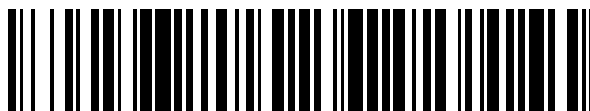


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 647 585**

51 Int. Cl.:

| | | | |
|--------------------|-----------|-------------------|-----------|
| C07D 403/12 | (2006.01) | A61P 35/00 | (2006.01) |
| C07D 309/06 | (2006.01) | | |
| C07D 309/08 | (2006.01) | | |
| C07C 279/18 | (2006.01) | | |
| C07D 233/50 | (2006.01) | | |
| C07D 401/12 | (2006.01) | | |
| C07D 239/16 | (2006.01) | | |
| C07D 405/12 | (2006.01) | | |
| C07D 211/72 | (2006.01) | | |
| A61K 31/44 | (2006.01) | | |

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2013 PCT/US2013/050917**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.01.2014 WO14015054**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2013 E 13742135 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.08.2017 EP 2875021**

54 Título: **Derivados de aminoácido beta como antagonistas de integrina**

30 Prioridad:

18.07.2012 US 201261673058 P
13.02.2013 US 201361764443 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.12.2017

73 Titular/es:

SAINT LOUIS UNIVERSITY (100.0%)
3556 Caroline Mall, Room C208
St. Louis, MO 63104, US

72 Inventor/es:

RUMINSKI, PETER y
GRIGGS, DAVID

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 647 585 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

Derivados de aminoácido beta como antagonistas de integrina

5 **Reclamación de prioridad**

La presente solicitud reivindica el beneficio de las solicitudes provisionales de Estados Unidos n.º 61/673.058, presentada el 18 de julio de 2012 y 61/764.443, presentada el 13 de febrero de 2013.

10 **Antecedentes de la invención****I. Campo de la invención**

15 La presente invención se refiere a los campos de la farmacéutica, la medicina y la biología celular. Más específicamente, se refiere a agentes farmacéuticos (compuestos) que son útiles como antagonistas del receptor de integrina, con actividad biológica particularmente excepcional como antagonistas de un grupo de integrinas que actúan como mediadores de los procesos patológicos de la angiogénesis y la fibrosis. Como tales, estos compuestos son útiles en composiciones farmacéuticas y en métodos para el tratamiento de afecciones mediadas por dichas integrinas mediante la inhibición o antagonización de estas integrinas.

20 **II. Descripción de la técnica relacionada**

Las integrinas son una familia de proteínas integrales de la membrana citoplasmática que actúan como mediadores de las interacciones celulares con otras células y con la matriz extracelular. Aproximadamente, un tercio de los miembros de la familia de integrinas se une directamente a un motivo específico de aminoácidos, arginina-glicina-aspartato (RGD), contenido dentro de la secuencia de sus ligandos proteicos cognados. Se ha establecido en la técnica que los péptidos que contienen la secuencia RGD y los compuestos sintéticos de molécula pequeña que imitan la secuencia RGD pueden unirse a estos receptores de integrina con diversos grados de especificidad, y por lo tanto inhiben la unión a los ligandos fisiológicos normales (Millard *et al.*, 2011.). Los efectos biológicos del tratamiento con dichos agentes dependen de las propiedades moleculares intrínsecas, que se reflejan en su estructura, que determinan hasta qué grado se inhibe una integrina particular, o una combinación de integrinas, en un tejido del cuerpo durante un período de tiempo.

35 Muchas enfermedades humanas se caracterizan por dos mecanismos patológicos comunes que contribuyen a estas, o uno de ellos: angiogénesis y fibrosis. Distintos subconjuntos de las integrinas que se unen a RGD cumplen funciones predominantes en el funcionamiento de estos procesos duales, de modo que el antagonismo simultáneo de la angiogénesis y la fibrosis requiere agentes que puedan unirse de forma eficaz a varias integrinas diana. Esto se diferencia de los agentes diseñados específicamente para la unión a una única integrina que puede ser menos eficaz en algunas aplicaciones debido a su mecanismo de acción más restringido.

40 Las integrinas que se ha demostrado que cumplen una función en la estimulación de la angiogénesis incluyen, $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$ y $\alpha 5\beta 1$. $\alpha v\beta 3$ y $\alpha v\beta 5$ se describieron inicialmente como mediadores de la angiogénesis inducida por bFGF y VEGF, respectivamente, en modelos de córnea o membrana corioalantoidea. Más recientemente, los datos de los estudios que utilizan ratones que carecen de estas integrinas también sostienen un rol funcional importante de $\alpha 5\beta 1$. La integrina $\alpha 5\beta 1$ (también conocida como VLA-5) a menudo se denomina "receptor de fibronectina clásico" que refleja su interacción bien caracterizada con esta proteína de la matriz extracelular. Las células que expresan $\alpha 5\beta 1$ se unen a la fibronectina en una región que incorporan la novena y décima repetición de fibronectina de tipo III, la última de las cuales contiene el motivo RGD que es fundamental para la unión a la integrina. Además de la fibronectina, se ha mencionado que $\alpha 5\beta 1$ interactúa con otras proteínas de la matriz extracelular que contienen RGD que incluyen fibrinógeno, colágeno desnaturizado y fibrilina-1 (Bax *et al.*, 2003; Perdi, 2010; Suehiro *et al.*, 2000). Estos ligandos son componentes de la matriz provisional establecida por las células como parte de la respuesta a la cicatrización en los tejidos. Los componentes fundamentales de esta respuesta son la angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos) y la fibrosis (formación de cicatrices) que son beneficiosas para la curación de heridas graves, pero puede ser perjudicial en muchos contextos de enfermedades.

55 Los antagonistas de las integrinas que se unen a RGD deberían ser útiles para el tratamiento de enfermedades humanas que tienen a la angiogénesis o la fibrosis como parte principal de su patología. En particular, varios estudios respaldan la importante función de $\alpha 5\beta 1$ en la angiogénesis. Por ejemplo, los ratones que carecen de esta integrina exhiben letalidad embrionaria el día 10-11 con un fenotipo que incluye defectos en la vasculatura tanto embrionaria como extraembrionaria (Yang *et al.*, 1993). Las citocinas angiogénicas como bFGF, IL-8, TGF β y TNF α aumentan la expresión de $\alpha 5\beta 1$ en las células endoteliales *in vitro* e *in vivo* y la inmunohistoquímica muestra aumentos coordinados tanto en la tinción de fibronectina como de $\alpha 5\beta 1$ en los vasos sanguíneos de varios tipos de biopsias de tumor humano y tumores de xenoinjerto en animales (Collo, 1999; Kim *et al.*, 2000). Los anticuerpos monoclonales que inhiben específicamente $\alpha 5\beta 1$, y los compuestos que se han descrito como inhibidores de $\alpha 5\beta 1$, reducen significativamente la angiogénesis en varios modelos experimentales (Kim *et al.*, 2000; Bhaskar *et al.*, 2007; Livant *et al.*, 2000; Zahn *et al.*, 2009).

Dado que la expresión de $\alpha 5\beta 1$ no se limita al endotelio, cumple otros roles funcionales además de la angiogénesis. Se expresa hasta diversos grados en muchos tipos celulares incluidos los fibroblastos, las células hematopoyéticas e inmunitarias, células de músculo liso, células epiteliales y células tumorales. La expresión en las células tumorales se ha visto implicada en el avance del crecimiento tumoral y la metástasis (Adachi *et al.*, 2000; Blasé *et al.*, 1995; Danen *et al.*, 1994; Edward, 1995). En fibroblastos humanos, $\alpha 5\beta 1$ estimula la motilidad y la supervivencia (Lobert *et al.*, 2010). En las células estrelladas pancreáticas, interactúa con el factor de crecimiento del tejido conectivo para estimular la adhesión, migración y fibrogénesis (Gao y Brigstock, 2006). Se ha demostrado que el antagonismo farmacológico de $\alpha 5\beta 1$ inhibe la unión, migración y proliferación de las células epiteliales retinianas humanas *in vitro* y reduce la proliferación celular retiniana y la cicatrización cuando se administra por vía intravítrea a conejos con desprendimiento de retina (Li *et al.*, 2009; Zahn *et al.*, 2010).

Varias integrinas de la familia alfa v que se unen a RGD se han visto implicadas en la estimulación de la activación biológica de la citocina profibrótica latente TGF β . Esto es mediado por la unión al péptido asociado a la latencia (LAP), particularmente mediante $\alpha v\beta 6$ y $\alpha v\beta 8$, aunque también mediante $\alpha v\beta 1$, $\alpha v\beta 3$ y $\alpha v\beta 5$. Todas estas interacciones de las integrinas dependen de forma crítica de la secuencia de aminoácidos arg-gly-asp (RGD) contenida en el LAP. De hecho, los ratones que contienen una mutación en la secuencia de RGD no logran la activación de citocina y fenocopian a los ratones que carecen de TGF β . Se prevé que la inhibición simultánea de varias integrinas con el potencial de activar el TGF β pueden ser particularmente útiles para prevenir o tratar varias afecciones fibróticas. Además, dichos antagonistas de integrina de amplio espectro pueden ser particularmente útiles para la modulación simultánea tanto de la angiogénesis como de la fibrosis.

El documento WO 2004/060376 se refiere a compuestos que son antagonistas de las integrinas avps y / o avp5 y, como tales, son útiles en composiciones farmacéuticas y en métodos para tratar afecciones mediadas por las integrinas av i3 y / o XVP5. E Estos compuestos muestran además una mayor selectividad para la integrina OCVss3 y / o $\alpha Vss5$ que para la integrina avpe.

El documento WO 97/08145 describe agentes farmacéuticos (compuestos) que son útiles como antagonistas de la integrina $\alpha 8\beta 3$ y, como tales, son útiles en composiciones farmacéuticas y en métodos para tratar afecciones mediadas por tVss3 inhibiendo o antagonizando las integrinas tVss3.

Nagarajan *et al.*, "R-isomers of ARG-Gly-Asp (RGD) mimics as potent $\alpha v\beta 3$ inhibitors", *Biorg. Med. Chem.*, 15(11), páginas 3783-3800 se refiere a la síntesis de imitaciones de RGD que contienen isómeros R de beta-aminoácidos, que se descubrió que eran inhibidores relativamente potentes de alfa (v) beta (3).

Duggan *et al.*, "Ligands to the integrin receptor ALPHAVBETA", *Exp Opin Ther Patents*, 10(9), 1367-1383 es una revisión de una serie de solicitudes de patente y patentes emitidas que reivindican antagonistas de $\alpha v\beta 3$ estructuralmente nuevos como agentes para la prevención y / o el tratamiento de la osteoporosis, el cáncer, la retinopatía diabética y la artritis reumatoide.

El Catálogo de sustancias químicas raras publicado en noviembre de 2004 divulga un compuesto con una estructura química similar a los compuestos divulgados en el presente documento. Este compuesto tiene un número de registro CAS de 773126-23-1.

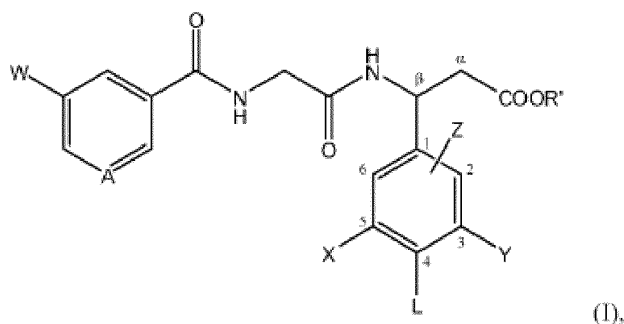
El Catálogo de la lista de productos NetChem publicado en octubre de 2011 divulga un compuesto con una estructura química similar a los compuestos divulgados en el presente documento. Este compuesto tiene un número de registro CAS de 682803-43-6.

El Catálogo de la lista de productos Asiba Pharmatech publicado en marzo de 2011 divulga un compuesto con una estructura química similar a los compuestos divulgados en el presente documento. Este compuesto tiene un número de registro CAS de 1270085-65-8.

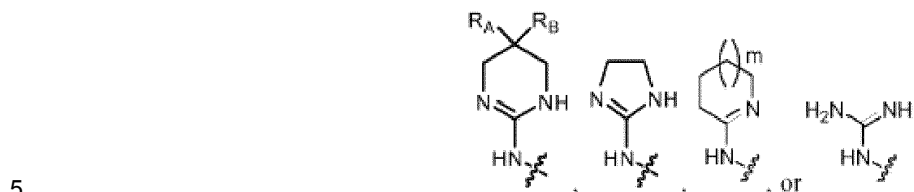
Sumario de la invención

La presente descripción proporciona nuevos antagonistas del receptor de integrina, composiciones farmacéuticas y métodos para su fabricación y métodos para su uso. La presente invención es tal como se describe en las reivindicaciones adjuntas.

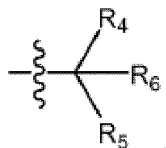
En el presente documento se describe un compuesto de la fórmula:



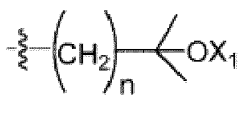
en la que: W es



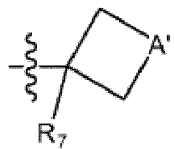
10 en la que: R_A es -H o -F; R_B es -H, -OH, -NH₂, -F, -CN o alcoxi_(C≤8), donde si R_A es -F, R_B es -H o -F; y m es 0-3; A es C-R'' o N, en la que: R'' es -H, -OH, -CO₂R₁, -C(=O)R₂ o -N(R₁)(C=O)R₃, o alcoxi_(C≤8), aciloxi_(C≤8), alquilamino_(C≤8), dialquilamino_(C≤8), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos, en la que: R₁ es -H, alquil_(C≤8) o alquil_(C≤8) sustituido; R₂ es alquilamino_(C≤8), dialquilamino_(C≤8), heterocicloalquil_(C≤8), heteroaril_(C≤8), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; R₃ es alquil_(C≤8), aril_(C≤8), aralquil_(C≤8), heteroaril_(C≤8), heterocicloalquil_(C≤8), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; R' es -H, alquil_(C≤8) o alquil_(C≤8) sustituido; X es: hidrógeno, halo o ciano; alquil_(C≤12), alcoxi_(C≤12), aril_(C≤12), aralquil_(C≤12), heteroaril_(C≤8), heterocicloalquil_(C≤12), ariloxi_(C≤12), aciloxi_(C≤12), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; -(CH₂)_n-CO₂-alquil_(C≤6), donde, n' es 0-3;



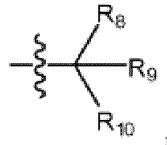
20 ,en la que R₄ y R₅ son cada uno independientemente alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) sustituido o -CH₂O-alquil_(C≤8); R₆ es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R₄ y R₅ son cada uno -CF₃, R₆ sea -OH, alcoxi_(C≤8) o -NH₂;



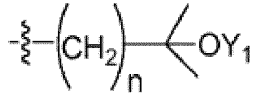
25 en la que n es 1 o 2 y X₁ es -H o alquil_(C≤8); o



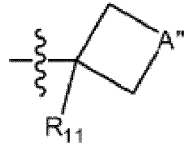
30 en la que: A' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, -CF₂-, -O-, alcanodiil_(C≤6) o alcoxidil_(C≤8); y R₇ es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8); Y es: *t*-butilo, neopentilo, norbornilo o adamantilo;



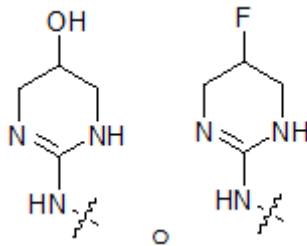
- 5 en la que R_8 y R_9 son cada uno independientemente alquil(C \leq 8), alquil(C \leq 8) sustituido o -CH₂O-alquil(C \leq 8); R_{10} es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CFH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil(C \leq 8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH, -CH₂O-alquil(C \leq 8) o alcoxi(C \leq 8), con la condición de que cuando R_8 y R_9 son cada uno -CF₃, R_{10} sea -OH, alcoxi(C \leq 8) o -NH₂



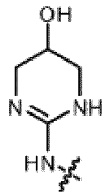
- 10 donde n es 1 o 2 e Y_1 es -H o alquil(C \leq 8); o



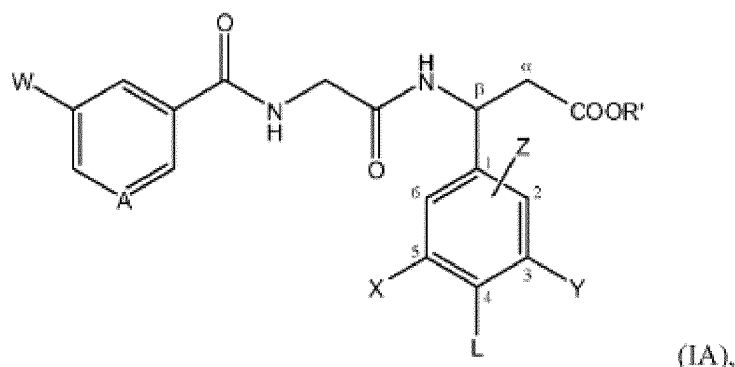
- 15 en la que: A'' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, -O-, -CF₂-, alcanodiil(C \leq 6) o alcoxi(C \leq 8); y R_{11} es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil(C \leq 8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CH₂OH, -CH₂O-alquil(C \leq 8), alquil(C \leq 8) o alcoxi(C \leq 8); L es hidrógeno, hidroxilo o alcoxi(C \leq 8); y Z es hidrógeno, flúor o hidroxilo y se encuentra unido al átomo de carbono 2 o 6; con la condición de que si W es



