS [M+H]<sup>+</sup> = 322.

### Ejemplo 10

N-[(S)-1-((3aS,6R,6aS)-6-Cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-3-fluoro-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida



25 Etapa a) N-[(S)-1-((3S,3aS,6R,6aS)-6-Cloro-3-hidroxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-3-fluoro-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida



30 Este compuesto se preparó a partir de éster terc-butílico de ácido N-[(S)-1-((3S,3aS,6R,6aS)-6-cloro-3-hidroxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carboxílico mediante una serie de etapas de desprotección (cloruro de acetilo, MeOH) y de acoplamiento mediado por HATU con Bocleucina inicialmente y, finalmente, sal HCl de ácido 3-fluoro-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzoico preparada como se ha descrito en el Ejemplo 9.

LCMS: [M+H]<sup>+</sup> = 580; [M-H]<sup>-</sup> = 578. <sup>19</sup>F RMN (376 MHz, CDCl<sub>3</sub> + CD<sub>3</sub>OD) delta ppm -113,3 (m).

## Etapa b)

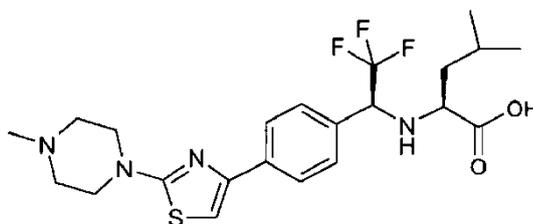
Se añadió trietilamina (20  $\mu$ L) y complejo trióxido de azufre-piridina (20 mg, 0,125 mmol) a una solución del alcohol (16,6 mg, 0,03 mmol) de (a) en 0,9 mL de  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y 0,45 mL de DMSO y se agitó a TA. Después de 2 h, se añadió más trietilamina (10  $\mu$ L) y complejo trióxido de azufre-piridina (10 mg) y la mezcla se agitó durante una noche para completar la oxidación a la cetona. La mezcla se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  saturado seguido de  $\text{NaCl}$  acuoso saturado. La fase orgánica se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se evaporó para proporcionar un aceite. El material crudo se purificó por HPLC-MS (columna Sunfire Prep $\text{C}_{18}$   $\mu\text{m}$  19 x 100 mm; OBD 5 gradiente de 30 a 80% de B en A, fases móviles A  $\text{NH}_4\text{OAc}$  10 mM en agua y B  $\text{NH}_4\text{OAc}$  10 mM en 90% de MeCN) para proporcionar el compuesto del título en forma de sólidos blancos (4,4 mg).

- 10 RMN ( $\text{CDCl}_3$ ) delta ppm:  $^1\text{H}$  (500 MHz, 2 rotámeros observados, rotámero mayoritario descrito) 8,22 (m, 1H, fenil H5), 7,56-7,54 (m, 2H, fenil H2 y H6), 7,21 (m, 1H, tiazol), 6,81 (d, 1H, J = 8,5 Hz, NH), 4,94-4,85 (m, 2H, NHCHC=O y CICHCHO), 4,84 (d, 1H, J = 6,0 Hz, (O=C)NCHC=O), 4,56 (dd, 1H, J = 10,5, 7,0 Hz), 4,42 (m, 1H, CICH), 4,32 y 4,14 (ABq, 1H cada uno), 3,70 (dd, 1H, J = 10, 9 Hz), 3,59 (m, 4H), 2,57 (m, 4H), 2,37 (s, 3H, NMe), 1,8-1,6 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{CHMe}_2$ ), 1,03 (d, 3H, J = 6,0 Hz, i-Pr), 0,96 (d, 3H, J = 6,5 Hz, i-Pr);  $^{19}\text{F}$  (376 MHz) -112,9 (m, rotámero mayoritario, 84%) y -113,2 (m, minoritario, 16%).

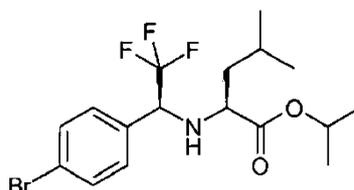
LCMS: masa molar monoisotópica 577,4 Da; ES+ = 578,4 (M+H) $^+$ , 596,5 [M+H $_2$ O+H] $^+$ .

## Ejemplo 11

## Un elemento básico P3/P2 alternativo

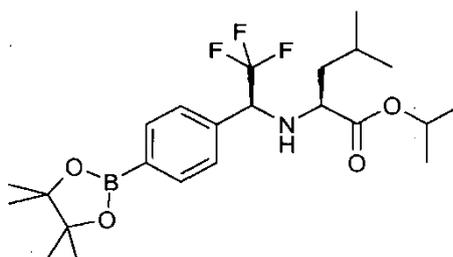


- 20 Etapa a) Éster isopropílico de ácido (S)-2-[(S)-1-(4-bromo-fenil)-2,2,2-trifluoro-etilamino]-4-metil-pentanoico (11 a)



- A una solución agitada de ácido (S)-2-[(S)-1-(4-bromo-fenil)-2,2,2-trifluoro-etilamino]-4-metil-pentanoico, preparado como se muestra Li, C. S. et al *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, 16, 1985, (1,80 g, 4,9 mmol) en alcohol isopropílico (100 mL), se añadió ácido sulfúrico concentrado (2 mL). La solución resultante se calentó a 80°C durante 4 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar y después se concentró a vacío. El aceite resultante se dispersó en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (100 mL), se lavó con  $\text{NaHCO}_3$  saturado (2 x 50 mL), se secó ( $\text{MgSO}_4$ ) y se concentró a vacío para proporcionar el compuesto del título como un aceite marrón (1,77 g, 88%). MS [M+H] 412.

Etapa b) Éster isopropílico de ácido (S)-4-metil-2-[(S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-etilamino]-pentanoico (11b)

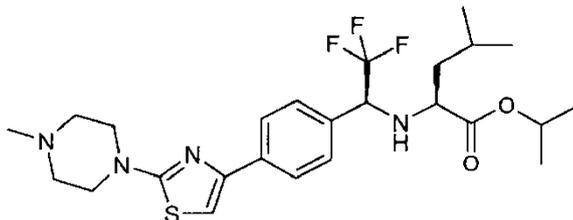


- 30 A una solución agitada del bromoderivado 1 k (2,2 g, 5,36 mmol) en DMF (30 mL) se añadió bis(pinacolato) boro (2,0 g, 8,04 mmol), acetato de potasio (1,6 g 16,1 mmol) y cloruro de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocen]paladio(II) en complejo 1:1 con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (0,438 g, 0,54 mmol). La solución resultante se selló en un tubo y se calentó en un microondas a 160°C durante 20 minutos. La mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y después se filtró a través de una columna corta de sílice eluida con acetato de etilo (500 mL). La solución resultante se concentró a

- 35

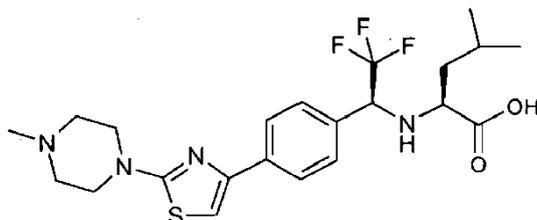
*vacío* y el producto crudo se purificó mediante cromatografía de fase inversa en columna C18 (H<sub>2</sub>O:MeCN, gradiente de 50-100%) para proporcionar el compuesto del título como un aceite marrón (0,920 g, 38%). MS [M+H] 458.

Etapa c) Éster isopropílico de ácido (S)-4-metil-2-((S)-2,2,2-trifluoro-1-{4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-fenil}-etilamino)-pentanoico (11c)



5 A una solución agitada del derivado de borolano 1 k (0,72 g, 1,57 mmol) en DMF:H<sub>2</sub>O (1:1, 20 mL) se añadió 1-(4-bromo-tiazol-2-il)-4-metil-piperazina (0,5 g, 1,89 mmol), carbonato de sodio (0,2 g, 1,89 mmol) y cloruro de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocen]paladio (II) en complejo 1:1 con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (0,129 g, 0,16 mmol). La solución resultante se selló en un tubo y se calentó en un microondas a 160°C durante 20 minutos. La mezcla de reacción se dejó enfriar y después se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL). La fase orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró a *vacío*. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (acetato de etilo:MeOH, 9:1) para proporcionar el compuesto del título como un sólido rojo oscuro (0,150 g, 13%). MS [M+H] 513. Tiempo de retención 4,0 minutos 50-97 (NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 10 mM:MeCN 6 min Gradiente C12 Fase inversa.

