

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 615 744**

51 Int. Cl.:

C07F 5/02 (2006.01)

A61K 31/69 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.11.2013 PCT/EP2013/075031**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.06.2014 WO2014086664**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.11.2013 E 13798328 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.12.2016 EP 2925765**

54 Título: **Compuestos de ácido triazol-borónico sustituidos**

30 Prioridad:

03.12.2012 US 201261732459 P

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

08.06.2017

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**LYNCH, STEPHEN M.;
NEIDHART, WERNER;
PLANCHER, JEAN-MARC y
SCHULZ-GASCH, TANJA**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 615 744 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de ácido triazol-borónico sustituidos

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos orgánicos que resultan útiles para la terapia y/o la profilaxis en un mamífero de una enfermedad o trastorno inflamatorio, y en particular a compuestos de ácido triazol-borónico sustituidos para el tratamiento de la artritis reumatoide, el lupus y la enfermedad del intestino irritable (EII), a su preparación, a composiciones farmacéuticas que los contienen y a la utilización de las mismas como inhibidores de LMP7.

10 Antecedentes de la invención

15 LMP7 es un componente esencial del inmunoproteasoma, que se expresa principalmente en las células inmunológicas, tales como los linfocitos T/B y los monocitos, así como células no inmunológicas que han sido expuestas a citoquinas inflamatorias, incluyendo IFN- γ y el FNT α . El inmunoproteasoma desempeña un papel esencial en la generación del repertorio de péptidos antigénicos y en la conformación de la respuesta de células T CD8⁺ restringida al CMH de clase I. Moebius J. et al., European Journal of Immunology, 2010; Basler M. et al., Journal of Immunology, 2004, 3925-34. Los nuevos datos sugieren que LMP7 también regula la producción de citoquinas inflamatorias y las funciones de las células inmunológicas más allá de la regulación de la presentación de los antígenos mediada por el CMH de clase I.

20 Se ha demostrado que un inhibidor de LMP7 de molécula pequeña, PR-957, potencialmente bloquea la diferenciación de Th1/17, las funciones efectoras de las células B y la producción de citoquinas inflamatorias (IL-6, FNT- α e IL-23). Muchamuel T. et al., Natural Medicine 2009. 15:781-787, 2009; Basler M. et al., Journal of Immunology, 634-41, 2010.

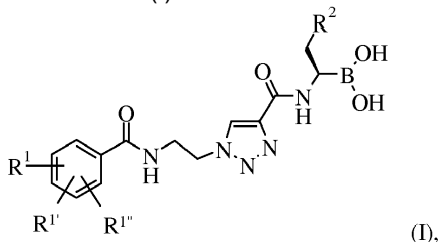
30 Además, el bloqueo de LMP7 con PR-957 se ha demostrado que produce efectos terapéuticos en varios modelos preclínicos de enfermedad autoinmunitaria. En primer lugar, se ha demostrado que PR-957 reduce significativamente la puntuación de enfermedad en los modelos de artritis CAIA y CIA en el ratón, con signos característicos de inflamación y erosión ósea significativamente reducidas. Muchamuel T. et al., Natural Medicine 2009. 15, 781-787. Además, PR-957 redujo el número de células plasmáticas y los niveles de IgG anti-ADNdc en el modelo de ratones mRL/lpr con tendencia a lupus y evitó la progresión de la enfermedad en estos ratones. Ichikawa H.T. et al., Arthritis & Rheumatism. 64:493-503, 2012. Además, PR-957 redujo la inflamación y la destrucción de los tejidos en un modelo de colitis inducida por DSS en ratones. Basler M. et al., Journal of Immunology, 634-41, 2010. Por último, los ratones con inactivación de LMP7 se ha demostrado que también se encuentran protegidos de la enfermedad en modelos de EII. Schmidt N. et al., Gut, 896-906, 2010.

40 El documento n° WO 2009/126691 da a conocer inhibidores de ácido graso amida hidrolasa.

Conjuntamente, los datos sugieren fuertemente que la actividad de LMP7 está estrechamente relacionada con las funciones de los linfocitos B/T y la producción de citoquinas inflamatorias, la totalidad de las cuales son dianas/rutas clínicamente validadas en la patogénesis de la artritis reumatoide, el lupus y la EII. De esta manera, los datos existentes proporcionan un firme fundamento para utilizar LMP7 como diana para indicaciones de enfermedad autoinmunitaria. Debido a los potenciales problemas de la utilización prolongada de un inhibidor covalente en enfermedades crónicas, tales como la autoinmunidad, resulta altamente deseable para las indicaciones de enfermedad autoinmunitaria un inhibidor LMP7 de molécula pequeña covalente reversible o no covalente.

50 Descripción resumida de la invención

La invención proporciona un compuesto de fórmula (I):



55 en la que:
 R^1 , $R^{1'}$ y $R^{1''}$, independientemente uno de otro, son hidrógeno, alcoxi, halógeno o $-CF_3$, y
 R^2 es alquilo C_{1-7} o fenilo,
 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, los usos terapéuticos de los compuestos y métodos de preparación de los compuestos.

5 Descripción detallada de la invención

A menos que se indique lo contrario, los términos y expresiones específicos a continuación utilizados en la descripción y en las reivindicaciones se definen de la manera siguiente.

10 El término "fracción" se refiere a un átomo o grupo de átomos unidos químicamente que se une a otro átomo o molécula mediante uno o más enlaces químicos, formando de esta manera parte de una molécula. Por ejemplo, las variables R de la fórmula I se refieren a fracciones que se unen a la estructura nuclear de fórmula I mediante un enlace covalente.

15 En referencia a una fracción particular con uno o más átomos de hidrógeno, el término "sustituido" se refiere al hecho de que por lo menos uno de los átomos de hidrógeno de dicha fracción es sustituido por otro sustituyente o fracción. Por ejemplo, la expresión "alquilo C₁₋₇ sustituido con halógeno" se refiere al hecho de que uno o más átomos de hidrógeno de un alquilo C₁₋₇ (tal como se define posteriormente) se sustituye por uno o más átomos de halógeno (por ejemplo trifluorometilo, difluorometilo, fluorometilo, clorometilo, etc.).

20 El término "alquilo" se refiere a una fracción hidrocarburo alifático saturado de cadena ramificada o de cadena lineal que presenta 1 a 20 átomos de carbono. En realizaciones particulares, el alquilo presenta 1 a 10 átomos de carbono, más particularmente 1 a 7 átomos de carbono.

25 El término "alquilo C₁₋₇" se refiere a una fracción alquilo que presenta 1 a 7 átomos de carbono. Entre los ejemplos de alquilo C₁₋₇ se incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo o terc-butilo.

30 El término "alcoxi" se refiere a un grupo de fórmula -O-R', en la que R' es un grupo alquilo. Entre los ejemplos de fracciones alcoxi se incluyen metoxi, etoxi, isopropoxi y terc-butoxi.