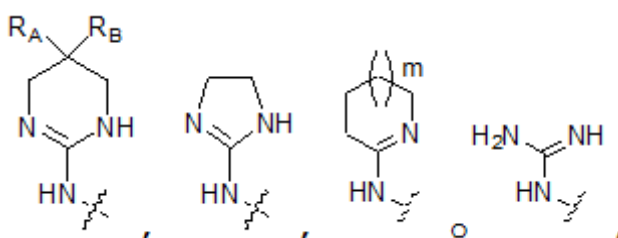
- 20 , X e Y no sean ambos *t*-butilo; y con la condición adicional de que si W es



- 25 A es C-OH, Z es hidrógeno y X es bromo o yodo, Y no sea *t*-butilo; o una sal o tautómero farmacéuticamente aceptable de estos. En algunas realizaciones, el compuesto se define adicionalmente como:



en la que: W es

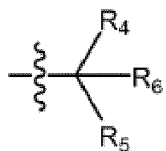


5

en la que: R_A es -H o -F; R_B es -H, -OH, -NH₂, -F, -CN o alcoxi_(C≤8), donde si R_A es -F, R_B es -H o -F; y m es 0-3; A es C-R" o N, en la que: R" es -H, -OH, -CO₂R₁, -C(=O)R₂ o -N(R₁)(C=O)R₃, o alcoxi_(C≤8), aciloxi_(C≤8), alquilamino_(C≤8), dialquilamino_(C≤8), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos, en la que: R₁ es -H, alquil_(C≤8) o alquil_(C≤8) sustituido; R₂ es alquilamino_(C≤8), dialquilamino_(C≤8), heterocicloalquil_(C≤8), heteroaril_(C≤8), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; R₃ es alquil_(C≤8), aril_(C≤8), aralquil_(C≤8), heteroaril_(C≤8), heterocicloalquil_(C≤8), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; R' es -H, alquil_(C≤8) o alquil_(C≤8) sustituido; X es: hidrógeno, halo o ciano; alquil_(C≤12), alcoxi_(C≤12), aril_(C≤12), aralquil_(C≤12), heteroaril_(C≤8), heterocicloalquil_(C≤12), ariloxi_(C≤12), aciloxi_(C≤12), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; -(CH₂)_{n'}-CO₂-alquil_(C≤6), donde n' es 0-3;

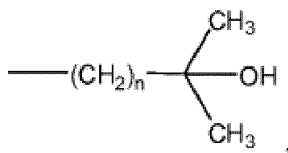
10

15



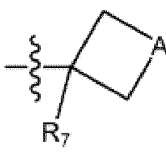
donde R_4 y R_5 son cada uno independientemente alquil_(C≤8) o alquil_(C≤8) sustituido; R_6 es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R_4 y R_5 son cada uno CF₃, R_6 sea OH;

20



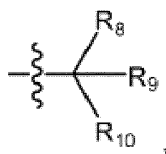
donde n es 1 o 2; o

25

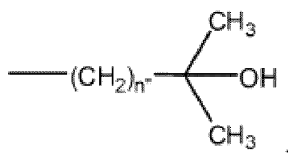


en la que: A' es un enlace covalente, y forma así un anillo ciclopropano, alcanodiil_(C≤6) o alcoxidiil_(C≤8); y R_7 es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H o alcoxi_(C≤8); Y es: *t*-butilo, neopentilo, norbornilo o adamantilo;

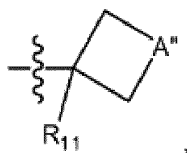
30



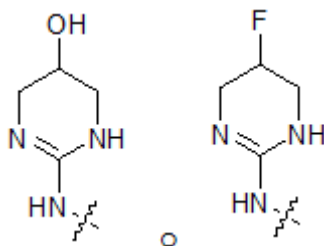
5 donde R₈ y R₉ son cada uno independientemente alquil_(C≤8) o alquil_(C≤8) sustituido; R₁₀ es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH o alcoxi_(C≤8), con la condición de cuando R₈ y R₉ son cada uno CF₃, R₁₀ sea OH;



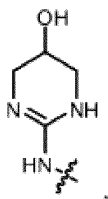
en la que n es 1 o 2; o



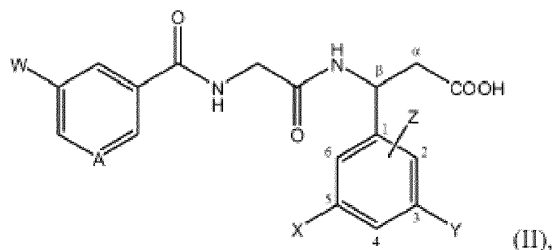
10 en la que: A'' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, alcanodiol_(C≤6) o alcoxiol_(C≤6); y R₁₁ es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H o alcoxi_(C≤8); L es hidrógeno, hidroxilo o alcoxi_(C≤8); y Z es hidrógeno o hidroxilo y se encuentra unido al átomo de carbono 2 o 6; con la condición de que si W es



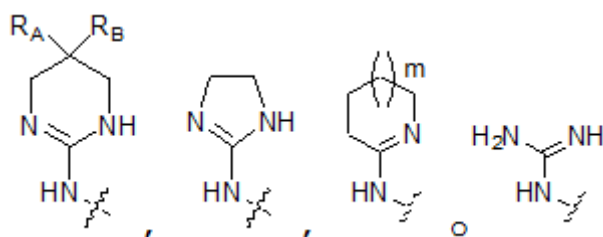
20 X e Y no sean ambos *t*-butilo; y con la condición adicional de que si W es



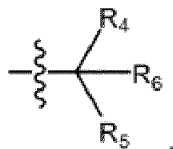
25 A es C-OH, Z es hidrógeno y X es bromo o yodo, Y no sea *t*-butilo; o una sal o tautómero farmacéuticamente aceptable de estos. En algunas realizaciones, el compuesto se define adicionalmente como:



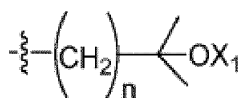
en la que: W es



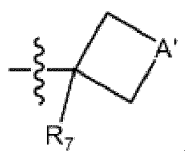
5 , en la que: R_A es -H o -F; R_B es -H, -OH, -NH₂, -F, -CN o alcoxi_(C≤8), donde si R_A es -F, R_B es -H o -F; y m es 0-3; A es C-R" o N, en la que: R" es -H, -OH, -CO₂R₁, -C(=O)R₂ o -N(R₁)(C=O)R₃, o alcoxi_(C≤8), aciloxi_(C≤8), alquilamino_(C≤8), dialquilamino_(C≤8), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos, en la que: R₁ es -H, alquil_(C≤8) o alquil_(C≤8) sustituido; R₂ es alquilamino_(C≤8), dialquilamino_(C≤8), heterocicloalquil_(C≤8), heteroaril_(C≤8), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; R₃ es alquil_(C≤8), aril_(C≤8), aralquil_(C≤8), heteroaril_(C≤8), heterocicloalquil_(C≤8), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; X es: hidrógeno, halo o ciano; alquil_(C≤12), alcoxi_(C≤12), aril_(C≤12), aralquil_(C≤12), heteroaril_(C≤12), heterocicloalquil_(C≤12), ariloxi_(C≤12), aciloxi_(C≤12), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; -(CH₂)^{n'}-CO₂-alquil_(C≤6), donde n' es 0-3;



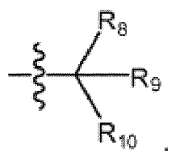
15 donde R_4 y R_5 son cada uno independientemente alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) sustituido o -CH₂O-alquil_(C≤8); R_6 es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R_4 y R_5 son cada uno -CF₃, R_6 sea -OH, alcoxi_(C≤8) o -NH₂;



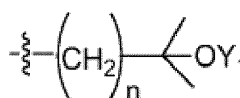
20 donde n es 1 o 2 y X₁ es -H o alquil_(C≤8); o



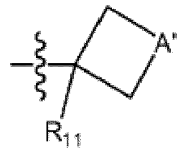
25 en la que: A' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, -CF₂-, -O-, alcanodiol_(C≤6) o alcoxidil_(C≤8); y R_7 es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8); Y es: *t*-butilo;



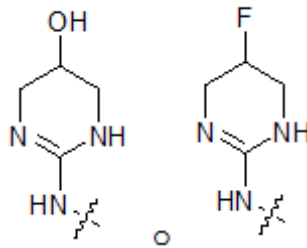
30 donde R_8 y R_9 son cada uno independientemente alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) sustituido o -CH₂O-alquil_(C≤8); R_{10} es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CFH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R_8 y R_9 son cada uno -CF₃, R_{10} sea -OH, alcoxi_(C≤8) o -NH₂;



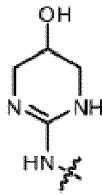
35 donde n es 1 o 2 e Y₁ es -H o alquil_(C≤8); o



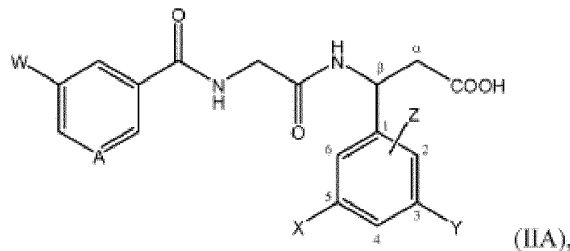
- 5 en la que: A'' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, -O-, -CF₂-, alcanodiiil_(C≤6) o alcoxidiiil_(C≤8); y R₁₁ es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8); y Z es hidrógeno, flúor o hidroxilo y se encuentra unido al átomo de carbono 2 o 6; con la condición de que si W es



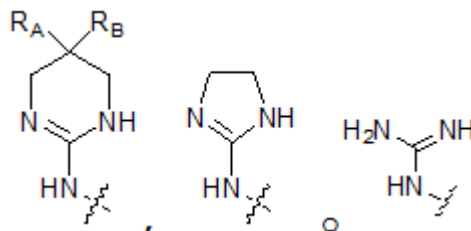
- 10 X e Y no sean ambos *t*-butilo; y con la condición adicional de que si W es



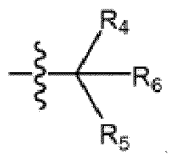
- 15 A es C-OH, Z es hidrógeno y X es bromo o yodo, Y no sea *t*-butilo; o una sal o tautómero farmacéuticamente aceptable de estos. En algunas realizaciones, el compuesto se define adicionalmente como:



- 20 en la que: W es,

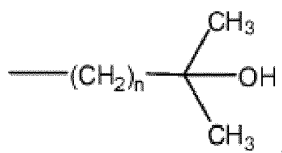


- 25 en la que: RA es -H o -F; RB es -H, -OH, -F, donde si RA es -F, RB es -H o -F; A es C-R'' o N, en la que: R'' es -H, -OH, X es: halo, *t*-butilo, CF₃, CF₂H o ciano;



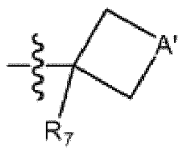
donde R_4 y R_5 son cada uno independientemente alquil_(C≤8) o alquil_(C≤8) sustituido, en el que uno o más átomos de hidrógeno se han sustituido independientemente por -OH, -F, -Cl, -Br, -I, -NH₂, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CN, -SH, -OCH₃, OCH₂CH₃, -C(O)CH₃, -N(CH₃)₂, -C(=O)NH₂, -OC(O)CH₃ o -S(O)₂NH₂; R_6 es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R_4 y R_5 son cada uno -CF₃, R_6 sea -OH;

5



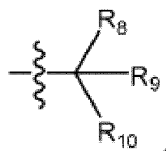
, donde n es 1 o 2; o

10



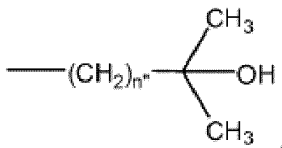
, en la que: A' es un enlace covalente, y forma así un anillo ciclopropano, alcanodiil_(C≤6) o alcoxiil_(C≤8); y R_7 es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H o alcoxi_(C≤8); Y es: t-butilo;

15

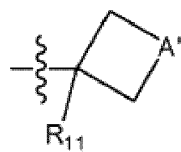


donde R_8 y R_9 son cada uno independientemente alquil_(C≤8) o alquil_(C≤8) sustituido; R_{10} es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH o alcoxi_(C≤8), con la condición de cuando R_8 y R_9 son cada uno CF_3 , R_{10} sea OH;

20

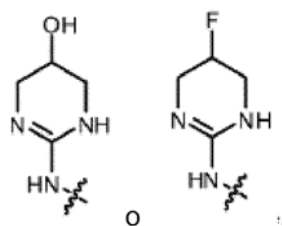


25 donde n'' es 1 o 2; o

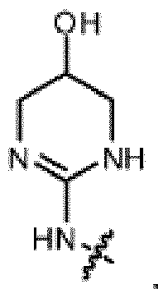


en la que: A'' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, alcanodiil_(C≤6) o alcoxiil_(C≤8); y R_{11} es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H o alcoxi_(C≤8); y Z es hidrógeno o hidroxilo y se encuentra unido al átomo de carbono 2 o 6; con la condición de que si W es

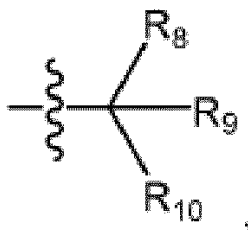
30



X e Y no sean ambos *t*-butilo; y con la condición adicional de que si W es

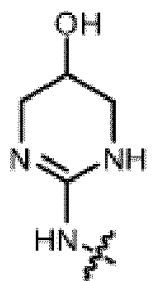


- 5 A es C-OH, Z es hidrógeno y X es bromo o yodo, Y no sea *t*-butilo; o una sal o tautómero farmacéuticamente aceptable de estos. En algunas realizaciones, el átomo de carbono etiquetado como β se encuentra en la configuración R. En otras realizaciones, el átomo de carbono etiquetado como β se encuentra en la configuración S. En algunas realizaciones, Y es:

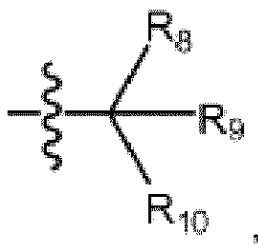


- 10 en la que: R_8 y R_9 son cada uno independientemente alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) sustituido o -CH₂O-alquil_(C≤8); y R_{10} es -OH, -CF₃, -CF₂H, -CFH₂, -CO₂-alquil_(C≤8), -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R_8 y R_9 son cada uno -CF₃, R_{10} sea -OH, alcoxi_(C≤8) o -NH₂.

- 15 En algunas realizaciones, W es



- 20 En algunas realizaciones, A es C-OH. En algunas realizaciones, A es N. En algunas realizaciones, X es halo. En algunas realizaciones, X es bromo. En otras realizaciones, X es cloro. En otras realizaciones, X es alquil_(C≤8) o alquil_(C≤8) sustituido. En algunas realizaciones, X es *t*-butilo. En otras realizaciones, X es 2-hidroxi-isopropilo. En otras realizaciones, X es -CF₃. En otras realizaciones, X es ciano. En otras realizaciones, X es heteroarilo. En algunas realizaciones, X es pirimidilo. En otras realizaciones, X es piridilo. En algunas realizaciones, L es hidrógeno.
- 25 En algunas realizaciones, Y es *t*-butilo. En otras realizaciones, Y es 2-hidroxi-isopropilo. En otras realizaciones, Y es



- 30 donde R_8 y R_9 son cada uno independientemente alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) sustituido o -CH₂O-alquil_(C≤8); R_{10} es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CFH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R_8 y R_9 son cada uno -CF₃, R_{10} sea -OH, alcoxi_(C≤8) o -NH₂. En algunas realizaciones, R_8 y R_9 son alquil_(C≤8). En algunas realizaciones, R_8 y R_9 son metilo. En algunas realizaciones, R_{10} es

-CN, -CH₂OH, -CH₂O-alkil_(C≤8) o -CF₃. En otras realizaciones, donde R₁₀ es -CH₂O-CH₃. En otras realizaciones, Y es



En otras realizaciones, Y es



En otras realizaciones, Y es



En otras realizaciones, Y es



En otras realizaciones, R₈ es alkil_(C≤8). En otras realizaciones, R₈ es metilo. En otras realizaciones, R₉ es alkil_(C≤8) sustituido. En otras realizaciones, R₉ es -CF₃. En otras realizaciones, R₁₀ es -OH. En otras realizaciones, Y es



En otras realizaciones, Y es



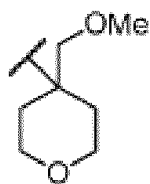
, en la que: A'' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, -O-, -CF₂-, alcanodiil_(C≤6) o alcoxiidil_(C≤8); y R₁₁ es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alkil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CH₂OH, -CH₂O-alkil_(C≤8), alkil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8). En algunas realizaciones, A'' es un enlace covalente. En otras realizaciones, A'' es alcoxiidil_(C≤8). En algunas realizaciones, A'' es -CH₂OCH₂-. En otras realizaciones, A'' es alcanodiil_(C≤6). En algunas realizaciones, A'' es -CH₂-. En otras realizaciones, R₁₁ es -CN, -CH₂OH, -CH₂O-alkil_(C≤8), -CF₂H o -CFH₂. En algunas otras realizaciones, R₁₁ es -CH₂OCH₃. En otras realizaciones, Y es



En otras realizaciones, Y es



En otras realizaciones, Y es



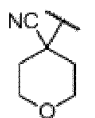
En otras realizaciones, Y es

5



En otras realizaciones, Y es

10



En otras realizaciones, Y es

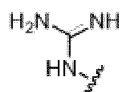
15



En algunas realizaciones, Z es hidrógeno. En otras realizaciones, Z es hidroxilo y se encuentra unido al átomo de carbono 2. En otras realizaciones, Z es hidroxilo y se encuentra unido al átomo de carbono 6. En otros compuestos descritos en el presente documento, Z es flúor y se encuentra unido al átomo de carbono 2. En otros compuestos descritos en el presente documento, Z puede ser flúor y se encuentra unido al átomo de carbono 6. En algunos compuestos descritos en el presente documento, R1 puede ser hidrógeno.