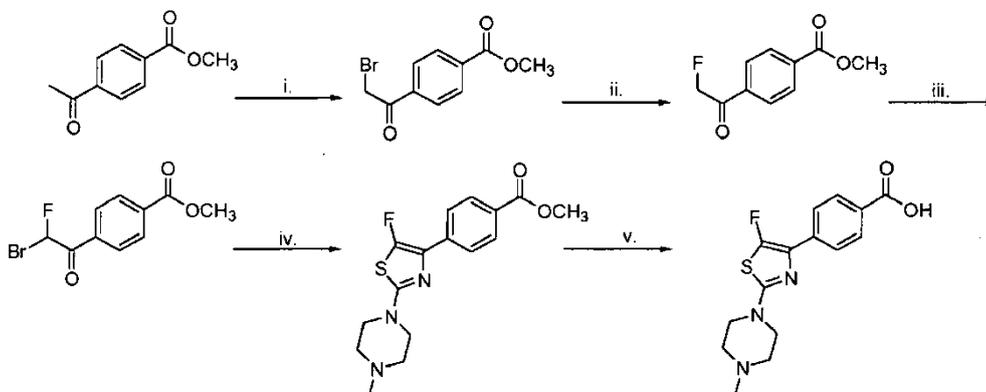
15 Etapa d) Ácido (S)-4-metil-2-((S)-2,2,2-trifluoro-1-{4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-fenil}-etilamino)-pentanoico; cloruro de hidrógeno (11d)



20 A una mezcla agitada de ácido clorhídrico 2 M y dioxano (1:1, 10 mL) se añadió éster isopropílico de ácido (S)-4-metil-2-((S)-2,2,2-trifluoro-1-{4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-fenil}-etilamino)-pentanoico (0,15 g, 0,29 mmol), preparado como se describe por Palmer et al. en J. Med. Chem. 2005, 48, 7520-7534. La solución se calentó durante 20 horas a 100°C y después se concentró a *vacío* para proporcionar el compuesto del título como un sólido marrón oscuro (0,14 g, 98%) que se puede acoplar al elemento básico P1 y la cetona regenerada por cualquiera de los métodos descritos anteriormente, normalmente sin purificación adicional. MS M - H 469.

### Ejemplo 11A

#### Un elemento básico P3 alternativo

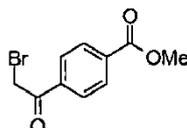


25 i. AcOH, bromo, TA, 2 h, rendimiento del 55%; ii. KF, acetonitrilo, 18-corona-6, 90°C, 16 h; rendimiento del 31%; iii. AcOH, bromo, 45°C, 4 h, rendimiento del 100%; iv. Amida de ácido 4-metil-piperazin-1-carbotioico, Δ, 2 h, rendimiento del 74%; LiOH, TA, 16 h, rendimiento del 100%.

Disponibilidad de materiales de partida -

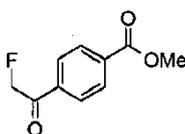
El 4-acetilbenzoato de metilo está disponible en Aldrich; amida de ácido 4-metil-piperazin-1-carbotioico - se encontraron 11 proveedores en SciFinder (por ejemplo, Chem Pur Products Ltd en Alemania).

Etapa a) Éster metílico de ácido 4-(2-bromo-acetil)-benzoico



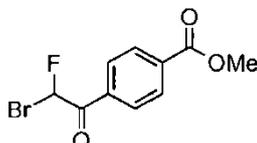
- 5 Se añadió bromo (8,4 mmol) a una solución de éster metílico de ácido 4-acetil-benzoico (8,4 mmol) en ácido acético (20 mL). La reacción se agitó a TA durante 2 h, tiempo durante el cual el color rojo desapareció y se formó un precipitado blanquecino. El producto se recogió por filtración y se lavó con metanol/agua fría (200 mL 1:1) para proporcionar un polvo blanco (55%).  $^1\text{H RMN}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 3,98 (3H, s), 4,20 (2H, s), 8,02 (2H, d,  $J = 8\text{Hz}$ ), 8,18 (2H, d,  $J = 8\text{Hz}$ ).

10 Etapa b) Éster metílico de ácido 4-(2-fluoro-acetil)-benzoico



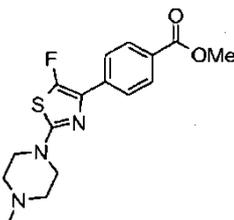
- 15 A una suspensión de fluoruro de potasio (3,11 mmol) en acetonitrilo (1 mL) se añadió 18-corona-6 (0,1 mmol) y la reacción se calentó a  $90^\circ\text{C}$  durante 30 minutos. Se añadió ácido 4-(2-bromo-acetil)-benzoico (1,56 mmol) y la reacción se calentó a  $90^\circ\text{C}$  durante 16 h. La reacción se diluyó con agua (10 mL) y se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL). El producto se purificó sobre sílice eluyendo con 5-15% de acetato de etilo en isohexano para proporcionar a una concentración *a vacío* de las fracciones deseadas, el producto del título como un sólido blanco (31%).  $^1\text{H RMN}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 3,98 (3H, s), 5,55 (2H, d,  $J = 50\text{Hz}$ ), 7,95 (2H, d,  $J = 8\text{Hz}$ ), 8,18 (2H, d,  $J = 8\text{Hz}$ ).

Etapa c) Éster metílico de ácido 4-(2-bromo-2-fluoro-acetil)-benzoico



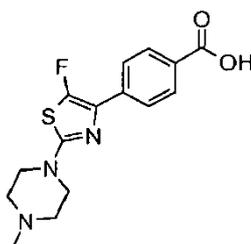
- 20 A una suspensión de ácido 4-(2-fluoro-acetil)-benzoico (1,19 mmol) en ácido acético (5 mL) se añadió bromo (1,19 mmol). La reacción se calentó a  $45^\circ\text{C}$  durante 4 h, tiempo durante el cual se formó una solución de color verde. La reacción se concentró *a vacío* y se destiló azeotrópicamente dos veces con tolueno para producir el compuesto del título como un sólido verde (100%). El producto se usó crudo en la siguiente etapa.  $^1\text{H RMN}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ) 3,98 (3H, s), 7,04 (1H, s), 8,05 - 8,10 (4H, m).

25 Etapa d) Éster metílico de ácido 4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzoico



- 30 Éster metílico de ácido 4-(2-bromo-2-fluoro-acetil)-benzoico (1,18 mmol) y amida de ácido 4-metil-piperazin-1-carbotioico (1,18 mmol) se disolvieron en etanol (10 mL). La reacción se calentó a reflujo durante 2 h. La reacción se enfrió a TA haciendo que el producto precipitara. El producto se recogió por filtración y se lavó con etanol frío. El producto se trató con bicarbonato de sodio acuoso para proporcionar el compuesto del título como un aceite incoloro (74%). MS (ES+) 337 (M+H, 100%).

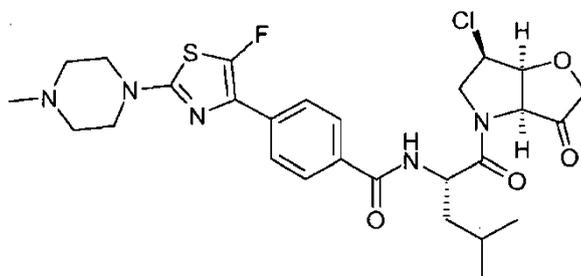
Etapa f) Diclorhidrato de ácido 4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzoico



5 A una solución de éster metílico de ácido 4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzoico (0,43 mmol) en tetrahidrofurano/agua (2,5 mL, 4:1) se añadió hidróxido de litio (0,5 mmol). La reacción se agitó a TA durante 16 h. La reacción se concentró a vacío y se añadió ácido clorhídrico (2 N, 3 mL) haciendo que el producto precipitara como un sólido blanco. El producto se recogió por filtración para proporcionar el producto del título como un sólido blanco (79%). MS (ES<sup>+</sup>) 322 (M+H, 100%).

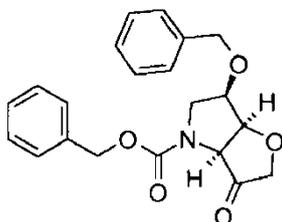
### Ejemplo 12

N-[1-(6-Cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida



10

Etapa a) Éster bencílico de ácido 6-benciloxi-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carboxílico (12a)

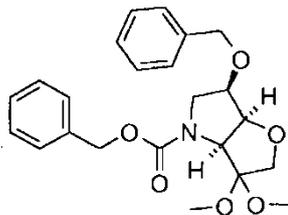


15

20

Periodinano de Dess-Martin (12,5 g, 30 mmol) se disolvió en DCM (250 mL). El compuesto 10 procedente del documento WO07/066180 (7,4 g, 20 mmol) en DCM (50 mL) se añadió a una solución agitada de oxidante a TA bajo atmósfera de nitrógeno en 45 min. Una vez que se consideró que la reacción se había completado según TLC, se añadió Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> acuoso al 10% (200 mL) y la mezcla se agitó a TA durante otros 15 minutos. El sistema de dos fases se transfirió a un embudo de separación y se extrajo dos veces con EtOAc (200 mL y 100 mL, respectivamente). Las fases orgánicas combinadas se lavaron una vez con NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado (100 mL) y salmuera (100 mL), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y el disolvente se evaporó a vacío, obteniéndose el producto crudo **2** como un aceite claro (7,69 g); ESI<sup>+</sup>, m/z: 368 (M<sup>+</sup> +1).

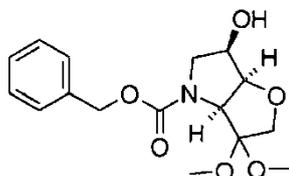
Etapa b) Éster bencílico de ácido 6-benciloxi-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carboxílico (12b)



25

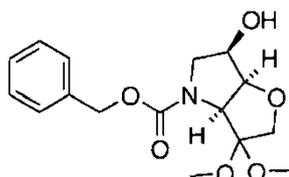
El compuesto 12a (7,6 g) se disolvió en metanol seco (100 mL). Se añadió ortoformiato de trimetilo (30 mL) y pTsOH (0,2 g) a TA bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se calentó a 60°C durante 8 horas. Una vez que la reacción se consideró completada según TLC, se enfrió a TA y se concentró a vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo-heptano (1:4) para proporcionar después de la concentración a vacío, el cetal **12b** como un aceite claro (5,9 g, 71% en 2 etapas); ESI<sup>+</sup>, m/z: 382 (M<sup>+</sup> -OMe).