35 El término "arilo" se refiere a una fracción de hidrocarburo aromático cíclico monovalente que consiste de un anillo aromático mono-, bi- o tri-cíclico. El grupo arilo puede sustituirse opcionalmente tal como se define en la presente memoria. Entre los ejemplos de fracciones arilo se incluyen, aunque sin limitación, fenilo, naftilo, fenantrilo, fluorenilo, indenilo, pentalenilo, azulenilo, oxidifenilo, bifenilo, metilendifenilo, aminodifenilo, difenilsulfidilo, difenilsulfonilo, difenilisopropilidenilo, benzodioxanilo, benzofuranilo, benzodioxililo, benzopiranilo, benzoxazinilo, benzoxazinonilo, benzopiperadinilo, benzopiperazinilo, benzopirrolidinilo, benzomorfolinilo, metilendioxfenilo, etilendioxfenilo y similares, incluyendo derivados parcialmente hidrogenados de los mismos, estando cada uno opcionalmente sustituido.

40 Los términos "halo", "halógeno" y "haluro", que pueden utilizarse intercambiamente, se refieren a un sustituyente flúor, cloro, bromo o yodo.

45 A menos que se indique lo contrario, el término "hidrógeno" o "hidro" se refiere a una fracción de un átomo de hidrógeno (-H) y no H₂.

50 A menos que se indique lo contrario, la expresión "un compuesto de la fórmula" o "un compuesto de fórmula" o "compuestos de la fórmula" o "compuestos de fórmula" se refiere a cualquier compuesto seleccionado del género de compuestos tal como se define mediante la fórmula (incluyendo cualquier sal o éster farmacéuticamente aceptable de cualquiera de dichos compuestos, a menos que se indique lo contrario).

55 La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a aquellas sales que conservan la eficacia y propiedades biológicas de las bases libres o ácidos libres, que no resultan biológicamente o de otro modo no deseables. Las sales se forman con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, preferentemente ácido clorhídrico, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido salicílico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, N-acetilcisteína y similares. Además, pueden prepararse sales mediante la adición de una base inorgánica o una base orgánica al ácido libre. Entre las sales derivadas de una base inorgánica se incluyen, aunque sin limitación, las sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio y magnesio, y similares. Entre las sales derivadas de bases orgánicas se incluyen, aunque sin limitarse a ellas, sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas de intercambio iónico básicas, tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, lisina, arginina, N-etilpiperidina, piperidina, resinas de poliamina y similares.

65 Los compuestos de la presente invención pueden encontrarse presentes en forma de sales farmacéuticamente

aceptables. Los compuestos de la presente invención también pueden encontrarse solvatados, es decir, hidratados. La solvatación puede llevarse a cabo durante el curso del procedimiento de fabricación o puede tener lugar como consecuencia de las propiedades higroscópicas de un compuesto inicialmente anhidro de fórmula I (hidratación).

5 Los compuestos que presentan la misma fórmula molecular pero que difieren en la naturaleza o secuencia de enlace de sus átomos o en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "isómeros" y se encuentran comprendidos dentro del alcance de la invención. Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "estereoisómeros". Los diastereómeros son estereoisómeros con configuración opuesta en uno o más centros quirales que no son enantiómeros. Los estereoisómeros que incluyen uno o más centros asimétricos que son imágenes especulares no superponibles uno de otro se denominan "enantiómeros". En el caso de que un compuesto presente un centro asimétrico, por ejemplo en el caso de que se una un átomo de carbono a cuatro grupos diferentes, resulta posible un par de enantiómeros. Un enantiómero puede caracterizarse con la configuración absoluta de su centro o centros asimétricos y se describe mediante las reglas de secuenciación R y S de Cahn, Ingold y Prelog, o por la manera en la que la molécula hace girar el plano de la luz polarizada y se denomina dextrorrotatorio o levorrotatorio (es decir, isómeros (+) o (-), respectivamente). Un compuesto quiral puede existir como enantiómero individual o como una mezcla de los mismos. Una mezcla que contiene proporciones iguales de los enantiómeros se denomina "mezcla racémica".

20 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto se refiere a una cantidad de compuesto que resulta eficaz para prevenir, aliviar o mejorar los síntomas de enfermedad o para prolongar la supervivencia del sujeto bajo tratamiento. La determinación de una cantidad terapéuticamente eficaz se encuentra dentro de los conocimientos del experto en la materia. La cantidad o dosis terapéuticamente eficaz de un compuesto según la presente invención puede variar dentro de amplios límites y puede determinarse de una manera conocida de la técnica. Dicha dosis se ajustará a los requisitos individuales en cada caso particular, incluyendo el compuesto o compuestos específicos que se administran, la vía de administración, la condición bajo tratamiento, así como el paciente bajo tratamiento. En general, en el caso de la administración oral o parenteral en seres humanos adultos que pesan aproximadamente 70 kg, una dosis diaria de entre aproximadamente 0,1 mg y aproximadamente 5.000 mg, de entre aproximadamente 1 mg y aproximadamente 1.000 mg, o de entre 1 mg y 100 mg debería resultar apropiada, aunque los límites inferior y superior puede excederse en caso indicado. La dosis diaria puede administrarse como dosis individual o en dosis divididas, o para la administración parenteral puede proporcionarse en forma de infusión continua.

35 La expresión "portador farmacéuticamente aceptable" pretende incluir cualquiera y la totalidad de los materiales compatibles con la administración farmacéutica, incluyendo solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción, y otros materiales y compuestos compatibles con la administración farmacéutica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el compuesto activo, se encuentra contemplada la utilización del mismo en las composiciones de la invención. También pueden incorporarse compuestos activos suplementarios en las composiciones.

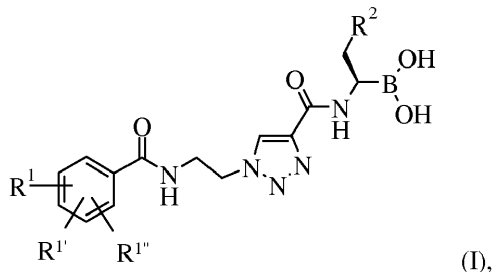
40 Los portadores farmacéuticos útiles para la preparación de las composiciones en la presente memoria pueden ser sólidos, líquidos o gases; de esta manera, las composiciones pueden adoptar la forma de tabletas, píldoras, cápsulas, supositorios, polvos, formulaciones recubiertas entericamente u otras formulaciones protegidas (por ejemplo resinas de unión o de intercambio iónico o el empaquetamiento en vesículas de lípido-proteína), formulaciones, soluciones, suspensiones, elixires, aerosoles de liberación sostenida y similares. El portador puede seleccionarse de entre diversos aceites, incluyendo los de petróleo, de origen animal, vegetal o sintético, por ejemplo los aceites de cacahuete, de soja, mineral, de sésamo y similares. El agua, la solución salina, la dextrosa acuosa y los glicoles son portadores líquidos preferentes, en particular (en el caso de ser isotónico con la sangre) para soluciones inyectables. Por ejemplo, las formulaciones para la administración intravenosa comprenden soluciones acuosas estériles del ingrediente o ingredientes activos que se preparan mediante la disolución de uno o más ingredientes activos sólidos en agua para producir una solución acuosa y esterilizando la solución. Entre los excipientes farmacéuticos adecuados se incluyen almidón, celulosa, talco, glucosa, lactosa, talco, gelatina, malta, arroz, harina, yeso, sílice, estearato de magnesio, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, cloruro sódico, leche desnatada seca, glicerol, propilenglicol, agua, etanol y similares. Las composiciones pueden someterse a aditivos farmacéuticos convencionales, tales como conservantes, agentes estabilizadores, agentes humectantes o emulsionantes, sales para ajustar la presión osmótica, tampones y similares. Se describen portadores farmacéuticos adecuados y su formulación en Remington's Pharmaceutical Sciences, de E. W. Martin. Dichas composiciones contienen, en cualquier caso, una cantidad eficaz del compuesto activo conjuntamente con un portador adecuado de manera que se prepare la forma de administración apropiada para la administración apropiada en el receptor.