20

En otras realizaciones, W es

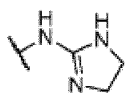


25

En algunas realizaciones, A es C-OH. En otras realizaciones, A es C-H. En otros compuestos descritos en el presente documento, A es N. En algunos otros compuestos descritos en el presente documento, R' es hidrógeno. En algunas realizaciones, L es hidrógeno. En algunas realizaciones, Z es hidrógeno. En algunos compuestos descritos en el presente documento, Y es alquil_(C≤8). En el compuesto de la invención, Y es t-butilo. En algunas realizaciones, X es halo. En algunas realizaciones, X es bromo. En otros compuestos descritos en el presente documento, X es alquil_(C≤8). En otras realizaciones, X es t-butilo.

30

En algunas realizaciones, W es

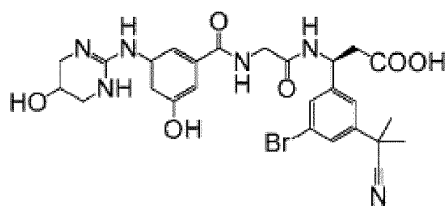
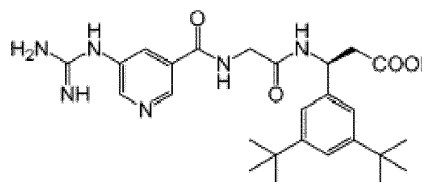
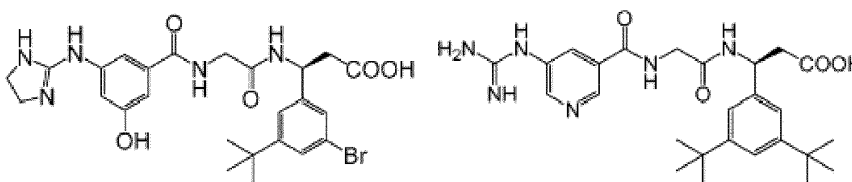
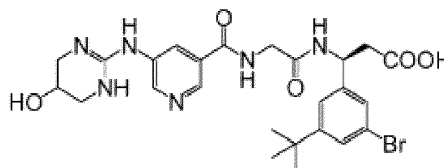
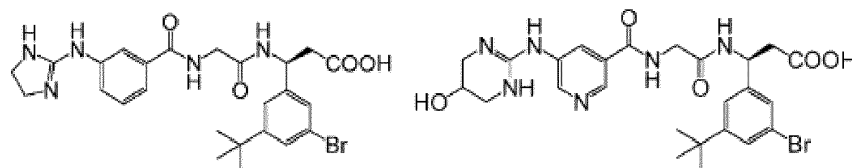
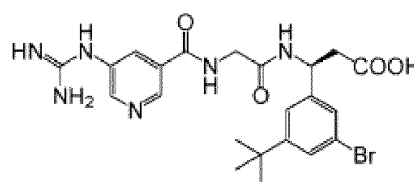
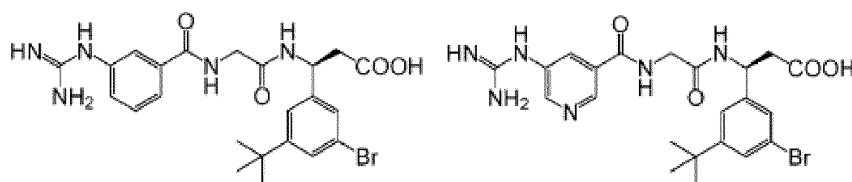
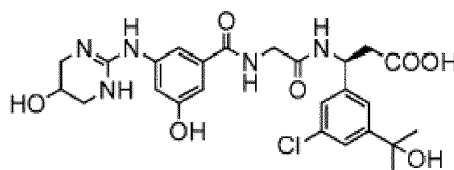
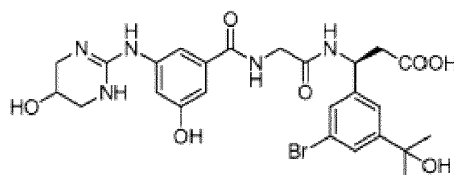
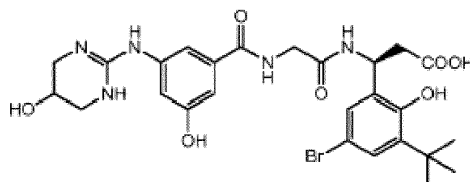
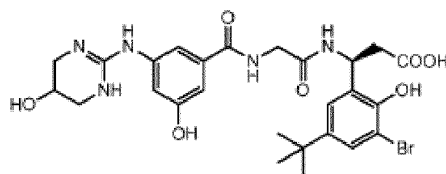


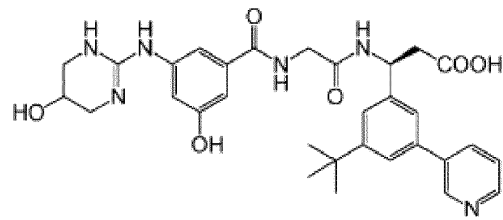
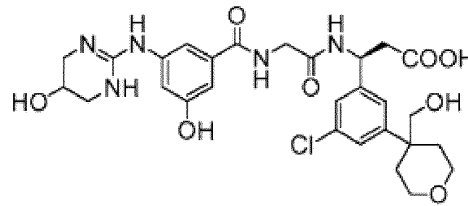
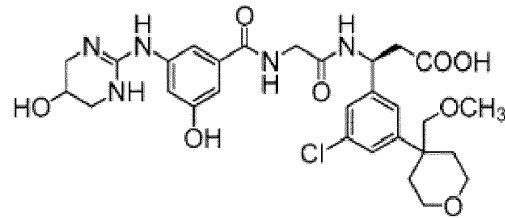
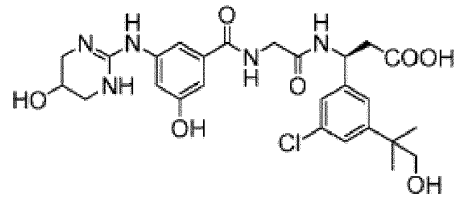
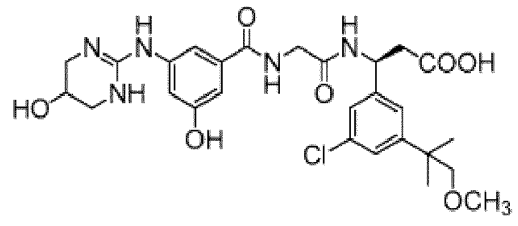
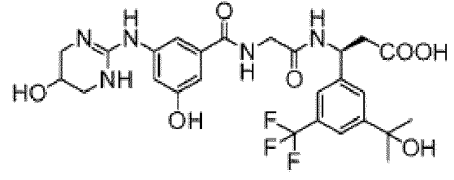
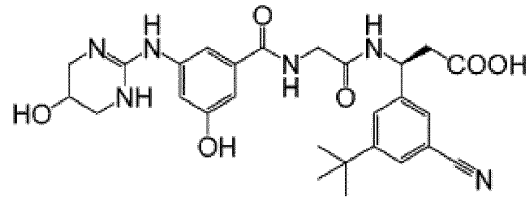
35

En algunas realizaciones, A es C-OH. En otras realizaciones, A es C-H. En algunas realizaciones, R' es hidrógeno. En algunas realizaciones, L es hidrógeno. En algunas realizaciones, Z es hidrógeno. En algunas realizaciones, Y es alquil_(C≤8). En algunas realizaciones, Y es t-butilo. En algunas realizaciones, X es halo. En algunas realizaciones, X es bromo.

40

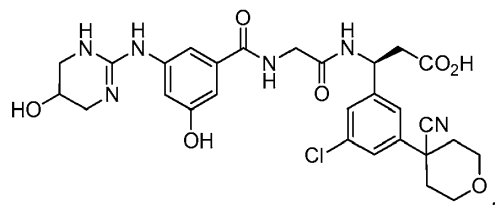
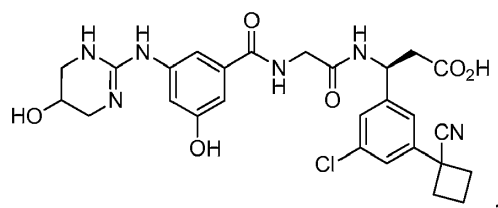
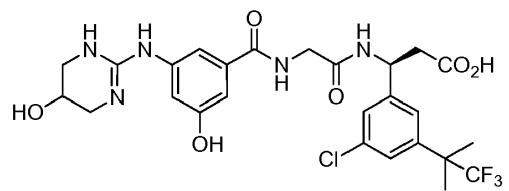
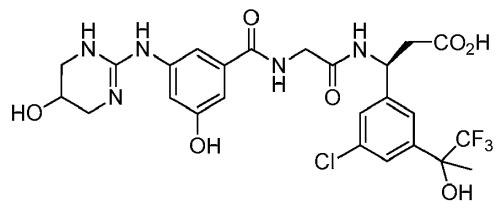
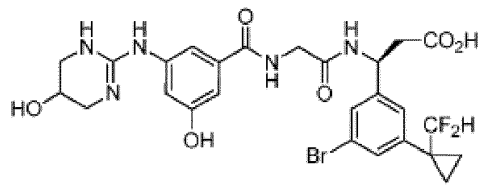
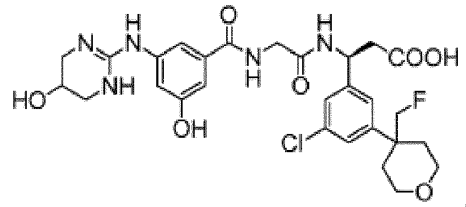
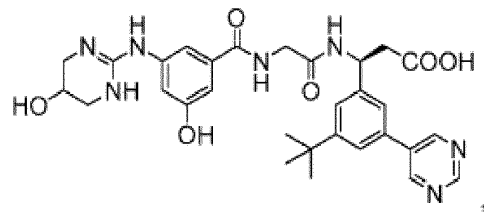
En algunas realizaciones, el compuesto se define adicionalmente del siguiente modo con compuestos que no entran dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas como compuestos de referencia:

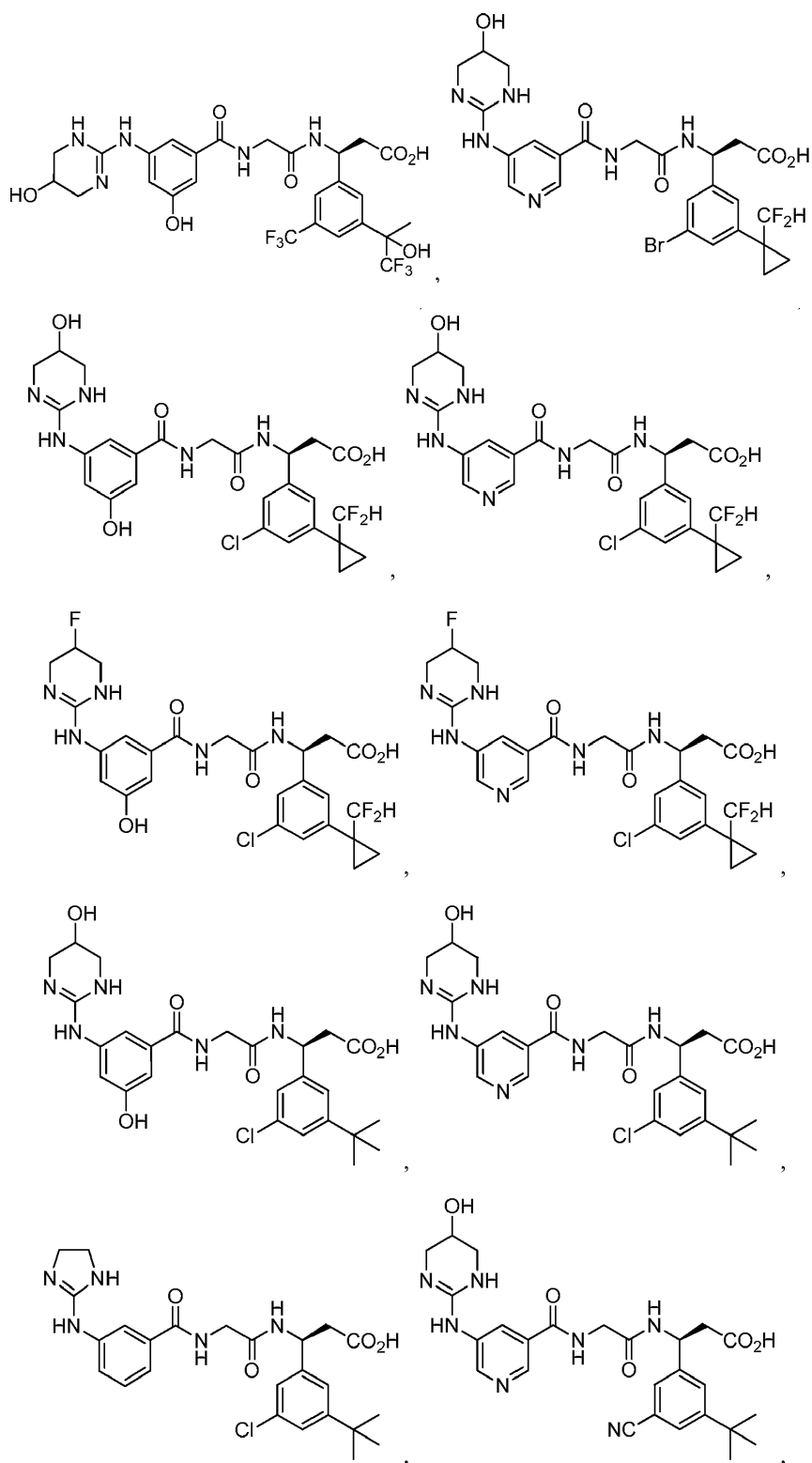


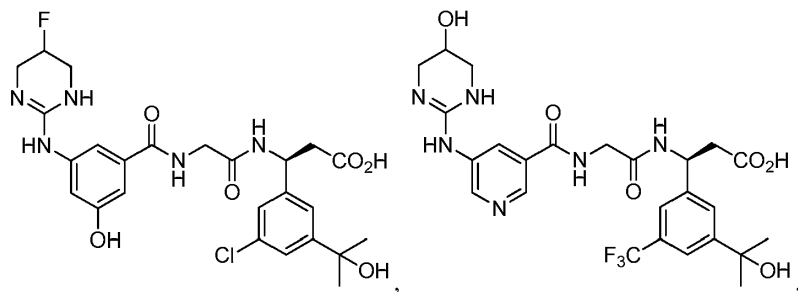
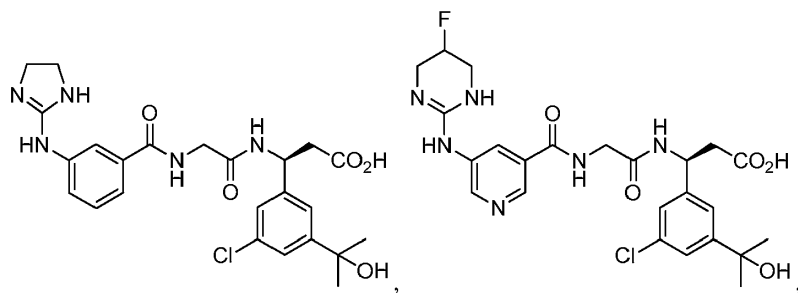
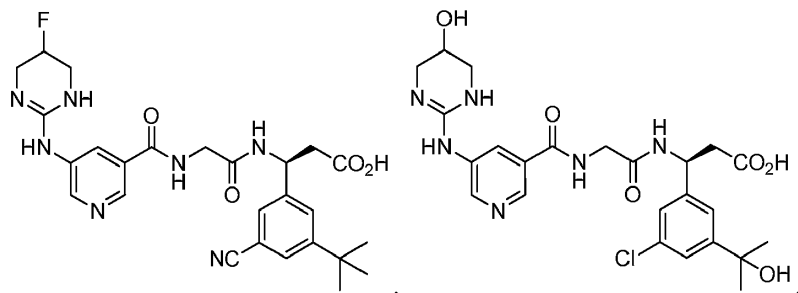
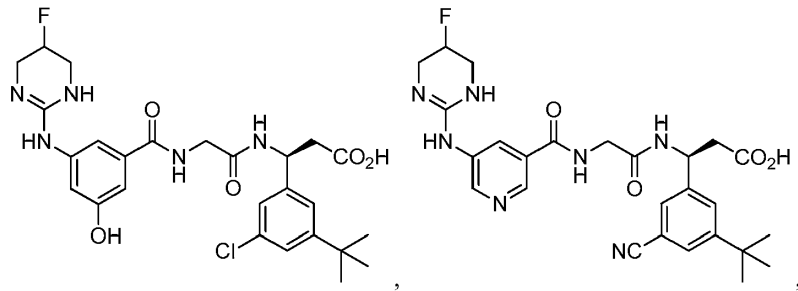
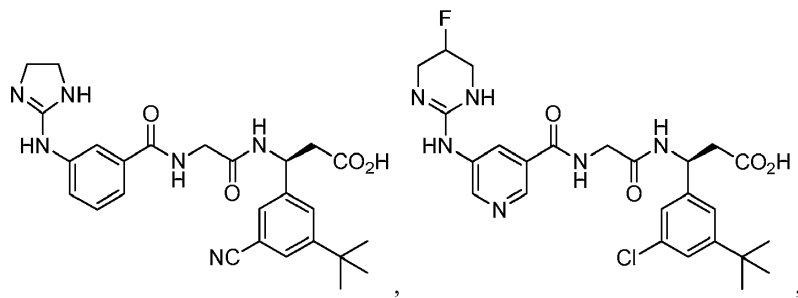