Etapa c) Éster *terc*-butílico de ácido (3aS,6R,6aS)-6-hidroxi-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-4-carboxílico (12c)



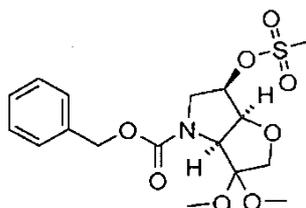
5 Una solución de compuesto 12b (2,5 g, 6,4 mmol) en metanol (60 mL) y Pd(OH)<sub>2</sub> (0,7 g) se agitó a TA bajo atmósfera de H<sub>2</sub> durante 48 horas. La mezcla se filtró y se concentró *a vacío*. El residuo (2,8 g, 14,8 mmol) se disolvió en 75 mL de una mezcla de dioxano/agua (2:1). Una solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 10% (25 mL) se añadió gota a gota a pH 9-9,5. La mezcla se enfrió a 0°C en un baño de hielo-agua y se añadió anhídrido de Boc en una porción. La reacción se agitó a TA durante una noche y el pH de la mezcla se mantuvo a 9-9,5 mediante la adición de más solución de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> al 10%, si era necesario. La mezcla se filtró y el disolvente se eliminó *a vacío*. La mezcla acuosa se extrajo con 3 x 100 mL de EtOAc, las fases orgánicas combinadas se lavaron con 100 mL de agua y 100 mL de salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y el disolvente se evaporó *a vacío* para proporcionar 3,79 g del carbamato como un aceite claro (89%), ESI<sup>+</sup>, m/z: 312 (M<sup>+</sup>+Na).

Etapa d) Éster bencílico de ácido (3aS,6R,6aS)-6-hidroxi-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-4-carboxílico (12d)



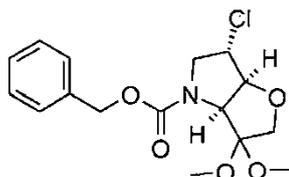
15 A una solución agitada de compuesto 12c (3,8 g, 13,13 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL) se añadió HCl 2 M en MeOH (50 mL). La solución resultante se agitó durante una noche y después se concentró *a vacío* y se destiló azeotrópicamente con tolueno (3 x 100 mL). El residuo crudo se disolvió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (100 mL), se enfrió a 0°C y se añadió piridina (1,071 µL, 13,13 mmol) seguido de la adición gota a gota de CbzCl (1,875 µL, 13,13 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, después se lavó con HCl 2 M (2 x 50 mL), NaHCO<sub>3</sub> saturado (2 x 50 mL), se secó (MgSO<sub>4</sub>) y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (5-100% de isohexano:EtOAc) para obtener el compuesto del título como un aceite claro (2510 mg, 59%). MS M + H 324.

Etapa e) Éster bencílico de ácido (3aS,6R,6aS)-6-metanosulfoniloxi-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-4-carboxílico (12e)



25 A una solución agitada del compuesto 12d (500 mg, 1,55 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (20 mL) se añadió trietil amina (332 µL, 2,32 mmol) y cloruro de mesilo (266 mg, 2,32 mmol). Después de agitar durante 30 minutos, la reacción se lavó con NaHCO<sub>3</sub> saturado (1 x 20 mL), HCl 2 M (1 x 20 mL), se secó con MgSO<sub>4</sub> y se concentró para proporcionar el compuesto del título (655 mg, 99%) como un aceite de color amarillo. MS M + H 402.

Etapa f) Éster bencílico de ácido (3aS,6S,6aS)-6-cloro-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-4-carboxílico (12f)



30 A una solución agitada del compuesto 12e (550 mg, 1,37 mmol) en DMF (30 mL) se añadió cloruro de litio (721 mg, 13,7 mmol). Después de agitar durante 120 minutos a 120°C, la reacción se concentró *a vacío*. El residuo se diluyó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 mL), se lavó con agua (1 x 20 mL), se secó con MgSO<sub>4</sub> y se concentró *a vacío*. El residuo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (5-66% de isohexano:EtOAc) para proporcionar el compuesto del

título (330 mg, 72%) como un aceite amarillo. MS M + H 342, 344.

Etapa g) Éster *terc*-butilico de ácido [2-(6-cloro-3,3-dimetoxi-hexahidrofuro[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metilbutil]-carbámico (12g)

5 Éster bencílico de ácido 6-cloro-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carboxílico (68 mg, 0,20 mmol) se desprotegió mediante hidrogenación catalítica usando paladio sobre carbono al 10% e hidrógeno a presión atmosférica. Después de agitar durante 2 horas, la suspensión se filtró a través de Celite y el filtrado se evaporó en un evaporador rotatorio para proporcionar 6-cloro-3,3-dimetoxi-hexahidrofuro[3,2-b]pirrol crudo, que se acopló con N-Boc-leucina utilizando HATU de la misma manera que en el método descrito en el Ejemplo 2, lo que proporcionó el compuesto del título (78 mg, 93%). MS m/z 421,2 (M+H)<sup>+</sup>.

10 Etapa h) N-[2-(6-Cloro-3,3-dimetoxi-hexahidrofuro[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metilbutil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida (12h)

15 El éster *terc*-butilico de ácido [2-(6-cloro-3,3-dimetoxi-hexahidrofuro[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metilbutil]-carbámico (78 mg, 0,185 mmol) se desprotegió en condiciones ácidas (cloruro de acetilo en metanol) como se describe en el Ejemplo 4, a continuación, se acopló el producto intermedio de clorhidrato de pirrol crudo con la sal HCl de ácido 4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzoico usando las condiciones HATU como se describe en el Ejemplo 2, lo que proporcionó el compuesto del título (98 mg, 85%). MS m/z 624,2 (M+H)<sup>+</sup>.

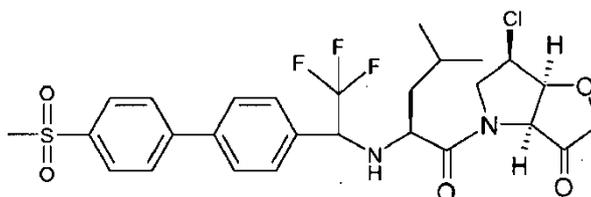
<sup>1</sup>H-RMN (400MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7,91 (d, 2H), 7,81 (d, 2H), 6,85 (d, 1H), 5,00 (m, 1H), 4,75 (d, 1H), 4,60 (m, 1H), 4,50 (dt, 1H), 4,12 (d, 1H), 3,92 (d, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,49 (m, 4H), 3,48 (m, 1H), 3,45 (s, 3H), 3,28 (s, 3H), 2,62 (m, 4H), 2,42 (s, 3H), 1,85 (m, 1H), 1,70 (m, 2H), 1,05 (d, 3H), 1,00 (d, 3H).

20 Etapa i) N-[1-(6-Cloro-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metilbutil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida (12i)

25 N-[2-(6-Cloro-3,3-dimetoxi-hexahidrofuro[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metilbutil]-4-[5-fluoro-2-(4-etilpiperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida (98 mg, 0,157 mmol) se hidrolizó en condiciones ácidas como se describe en el Ejemplo 5. El residuo se purificó mediante cromatografía HPLC preparativa (C8, gradiente de 10 - 90% de MeCN/H<sub>2</sub>O) lo que proporcionó el compuesto del título puro 41,8 mg (46%), como una mezcla de 2 rotámeros, de ambos la cetona (27%) [MS m/z 578,1 (M+H)<sup>+</sup>] y el hidrato (73%) [MS m/z 596,1 (M+H<sub>2</sub>O+H)<sup>+</sup>].

### Ejemplo 13

6-Cloro-4-{4-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(4'-metanosulfonil-bifenil-4-il)-etilamino]-pentanoil}-tetrahidro-furo[3,2-b]pirrol-3-ona



30 Etapa a) 1-(6-Cloro-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-4-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(4'-metanosulfonil-bifenil-4-il)-etilamino]-pentan-1-ona (13a)

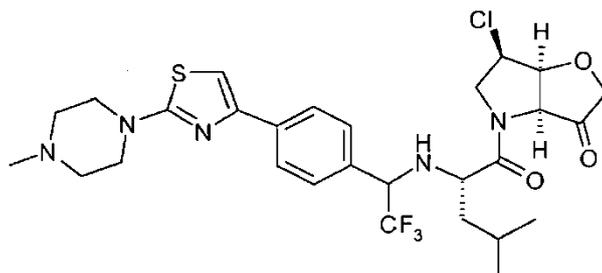
35 El éster bencílico del ácido 6-cloro-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carboxílico (55 mg, 0,16 mmol) se desprotegió mediante hidrogenación catalítica usando paladio sobre carbono al 10% e hidrógeno a presión atmosférica. Después de agitar durante 2 horas, la suspensión se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró. La amina obtenida se acopló entonces con ácido 4-metil-2-[2,2,2-trifluoro-1-(4'-metanosulfonil-bifenil-4-il)-etilamino]-pentanoico (76 mg, 0,17 mmol), preparado como se describe en el documento WO07/006716, usando las condiciones de HATU como se describe en el Ejemplo 2, lo que proporcionó el compuesto del título (101 mg, 50%).