60 Los compuestos o composiciones pueden administrarse oralmente (por ejemplo en la cavidad bucal), por vía sublingual, parenteral (por ejemplo intramuscular o subcutánea), rectal (por ejemplo mediante supositorios o enemas), transdérmica (por ejemplo electroporación de la piel) o mediante inhalación (por ejemplo mediante aerosol) y en forma de dosis sólidas, líquidas o gaseosas, incluyendo tabletas y suspensiones. La administración puede llevarse a cabo en una única forma de administración con terapia continua o en una terapia de dosis única *ad libitum*.

65 La composición terapéutica también puede encontrarse en forma de una emulsión o dispersión aceitosa

conjuntamente con una sal lipofílica, tal como ácido pámico, o en forma de una composición biodegradable de liberación sostenida para la administración subcutánea o intramuscular.

En detalle, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I):



en la que:

R^1 , R^1' y $R^{1''}$, independientemente uno de otro, son hidrógeno, alcoxi, halógeno o $-CF_3$, y

R^2 es alquilo C_{1-7} o fenilo,

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), en la que R^1 , R^1' y $R^{1''}$, independientemente unos de otros, son hidrógeno, metoxi, flúor o $-CF_3$.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), en la que R^1 , R^1' y $R^{1''}$, es hidrógeno y los otros dos, independientemente uno de otro, son alcoxi, halógeno o $-CF_3$.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), en la que R^1 , R^1' o $R^{1''}$ es hidrógeno y los otros dos, independientemente uno de otro, son metoxi, flúor o $-CF_3$.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), en la que R^1 , R^1' o $R^{1''}$ es metoxi en orto, uno es metoxi en meta y uno es metoxi en para.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), en la que R^1 , R^1' o $R^{1''}$ es flúor en orto, uno es hidrógeno en meta y uno es $-CF_3$ en para.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), en la que R^1 , R^1' o $R^{1''}$ es metoxi en orto, uno es hidrógeno en meta y uno es $-CF_3$ en para. En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), en la que R^2 es metilo.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), en la que R^2 es fenilo.

En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I), en la que el compuesto es:

ácido (R)-3-metil-1-(1-(2-(2,3,4-trimetoxibenzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)butilborónico,

ácido (R)-2-fenil-1-(1-(2-(2,3,4-trimetoxibenzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)etilborónico,

ácido (R)-1-(1-(2-(2-fluoro-4-(trifluorometil)benzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-2-feniletilborónico,

o

ácido (R)-1-(1-(2-(2-metoxi-4-(trifluorometil)benzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-2-feniletilborónico, o

sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la fórmula (I) y un portador farmacéuticamente aceptable.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto según la fórmula (I) para la utilización como sustancia terapéuticamente activa.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto según la fórmula (I) para la utilización en el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad o trastorno inflamatorio seleccionado de entre artritis reumatoide, lupus y enfermedad del intestino irritable.

En otra realización, la invención proporciona la utilización de un compuesto según la fórmula (I) para la preparación de un medicamento destinado al tratamiento o profilaxis de una enfermedad o trastorno inflamatorio seleccionado de entre artritis reumatoide, lupus y enfermedad del intestino irritable.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto según la fórmula (I) para el tratamiento o la profilaxis de

una enfermedad o trastorno inflamatorio seleccionado de entre artritis reumatoide, lupus y enfermedad del intestino irritable.

Síntesis

5 Los materiales de partida y reactivos utilizados para la preparación de dichos compuestos generalmente se encuentran disponibles de proveedores comerciales, tales como Aldrich Chemical Co., o se preparan mediante métodos conocidos por el experto en la materia siguiendo procedimientos descritos en referencias tales como Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Wiley & Sons: New York, 1991, volúmenes 1 a 15; Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Elsevier Science Publishers, 1989, volúmenes 1 a 5 y suplementos, y Organic Reactions, Wiley & Sons: New York, volúmenes 1 a 40, 1991.

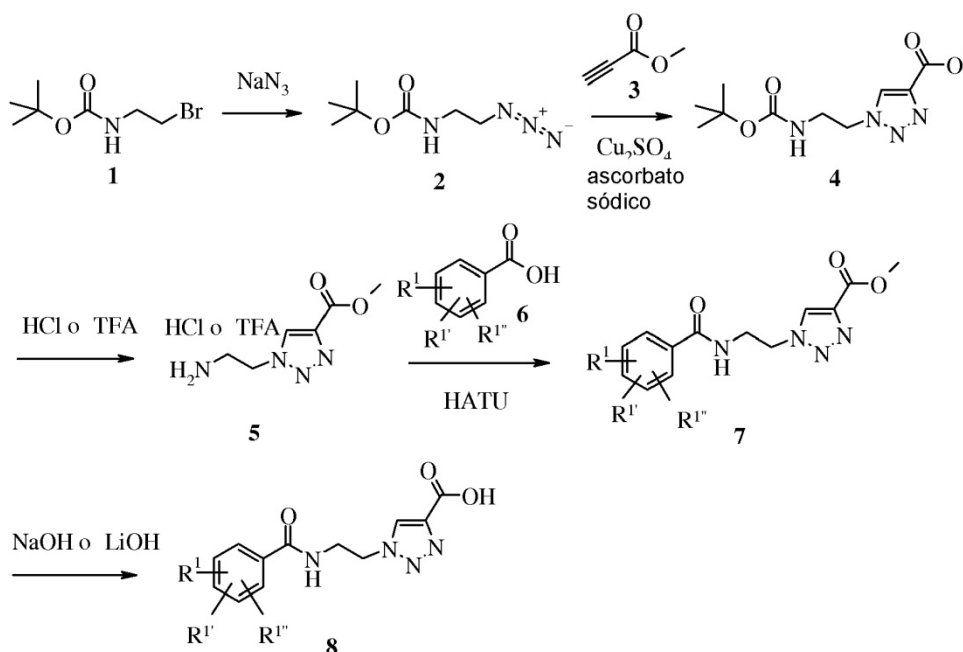
15 Los esquemas de reacción sintética siguientes son meramente ilustrativos de algunos métodos mediante los que pueden sintetizarse los compuestos de la presente invención y pueden llevarse a cabo diversas modificaciones de estos esquemas de reacción sintética y podrán ser concebidos por el experto en la materia tras hacer referencia a la exposición contenida en la presente solicitud.

20 Los materiales de partida e intermediarios de los esquemas de reacción sintética pueden aislarse y purificarse si se desea utilizando técnicas convencionales, incluyendo, aunque sin limitarse a ellos, la filtración, la destilación, la cristalización, la cromatografía y similares. Dichos materiales pueden caracterizarse utilizando medios convencionales, incluyendo constantes físicas y datos espectrales.