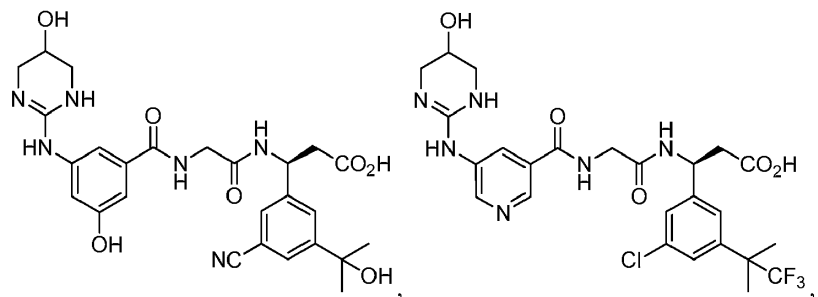
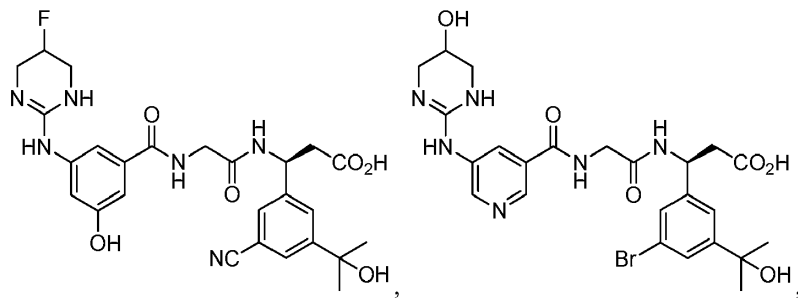
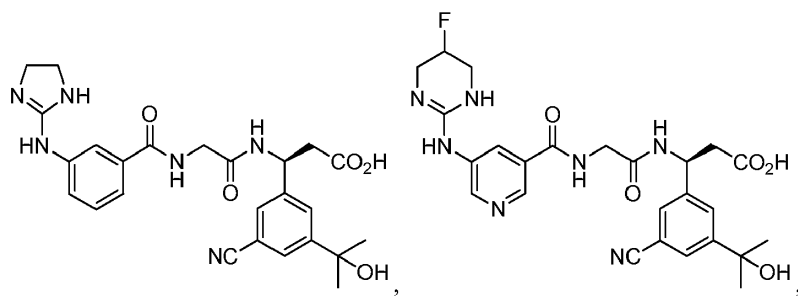
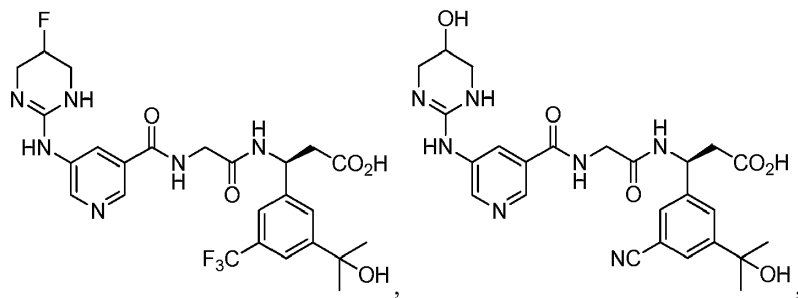
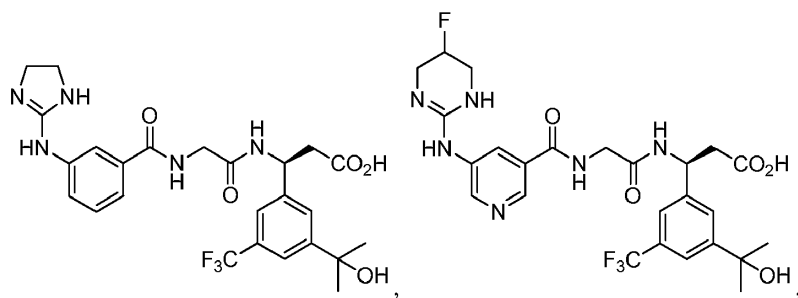
AAA

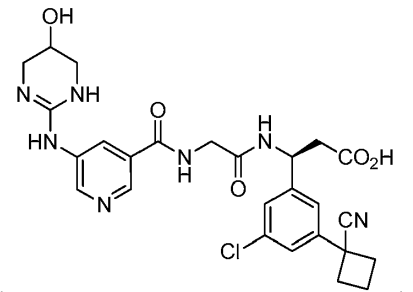
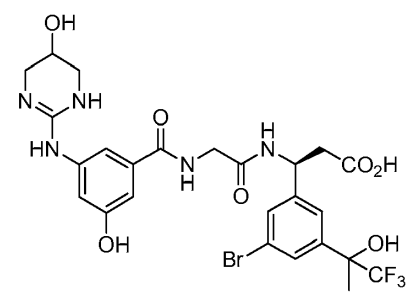
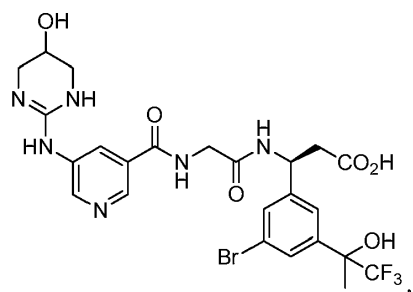
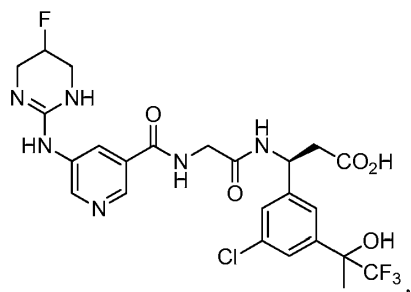
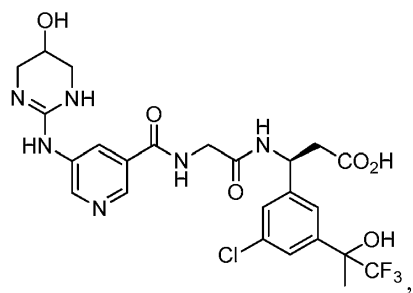
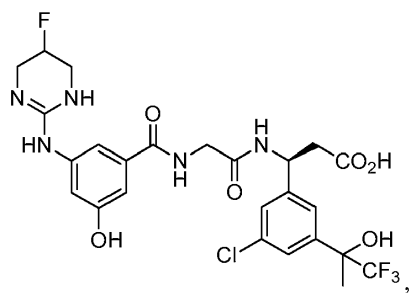
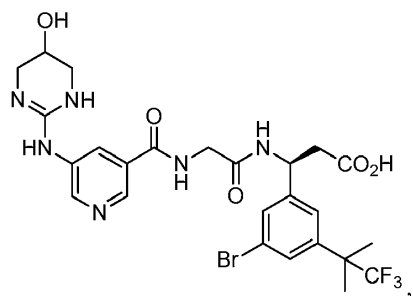
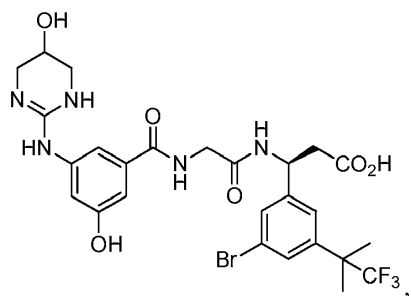
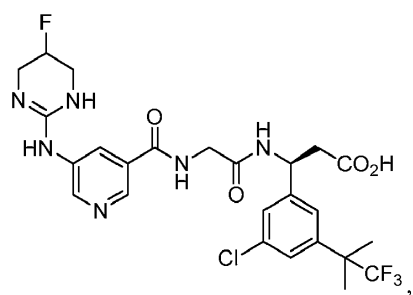
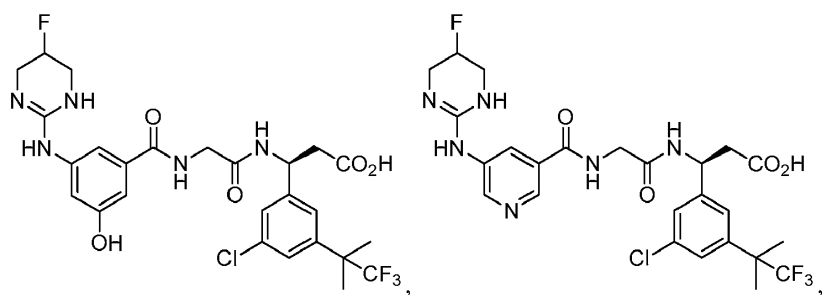
AAA

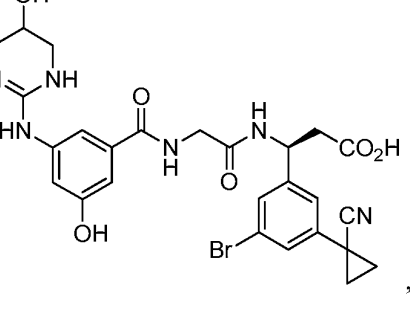
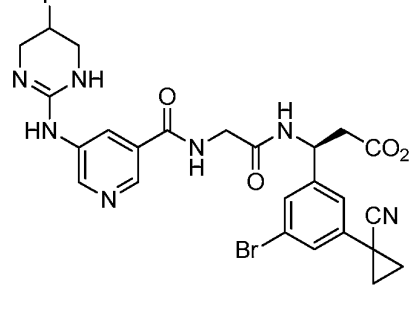
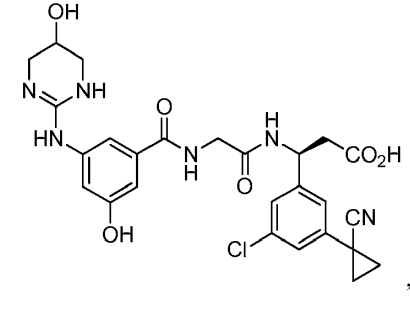
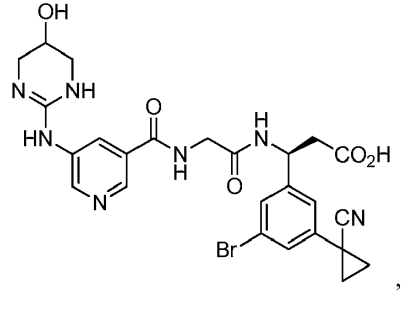
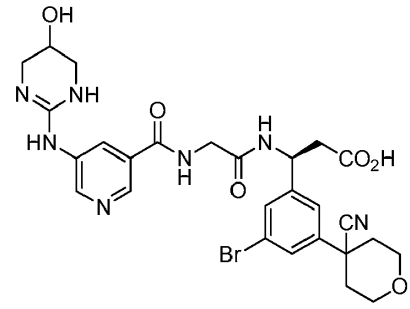
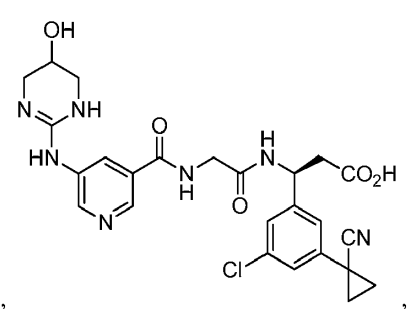
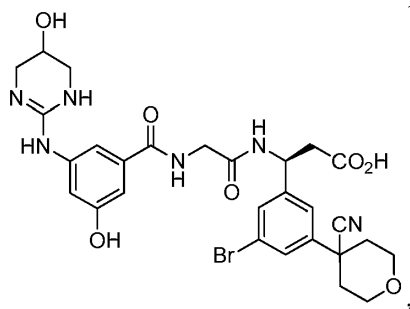
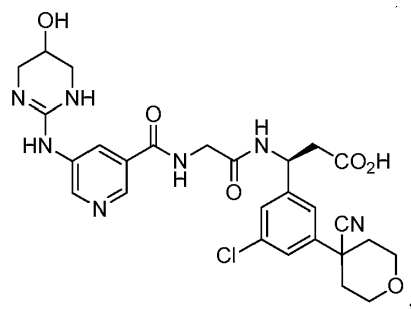
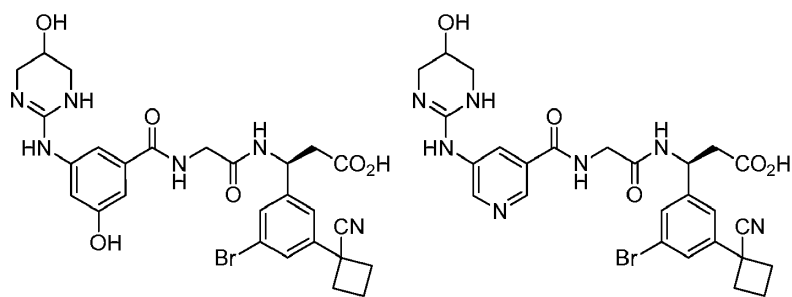


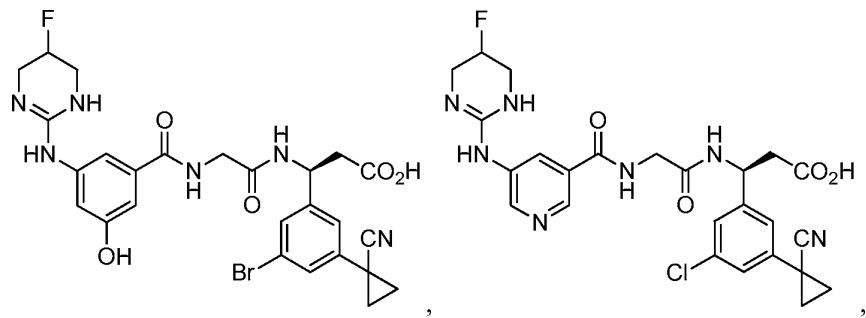




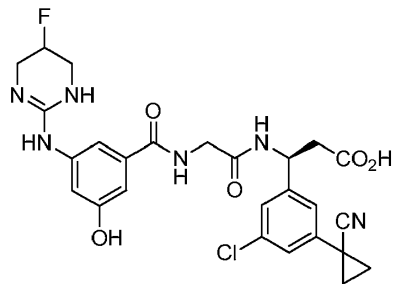






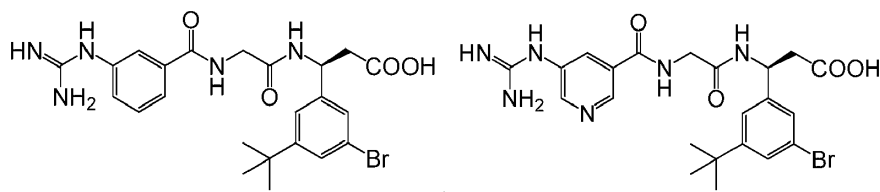
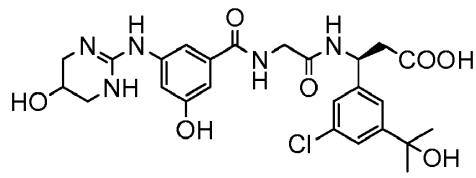
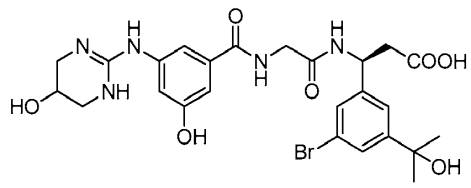
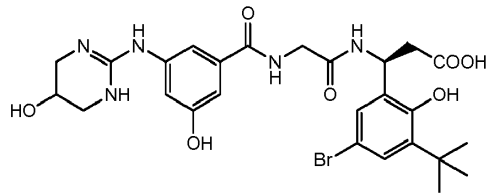
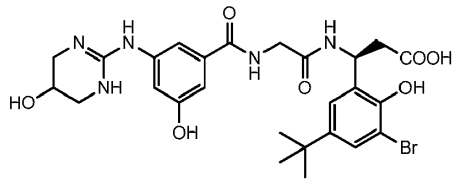