Etapa b

40 El compuesto 13a (47 mg, 0,07 mmol) se hidrolizó en condiciones ácidas como se describe en el Ejemplo 5. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc-P.éter 3:2), lo que proporcionó el compuesto del título puro (26 mg), [MS m/z 586,4.

### Ejemplo 14

45 6-Cloro-4-[4-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-[4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-fenil]-etilamino)-pentanoil]-tetrahidro-furo[3,2-b]pirrol-3-ona



Etapa a) 1-(6-Cloro-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-il)-4-metil-2-(2,2,2-trifluoro-1-{4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-fenil}-etilamino)-pentan-1-ona (14a)

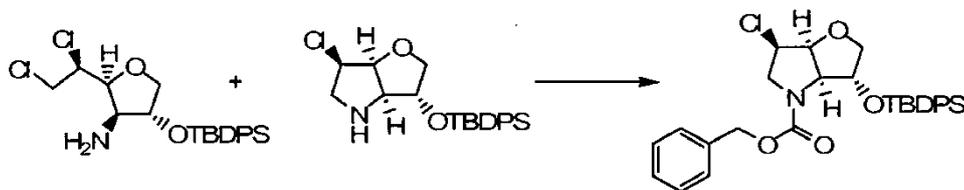
- 5 El grupo bencilo del éster bencilico de ácido 6-cloro-3,3-dimetoxi-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carboxílico (35 mg, 0,10 mmol) se retiró por hidrogenación catalítica usando paladio sobre carbono al 10% e hidrógeno a presión atmosférica. Después de agitar durante 2 horas, la suspensión se filtró a través de Celite y se concentró el filtrado. La amina obtenida se acopló entonces con el ácido del Ejemplo 11, etapa D (42 mg, 0,09 mmol) usando las condiciones HATU como se describe en el Ejemplo 2, lo que proporcionó el compuesto del título (45 mg).

Etapa b)

- 10 El compuesto 14a (47 mg, 0,07 mmol) se hidrolizó en condiciones ácidas, como se describe en el Ejemplo 5. El residuo obtenido se purificó mediante cromatografía en columna ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ -acetona 2:1 + 0,05% de DIEA) lo que proporcionó el compuesto del título puro (20 mg).

Ejemplo 15

Síntesis alternativa del elemento básico P1



15

Etapa i)

- La etapa g) del Ejemplo 1 fue optimizada del modo siguiente: Una mezcla de las aminas monocíclicas y bicíclicas representadas anteriormente (aproximadamente 1,8 mmol) de la primera reacción de la etapa g), se disolvió en acetato de etilo (25 mL) y se añadió trietilamina (1,5 mL). La solución se calentó a reflujo durante 3 h, vigilada por LC-MS, después se añadió trietilamina adicional (1,5 mL) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo otras 15 h. La mezcla de reacción se enfrió después a aproximadamente  $0^\circ\text{C}$  y se añadió en una porción cloroformiato de bencilo (0,38 mL, 2,7 mmol) y después se dejó que alcanzara la TA. La reacción se controló por TLC (4:1 y 3:2 de hexano-acetato de etilo, visualizada con luz UV y tinción con AMC) y después de 4 h la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (15 mL), se lavó sucesivamente con ácido cítrico ac. al 10% (3 x 25 mL) e hidrogenocarbonato sódico saturado ac. (3 x 25 mL), después se secó (sulfato de sodio), se filtró y se concentró. La cromatografía instantánea del residuo (elución en gradiente por etapas, acetato de etilo en hexano, 10-20%), seguida de una concentración de las fracciones adecuadas y un secado a vacío durante una noche, proporcionó el producto como una espuma incolora (0,57 g, 1,06 mmol).

- 30 Datos de RMN (400 MHz, 298 K,  $\text{CDCl}_3$ ):  $^1\text{H}$ ,  $\delta$  1,02 y 1,10 (2 s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 3,13 (m, 1H,  $\text{CHH}$ ), 3,59 y 3,80 (2 m, 2 x 1H,  $\text{CH}_2$ ), 3,99-4,15 (m, 2H,  $\text{CHH}$  y  $\text{CH}$ ), 4,34, 4,42, 4,46 y 4,68 (4 s a, 2H, mayoritario y minoritario  $\text{CH}$ ), 4,84 (m, 1H,  $\text{CH}$ ), 4,92-5,16 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 7,11-7,80 (m, 15 H,  $\text{ArH}$ ).

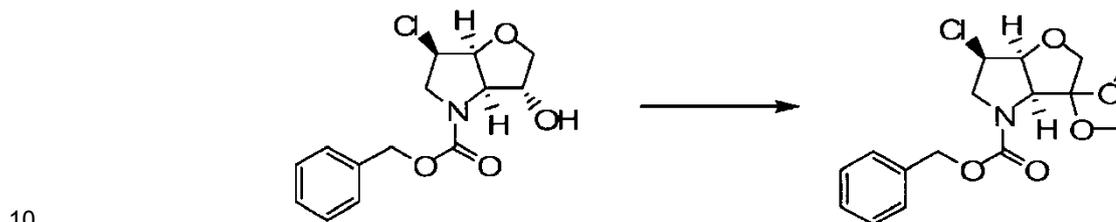
Etapa ii)



5 A una solución agitada del producto de la etapa i) (0,56 g, 1,05 mmol) en THF (6 mL) se añadió una solución de fluoruro de tetrabutilamonio 1 M en THF (1,26 mL), y se agitó a TA durante una noche. La mezcla de reacción se concentró después sobre sílice y una cromatografía instantánea en columna del residuo (elución en gradiente por etapas, acetato de etilo en hexano, 50-100%), seguida de una concentración de las fracciones adecuadas y un secado a vacío durante una noche, proporcionó el producto como un jarabe incoloro (0,27 g, 0,91 mmol, 87%).

Datos de RMN (400 MHz, 298 K, CDCl<sub>3</sub>): <sup>1</sup>H, δ 2,22 y 3,00 (2 d, 1H, J<sub>OH,3</sub> = 3,5 Hz, OH mayoritario y minoritario), 3,30 (m, 1 H, CHH), 3,89 (m, 1 H, CHH), 4,00-4,16 (m, 3H, 2 CHH y CH), 4,24 (d, 1H, CH), 4,43 y 4,54 (2 s a, 1H, H-3 mayoritario y minoritario), 4,70 (m, 1H, CH), 5,08-5,23 (m, 2H, OCH<sub>2</sub>Ph), 7,32-7,40 (m, 5H, Ar-H).

Etapa iii)

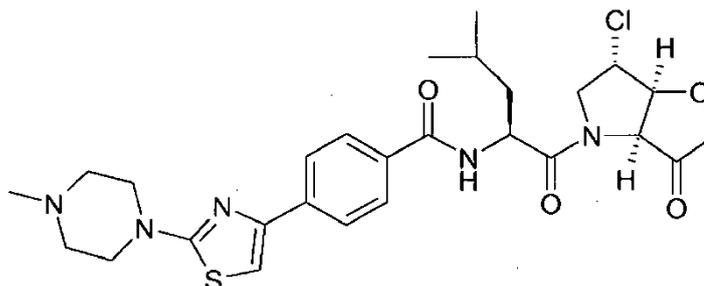


15 A una solución agitada del producto de la etapa ii) (0,26 g, 0,88 mmol) en diclorometano (6 mL) se añadió periodinano de Dess-Martin (0,41 g, 0,97 mmol) a TA. La reacción se controló por TLC (3:2 de acetato de etilo-hexano, visualizado por tinción con AMC) y después de 3,5 h la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (20 mL), se lavó con 1:1 de hidrógeno carbonato de sodio ac. saturado/tiosulfato de sodio al 10% ac. (3 x 20 mL), después se secó (sulfato de sodio), se filtró y se concentró. El residuo se volvió a disolver en metanol (5 mL) y se añadió ortoformiato de trimetilo (1,25 mL) y monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (0,03 g, 0,16 mmol). La mezcla de reacción se mantuvo a 60°C durante una noche, después se añadió diisopropiletilamina (0,5 mL) y la mezcla de reacción se concentró. La cromatografía instantánea (elución en gradiente por etapas, acetato de etilo en hexano, 20-40%) del residuo, seguida de concentración de las fracciones apropiadas y secado a vacío durante el fin de semana, proporcionó el producto como un jarabe duro incoloro (0,27 g, 0,79 mmol, 89%).