25 A menos que se indique lo contrario, las reacciones descritas en la presente memoria preferentemente se llevan a cabo bajo una atmósfera inerte a presión atmosférica en un intervalo de temperaturas de reacción de entre aproximadamente -78°C y aproximadamente 150°C, más preferentemente de entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 125°C, y convenientemente a aproximadamente temperatura de laboratorio (o ambiente), por ejemplo a aproximadamente 20°C.

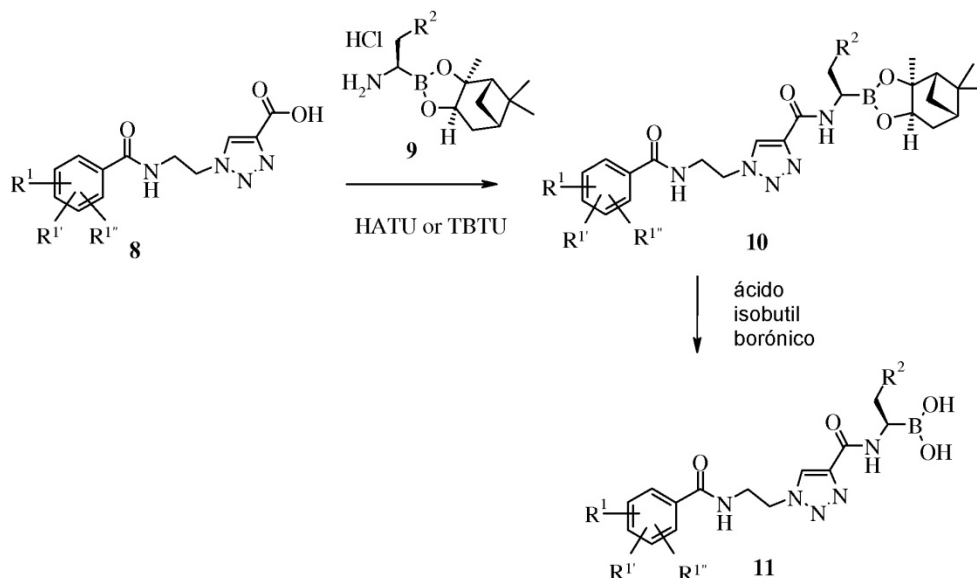
30 Los compuestos de la invención pueden prepararse mediante cualquiera de los medios convencionales. Por ejemplo, pueden prepararse siguiendo los procedimientos descritos de manera general en los Esquemas, posteriormente.

Esquema 1



35 Tal como se observa en el Esquema 1, el bromuro 1 puede convertirse en azida 2 utilizando azida sódica, que después puede hacerse reaccionar con propiolato de metilo 3 en presencia de sulfato de cobre (II) y ascorbato sódico, proporcionando 1,2,3-triazol 4 de una manera regioselectiva. El grupo protector N-Boc puede eliminarse utilizando un ácido fuerte, tal como HCl o TFA. La sal amina resultante 5 puede acoplarse con ácidos variablemente sustituidos 6 utilizando un reactivo activador, tal como HATU, proporcionando éster 7. La hidrólisis bajo condiciones básicas proporciona el ácido 8. R¹, R^{1'} y R^{1''}, independientemente puede ser, por ejemplo, hidrógeno, alcoxi, halógeno o -CF₃. R² puede ser, por ejemplo, alquilo C₁₋₇ o fenilo.

Esquema 2



Según el Esquema 2, el ácido **8** puede acoplarse con ésteres de ácido pinanodiol-borónico variablemente sustituidos **9** utilizando un reactivo activador, tal como HATU o TBTU, proporcionando triazol **10**. El intercambio de éster con ácido isobutil-borónico puede proporcionar ácido borónico deseado **11**. R^1 , R^1' y $R^{1''}$, independientemente uno de otro, puede ser, por ejemplo, hidrógeno, alcoxi, halógeno o $-CF_3$. R^2 puede ser, por ejemplo, alquilo C_{1-7} o fenilo.

Ejemplos

Aunque en la presente memoria se ilustran y describen determinadas realizaciones ejemplares, los compuestos de la presente invención pueden prepararse utilizando materiales de partida apropiados según los métodos descritos de manera general en la presente memoria y/o mediante los métodos disponibles para el experto ordinario en la materia. Todas las reacciones que incluían reactivos sensibles al aire se llevaron a cabo bajo una atmósfera inerte. Los reactivos se utilizaron tal como se recibieron de los proveedores comerciales, a menos que se indique lo contrario.

Intermediario 1

20 Hidrocloruro de metil-éster de ácido 1-(2-amino-etil)-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico

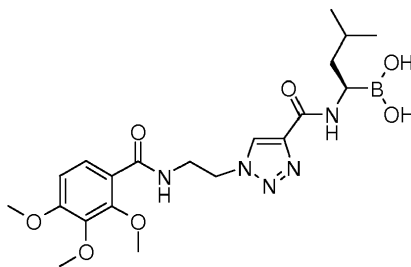
Se disolvió bromuro de 2-(Boc-amino)etil (5,0 g, 22,3 mmoles) en 50 ml de DMF y se añadió azida sódica (1,6 g, 24,5 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a $80^\circ C$ durante 12 h. La mezcla de reacción se diluyó con éter dietílico (200 ml) y se lavó con agua (3x) y solución hipersalina (2x). Se secó la fase orgánica sobre sulfato sódico y se concentró bajo presión reducida, proporcionando 3,9 g (94%) de terc-butil-éster de ácido (2-azido-etil)-carbámico en forma de un aceite viscoso incoloro. CG/EM: $(M+H)^+ = 187,191$.

Se disolvió terc-butil-éster de ácido (2-azido-etil)-carbámico (3,9 g, 20,8 mmoles) y propiolato de metilo (3,5 g, 3,71 ml, 41,7 mmoles) en 50 ml de terc-butanol. Se añadió una solución acuosa 1,0 M de pentahidrato de sulfato de cobre (II) (4,17 ml, 4,17 mmoles) seguido de una solución acuosa 1,0 M de ascorbato sódico (16,7 ml, 16,7 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 60 h. La mezcla de reacción se desactivó con 150 ml de agua y se extrajo con EtOAc (3x80 ml). Las capas orgánicas se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se cromatografió sobre 70 g de gel de sílice con EtOAc/diclorometano (gradiente: 0-40% de EtOAc). Se agruparon todas las fracciones que contenían producto y se concentraron, proporcionando 3,2 g (57%) metil-éster de ácido (1-(2-terc-butoxicarbonilamino-etil)-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de un sólido blanquecino. CL/HR-EM: $(M+H)^+ = 271,1401$.

Metil-éster de ácido 1-(2-terc-butoxicarbonilamino-etil)-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico

(1,75 g, 6,47 mmoles) se disolvió en HCl 4 N en dioxano (16,2 ml, 64,7 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. Se evaporó el solvente, proporcionando 1,32 g (99%) de hidrocloruro de metil-éster de ácido 1-(2-aminoetil)-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de un sólido blanco.