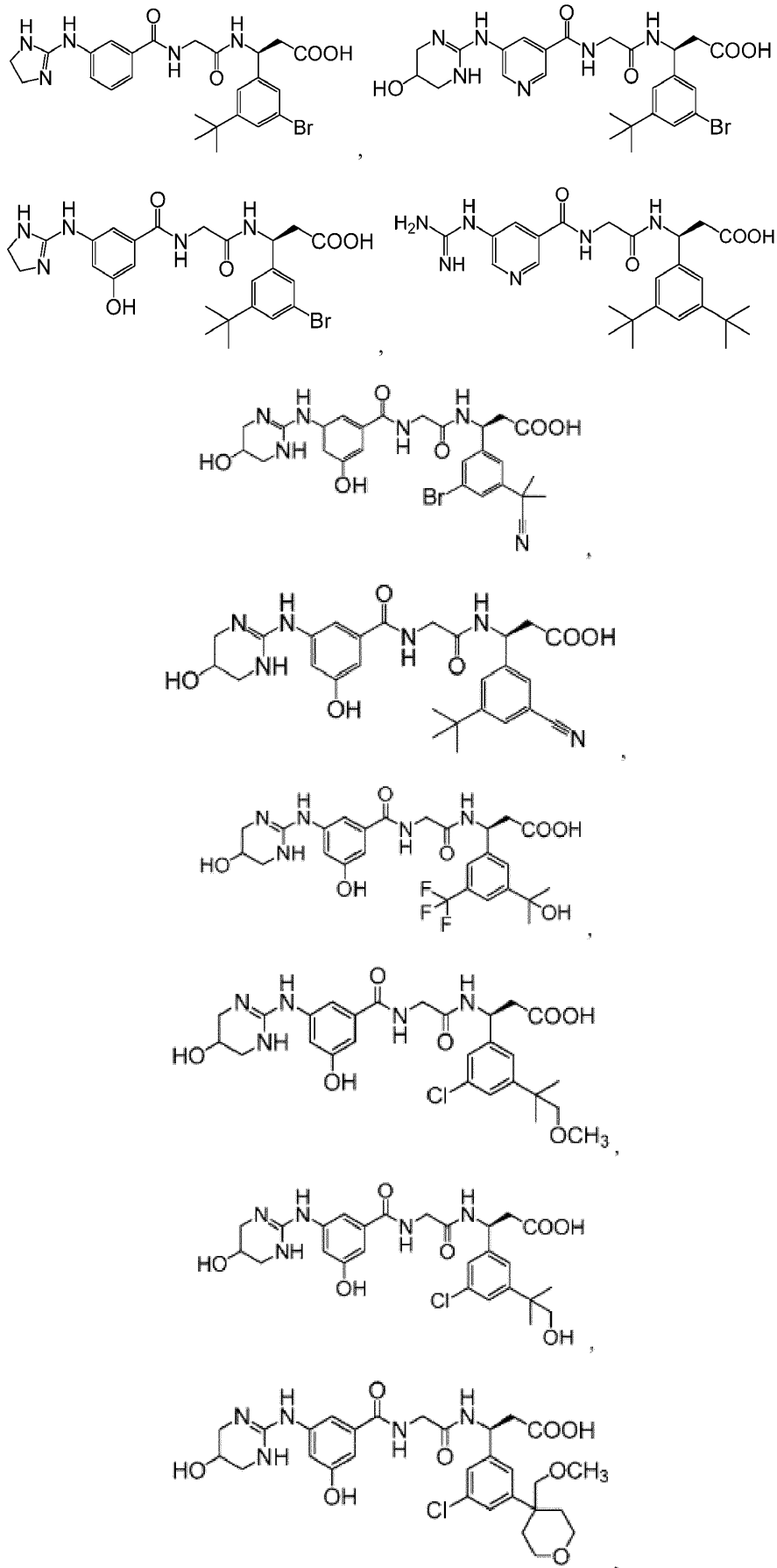
y

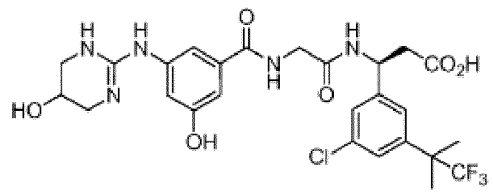
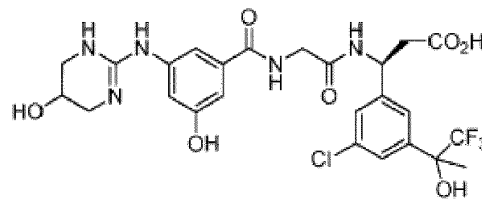
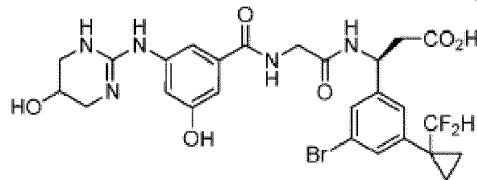
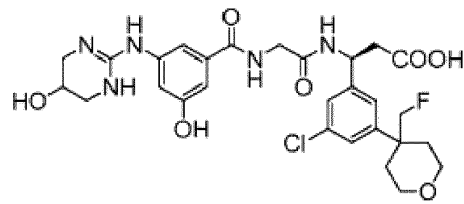
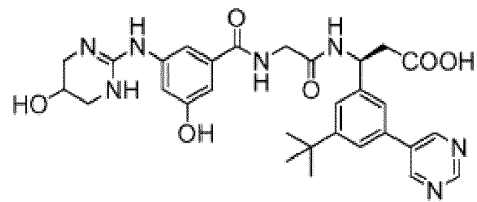
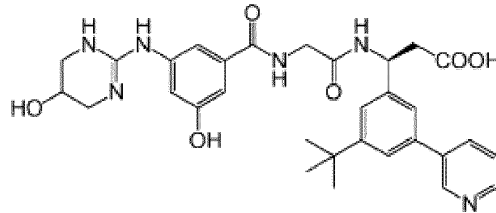
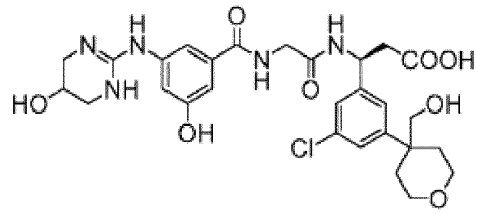


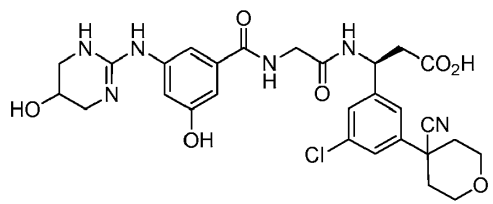
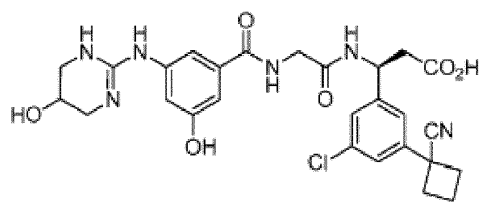
o una sal o tautómero farmacéuticamente aceptables de estos.

En otras realizaciones, el compuesto se define adicionalmente como

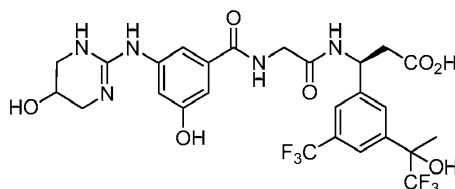








5 y



o una sal o tautómero farmacéuticamente aceptables de estos.

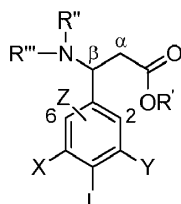
10 En algunas realizaciones, el compuesto de la reivindicación 1 de la fórmula que se muestra en la Tabla A o una sal o tautómero farmacéuticamente aceptables de este.

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende: a) el compuesto de la presente invención y b) un excipiente.

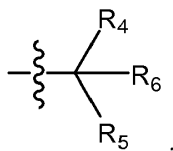
15 En aun otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto para su uso en el método para tratar y/o prevenir una enfermedad o un trastorno en un paciente que lo necesita, que comprende administrarle al paciente un compuesto de la presente invención en una cantidad suficiente para tratar y/o prevenir la enfermedad o el trastorno.

20 En algunas realizaciones, la enfermedad o el trastorno se encuentra asociado a la angiogénesis. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno se encuentra asociado a la fibrosis y/o angiogénesis. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es fibrosis pulmonar, hepática, renal, cardíaca y pancreática, esclerodermia, cicatrización, retinopatía del prematuro, vitreorretinopatía exudativa familiar, vitreorretinopatías proliferativas, degeneración macular, retinopatía diabética, cáncer, osteoporosis, enfermedades autoinmunes, hipercalcemia humoral maligna, enfermedad de Paget, enfermedad periodontal, psoriasis, artritis, restenosis e infección. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es fibrosis pulmonar. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es fibrosis hepática. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es fibrosis cardíaca. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es fibrosis renal. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es fibrosis pancreática. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es esclerodermia. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es cicatrización. En algunas realizaciones, la cicatrización es cicatrización dérmica. En otras realizaciones, la cicatrización es cicatrización retiniana. En otras realizaciones, donde la cicatrización es cicatrización de la córnea. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es retinopatía del prematuro. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es vitreorretinopatía exudativa familiar. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es vitreorretinopatía proliferativa. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es degeneración macular. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es retinopatía diabética. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer incluye crecimiento de tumor sólido o neoplasia. En otras realizaciones, el cáncer incluye metástasis tumoral. En algunas realizaciones, el cáncer es de la vejiga, sangre, huesos, cerebro, mama, sistema nervioso central, cuello uterino, colon, endometrio, esófago, vesícula biliar, genitales, tracto genitourinario, cabeza, riñón, laringe, hígado, pulmón, tejido muscular, cuello, mucosa oral o nasal, ovario, páncreas, próstata, piel, bazo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, testículo o tiroides. En otras realizaciones, el cáncer es un carcinoma, sarcoma, linfoma, leucemia, melanoma, mesotelioma, mieloma múltiple o seminoma. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es osteoporosis. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es una enfermedad autoinmune. En algunas realizaciones, el trastorno autoinmune es esclerosis múltiple. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es hipercalcemia humoral maligna. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es enfermedad de Paget. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es enfermedad periodontal. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es psoriasis. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es artritis. En algunas realizaciones, la artritis es artritis reumatoidea. En

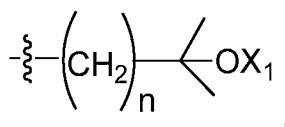
5 otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es restenosis. En otras realizaciones, la enfermedad o el trastorno es una infección. En algunas realizaciones, el paciente es un humano, mono, vaca, caballo, oveja, cabra, perro, gato, ratón, rata, cobayo o especies transgénicas de estos. En otras realizaciones, el paciente es un mono, vaca, caballo, oveja, cabra, perro, gato, ratón, rata o cobayo. En otras realizaciones, el paciente es un humano. También se describe en el presente documento un compuesto de la fórmula:



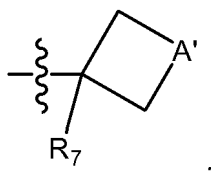
10 en la que: R' es -H, alquil_(C≤8) alquil_(C≤8) sustituido, alquilaril_(C≤12), y siliil; R'' y R''' son cada uno independientemente -H, alquil_(C≤8) alquil_(C≤8) sustituido, alquilaril_(C≤12), alquilaril_(C≤12) sustituido, acilo, terc-butiloxycarbonilo, 9-fluorenil-metiloxycarbonilo, carbamato, carbobenciloxi o benzoilo; X es: hidrógeno, halo o ciano; alquil_(C=12), alcoxi_(C=12), aril_(C=12), aralquil_(C=12), heteroaril_(C=8), heterocicloalquil_(C=12), ariloxi_(C=12), aciloxi_(C=12) o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; -(CH₂)_n-CO₂-alquil_(C=6), donde, n' es 0-3;



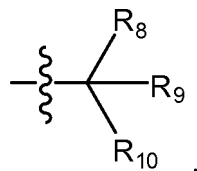
15 donde R₄ y R₅ son cada uno independientemente alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) sustituido o -CH₂O-alquil_(C≤8); R₆ es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R₄ y R₅ son cada uno -CF₃, R₆ sea -OH, alcoxi_(C≤8) o -NH₂;



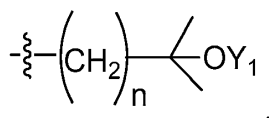
20 donde n es 1 o 2 y X₁ es -H o alquil_(C≤8), o



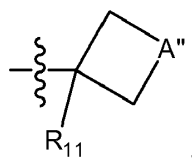
25 en la que: A' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, -CF₂-, -O-, alcanodiiil_(C≤6) o alcoxidiiil_(C≤8), y R₇ es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8); Y es: *t*-butilo, neopentilo, norbornilo o adamantilo;



30 donde R₈ y R₉ son cada uno independientemente alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) sustituido o -CH₂O-alquil_(C≤8); R₁₀ es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CFH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R₈ y R₉ son cada uno -CF₃, R₁₀ sea -OH, alcoxi_(C≤8) o -NH₂;

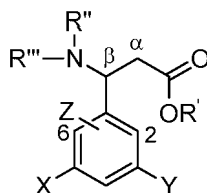


en la que n" es 1 o 2 e Y₁ es -H o alquil_(C≤8); o



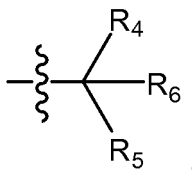
5 en la que: A" es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, -O-, -CF₂-, alcanodiil_(C≤6) o alcoxidiil_(C≤8); y R₁₁ es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8); L es hidrógeno, hidroxilo o alcoxi_(C≤8); y Z es hidrógeno, flúor o hidroxilo y se encuentra unido al átomo de carbono 2 o 6, o una sal o tautómero de este. Otro aspecto de la divulgación proporciona un compuesto de la fórmula:

10



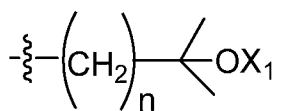
15 en la que: R' es -H, alquil_(C≤8) alquil_(C≤8) sustituido, alquilaril_(C≤12) y sililo; R" y R" son cada uno independientemente -H, alquil_(C≤8) alquil_(C≤8) sustituido, alquilaril_(C≤12), alquilaril_(C≤12) sustituido, acilo, terc-butiloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, carbamato, carbenciloxi o benzoilo; X es: hidrógeno, halo o ciano; alquil_(C□12), alcoxi_(C□12), aril_(C□12), aralquil_(C□12), heteroaril_(C□8), heterocicloalquil_(C□12), ariloxi_(C□12), aciloxi_(C□12), o una versión sustituida de cualquiera de los grupos; -(CH₂)_n-CO₂-alquil_(C□6), donde, n' es 0-3;

20

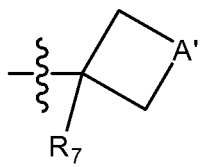


donde R₄ y R₅ son cada uno independientemente alquil_(C≤8), alquil_(C≤8)sustituido o -CH₂O-alquil_(C≤8); R₆ es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R₄ y R₅ son cada uno -CF₃, R₆ sea -OH, alcoxi_(C≤8) o -NH₂;

25



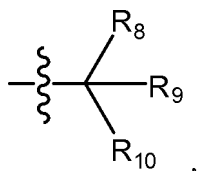
donde n es 1 o 2 y X₁ es -H o alquil_(C≤8), o



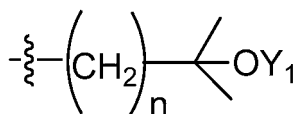
30

en la que: A' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, -CF₂-, -O-, alcanodiil_(C≤6) o alcoxidiil_(C≤8); y R₇ es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8); Y es: t-butilo, neopentilo, norbornilo o adamantilo;

35

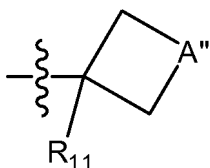


donde R_8 y R_9 son cada uno independientemente $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$, $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$ sustituido o $-\text{CH}_2\text{O}-\text{alquil}_{(C\leq 8)}$; R_{10} es $-\text{OH}$, $-\text{CN}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{H}$, $-\text{CFH}_2$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2-\text{alquil}_{(C\leq 8)}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{O}-\text{alquil}_{(C\leq 8)}$ o $\text{alcoxi}_{(C\leq 8)}$, con la condición de que cuando R_8 y R_9 son cada uno $-\text{CF}_3$, R_{10} sea $-\text{OH}$, $\text{alcoxi}_{(C\leq 8)}$ o $-\text{NH}_2$;