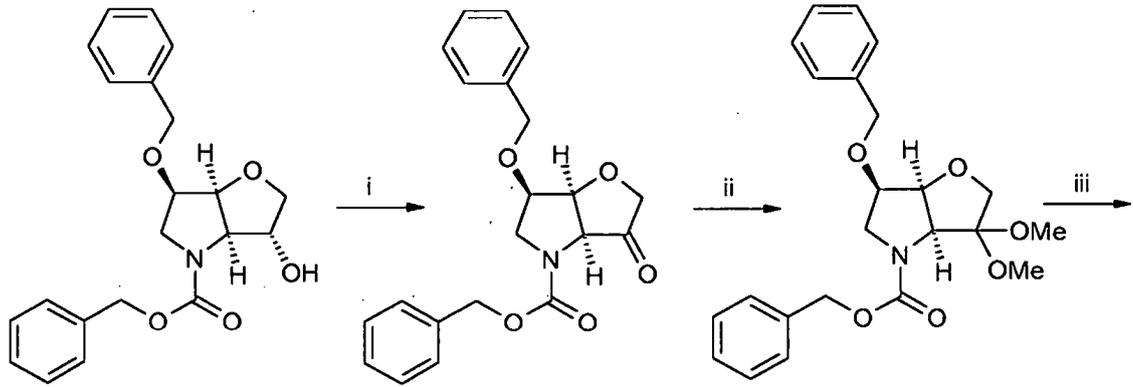
20 Datos de RMN (400 MHz, 298 K, CDCl<sub>3</sub>): <sup>1</sup>H, δ 3,08-3,47 (m, 7H, 2 x OCH<sub>3</sub> mayoritario y minoritario y CHH), 3,80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 3,98 (s a, 1H, CH), 4,25 (m, 1H, CHH), 4,45 (m, 1H, CH), 4,60 (t, 1H, CH), 5,04-5,26 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 7,29-7,42 (m, 5H, Ar-H)

#### Ejemplo Comparativo 1

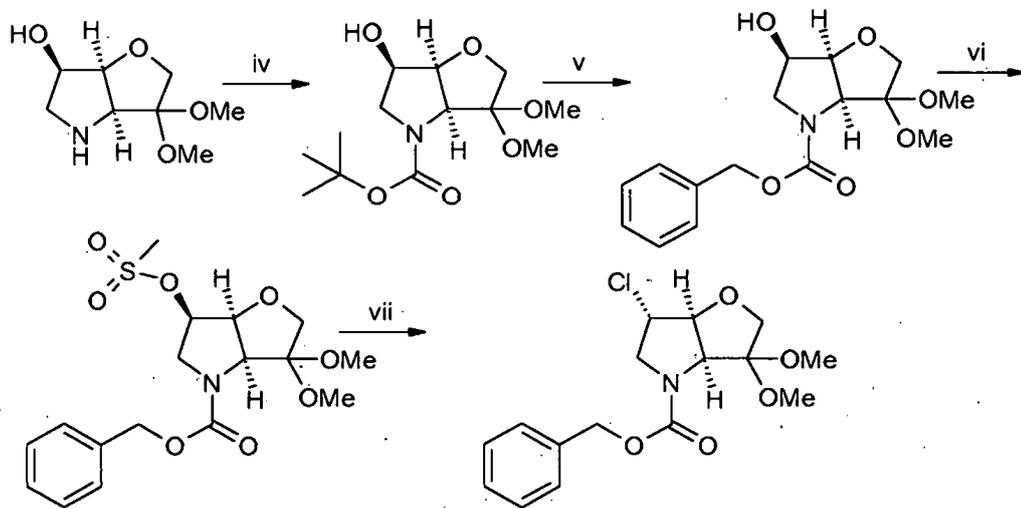
25 N-[(S)-1-((3aS,6S,6aS)-6-cloro-3-oxo)-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzamida



El elemento básico 6-S cloro se preparó como se muestra en el esquema siguiente:



Compuesto 10 en WO05/066180

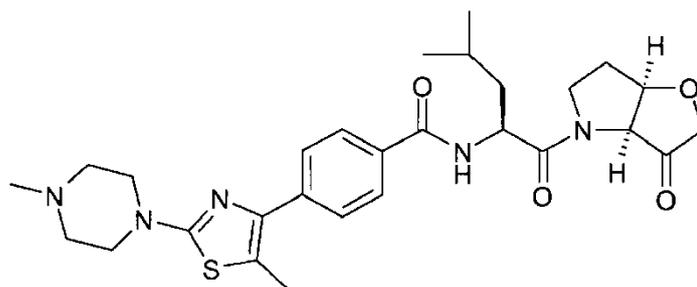


- i. Periodinano de Dess-Martin, DCM, 2 h, TA;
- ii. Trimetilortoformiato, pTsOH, MeOH, 8 h, 60°C;
- iii. Pd(OH)<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, MeOH, 48 h, TA;
- 5 iv. Boc<sub>2</sub>O, 10% de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 16 h, 0°C hasta TA;
- v. HCl, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>/Py, CBzCl
- vi. CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>/Et<sub>3</sub>N MsCl
- vii. DMF, LiCl

10 Este elemento básico se desprotegió en N a continuación y se llevó a través del resto de la síntesis tal y como se describe en el Ejemplo 5 para proporcionar N-[(S)-1-((3aS,6aS)-6R-cloro-3-oxo)-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzamida.

Ejemplo Comparativo 2

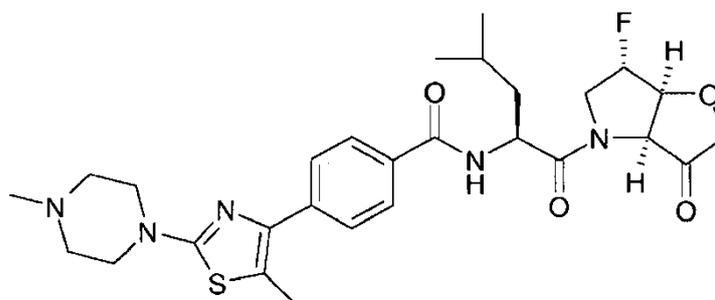
N-[(1S)-1-((3aS,6aR)-3-oxo)-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzamida



El elemento básico P1 se sintetizó como se describe en el documento WO02/05720, acoplado a L-leucina protegida en N y el elemento básico P3 del Ejemplo 3 anterior, y se oxidó para dar la cetona tal y como se muestra en el Ejemplo 4.

#### 5 Ejemplo Comparativo 3

N-[(1S)-1-((3aS,6aR)-3-oxo)-hexahidro-furo[3,2-b]pirrol-4-carbonil]-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzamida



La síntesis de este ejemplo comparativo se muestra en el Ejemplo 9 del documento WO05/66180.

#### 10 Ejemplos biológicos

##### Determinación de la actividad catalítica proteolítica de la catepsina K

Los ensayos adecuados para la catepsina K se llevaron a cabo utilizando una enzima recombinante humana, tal como la descrita en PDB.

ID BC016058 estándar; ARNm; HUM; 1699 BP.

#### 15 DE catepsina K de *Homo sapiens* (picnodisostosis), ARNm (clon de ADNc MGC:23107

RX MEDLINE; RX PUBMED; [12477932](#).

DR RZPD; [IRALp962G1234](#).

DR SWISS-PROT; [P43235](#).

20 La catepsina K recombinante se puede expresar en una variedad de sistemas de expresión disponibles comercialmente, que incluyen los sistemas de *E. coli*, *Pichia* y *Baculovirus*. La enzima purificada se activa mediante la eliminación de la prosequencia por métodos convencionales.

25 Las condiciones de ensayo estándar para la determinación de las constantes cinéticas, utilizaron un sustrato peptídico fluorogénico, típicamente H-D-Ala-Leu-Lys-AMC, y se determinaron ya sea en Mes/Tris 100 mM, pH 7,0 que contenía EDTA 1 mM y 2-mercaptoetanol 10 mM o fosfato de Na 100 mM, en EDTA 1 mM, 0,1% de PEG4000 pH 6,5 o acetato de Na 100 mM, pH 5,5 que contenía EDTA 5 mM y cisteína 20 mM, en cada caso, opcionalmente con DTT 1 M como estabilizador. La concentración de enzima empleada era 5 nM. La solución madre de sustrato se preparó como 10 mM en DMSO. Se realizaron escrutinios a una concentración de sustrato fija de 60 µM y estudios cinéticos detallados con diluciones dobles de sustrato desde 250 µM. La concentración total de DMSO en el ensayo se mantuvo por debajo del 3%. Todos los ensayos se realizaron a temperatura ambiente. La fluorescencia del producto (excitación a 390 nm, emisión a 460 nm) se controló con un lector de placas fluorescente de Labsystems Fluoroskan Ascent. Las curvas de progreso del producto se generaron más de 15 minutos después de la generación del producto AMC.

30

##### Determinación de la Ki de la catepsina S

El ensayo emplea catepsina S humana expresada en baculovirus y el sustrato fluorescente Boc-Val-Leu-Lys-AMC disponible en Bachem en un formato de placa de 384 pocillos, en la que se pueden someter a ensayo en paralelo 7 compuestos del ensayo con un control positivo que comprende un compuesto de comparación conocido de inhibidor de la catepsina S.

5 Diluciones del sustrato

Se añadieron 280  $\mu$ l/pocillo de DMSO al 12,5% a las filas B - H de dos columnas de una placa de polipropileno de 96 pocillos profundos. Se añadieron 70  $\mu$ l/pocillo de sustrato a la fila A. Se añadieron 2 x 250  $\mu$ l/pocillo de tampón del ensayo (fosfato de Na 100 mM, NaCl 100 mM, pH 6,5) a la fila A, se mezcló y se diluyó de forma doble a lo largo de la placa hasta la fila H.

10 Diluciones de inhibidor

Se añaden 100  $\mu$ l/pocillo de tampón de ensayo a las columnas 2-5 y 7-12 de 4 filas de una placa de polipropileno de fondo en V de 96 pocillos. Se añaden 200  $\mu$ l/pocillo de tampón de ensayo a las columnas 1 y 6.