Ejemplo 1

Ácido (R)-3-metil-1-(1-(2-(2,3,4-trimetoxibenzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)butilborónico

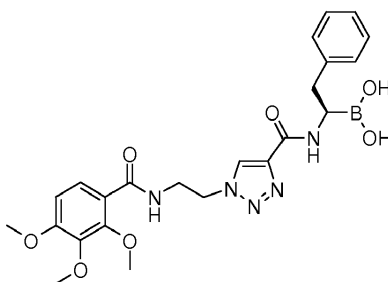
5 Se cargó un matraz con ácido 2,3,4-trimetoxibenzoico (1,29 g, 6,08 mmoles), 57 ml de N,N-dimetilacetamida y N,N-diisopropiletilamina (2,9 ml, 16,9 mmoles). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C. Se añadió HATU (2,83 g, 7,45 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 h. Se añadió hidrocloreto de metil-éster de ácido 1-(2-aminoetil)-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (1,4 g, 6,78 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se desactivó con HCl 1,0 M y se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con KHCO₃ acuoso, agua y solución hipersalina y después se concentró y se secó bajo alto vacío. El residuo se trituró con éter dietílico, proporcionando metil-éster de ácido 1-[2-(2,3,4-trimetoxi-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de un semisólido marrón pálido que se utilizó sin purificación adicional.

15 Se cargó un matraz con metil-éster de ácido 1-[2-(2,3,4-trimetoxi-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (2,22 g, 6,1 mmoles) y 60 ml de metanol. A continuación, se añadió NaOH 1,0 M (24 ml, 24 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró parcialmente, después se introdujo en agua, se acidificó con HCl 1,0 M y se extrajo dos veces con 200 ml de EtOAc. Las capas orgánicas se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. Se introdujo el residuo en 70 ml de diclorometano, 40 ml de EtOAc y 10 ml de metanol y después se concentró hasta un volumen de ~30 ml. Se añadió éter dietílico y se filtró la suspensión, se enjuagó con éter dietílico y se secó bajo alto vacío, proporcionando 1,8 g (84%) de ácido 1-[2-(2,3,4-trimetoxi-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de un sólido blanco. CL/HR-EM: (M+H)⁺=351,1293.

25 Se suspendió ácido 1-[2-(2,3,4-trimetoxi-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (160 mg, 0,46 mmoles), TBTU (161 mg, 0,50 mmoles) y (R)-BoroLeu(+)-pinanodiol-HCl (138 mg, 0,46 mmoles) en 6 ml de diclorometano a 0°C. Se añadió gota a gota a 0°C N,N-diisopropiletilamina (0,17 ml, 1,00 mmol) disuelto en 1 ml de diclorometano, durante un periodo de 15 min. La mezcla de reacción se agitó a 0°C y a temperatura ambiente durante 3 h. La mezcla de reacción se diluyó con 50 ml de diclorometano y se lavó con 50 ml de HCl 1 M, 50 ml de KHCO₃ 2 M y 50 ml de agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. El residuo se cromatografió sobre 20 g de gel de sílice con EtOAc/diclorometano (gradiente: 0-50% de EtOAc). Se agruparon todas las fracciones que contenían producto y se concentraron, proporcionando 111 mg (41%) de [(R)-3-metil-1-((1S,2S,6R,8S)-2,9,9-trimetil-3,5-dioxa-4-bora-triciclo[6.1.1.0^{2,6}]dec-4-il)-butil]-amida de ácido 1-[2-(2,3,4-trimetoxi-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de una espuma blanca. CL/HR-EM: (M+H)⁺=460,2359.

35 Se disolvió [(R)-3-metil-1-((1S,2S,6R,8S)-2,9,9-trimetil-3,5-dioxa-4-bora-triciclo[6.1.1.0^{2,6}]dec-4-il)-butil]-amida de ácido 1-[2-(2,3,4-trimetoxi-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (109 mg, 0,18 mmoles), se disolvió ácido isobutilborónico (52 mg, 0,51 mmoles) y HCl 2 N (0,15 ml, 0,30 mmoles) en 1,5 ml de metanol y 1,5 ml de heptano. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se separó la capa metanólica y se lavó dos veces con 3 ml de heptano. Se trató la capa metanólica con 7 ml de EtOAc y se concentró. El residuo se introdujo en 7 ml de EtOAc y se concentró. El residuo se trituró con éter dietílico. El sólido blanco resultante se extrajo con diclorometano y agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. El residuo se trituró con éter dietílico, proporcionando 21 mg (25%) de ácido (R)-3-metil-1-(1-(2-(2,3,4-trimetoxibenzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)butilborónico en forma de un sólido blanco. CL/HR-EM: (M-H)⁻ 462,2161.

Ejemplo 2Ácido (R)-2-fenil-1-(1-(2-(2,3,4-trimetoxibenzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)etilborónico

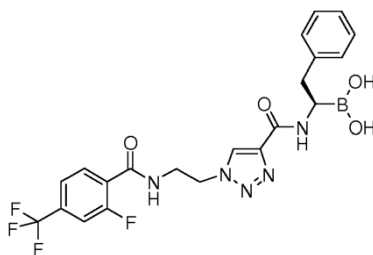


En un matraz de fondo redondo de 10 ml, se disolvió ácido 1-(2-(2,3,4-trimetoxibenzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (150 mg, 0,43 mmoles) y (R)-BoroPhe-(+)-pinanodiol-HCl (158 mg, 0,47 mmoles) en 3 ml de DMF y se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota a 0°C N,N-diisopropiletilamina (0,19 ml, 1,09 mmoles), seguido de HATU (179 mg, 0,47 mmoles). Tras completar la adición, se retiró el baño de hielo y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se desactivó con agua y se extrajo dos veces con éter dietílico/EtOAc 1:1 (40 ml). Las capas orgánicas se lavaron dos veces con agua y una vez con solución hipersalina, después se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre 25 g de gel de sílice con EtOAc/diclorometano (gradiente: 0-50% de EtOAc). Se agruparon todas las fracciones que contenían producto y se concentraron, proporcionando 153 mg (57%) de [(R)-2-fenil-1-((1S,2S,6R,8S)-2,9,9-trimetil-3,5-dioxa-4-bora-triciclo[6.1.1.0^{2,6}]dec-4-il)-etil]-amida de ácido 1-[2-(2,3,4-trimetoxi-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de una espuma blanquecina. CL/EM: (M-H) 630.