5

donde n es 1 o 2 e Y_1 es $-\text{H}$ o $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$; o



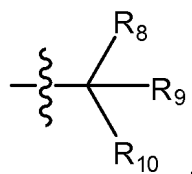
10

en la que: A'' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, $-\text{O}-$, $-\text{CF}_2-$, $\text{alcanodiil}_{(C\leq 6)}$ o $\text{alcoxi}_{(C\leq 8)}$; y R_{11} es $-\text{OH}$, $-\text{CN}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2-\text{alquil}_{(C\leq 8)}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{H}$, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{O}-\text{alquil}_{(C\leq 8)}$, $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$ o $\text{alcoxi}_{(C\leq 8)}$; L es hidrógeno, hidroxilo o $\text{alcoxi}_{(C\leq 8)}$; y Z es hidrógeno, flúor o hidroxilo y se encuentra unido al átomo de carbono 2 o 6, o una sal o tautómero de este. En algunas realizaciones, el compuesto está limitado por la condición de que X e Y no sean ambos t -butilo, y con la condición adicional de que si Z es hidrógeno, y X es bromo o yodo, Y no sea t -butilo. En algunas realizaciones, el átomo de carbono etiquetado como β se encuentra en la configuración R . En otras realizaciones, el átomo de carbono etiquetado como β se encuentra en la configuración S . En algunas realizaciones, R' es $-\text{H}$. En otras realizaciones, R' es $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$. En algunas realizaciones, R' es etilo. En algunas realizaciones, R'' es $-\text{H}$. En algunas realizaciones, R''' es $-\text{H}$. En otras realizaciones, R'' y R''' son ambos $-\text{H}$. En algunas realizaciones, L es hidrógeno. En algunas realizaciones, Z es hidroxilo y se encuentra unido al carbono etiquetado como 2. En otras realizaciones, Z es hidroxilo y se encuentra unido al carbono etiquetado como 6. En algunas realizaciones, X es halo. En algunas realizaciones, X es cloro. En otras realizaciones, X es bromo. En otras realizaciones, X es $\text{alquil}_{(C\leq 12)}$ o $\text{alquil}_{(C\leq 12)}$ sustituido. En algunas realizaciones, X es $\text{alquil}_{(C\leq 12)}$. En algunas realizaciones, X es t -butilo. En otras realizaciones, X es $\text{alquil}_{(C\leq 12)}$ sustituido. En algunas realizaciones, X es trifluorometilo. En otras realizaciones, X es heteroaril $_{(C\leq 8)}$. En algunas realizaciones, X es 3-piridinilo. En otras realizaciones, X es 3-pirimidilo. En otras realizaciones, X es ciano. En algunas realizaciones, Y es t -butilo. En otras realizaciones, Y es

15

20

25

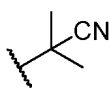


30

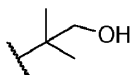
donde R_8 y R_9 son cada uno independientemente $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$, $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$ sustituido o $-\text{CH}_2\text{O}-\text{alquil}_{(C\leq 8)}$ y R_{10} es $-\text{OH}$, $-\text{CN}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{H}$, $-\text{CFH}_2$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2-\text{alquil}_{(C\leq 8)}$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{O}-\text{alquil}_{(C\leq 8)}$ o $\text{alcoxi}_{(C\leq 8)}$, con la condición de que cuando R_8 y R_9 son cada uno $-\text{CF}_3$, R_{10} sea $-\text{OH}$, $\text{alcoxi}_{(C\leq 8)}$ o $-\text{NH}_2$. En otras realizaciones, R_8 es $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$. En algunas realizaciones R_8 es metilo. En algunas realizaciones, R_9 es $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$ o $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$ sustituido. En algunas realizaciones, R_9 es $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$. En algunas realizaciones R_9 es metilo. En otras realizaciones, R_9 es $\text{alquil}_{(C\leq 8)}$ sustituido. En algunas realizaciones R_9 es trifluorometilo. En algunas realizaciones, R_{10} es $-\text{OH}$, $-\text{CN}$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{OH}$ o $-\text{CH}_2\text{O}-\text{alquil}_{(C\leq 8)}$. En algunas realizaciones R_{10} es $-\text{OH}$. En otras realizaciones, R_{10} es $-\text{CN}$. En otras realizaciones, R_{10} es $-\text{CH}_2\text{OH}$. En otras realizaciones, R_{10} es $-\text{CF}_3$. En otras realizaciones, R_{10} es $-\text{CH}_2\text{O}-\text{alquil}_{(C\leq 8)}$. En otras realizaciones, R_{10} es $-\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_3$. En otras realizaciones, Y es 2-hidroxil-isopropilo. En otras realizaciones, Y es

35

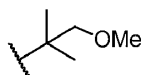
40



45 En otras realizaciones, Y es

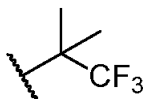


En otras realizaciones, Y es



5

En otras realizaciones, Y es



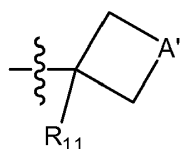
En otras realizaciones, Y es

10



En otras realizaciones, Y es

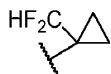
15



20

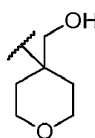
en la que: A'' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, -O-, -CF₂, alcanodiil_(C≤6) o alcoxiidil_(C≤8); y R₁₁ es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CH₂OH, -CH₂O-alquil_(C≤8), alquil_(C≤8) o alcoxi_(C≤8). En algunas realizaciones, A'' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano. En otras realizaciones, A'' es alcanodiil_(C≤6). En algunas realizaciones, A'' es -CH₂-. En otras realizaciones, A'' es alcoxiidil_(C≤8). En algunas realizaciones, A'' es -CH₂-O-CH₂-. En algunas realizaciones R₁₁ es -CN. En otras realizaciones, R₁₁ es -CHF₂. En otras realizaciones, R₁₁ es -CH₂F. En otras realizaciones, R₁₁ es -CH₂OH. En otras realizaciones, R₁₁ es CH₂O-alquil_(C≤8). En otras realizaciones, R₁₁ es -CH₂O-CH₃. En otras realizaciones, Y es

25



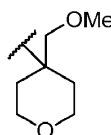
En otras realizaciones, Y es

30



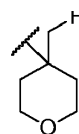
En otras realizaciones, Y es

35

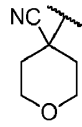


En otras realizaciones, Y es

40



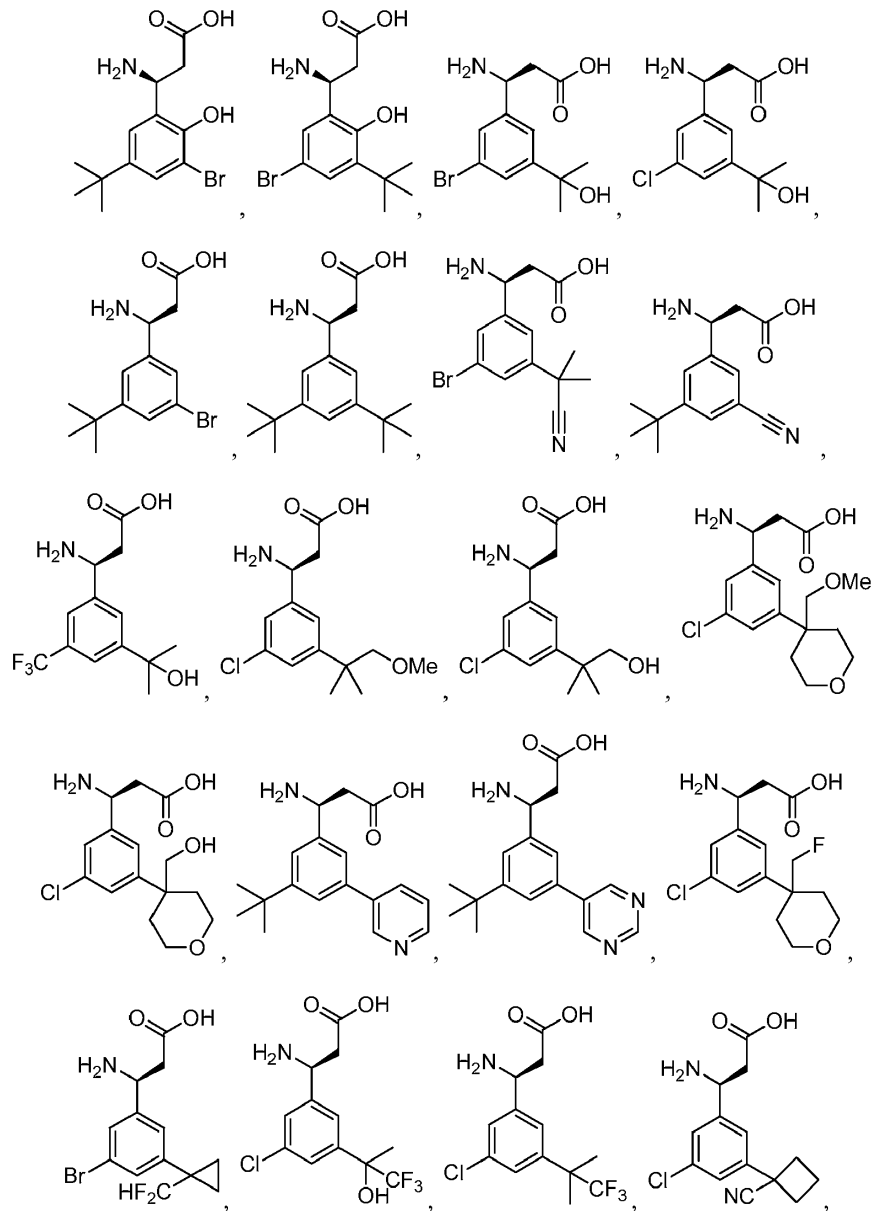
En otras realizaciones, Y es

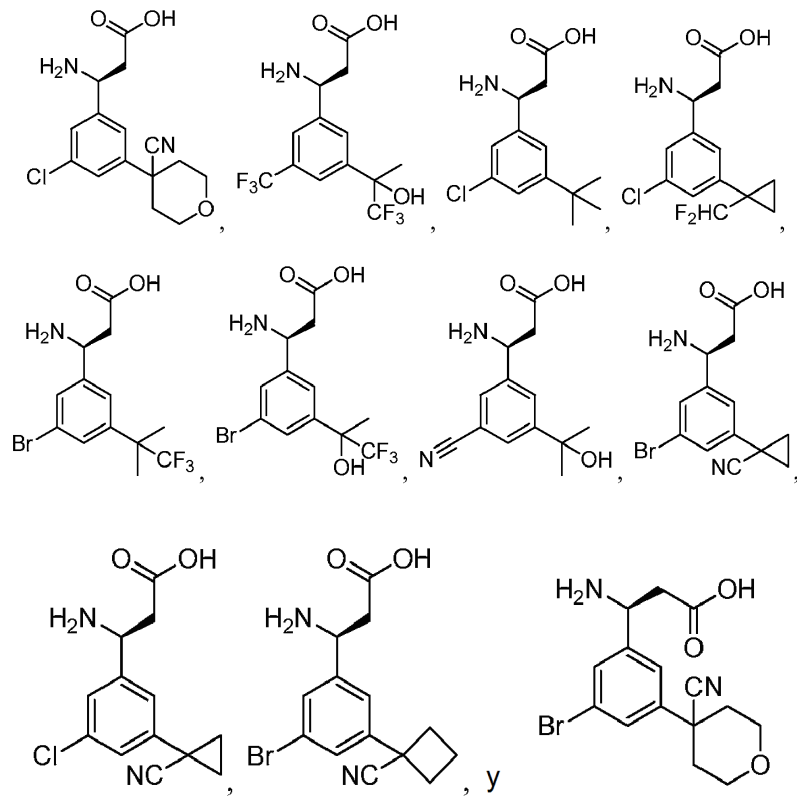


En otras realizaciones, Y es

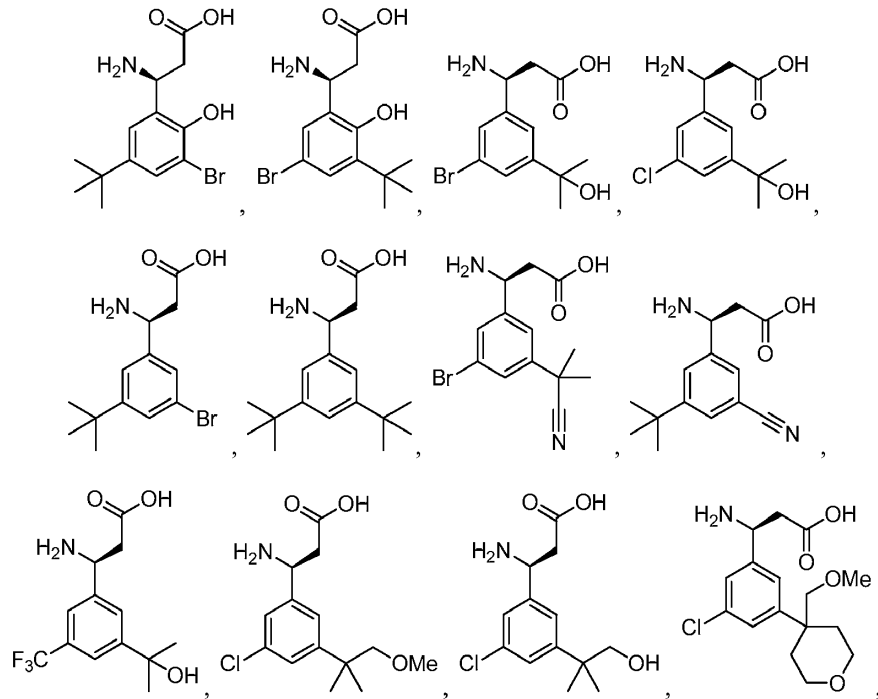


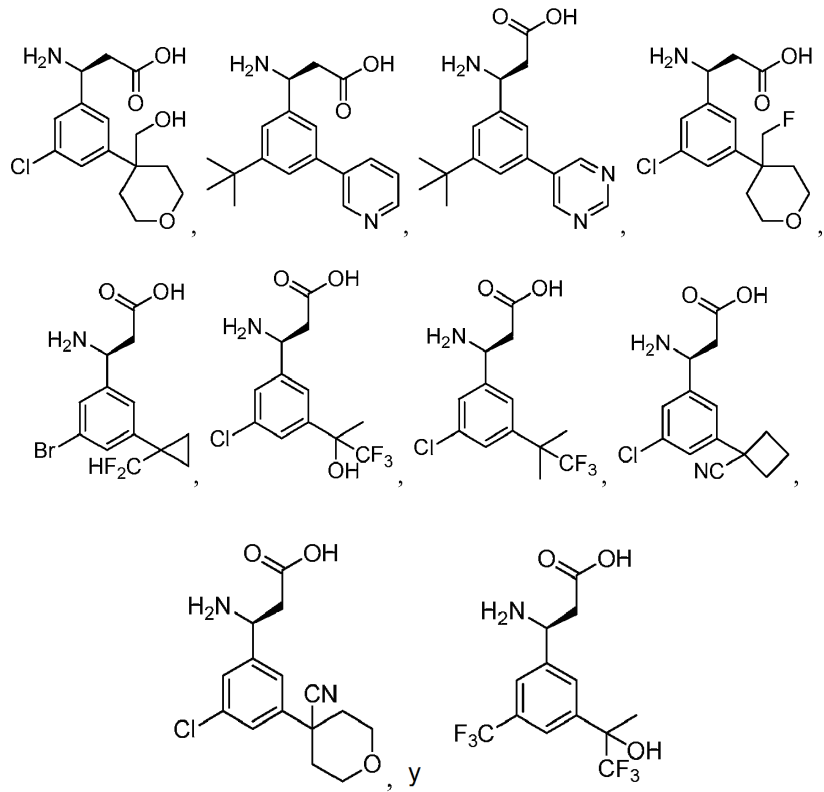
En algunas realizaciones, el compuesto se define adicionalmente como:



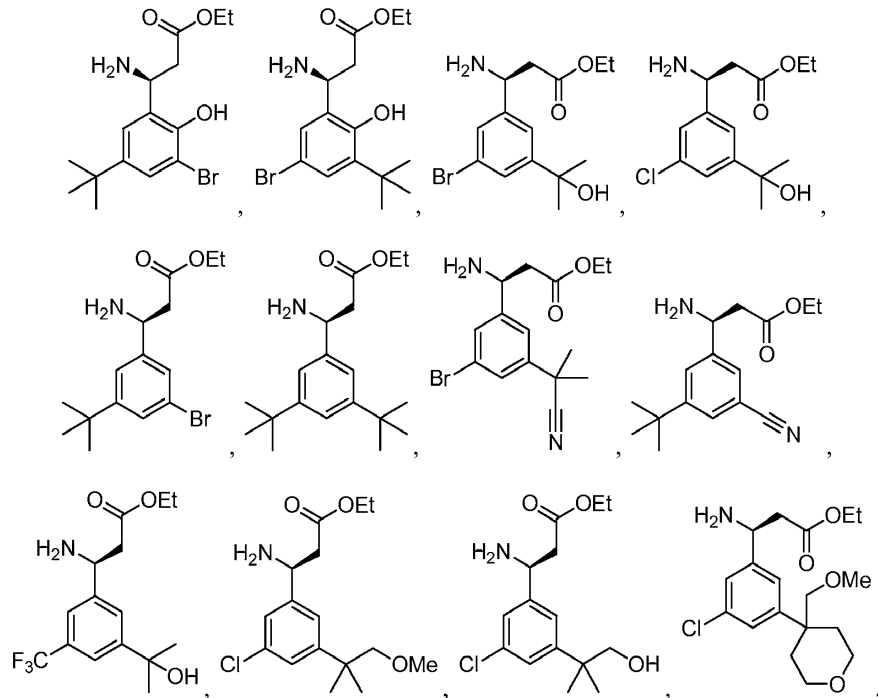


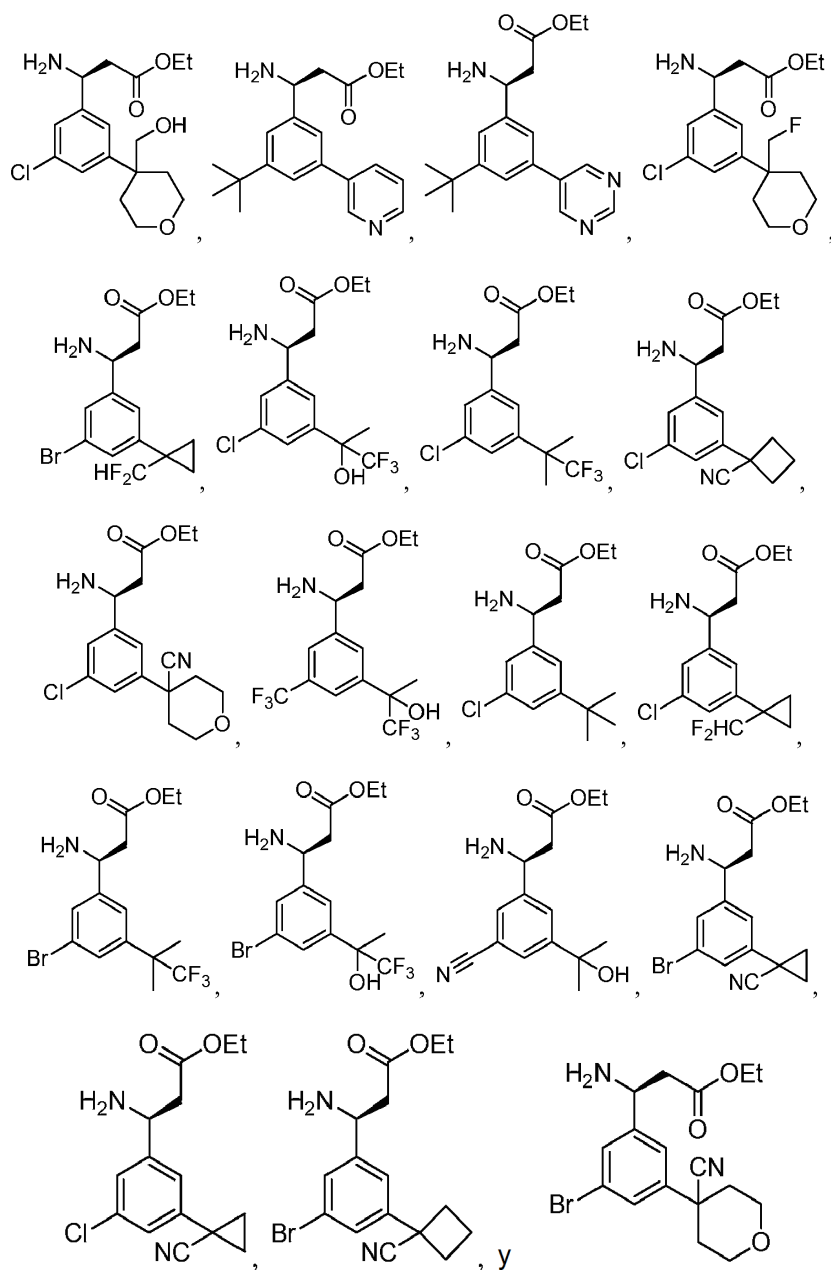
o una sal o tautómero de este. En otras realizaciones, el compuesto se define adicionalmente como:



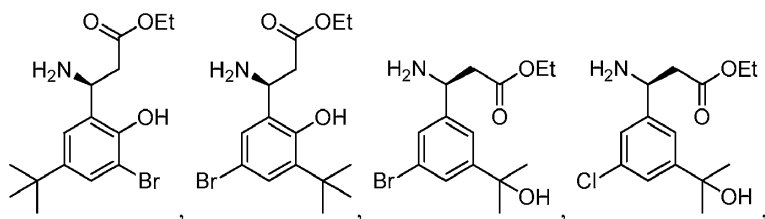


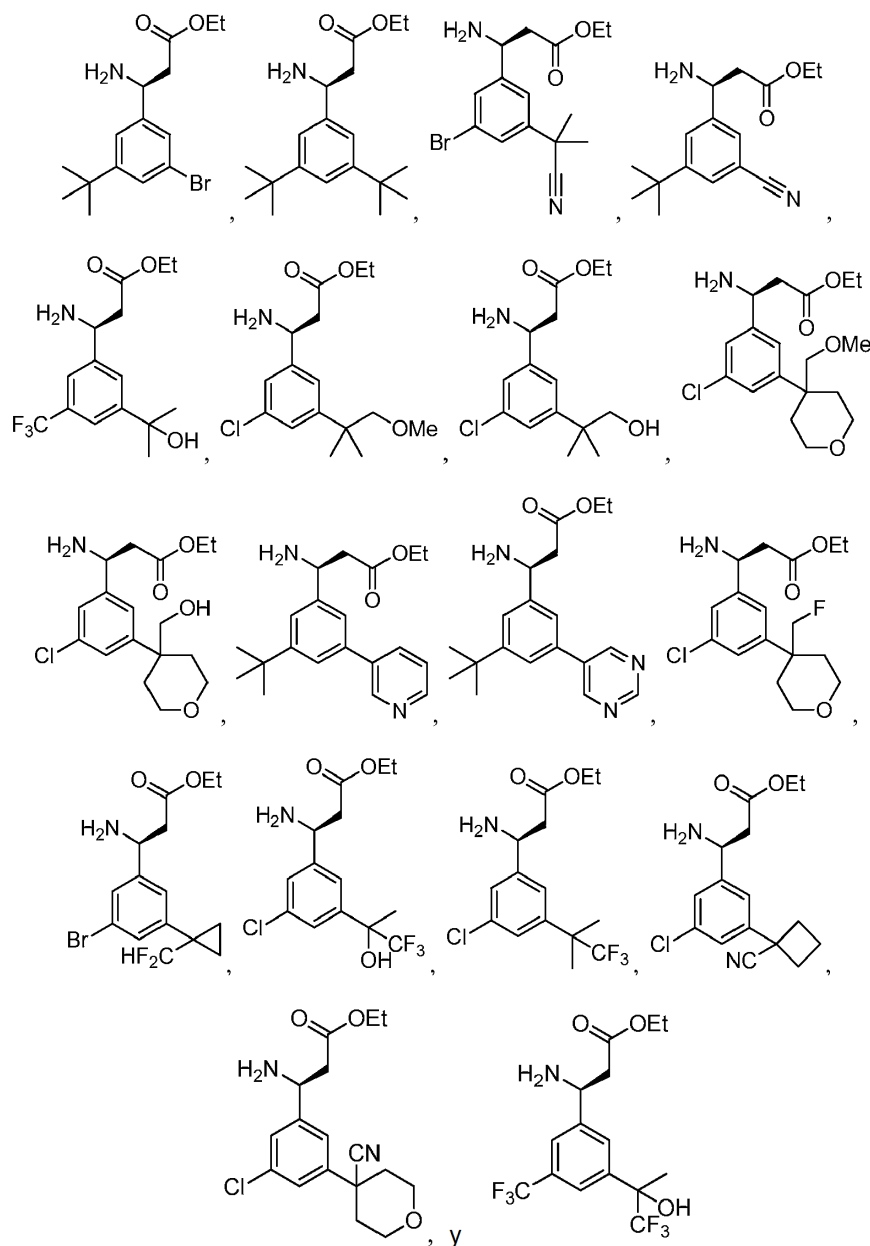
o una sal o tautómero de este. En otras realizaciones, el compuesto se define adicionalmente como:





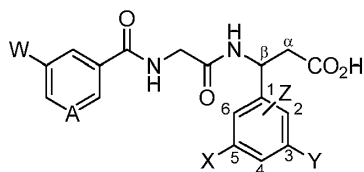
o una sal o tautómero de este. En otras realizaciones, el compuesto se define adicionalmente como:



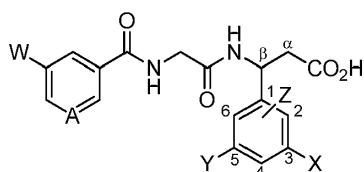


o una sal o tautómero de del mismo.

En algunos aspectos, la presente descripción contempla el hecho de que el enlace entre el anillo fenilo y la estructura del aminoácido en el β -aminoácido rota libremente. Así, en algunos aspectos, se contempla que la estructura puede rotar de forma que el grupo X se encuentre orientado hacia la estructura e Y se encuentre orientado en dirección opuesta a la estructura, así como en la forma ilustrada más comúnmente en la memoria descriptiva que muestra el grupo X orientado hacia la estructura y el Y orientado hacia la estructura, como se muestra en las estructuras que figuran a continuación. La estructura:



es equivalente a la estructura:



debido a la rotación libre del enlace que une el carbono etiquetado como β en la estructura y el carbono etiquetado como 1 en el anillo aromático.

5 Otros objetivos, características y ventajas de la presente descripción serán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada. Sin embargo, debería tenerse en cuenta que la descripción detallada y los ejemplos específicos, si bien indican realizaciones específicas de la invención, se brindan a modo ilustrativo únicamente, ya que varios cambios y modificaciones dentro del espíritu y alcance de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la presente descripción detallada. Cabe destacar que por el simple hecho de que un compuesto particular se atribuye a una fórmula genérica particular, no significa que no pueda pertenecer a otra fórmula genérica.

15 Descripción de realizaciones ilustrativas

En la presente se describen nuevos compuestos y composiciones con propiedades como antagonistas del receptor de integrinas, métodos para elaborarlos y métodos para utilizarlos, incluido el tratamiento y/o la prevención de enfermedades.

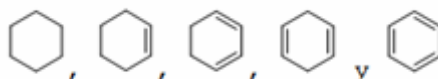
20 I. Definiciones

25 Cuando se utiliza en el contexto de un grupo químico, "hidrógeno" significa $-H$; "hidroxi" significa $-OH$; "oxo" significa $=O$; "halo" significa independientemente $-F$, $-Cl$, $-Br$ o $-I$; "amino" significa $-NH_2$; "hidroxiamino" significa $-NHOH$; "nitro" significa $-NO_2$; imino significa $=NH$; "ciano" significa $-CN$; "isocianato" significa $-N=C=O$; "azido" significa $-N_3$; en un contexto monovalente "fosfato" significa $-OP(O)(OH)_2$ o una forma desprotonada de este; en un contexto divalente "fosfato" significa $-OP(O)(OH)O-$ o una forma desprotonada de este; "mercapto" significa $-SH$; "tio" significa $=S$; "sulfonilo" significa $-S(O)_2-$; y "sulfinilo" significa $-S(O)-$.

30 En el contexto de fórmulas químicas, el símbolo "-" se refiere a un enlace simple, "=" se refiere a un enlace doble y "≡" se refiere a un enlace triple. El símbolo "----" representa un enlace opcional, que si se encuentra presente es simple o doble. El símbolo "====" representa un enlace simple o un enlace doble. Por lo tanto, por ejemplo, la estructura

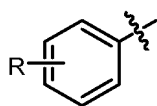


35 incluye las estructuras



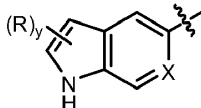
40 Como entenderá un experto en la técnica, ningún átomo del anillo mencionado forma parte de más de un enlace doble. El símbolo "~~~~", cuando se ilustra de forma perpendicular a un enlace indica un punto de unión del grupo. Cabe destacar que el punto de unión comúnmente solo se identifica de esta manera para grupos más grandes con el objetivo de ayudar al lector a identificar de forma rápida e inequívoca un punto de unión. El símbolo "◄" se refiere a un enlace simple, donde el grupo unido al extremo ancho de la cuña se encuentra "fuera de la página". El símbolo "◄◄" se refiere a un enlace simple, donde el grupo unido al extremo ancho de la cuña se encuentra "dentro de la página". El símbolo "~~~~" se refiere a un enlace simple, donde la conformación (*p. ej.*, ya sea *R* o *S*) o la geometría no está definida (*p. ej.*, ya sea *E* o *Z*).

50 Cualquier valencia no definida en un átomo de una estructura que se muestra en la presente solicitud representa implícitamente un átomo de hidrógeno unido al átomo. Cuando un grupo "R" se representa como un "grupo flotante" en un sistema anular, por ejemplo, en la fórmula:



R puede reemplazar cualquier átomo de hidrógeno unido a cualquiera de los átomos del anillo, incluido un hidrógeno ilustrado, implícito o definido explícitamente, siempre que se forme una estructura estable. Cuando un grupo "R" se representa como un "grupo flotante" en un sistema anular fusionado como, por ejemplo, en la fórmula:

5



R puede reemplazar cualquier hidrógeno unido a cualquiera de los átomos del anillo de cualquiera de los anillos fusionados, a menos que se especifique de otro modo. Los hidrógenos reemplazables incluyen hidrógenos ilustrados (p. ej., el hidrógeno unido al nitrógeno en la fórmula que antecede), hidrógenos implícitos (p. ej., un hidrógeno de la fórmula que antecede que no se muestra pero se entiende que está presente), hidrógenos definidos expresamente e hidrógenos opcionales cuya presencia depende de la identidad de un átomo del anillo (p. ej., un hidrógeno unido a un grupo X, cuando X equivale a $-\text{CH}-$), siempre que se forme una estructura estable. En el ejemplo representado, R puede encontrarse en el anillo de 5 miembros o de 6 miembros del sistema anular fusionado. En la fórmula que antecede, la letra subíndice "y", que figura inmediatamente después del grupo "R" entre paréntesis, representa una variable numérica. A menos que se especifique de otro modo, esta variable puede ser 0, 1, 2 o cualquier número entero superior a 2, limitado únicamente por la cantidad máxima de átomos de hidrógeno reemplazables del anillo o sistema anular.

10

15

20

25

30

Para los grupos o las clases que figuran a continuación, los siguientes subíndices entre paréntesis definen adicionalmente el grupo/la clase de la siguiente manera: "(Cn)" define la cantidad exacta (n) de átomos de carbono en el grupo/la clase. "(C≤n)" define la cantidad máxima (n) de átomos de carbono que se pueden encontrar en el grupo/la clase, con la menor cantidad posible para el grupo en cuestión, p. ej., se entenderá que la cantidad mínima de átomos de carbono en el grupo "alquenil_(C=8)" o la clase "alqueno_(C=8)" es dos. Por ejemplo, "alcoxi_(C≤10)" designa los grupos alcoxi que tienen de 1 a 10 átomos de carbono (p. ej., 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, o cualquier intervalo que se pueda derivar de estos (p. ej., 3 a 10 átomos de carbono)). (Cn-n') define tanto la cantidad mínima (n) como máxima (n') de átomos de carbono en el grupo. De manera similar, "alquil_(C2-10)" designa los grupos alquilo que tienen de 2 a 10 átomos de carbono (p. ej., 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10, o cualquier intervalo que se pueda derivar de estos (p. ej., 3 a 10 átomos de carbono)).

35

El término "saturado", como se usa en la presente, se refiere a que el compuesto o grupo modificado no contiene enlaces doble carbono-carbono ni enlaces triples carbono-carbono, salvo según se especifique a continuación. El término no excluye los enlaces múltiples carbono-heteroátomo, por ejemplo, un enlace doble carbono-oxígeno o un enlace doble carbono-nitrógeno. Además, no excluye un enlace doble carbono-carbono que puede ocurrir como parte de la tautomería ceto-enol o la tautomería imina/enamina.

40

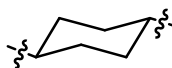
45

El término "alifático", cuando se utiliza sin el modificador "sustituido" significa que el compuesto/grupo modificado es un compuesto o grupo de hidrocarburo acíclico o cíclico pero no aromático. En compuestos/grupos alifáticos, los átomos de carbono se pueden unir en cadenas lineales, cadenas ramificadas o anillos no aromáticos (alicíclicos). Los compuestos/grupos alifáticos pueden estar saturados, es decir, unidos por enlaces simples (alcanos/alquilo) o insaturados, con uno o más enlaces dobles (alquenos/alqueno) o con uno o más enlaces triples (alquinos/alquino). Cuando el término "alifático" se usa sin el modificador "sustituido" solamente se encuentran presentes los átomos de carbono e hidrógeno. Cuando el término se utiliza con el modificador "sustituido", se han reemplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno por $-\text{OH}$, $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CN}$, $-\text{SH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ o $-\text{S}(\text{O})_2\text{NH}_2$.