El primer compuesto del ensayo preparado en DMSO se añade a la columna 1 de la fila superior, por lo general con un volumen para proporcionar entre 10 y 30 veces la  $K_i$  aproximada, determinada inicialmente. La  $K_i$  aproximada se calcula a partir de una migración preliminar en la que 10  $\mu$ l/pocillo de boc-VLK-AMC 1 mM (dilución 1/10 de la solución madre 10 mM diluida en DMSO en tampón de ensayo) se administran a las filas de B a H y 20  $\mu$ l/pocillo a la fila A de una placa de 96 pocillos de Microfluor<sup>®</sup>. Se añaden 2  $\mu$ l de cada compuesto de ensayo 10 mM a un pocillo separado en la fila A, columnas 1-10. Se añaden 90  $\mu$ l de tampón de ensayo que contiene DTT 1 mM y de catepsina S 2 nM a cada pocillo de las filas B-H y 180  $\mu$ l a la fila A. Se mezcla la fila A con una pipeta multicanal y se diluye dos veces hasta la fila G. Se mezcla la fila H y se lee en el espectrofotómetro fluorescente. Las lecturas son datos de Prism ajustados a la ecuación de inhibición competitiva, estableciendo  $S = 100 \mu$ M y  $K_M = 100 \mu$ M para obtener una estimación de la  $K_i$ , de hasta un máximo de 100  $\mu$ M.

Se añade el segundo compuesto de la prueba a la columna 6 de la fila superior, el tercero a la columna 1 de la segunda fila, etc. Se añade 1  $\mu$ l de compuesto de comparación a la columna 6 de la fila inferior. Se mezcla la columna 1 y se diluye dos veces hasta la columna 5. Se mezcla la columna 6 y se diluye dos veces hasta la columna 10.

Usando una pipeta de 8 canales multietapa ajustada a 5 x 10  $\mu$ l, se distribuyen 10  $\mu$ l/pocillo de sustrato a la placa de ensayo de 384 pocillos. Se distribuye la primera columna de la placa de dilución de sustrato en todas las columnas de la placa de ensayo, comenzando por la fila A. El espacio entre las puntas de la pipeta multicanal permitirá saltar correctamente las filas alternas. Se distribuye la segunda columna a todas las columnas, comenzando en la fila B.

Empleando una pipeta de 12 canales multietapa ajustada a 4 x 10  $\mu$ l, se distribuyen 10  $\mu$ l/pocillo de inhibidor a la placa de ensayo de 384 pocillos. Se distribuye la primera fila de la placa de dilución de inhibidor a las filas alternas de la placa de ensayo, comenzando en A1. El espacio entre las puntas de la pipeta multicanal permitirá saltar correctamente las columnas alternas. De forma similar, se distribuye la segunda, la tercera y la cuarta fila a filas y columnas alternas, comenzando en A2, B1 y B2, respectivamente.

Se mezclan 20 ml del tampón de ensayo y 20  $\mu$ l de DTT 1 M. Se añade suficiente catepsina S para proporcionar una concentración final de 2 nM.

Usando un distribuidor tal como un Multidrop 384, se añaden 30  $\mu$ l/pocillo a todos los pocillos de la placa de ensayo y se lee en un espectrofotómetro de fluorescencia tal como un Ascent.

Las lecturas de la fluorescencia, (longitudes de onda de excitación y emisión de 390 nm y 460 nm, respectivamente, establecidas empleando filtros de paso de banda) que reflejan el grado de escisión enzimática del sustrato fluorescente, sin importar el inhibidor, se ajustan según una tasa lineal para cada pocillo.

Las tasas ajustadas para todos los pocillos para cada inhibidor se ajustan a la ecuación de inhibición competitiva utilizando SigmaPlot 2000 para determinar los valores de  $V$ ,  $K_m$  y  $K_i$ .

Ki de la catepsina L

El procedimiento anterior con las siguientes modificaciones, se utiliza para la determinación de la  $K_i$  para la catepsina L.

La enzima es catepsina L humana disponible comercialmente (por ejemplo, Calbiochem). El sustrato es H-D-Val-Leu-Lys-AMC disponible en Bachem. El tampón del ensayo es acetato de sodio 100 mM EDTA 1 mM, pH 5,5). La solución madre en DMSO (10 mM en 100% de DMSO) se diluye hasta 10% en tampón de ensayo. La enzima se prepara a una concentración 5 nM en tampón de ensayo más ditiotreitól 1 mM, justo antes del uso. Se administran 2  $\mu$ l de inhibidor 10 mM preparado en 100% en DMSO, en la fila A. 10  $\mu$ l de sustrato 50  $\mu$ M (= dilución 1/200 de solución madre de DMSO 10 mM, diluida en tampón de ensayo)

Estudios de inhibición

Los inhibidores potenciales se examinan usando el ensayo anterior con concentraciones variables del compuesto del ensayo. Las reacciones se iniciaron mediante la adición de enzima a soluciones tamponadas de sustrato e inhibidor. Los valores de  $K_i$  se calcularon de acuerdo con la ecuación 1

$$v_0 = \frac{VS}{K_M \left( 1 + \frac{I}{K_i} \right) + S} \quad (1)$$

5 en donde  $v_0$  es la velocidad de la reacción,  $V$  es la velocidad máxima,  $S$  es la concentración de sustrato con una constante de Michaelis  $K_M$ , e  $I$  es la concentración de inhibidor.

Los resultados se presentan como

- A menos de 50 nanomolar
- 10 B 50-500 nanomolar
- C 501-1000 nanomolar
- D 1001 - 5000 nanomolar
- E 5001 - 10,000 nanomolar
- F más de 10,000 nanomolar

15 TABLA 1

Ejemplo	Ki de catepsina K	Ki de catepsina S	Ki de catepsina L
5	A	E	C
6	A	D	C
7	A	D	D
8	A	F	D
10	A	D	B
12	A	F	D
13	A	F	D

Los compuestos de fórmula II son, por tanto, potentes inhibidores de la catepsina K y todavía son selectivos ante las catepsinas S y L, estrechamente relacionadas.

Los valores representativos de lotes específicos de compuesto/enzima/momento del ensayo incluyen:

Ejemplo	Ki catepsina K	Ki catepsina S	Ki catepsina L
5	1,6	7500	880
6	1,5	4000	890
7	4,2	1700	1200
8	3,3	13000	2900
10	3,4	4700	490
12	1,8	11000	1600

20 Estabilidad metabólica

Los compuestos de la invención y los ejemplos comparativos indicados se sometieron a ensayo para estudiar la estabilidad metabólica en un ensayo citosólico en el que los compuestos se incubaron con fracciones citosólicas hepáticas humanas disponibles comercialmente y la desaparición del compuesto se supervisó por HPLC o LC/MS. Las fracciones citosólicas de hígado humano agrupadas son menos propensas a representar individuos atípicos que

la sangre de un único individuo y se pueden almacenar congeladas, a diferencia de la sangre completa. Por lo tanto, el ensayo citosólico proporciona un banco de pruebas de ensayo consistente como guía de la estabilidad de un compuesto en el entorno *in vivo*, tal como cuando se expone a la sangre completa.

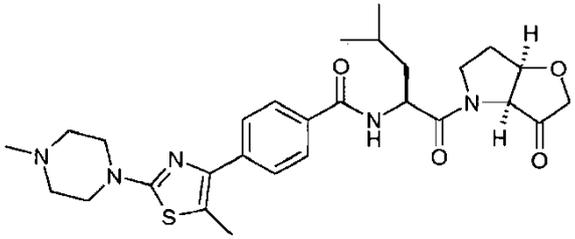
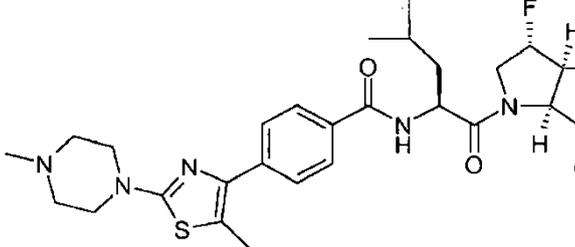
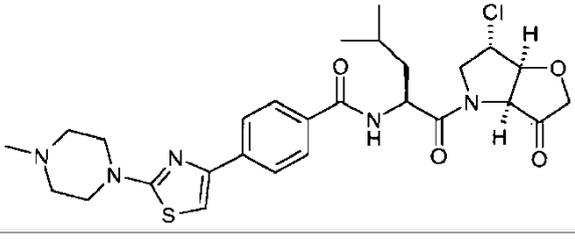
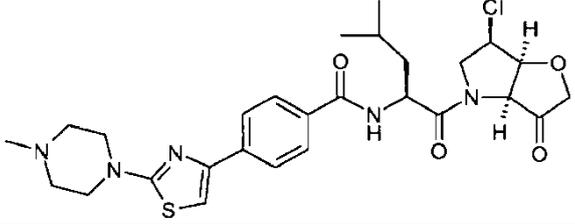
5 En resumen, los compuestos del ensayo (2 µM) se incuban en citosol agrupado de hígado humano (Xenotech LLC Lenexa US, 1 mg/ml de proteína en tampón fosfato 0,1 M, pH 7,4) a 37° centígrados durante un período de una hora. Las incubaciones se inician mediante la adición de cofactor NADPH 1 mM. Se tomaron submuestras a tiempos específicos a 0, 20, 40 y 60 minutos y "precipitaron súbitamente" por la adición de 3 volúmenes de acetonitrilo enfriado con hielo. Las muestras se centrifugaron a temperatura reducida y los sobrenadantes se separaron y se analizaron por LC-MS-MS.