En un matraz de fndo redondo de 10 ml se disolvió [(R)-2-fenil-1-((1S,2S,6R,8S)-2,9,9-trimetil-3,5-dioxa-4-bora-triciclo[6.1.1.0^{2,6}]dec-4-il)-etil]-amida de ácido 1-[2-(2,3,4-trimetoxi-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (151 mg, 0,24 mmoles) y ácido isobutilborónico (70 mg, 0,69 mmoles) en 1,2 ml de metanol y 2,4 ml de hexanos. Se añadió ácido clorhídrico 1,0 M (0,60 ml, 0,60 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con 10 ml de metanol y se extrajo con hexanos. La capa de hexanos se reextrajo con 10 ml de metanol. Las capas metanólicas se lavaron dos veces con hexanos y después se agruparon y se concentraron. El residuo se disolvió en 20 ml de diclorometano y se lavó con una mezcla de 2 ml de agua y 2 ml de solución saturada de NaHCO₃. Se extrajo la capa acuosa con diclorometano. Las capas orgánicas se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre 4 g de gel de sílice con MeOH/diclorometano (gradiente: 0% a 10% de MeOH, seguido de 10% de MeOH/cloroformo). Todas las fracciones que contenían producto se agruparon y se concentraron. El residuo se trituró con éter dietílico, proporcionando 24 mg (20%) de ácido (R)-2-fenil-1-((1S,2S,6R,8S)-2,9,9-trimetil-3,5-dioxa-4-bora-triciclo[6.1.1.0^{2,6}]dec-4-il)-etil]-amida de ácido 1-[2-(2,3,4-trimetoxi-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxamido)etilborónico en forma de unos polvos blancos. CL/EM: (M+Na)⁺=520; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,23 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 8,18 (s, 1H), 7,88 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 7,72 (br. s., 1H), 7,18 - 7,33 (m, 5H), 6,77 (d, J = 9,0 Hz, 1H), 4,71 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 3,98 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,84 (s, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,36 (br. s., 1H), 3,06 (dd, J = 14,1, 4,8 Hz, 1H), 2,87 (dd, J = 14,1, 9,3 Hz, 1H).

Ejemplo 3

Ácido (R)-1-((1S,2S,6R,8S)-2,9,9-trimetil-3,5-dioxa-4-bora-triciclo[6.1.1.0^{2,6}]dec-4-il)-etil]-amida de ácido 1-[2-(2-fluoro-4-(trifluorometil)benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxamido)etilborónico



Se disolvió ácido 2-fluoro-4-(trifluorometil)benzoico (2,31 g, 11,1 mmoles) en 160 ml de N,N-dimetilacetamida. Se añadió N,N-diisopropiletilamina (4,75 ml, 27,8 mmoles), la reacción se enfrió a 0°C y se añadió HATU (4,64 g, 12,2 mmoles). Tras 1 h de agitación a 0°C, se añadió hidrócloruro de metil-éster de ácido 1-(2-amino-etil)-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (2,29 g, 11,1 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, después se desactivó con HCl 1 M y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con KHCO₃ acuoso, agua y solución hipersalina y después se concentraron. El residuo en bruto se trituró con éter dietílico, proporcionando 2,79 g (70%) de metil-éster de ácido 1-[2-(2-fluoro-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de un sólido blanquecino. CL/HR-EM: (M+H)⁺=361,0921.

Se suspendió metil-éster de ácido 1-[2-(2-fluoro-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (2,79 g, 7,74 mmoles) en 60 ml de MeOH. A la suspensión densa se añadió NaOH 1,0 M (31 ml, 31,0 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, tiempo durante el que la reacción se volvió

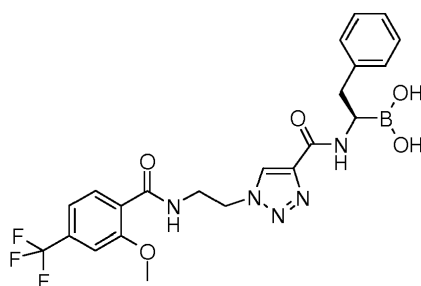
homogénea. Se evaporó el MeOH, después se introdujo el residuo en agua, se acidificó con HCl acuoso y se extrajo dos veces con EtOAc. Las capas orgánicas se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron, proporcionando una cantidad pequeña de sólido. Se agruparon las capas acuosas, se basificaron con NaOH acuoso y se concentraron. Se enfrió el residuo a 0°C y se acidificó con HCl con. El precipitado resultante se recolectó mediante filtración y se secó bajo alto vacío. Se agruparon los dos lotes, proporcionando 2,0 g (75%) de ácido 1-[2-(2-fluoro-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de un sólido blanco. CL/HR-EM: (M+H)⁺=347,0760.

En un matraz de fondo redondo de 10 ml, se disolvió ácido 1-(2-(2-fluoro-4-(trifluorometil)benzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxílico (125 mg, 0,36 mmoles) y (R)-BoroPhe-(+)-pinanodiol-HCl (133 mg, 0,40 mmoles) en 2,5 ml de DMF y se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota a 0°C N,N-diisopropiletilamina (0,16 ml, 0,92 mmoles), seguido de HATU (151 mg, 0,40 mmoles). Tras completar la adición, se retiró el baño de hielo y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se desactivó con agua y se extrajo dos veces con éter dietílico/EtOAc 1:1 (40 ml). Las capas orgánicas se lavaron dos veces con agua y una vez con solución hipersalina, después se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre 25g de gel de sílice con EtOAc/diclorometano (gradiente: 0-40% de EtOAc). Se agruparon todas las fracciones que contenían producto y se concentraron, proporcionando 124 mg (49%) de [(R)-2-fenil-1-((1S,2S,6R,8S)-2,9,9-trimetil-3,5-dioxa-4-bora-triciclo[6.1.1.0^{2,6}]¹dec-4-il)-etil]-amida de ácido 1-[2-(2-fluoro-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de un aceite incoloro. CL/EM: (M+H)⁺ 626.

En un matraz de fondo redondo de 10 ml se disolvió [(R)-2-fenil-1-((1S,2S,6R,8S)-2,9,9-trimetil-3,5-dioxa-4-bora-triciclo[6.1.1.0^{2,6}]¹dec-4-il)-etil]-amida de ácido 1-[2-(2-fluoro-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (117 mg, 0,17 mmoles) y ácido isobutilborónico (50 mg, 0,49 mmoles) en 0,8 ml de metanol y 1,6 ml de hexanos. Se añadió ácido clorhídrico 1,0 M (0,42 ml, 0,42 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con 10 ml de metanol y se extrajo con hexanos. La capa de hexanos se reextrajo con 10 ml de metanol. Las capas metanólicas se lavaron dos veces con hexanos y después se agruparon y se concentraron. El residuo se disolvió en 20 ml de diclorometano y se lavó con una mezcla de 2 ml de agua y 2 ml de solución saturada de NaHCO₃. Se extrajo la capa acuosa con diclorometano. Las capas orgánicas se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre 4 g de gel de sílice con MeOH/cloroformo (gradiente: 0% a 10% de MeOH, seguido de 10% de MeOH/EtOAc). Todas las fracciones que contenían producto se agruparon y se concentraron. El residuo se trituró con éter dietílico, proporcionando 19 mg (21%) de ácido (R)-1-(1-(2-(2-fluoro-4-(trifluorometil)benzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-2-fenilettilborónico en forma de unos polvos blanquecinos. CL/EM: (M+Na)⁺=516; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,21 (br. s., 1H), 8,02 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 7,77 (br. s., 1H), 7,41 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,06 - 7,30 (m, 7H), 4,55 - 4,63 (m, 2H), 3,92 (d, J = 4,5 Hz, 2H), 3,22 (br. s., 1H), 2,90 - 2,98 (m, 1H), 2,71 - 2,82 (m, 1H).