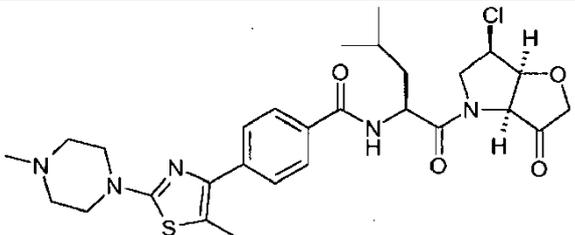
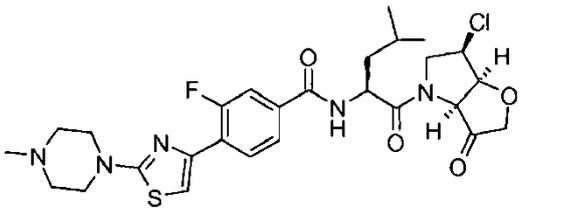
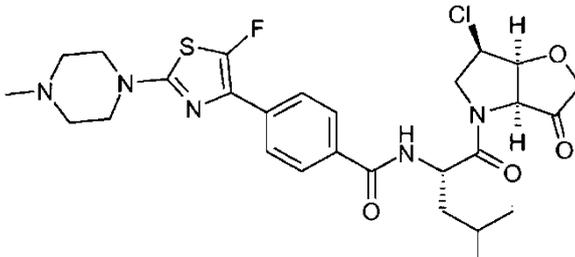
10 Alternativamente, se realiza un ensayo de estabilidad análogo en sangre completa humana o de mono.

El ejemplo comparativo 3 emplea el epímero con F hacia abajo de la unidad P1 del documento WO0566180. El ejemplo comparativo 2 emplea las unidades P1 y P2 preferidas del documento WO02/057270, junto con una unidad P3 dentro del alcance de las presentes reivindicaciones (que están fuera del alcance del documento WO02/057270). El ejemplo comparativo 1 muestra el epímero con Cl hacia abajo del compuesto del Ejemplo 6.

15

TABLA 2

Ejemplo		t <sub>½</sub> minutos
Ejemplo Comparativo 2		72
Ejemplo Comparativo 3		100-150
Ejemplo Comparativo 1		24
Ejemplo 6		>300

Ejemplo		t <sub>1/2</sub> minutos
Ejemplo 5		198
Ejemplo 11		180
Ejemplo 12		270

5 Será evidente a partir del ejemplo comparativo 2 que P1 de la técnica anterior del documento WO02/057270 proporciona compuestos con una semivida citosólica de un poco más de una hora. El P1 con el fluoro hacia abajo ampliamente ejemplificado en el documento WO05/66180 es algo mejor, con una semivida de más de 1½ hora. Sin embargo, la sustitución de cloro por el flúor hacia abajo del documento WO05/66180, reduce drásticamente la estabilidad, tal y como se ilustra mediante la comparación del ejemplo comparativo 1 con el ejemplo comparativo 3. En contraste, el epímero con el cloro hacia arriba de la invención (ejemplo 6) ha proporcionado un compuesto con una semivida de más de 5 horas. Del mismo modo, con un componente P3 y P2 idéntico, el ejemplo comparativo 2 y el epímero con el cloro hacia arriba de la invención (ejemplo 5) demuestran claramente que el epímero con el cloro hacia arriba proporciona una semivida mucho mejor.

#### Permeabilidad

Este ejemplo mide el transporte de los inhibidores a través de las células del canal gastroentérico humano. El ensayo utiliza las conocidas células Caco-2 con un número de pases entre 40 y 60.

#### Transporte apical a basolateral

15 En general, cada compuesto se someterá ensayo en 2-4 pocillos. Los pocillos basolaterales y apicales contendrán 1,5 mL y 0,4 mL de tampón de transporte (TB), respectivamente, y la concentración estándar de las sustancias del ensayo es de 10 µM. Además, todas las soluciones y los tampones del ensayo contendrán 1% de DMSO. Antes del experimento, las placas de transporte se recubren previamente con medio de cultivo que contiene 10% de suero durante 30 minutos, para evitar la unión no específica al material plástico. Después de 21 a 28 días de cultivo sobre soportes de filtro, las células están listas para los experimentos de permeabilidad.

20 La placa de transporte n° 1 comprende 3 filas de 4 pocillos cada una. La fila 1 se denomina lavado, la fila 2 "30 minutos" y la fila 3 "60 minutos". La placa de transporte 2 comprende 3 filas de 4 pocillos, una se denomina fila 4 "90 minutos", fila 5 "120 minutos" y la fila restante está sin asignar.

25 El medio de cultivo de los pocillos apicales se retira y los insertos se transfieren a una fila de lavado (n° 1) en una placa de transporte (placa n° 1) de las 2 placas sin insertos, que ya han sido preparadas con 1,5 mL de tampón de transporte (HBSS, HEPES 25 mM, pH 7,4) en las filas 1 a 5. En el escrutinio A → B el TB en el pocillo basolateral también contiene 1% de albúmina de suero bovino.

Se añaden 0,5 mL de tampón de transporte (HBSS, MES 25 mM, pH 6,5) a los insertos y las monocapas de células

se equilibran en el sistema de tampón de transporte durante 30 minutos a 37°C en un agitador Polymix. Después de equilibrar con el sistema de tampón, el valor de resistencia eléctrica transepitelial (TEER) se mide en cada pocillo mediante un instrumento con electrodos "chopstick" (palillos chinos) de EVOM. Los valores de TEER comprenden por lo general entre 400 a 1000 Ω por pocillo (depende del número de pases utilizado).

- 5 El tampón de transporte (TB, pH 6,5) se retira de la parte apical y el inserto se transfiere a la fila de 30 minutos (n° 2) y se añaden 425 µL de TB de nuevo aporte (pH 6,5), incluyendo la sustancia del ensayo al pocillo apical (donante). Las placas se incuban en un agitador Polymix a 37°C con una velocidad de agitación baja de aproximadamente 150 a 300 rpm.

- 10 Después de 30 minutos de incubación, en la fila 2 las inserciones serán trasladadas a los nuevos pocillos (receptores) basolaterales previamente calentados, cada 30 minutos; fila 3 (60 minutos), 4 (90 minutos) y 5 (120 minutos).

Se toman muestras de 25 µL de la solución apical después de ~2 minutos y al final del experimento. Estas muestras representan muestras de donantes del comienzo y el final del experimento.

- 15 Se tomarán 300 µL de los pocillos basolaterales (receptores) en cada momento programado y se mide el valor posterior de TEER al final del experimento. A todas las muestras recogidas se añadirá acetonitrilo hasta tener una concentración final de 50% en las muestras. Las muestras recogidas se almacenarán a -20°C hasta su análisis por HPLC o LC-MS.

Transporte de basolateral a apical

- 20 En general, cada compuesto se someterá a ensayo en 2-4 pocillos. Los pocillos basolaterales y los apicales contendrán 1,55 mL y 0,4 mL de TB, respectivamente, y la concentración estándar de las sustancias sometidas a ensayo es de 10 µM. Además, todas las soluciones y tampones del ensayo contendrán 1% de DMSO. Antes del experimento, las placas de transporte se recubren previamente con medio de cultivo que contiene 10% de suero durante 30 minutos para evitar la unión no específica al material plástico.

- 25 Después de 21 a 28 días de cultivo sobre soportes de filtro, las células están listas para los experimentos de permeabilidad. El medio de cultivo de los pocillos apicales se retira y los insertos se transfieren a una fila de lavado (n° 1) en una nueva placa sin insertos (placa de transporte).

La placa de transporte comprende 3 filas de 4 pocillos. La fila 1 se denomina "lavado" y la fila 3 es la "fila experimental". La placa de transporte se ha preparado previamente con 1,5 mL de TB (pH 7,4) en la fila de lavado n° 1 y con 1,55 mL de TB (pH 7,4), incluyendo la sustancia del ensayo, en la fila experimental n° 3 (lado donante).

- 30 Se añaden 0,5 mL de tampón de transporte (HBSS, MES 25 mM, pH 6,5) a los insertos en la fila n° 1 y las monocapas celulares se equilibran en el sistema de tampón de transporte durante 30 minutos, 37°C en un agitador Polymix. Después de equilibrar con el sistema de tampón, el valor de TEER se mide en cada pocillo mediante un instrumento con electrodos "chopstick" de EVOM.

- 35 El tampón de transporte (TB, pH 6,5) se retira de la parte apical y el inserto se transfiere a la fila 3 y se añaden 400 µL de TB de nuevo aporte, pH 6,5 a los insertos. Después de 30 minutos, se retiran 250 µL del pocillo apical (receptor) y se sustituyen por tampón de transporte de nuevo aporte. A partir de entonces, se retirarán 250 µL de muestras y se sustituyen por tampón de transporte de nuevo aporte, cada 30 minutos hasta el final del experimento a los 120 minutos, y finalmente se mide un valor posterior de TEER al final del experimento. Se tomará una muestra de 25 µL desde el compartimiento basolateral (donante) después de ~2 minutos y al final del experimento. Estas muestras representan muestras de donantes del comienzo y del final del experimento.