Ejemplo 4

Ácido (R)-1-(1-(2-(2-metoxi-4-(trifluorometil)benzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-2-fenilettilborónico



En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se suspendió metil-éster de ácido 1-(2-terc-butoxicarbonilamino-etil)-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (500 mg, 1,85 mmoles) en 7 ml de diclorometano. Se añadió lentamente ácido trifluoroacético (4,0 ml, 52 mmoles) que provocó la disolución de todos los sólidos. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2,5 h y después se concentró y se secó bajo alto vacío. El residuo se disolvió en 5 ml de DMF y se añadió ácido 2-metoxi-4-(trifluorometil)benzoico (390 mg, 1,77 mmoles). Se añadió gota a gota N,N-diisopropiletilamina (1,5 ml, 8,6 mmoles) seguido de HATU (741 mg, 1,95 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche, después se desactivó con agua y se diluyó con éter de petróleo. La suspensión resultante se filtró, se enjuagó con agua y después se secó una pequeña cantidad de éter de petróleo bajo alto vacío, proporcionando 557 mg (84%) de metil-éster de ácido 1-[2-(2-metoxi-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de un sólido blanquecino. CL/EM: (M+H)⁺=373; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,30 (dd, J = 8,1, 0,8 Hz, 1H), 8,19 (br. s., 1H), 8,14 (s, 1H), 7,37 (dd, J = 8,1, 0,8 Hz, 1H), 7,20 (s, 1H), 4,69 - 4,76 (m, 2H), 4,02 - 4,09 (m, 2H), 4,00 (s, 3H), 3,98 (s, 3H).

En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se suspendió metil-éster de ácido 1-[2-(2-metoxi-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (555 mg, 1,49 mmoles) en 3 ml de metanol y 30 ml de THF. Se

añadió hidróxido de litio (161 mg, 6,71 mmoles) seguido de 3 ml de agua. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y después se evaporaron los solventes orgánicos. El residuo acuoso se enfrió a 0°C y se acidificó con HCl 1,0 M hasta pH~2, que provocó la formación de un precipitado. La suspensión se filtró y se lavó con agua y después se secó bajo alto vacío, proporcionando 452 mg (84%) de ácido 1-[2-(2-metoxi-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de un sólido blanquecino. CL/EM: (M+H)⁺=359.

En un matraz de fondo redondo de 10 ml, se disolvió ácido 1-[2-(2-metoxi-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (150 mg, 0,42 mmoles) y (R)-BoroPhe-(+)-pinanodiol-HCl (155 mg, 0,46 mmoles) en 2,5 ml de DMF y se enfrió a 0°C. Se añadió gota a gota a 0°C N,N-diisopropiletilamina (0,19 ml, 1,09 mmoles), seguido de HATU (175 mg, 0,46 mmoles). Tras completar la adición, se retiró el baño de hielo y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se desactivó con agua y se extrajo dos veces con éter dietílico/EtOAc 1:1 (40 ml). Las capas orgánicas se lavaron dos veces con agua y una vez con solución hipersalina, después se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se cromatografió sobre 25 g de gel de sílice con EtOAc/diclorometano (gradiente: 0-50% de EtOAc). Se agruparon todas las fracciones que contenían producto y se concentraron, proporcionando 195 mg (66%) de [(R)-2-fenil-1-((1S,2S,6R,8S)-2,9,9-trimetil-3,5-dioxa-4-bora-triciclo[6.1.1.0^{2,6}]dec-4-il)-etil]-amida de ácido 1-[2-(2-metoxi-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-[1,2,3]triazol-4-carboxílico en forma de un aceite incoloro. CL/EM: (M-H)⁻ 638.

En un matraz de fondo redondo de 10 ml se disolvió [(R)-2-fenil-1-((1S,2S,6R,8S)-2,9,9-trimetil-3,5-dioxa-4-bora-triciclo[6.1.1.0^{2,6}]dec-4-il)-etil]-amida de ácido 1-[2-(2-metoxi-4-trifluorometil-benzoilamino)-etil]-1H-[1,2,3]triazol-4-carboxílico (189 mg, 0,27 mmoles) y ácido isobutilborónico (78 mg, 0,77 mmoles) en 1,3 ml de metanol y 2,6 ml de hexanos. Se añadió ácido clorhídrico 1,0 M (0,67 ml, 0,67 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con 10 ml de metanol y se extrajo con hexanos. La capa de hexanos se reextrajo con 10 ml de metanol. Las capas metanólicas se lavaron dos veces con hexanos y después se agruparon y se concentraron. El residuo se disolvió en 20 ml de diclorometano y se lavó con una mezcla de 2 ml de agua y 2 ml de solución saturada de NaHCO₃. Se extrajo la capa acuosa con diclorometano. Las capas orgánicas se agruparon, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se trituró con éter dietílico/EtOAc, proporcionando 51 mg (38%) de ácido (R)-1-(1-(2-(2-metoxi-4-(trifluorometil)benzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-2-feniletíborónico en forma de unos polvos blancos. CL/EM: (M+Na)⁺=528; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): 8,26 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 8,14 (s, 1H), 7,97 (t, J = 5,7 Hz, 1H), 7,71 (br. s., 1H), 7,34 (dd, J = 8,1, 0,9 Hz, 1H), 7,24 - 7,28 (m, 4H), 7,16 - 7,23 (m, 1H), 7,14 (s, 1H), 4,70 (t, J = 5,4 Hz, 2H), 3,94 - 4,05 (m, 2H), 3,89 (s, 3H), 3,30 - 3,40 (m, 1H), 3,07 (dd, J = 14,3, 5,1 Hz, 1H), 2,86 (dd, J = 14,3, 10,0 Hz, 1H).

Ejemplo 5

Protocolos de ensayo y resultados

Ensayo celular de actividad/selectividad del proteasoma

El ensayo celular de actividad/selectividad de subunidades del proteasoma era un panel de 5 ensayos fluorogénicos que midió independientemente la actividad de proteasa β5c o β5i (actividad de tipo quimotripsina), β2c/2i (de tipo tripsina), y β1c o β1i (de tipo caspasa) asociada al complejo del proteasoma en las células en cultivo. Específicamente, se utilizaron los sustratos siguientes para las actividades de subunidad respectivas: β1i: (PAL)₂Rh110, β1c: (LLE)₂ Rh110, β2c/2i: (KQL)₂Rh110, β5c: (WLA)₂Rh110, β5i: (ANW)₂Rh110. Se siguió el procedimiento siguiente:

Preparación celular: se sembraron en placa 25 µl de células Ramos (2x10⁶/ml en DPBS) en una placa de área media (Perkin Elmer nº de cat. 6005569) hasta una densidad final de 5x10⁴ células/pocillo. Se añadieron 0,5 µl de 100x compuesto de ensayo diluidos en serie 4 veces o DMSO en cada pocillo. La concentración máxima de compuesto sometido a ensayo era de 20 µM, de esta manera se inició la dilución en serie de compuesto a partir de 200 mM. Se incubó durante 30 minutos a 37°C. A continuación, se equilibró a temperatura ambiente durante 15 minutos. Se añadieron 25 µl de 2x mezcla de reacción que consistía de digitonina al 0,025%, 20 µM de cada sustrato y sacarosa 0,5 M en DPBS. Se agitó durante un minuto a 700 rpm. Se incubó durante 120 min. temperatura ambiente. A continuación, se leyeron las placas con un lector de placas multietiqueta Envision (Perkin Elmer) con una longitud de onda de excitación de 500 nm/de emisión de 519 nm.

Ensayo modificado de actividad del proteasoma de las CMSP

Este ensayo celular de actividad del proteasoma era similar al ensayo anterior de células Ramos como sustratos, aunque utilizando CMSP humanas en el contexto de RPMI completo con FBS al 10% como tampón de reacción. El presente diseño se diseñó para evaluar el nivel de penetración celular de los compuestos de ensayo en las células humanas primarias. Se siguió el procedimiento siguiente: se sembraron CMSP recién aisladas de donantes sanos en una placa a razón de 1x10⁵ células/pocillo en 100 µl de RPMI completa con FBS al 10% en placas de 96 pocillos de fondo V. Se añadió 1 µl de 100x compuesto de ensayo diluidos en serie 4 veces/pocillo y se incubaron durante 1 h. La concentración de compuesto más alta era de 20 µM (solución de trabajo 100X con 2 mM). Se peletizaron las

células a 2.000 rpm durante 5 min. Se eliminó todo el sobrenadante. A continuación, se resuspendieron las células en 25 µl de DPBS y se transfirieron las células a una placa nueva de área media (Perkin Elmer, nº de cat. 6005569). En el volumen de reacción final era de 50 µl, incluyendo 25 µl de suspensión celular, 0,5 µl de 100x inhibidor o DMSO, 25 µl de mezcla de sustrato que contenía digitonina al 0,025%, sustrato 20 µM (sustrato: mezcla de (PAL)₂Rh110, (LLE)₂ Rh110, (KQL)₂Rh110, (WLA)₂Rh110 o (ANW)₂Rh110)/en FBS al 10% y sacarosa 0,5 M. Se agitó durante un minuto (a 700 rpm). Se incubó durante 2 h, después se leyeron las placas con un lector de placas Envision utilizando una longitud de onda de excitación de 500 nm/de emisión de 519 nm.

Ensayo de IP-10 de las CMSP

Se aislaron CMSP a partir de sangre completa de la manera siguiente: se recolectó sangre en un medio estéril en tubos heparinizados. Se diluyó sangre con un volumen igual de PBS/FCS al 2% y se añadieron 30 ml de dicha mezcla a tubos ACCUSPIN que contenían 15 ml de Histopaque-1077 ya centrifugado a 800g durante 30 segundos y se calentaron hasta la temperatura ambiente. A continuación, se centrifugaron los tubos a 800 g durante 20 minutos a temperatura ambiente sin freno. La banda mononuclear, inmediatamente en la parte superior de la frita de polietileno, se extrajo con una pipeta de Pasteur. Dichas células mononucleares se lavaron tres veces con PBS estéril, se contaron y se resuspendieron en RPMI 1640 complementado con suero de feto bovino inactivado por calor al 10%, HEPES 10 mM, piruvato sódico 1 mM, penicilina (50 U/ml), estreptomycin (50 µg/ml) y glutamina (2 mM) a aproximadamente 1,5x10⁶/ml. Se sembraron aproximadamente 2x10⁵ células/pocillo en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos (BD Falcon 353072) y se preincubaron durante 60 min. a 37°C con titulación de los compuestos en una concentración final de DMSO al 1%. A continuación se estimularon las células con CpG tipo A (Invivogen, nº de cat. tlr-2216, ODN 2216) a una concentración final de 2,5 µM. Se incubaron las células durante la noche y se extrajeron los sobrenadantes. Se midió la viabilidad de las CMSP que quedaban en el pocillo utilizando el ensayo de luminiscencia ATPlite (Perkin-Elmer) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se midió la luminiscencia en el Envision de Perkin-Elmer utilizando el filtro de luminiscencia. Se midió el nivel de IP10 con el kit CXCL10/IP10 AlphaLISA (Perkin-Elmer) siguiendo las instrucciones del fabricante, excepto en que se redujeron los volúmenes a la mitad. Se midió la fluorescencia en el lector de placas multietiqueta Envision utilizando la configuración estándar de AlphaScreen.

Resultados:

Los resultados de los ensayos anteriores para compuestos representativos de la invención se proporcionan en la Tabla 1, a continuación, en la que los valores de actividad IC₅₀ y EC₅₀ se proporcionan en µM:

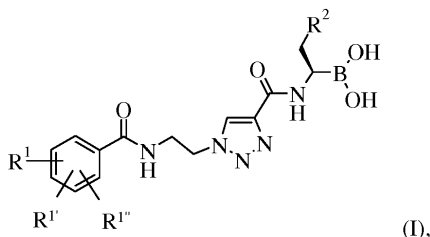
Tabla 1

| Ejemplo nº | IC ₅₀ ramos:ac- (anw) ₂ -r110 | IC ₅₀ ramos:rh110- (wla) ₂ | IC ₅₀ ramos:rh110- (kql) ₂ | IC ₅₀ ramos:rh110- (pal) ₂ | IC ₅₀ ramos:rh110- (lle) ₂ | EC ₅₀ |
|------------|---|--|--|--|--|------------------|
| 1 | 0,002 | 0,039 | 20 | 0,004 | 0,32 | 0,0295 |
| 2 | 0,007 | 0,016 | 13,524 | 0,025 | 6,632 | 0,03367 |
| 3 | 0,002 | 0,006 | 20 | 0,01 | 7,345 | 0,0268 |
| 4 | 0,002 | 0,02 | 20 | 0,009 | 7,485 | 0,01225 |

Debe considerarse que la invención no se encuentra limitada a las realizaciones particulares de la invención indicadas anteriormente, ya que pueden llevarse a cabo variaciones de las realizaciones particulares y todavía se encuentran comprendidas dentro del alcance según las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I):



en la que:

R^1 , $R^{1'}$ y $R^{1''}$, independientemente uno de otro, son hidrógeno, alcoxi, halógeno o $-CF_3$, y R^2 es alquilo C_{1-7} o fenilo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5
2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R^1 , $R^{1'}$ y $R^{1''}$, independientemente unos de otros, son hidrógeno, metoxi, flúor o $-CF_3$.
- 15 3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R^1 , $R^{1'}$ y $R^{1''}$, es hidrógeno y los otros dos, independientemente uno de otro, son alcoxi, halógeno o $-CF_3$.
4. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R^1 , $R^{1'}$ y $R^{1''}$, es hidrógeno y los otros dos, independientemente uno de otro, son metoxi, flúor o $-CF_3$.
- 20 5. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R^2 es metilo.
6. Compuesto según la reivindicación 1, en el que R^2 es fenilo.
- 25 7. Compuesto según la reivindicación 1, en el que dicho compuesto es:
 ácido (R)-3-metil-1-(1-(2-(2,3,4-trimetoxibenzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)butilborónico,
 ácido (R)-2-fenil-1-(1-(2-(2,3,4-trimetoxibenzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)etilborónico,
 ácido (R)-1-(1-(2-(2-fluoro-4-(trifluorometil)benzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-2-feniletilborónico, o
 ácido (R)-1-(1-(2-(2-metoxi-4-(trifluorometil)benzamido)etil)-1H-1,2,3-triazol-4-carboxamido)-2-phenyletilborónico o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 30 8. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y un portador farmacéuticamente aceptable.
- 35 9. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para la utilización como sustancia terapéuticamente activa.
- 40 10. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad o trastorno inflamatorio seleccionado de entre artritis reumatoide, lupus y enfermedad del intestino irritable.
- 45