- 40 A todas las muestras recogidas se añadirá acetonitrilo hasta tener una concentración final de 50% en las muestras. Las muestras recogidas se almacenarán a -20°C hasta su análisis por HPLC o LC-MS.

#### Cálculo

Determinación de la fracción acumulada absorbida,  $FA_{cum}$ , en función del tiempo.  $FA_{cum}$  se calcula a partir de:

$$FA_{cum} = \sum \frac{C_{Ri}}{C_{Di}}$$

- 45 en donde  $C_{Ri}$  es la concentración de receptor al final del intervalo  $i$  y  $C_{Di}$  es la concentración de donante al principio del intervalo  $i$ . Se debería obtener una relación lineal.

La determinación de los coeficientes de permeabilidad ( $P_{app}$ , cm/s) se calcula a partir de:

$$P_{app} = \frac{(k \cdot V_R)}{(A \cdot 60)}$$

en donde  $k$  es la tasa de transporte ( $\text{min}^{-1}$ ) definida como la pendiente obtenida por regresión lineal de la fracción acumulada absorbida ( $F_{A_{\text{cum}}}$ ) como una función del tiempo ( $\text{min}$ ),  $V_R$  es el volumen en la cámara receptora ( $\text{mL}$ ) y  $A$  es el área del filtro ( $\text{cm}^2$ ).

Compuestos de referencia típicos:

Categoría de la absorción en el hombre	Marcadores	% de absorción en el hombre
TRANSPORTE PASIVO		
Bajo (0-20%)	Manitol Metotrexato	16 20
Moderado (21-75%)	Aciclovir	30
Alto (76-100%)	Propranolol Cafeína	90 100
TRANSPORTE ACTIVO		
Transportador de aminoácidos	L-Fenilalanina	100
EFLUJO ACTIVO		
PGP-MDR1	Digoxina	30

5

Los resultados representativos para los compuestos de la invención en este ensayo con Caco-2 incluyen valores de Papp de  $5,2 \times 10^6$  para el compuesto del Ejemplo 10 y  $10 \times 10^6$   $\text{cm/s}$  para el compuesto del Ejemplo 12. Los compuestos de fórmula IB que comprenden un grupo trifluorometilo, como el Ejemplo 13, generalmente tienen valores de Papp 2-5 veces superiores.

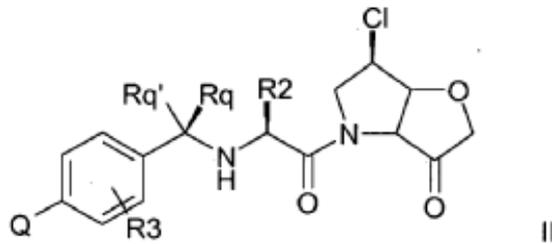
#### 10 Abreviaturas

DMF	dimetilformamida	DCM	diclorometano
TBDMS	<i>tert</i> -butildimetilsililo	TA	temperatura ambiente
THF	tetrahidrofurano	Ac	acetil
TLC	cromatografía en capa fina	DMAP	dimetilaminopiridina
EtOAc	acetato de etilo		

15 En toda esta memoria descriptiva y en las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto indique lo contrario, la palabra "comprenden" y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", se entenderán que implican la inclusión de un número entero, una etapa, un grupo de números enteros o un grupo de etapas, pero no la exclusión de ningún otro número entero, etapa, grupo de números enteros o grupo de etapas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula II:



en donde

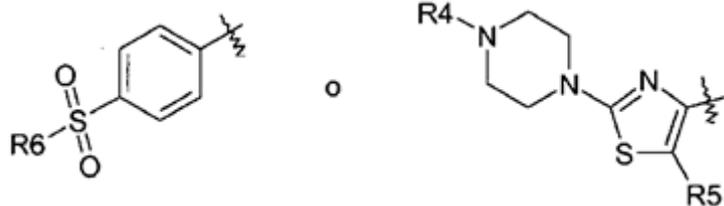
5  $R^2$  es la cadena lateral de leucina, isoleucina, ciclohexilglicina, O-metil treonina, 4-fluoroleucina o 3-metoxivalina;

$R^3$  es H, metilo o F;

$Rq$  es  $CF_3$  con la estereoquímica indicada y  $Rq'$  es H; o

$Rq$  y  $Rq'$  definen conjuntamente ceto;

10  $Q$  es



en donde

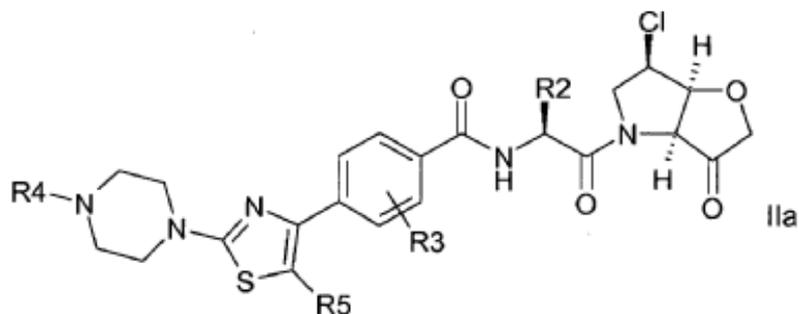
$R^4$  es alquilo  $C_1-C_6$ ;

$R^5$  es H, metilo o F;

15  $R^6$  es alquilo  $C_1-C_6$ ;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un N-óxido del mismo.

2. El compuesto según la reivindicación 1, con la fórmula IIa:



20 en donde

$R^2$  es la cadena lateral de leucina, isoleucina, ciclohexilglicina, O-metil treonina, 4-fluoroleucina o 3-metoxivalina;

$R^3$  es H, metilo o F;

R<sup>4</sup> es alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sup>5</sup> es H, metilo o F;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un N-óxido del mismo.

5 3. El compuesto según la reivindicación 1 o 2, en el que R<sup>2</sup> es la cadena lateral de leucina, isoleucina, O-metil treonina, 4-fluoroleucina o 3-metoxivalina.

4. El compuesto según la reivindicación 3, en el que R<sup>2</sup> es la cadena lateral de 4-fluoroleucina o leucina, preferiblemente leucina.

5. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R<sup>3</sup> es fluoro o metilo, preferiblemente en la posición meta en relación con la amida bencílica.

10 6. El compuesto según la reivindicación 5, en el que R<sup>3</sup> es fluoro.

7. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R<sup>3</sup> es H.

8. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que R<sup>5</sup> es fluoro.

9. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que R<sup>5</sup> es H.

10. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en el que R<sup>4</sup> es metilo.

15 11. El compuesto según la reivindicación 1, seleccionado a partir de

N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-4-carbonil)-3-fluoro-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzamida;

N-[2-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-4-il)-1-ciclohexil-2-oxo-etil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida

20 N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]benzamida

N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[5-metil-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida; o

una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un N-óxido del mismo.

25 12. El compuesto según la reivindicación 1, denominado

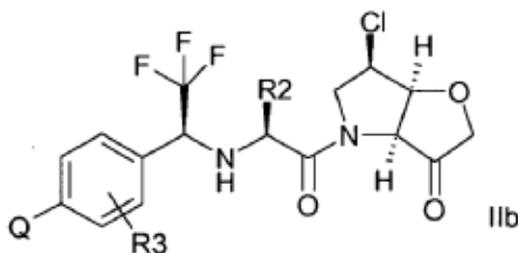
N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-3-fluoro-4-[2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida; o

una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un N-óxido del mismo.

30 13. El compuesto según la reivindicación 1, denominado N-[1-(6-cloro-3-oxo-hexahidro-furo[3,2-*b*]pirrol-4-carbonil)-3-metil-butil]-4-[5-fluoro-2-(4-metil-piperazin-1-il)-tiazol-4-il]-benzamida; o

una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un N-óxido del mismo

14. El compuesto según la reivindicación 1, con la fórmula IIb



en donde

35 R<sup>2</sup> es la cadena lateral de leucina, isoleucina, ciclohexilglicina, O-metil treonina, 4-fluoroleucina o 3-metoxivalina;

R<sup>3</sup> es H, metilo o F;

Q es el 4-(alquil C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)sulfonifenilo;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un hidrato o un N-óxido del mismo.

15. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13, para uso como medicamento.

5 16. Uso de un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de un trastorno seleccionado a partir de:

osteoporosis,

enfermedades gingivales tales como gingivitis y periodontitis,

enfermedad de Paget,

10 hipercalcemia por enfermedad maligna,

enfermedad ósea metabólica,

enfermedades caracterizadas por una degradación excesiva del cartílago o la matriz, tales como osteoartritis y artritis reumatoide,

cánceres óseos que incluyen neoplasia,

15 dolor.

17. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15, para uso en el tratamiento o la prevención de un trastorno seleccionado a partir de:

osteoporosis,

enfermedades gingivales tales como gingivitis y periodontitis,

20 enfermedad de Paget,

hipercalcemia por enfermedad maligna,

enfermedad ósea metabólica,

enfermedades caracterizadas por una degradación excesiva del cartílago o la matriz, tales como osteoartritis y artritis reumatoide,

25 cánceres óseos que incluyen neoplasia,

dolor.