50

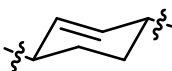
55

El término "alquilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a un grupo alifático saturado monovalente con un átomo de carbono como el punto de unión, una estructura lineal o ramificada, ciclo, cíclica o acíclica y ningún átomo que no sea carbono e hidrógeno. Por lo tanto, como se usa en la presente, cicloalquilo es un subconjunto de alquilo. Los grupos $-\text{CH}_3$ (Me), $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ (Et), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ (*n*-Pr), $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (*iso*-Pr), $-\text{CH}(\text{CH}_2)_2$ (ciclopropilo), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ (*n*-Bu), $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ (*sec*-butilo), $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (*iso*-butilo), $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ (*terc*-butilo), $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ (*neo*-pentilo), ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y ciclohexilmetilo son ejemplos no taxativos de grupos alquilo. El término "alcanodiilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a un grupo alifático saturado divalente con uno o dos átomos de carbono saturados como los puntos de unión, una estructura lineal o ramificada, ciclo, cíclica o acíclica, ningún enlace doble o triple carbono-carbono y ningún átomo que no sea carbono e hidrógeno. Los grupos $-\text{CH}_2-$ (metileno), $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ y



son ejemplos no taxativos de grupos alcanodiilo. El término "alquilideno", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere al grupo divalente $=CRR'$, donde R y R' son independientemente hidrógeno, alquilo, o R y R' se toman juntos para representar un alcanodiilo que tiene al menos dos átomos de carbono. Los ejemplos no taxativos de grupos alquilideno incluyen: $=CH_2$, $=CH(CH_2CH_3)$ y $=C(CH_3)_2$. Cuando cualquiera de estos términos se utiliza con el modificador "sustituido", se han remplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno por $-OH$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-NH_2$, $-NO_2$, $-CO_2H$, $-CO_2CH_3$, $-CN$, $-SH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-C(O)CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-C(O)NH_2$, $-OC(O)CH_3$ o $-S(O)_2NH_2$. Los siguientes grupos son ejemplos no taxativos de grupos alquilo sustituidos: $-CH_2OH$, $-CH_2Cl$, $-CF_3$, $-CH_2CN$, $-CH_2C(O)OH$, $-CH_2C(O)OCH_3$, $-CH_2C(O)NH_2$, $-CH_2C(O)CH_3$, $-CH_2OCH_3$, $-CH_2OC(O)CH_3$, $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(CH_3)_2$ y $-CH_2CH_2Cl$. El término "haloalquilo" es un subconjunto de alquilo sustituido, donde uno o más átomos de hidrógeno se han sustituido con un grupo halo y no se encuentra presente ningún otro átomo aparte de carbono, hidrógeno y halógeno. El grupo, $-CH_2Cl$ es un ejemplo no taxativo de un haloalquilo. Un "alcano" se refiere al compuesto $H-R$, donde R es alquilo. El término "fluoroalquilo" es un subconjunto de alquilo sustituido, donde uno o más átomos de hidrógeno se han sustituido con un grupo fluoro y no se encuentra presente ningún otro átomo aparte de carbono, hidrógeno y flúor. Los grupos, $-CH_2F$, $-CF_3$ y $-CH_2CF_3$ son ejemplos no taxativos de grupos fluoroalquilo. Un "alcano" se refiere al compuesto $H-R$, donde R es alquilo.

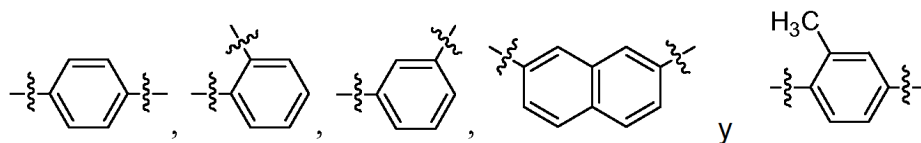
El término "alquenilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a un grupo alifático insaturado monovalente con un átomo de carbono como el punto de unión, una estructura lineal o ramificada, ciclo, cíclica o acíclica, al menos un enlace doble carbono-carbono no aromático, ningún enlace triple carbono-carbono y ningún átomo que no sea carbono e hidrógeno. Los ejemplos no taxativos de grupos alquenilo incluyen: $-CH=CH_2$ (vinilo), $-CH=CHCH_3$, $-CH=CHCH_2CH_3$, $-CH_2CH=CH_2$ (alilo), $-CH_2CH=CHCH_3$ y $-CH=CH-C_6H_5$. El término "alquendiilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a un grupo alifático insaturado divalente con dos átomos de carbono como puntos de unión, una estructura lineal o ramificada, ciclo, cíclica o acíclica, al menos un enlace doble carbono-carbono no aromático, ningún enlace triple carbono-carbono y ningún átomo que no sea carbono e hidrógeno. Los grupos, $-CH=CH-$, $-CH=C(CH_3)CH_2-$, $-CH=CHCH_2-$ y



son ejemplos no taxativos de grupos alquendiilo. Cuando estos términos se utilizan con el modificador "sustituido", se han remplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno por $-OH$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-NH_2$, $-NO_2$, $-CO_2H$, $-CO_2CH_3$, $-CN$, $-SH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-C(O)CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-C(O)NH_2$, $-OC(O)CH_3$ o $-S(O)_2NH_2$. Los grupos, $-CH=CHF$, $-CH=CHCl$ y $-CH=CHBr$, son ejemplos no taxativos de grupos alquenilo sustituidos. Un "alqueno" se refiere al compuesto $H-R$, donde R es alquenilo.

El término "alquinilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a un grupo alifático insaturado monovalente con un átomo de carbono como el punto de unión, una estructura lineal o ramificada, ciclo, cíclica o acíclica, al menos un enlace triple carbono-carbono y ningún átomo que no sea carbono e hidrógeno. Tal como se usa en la presente, el término alquinilo no excluye la presencia de uno o más enlaces dobles carbono-carbono no aromáticos. Los grupos, $-C\equiv CH$, $-C\equiv CCH_3$ y $-CH_2C\equiv CCH_3$, son ejemplos no taxativos de grupos alquinilo. Cuando alquinilo se utiliza con el modificador "sustituido", se han remplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno por $-OH$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-NH_2$, $-NO_2$, $-CO_2H$, $-CO_2CH_3$, $-CN$, $-SH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-C(O)CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-C(O)NH_2$, $-OC(O)CH_3$ o $-S(O)_2NH_2$. Un "alquino" se refiere al compuesto $H-R$, donde R es alquinilo.

El término "arilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a un grupo aromático insaturado monovalente con un átomo de carbono aromático como el punto de unión, dicho átomo de carbono forma parte de una o más estructuras de anillo aromático de seis miembros, donde los átomos del anillo son todos carbono, y donde el grupo no contiene átomos que no sean carbono e hidrógeno. Si hay más de un anillo presente, los anillos pueden estar fusionados o no fusionados. Tal como se usa en la presente, el término no excluye la presencia de uno o más grupos alquilo (en la medida que lo permita la limitación de la cantidad de carbonos) unidos al primer anillo aromático o cualquier anillo aromático adicional presente. Los ejemplos no taxativos de grupos arilo incluyen fenilo (Ph), metilfenilo, (dimetil)fenilo, $-C_6H_4CH_2CH_3$ (etilfenilo), naftilo, y el grupo monovalente derivado de bifenilo. El término "arenodiilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a un grupo aromático divalente con dos átomos de carbono aromáticos como los puntos de unión, dichos átomos de carbono forman parte de una o más estructuras de anillo aromático de seis miembros, donde los átomos del anillo son todos carbono, y donde el grupo monovalente no contiene átomos que no sean carbono e hidrógeno. Tal como se usa en la presente, el término no excluye la presencia de uno o más grupos alquilo (en la medida en que lo permita la limitación de la cantidad de carbonos) unidos al primer anillo aromático o cualquier anillo aromático adicional presente. Si hay más de un anillo presente, los anillos pueden estar fusionados o no fusionados. Los ejemplos no taxativos de grupos arenodiilo incluyen:

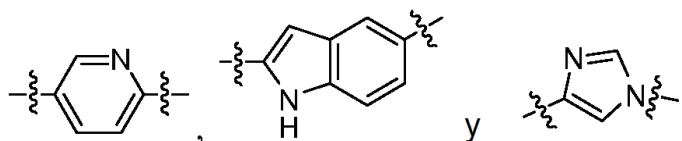


5 Cuando estos términos se utilizan con el modificador "sustituido", se han remplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno por -OH, -F, -Cl, -Br, -I, -NH₂, -NO₂, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CN, -SH, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -C(O)CH₃, -N(CH₃)₂, -C(O)NH₂, -OC(O)CH₃ o -S(O)₂NH₂. Un "areno" se refiere al compuesto H-R, donde R es arilo.

10 El término "aralquilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere al grupo monovalente -alcanodiil-arilo, donde cada uno de los términos alcanodiil y arilo se utiliza de manera coherente con las definiciones proporcionadas anteriormente. Los ejemplos no taxativos de aralquilos son: fenilmetilo (bencilo, Bn) y 2-fenil-etilo. Cuando el término se utiliza con el modificador "sustituido", se han remplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno del alcanodiil y/o arilo por -OH, -F, -Cl, -Br, -I, -NH₂, -NO₂, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CN, -SH, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -C(O)CH₃, -N(CH₃)₂, -C(O)NH₂, -OC(O)CH₃ o -S(O)₂NH₂. Los ejemplos no taxativos de aralquilos sustituidos son: (3-clorofenil)-metil, y 2-cloro-2-fenil-et-1-ilo.

15 El término "heteroarilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a un grupo aromático monovalente con un átomo de carbono aromático o átomo de nitrógeno como el punto de unión, dicho átomo de carbono o átomo de nitrógeno forma parte de una o más estructuras de anillo aromático, donde al menos uno de los átomos del anillo es nitrógeno, oxígeno o azufre, y donde el grupo heteroarilo no contiene átomos que no sean carbono, hidrógeno, nitrógeno aromático, oxígeno aromático y azufre aromático. Tal como se usa en la presente, el término no excluye la presencia de uno o más grupos alquilo, arilo y/o aralquilo (en la medida en que lo permita la limitación de la cantidad de carbonos) unidos al anillo aromático o sistema de anillo aromático. Si hay más de un anillo presente, los anillos pueden estar fusionados o no fusionados. Los ejemplos no taxativos de grupos heteroarilo incluyen furanilo, imidazolilo, indolilo, indazolilo (Im), isoxazolilo, metilpiridinilo, oxazolilo, fenilpiridinilo, piridinilo, pirrolilo, pirimidinilo, pirazinilo, quinolilo, quinazolilo, quinoxalinilo, triazinilo, tetrazolilo, tiazolilo, tienilo y triazolilo. El término "heteroarenodiilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a un grupo aromático divalente con dos átomos de carbono aromáticos, dos átomos de nitrógeno aromáticos o un átomo de carbono aromático y un átomo de nitrógeno aromático como los dos puntos de unión, dichos átomos forman parte de una o más estructuras de anillo aromático, donde al menos uno de los átomos del anillo es nitrógeno, oxígeno o azufre, y donde el grupo divalente no contiene átomos que no sean carbono, hidrógeno, nitrógeno aromático, oxígeno aromático y azufre aromático. Tal como se usa en la presente, el término no excluye la presencia de uno o más grupos alquilo, arilo y/o aralquilo (en la medida en que lo permita la limitación de la cantidad de carbonos) unidos al anillo aromático o sistema de anillo aromático. Si hay más de un anillo presente, los anillos pueden estar fusionados o no fusionados. Los ejemplos no taxativos de grupos heteroarenodiilo incluyen:

35



40 Cuando estos términos se utilizan con el modificador "sustituido", se han remplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno por -OH, -F, -Cl, -Br, -I, -NH₂, -NO₂, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CN, -SH, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -C(O)CH₃, -N(CH₃)₂, -C(O)NH₂, -OC(O)CH₃ o -S(O)₂NH₂.

45 El término "heterocicloalquilo", cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a un grupo no aromático monovalente con un átomo de carbono o átomo de nitrógeno como el punto de unión, dicho átomo de carbono o átomo de nitrógeno forma parte de una o más estructuras de anillo no aromático, donde al menos uno de los átomos del anillo es nitrógeno, oxígeno o azufre, y donde el grupo heterocicloalquilo no contiene átomos que no sean carbono, hidrógeno, nitrógeno, oxígeno y azufre. Tal como se usa en la presente, el término no excluye la presencia de uno o más grupos alquilo (en la medida en que lo permita la limitación de la cantidad de carbonos) unidos al anillo o sistema de anillo. Si hay más de un anillo presente, los anillos pueden estar fusionados o no fusionados. Los ejemplos no taxativos de grupos heterocicloalquilo incluyen aziridinilo, azetidino, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofuranilo, tetrahidropiranilo y piranilo. Cuando el término "heterocicloalquilo" se utiliza con el modificador "sustituido", se han remplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno por -OH, -F, -Cl, -Br, -I, -NH₂, -NO₂, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CN, -SH, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -C(O)CH₃, -N(CH₃)₂, -C(O)NH₂, -OC(O)CH₃ o -S(O)₂NH₂.

50

5 Cuando el término "acilo" se utiliza sin el modificador "sustituido" se refiere al grupo $-C(O)R$, donde R es un hidrógeno, alquilo, arilo, aralquilo o heteroarilo, según la definición de estos términos que anteceden. Los grupos $-CHO$, $-C(O)CH_3$ (acetilo, Ac), $-C(O)CH_2CH_3$, $-C(O)CH_2CH_2CH_3$, $-C(O)CH(CH_3)_2$, $-C(O)CH(CH_2)_2$, $-C(O)C_6H_5$, $-C(O)C_6H_4CH_3$, $-C(O)CH_2C_6H_5$, $-C(O)$ (imidazolilo) son ejemplos no taxativos de grupos acilo. Un "tioacilo" se define de manera análoga, con la excepción de que el átomo de oxígeno del grupo $-C(O)R$ se ha remplazado con un átomo de azufre, $-C(S)R$. Cuando cualquiera de estos términos se utilizan con el modificador "sustituido", se han remplazado uno o más átomos de hidrógeno (incluido el átomo de hidrógeno unido directamente al grupo carbonilo o tiocarbonilo) por $-OH$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-NH_2$, $-NO_2$, $-CO_2H$, $-CO_2CH_3$, $-CN$, $-SH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-C(O)CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-C(O)NH_2$, $-OC(O)CH_3$ o $-S(O)_2NH_2$. Los grupos, $-C(O)CH_2CF_3$, $-CO_2H$ (carboxilo), $-CO_2CH_3$ (metilcarboxilo), $-CO_2CH_2CH_3$, $-C(O)NH_2$ (carbamoilo) y $-CON(CH_3)_2$, son ejemplos no taxativos de grupos acilo sustituidos.

15 Cuando el término "alcoxi" se utiliza sin el modificador "sustituido" se refiere al grupo $-OR$, donde R es un alquilo, según la definición de este término que antecede. Los ejemplos no taxativos de grupos alcoxi incluyen: $-OCH_3$ (metoxi), $-OCH_2CH_3$ (etoxi), $-OCH_2CH_2CH_3$, $-OCH(CH_3)_2$ (isopropoxi), $-OCH(CH_2)_2$, $-O$ -ciclopentilo y $-O$ -ciclohexilo. Los términos "alqueniloxi", "alquiniloxi", "ariloxi", "aralcoxi", "heteroariloxi" y "aciloxi", cuando se utilizan sin el modificador "sustituido", se refieren a los grupos definidos como $-OR$, donde R es alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo, heteroarilo y acilo, respectivamente. El término "alcoxiidilo" se refiere al grupo divalente $-O$ -alcanodiil-, $-O$ -alcanodiil- O - o $-alcanodiil-O-alcanodiil-$. Cuando los términos "alquiltio" y "aciltio" se utilizan sin el modificador "sustituido" se refieren al grupo $-SR$, donde R es un alquilo y acilo, respectivamente. Cuando cualquiera de estos términos se utiliza con el modificador "sustituido", se han remplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno por $-OH$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-NH_2$, $-NO_2$, $-CO_2H$, $-CO_2CH_3$, $-CN$, $-SH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-C(O)CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-C(O)NH_2$, $-OC(O)CH_3$ o $-S(O)_2NH_2$. El término "alcohol" corresponde a un alcano, según se definió anteriormente, donde al menos uno de los átomos de hidrógeno se ha remplazado con un grupo hidroxí.

30 Cuando el término "alquilamino" se utiliza sin el modificador "sustituido" se refiere al grupo $-NHR$, donde R es un alquilo, según la definición de este término que antecede. Los ejemplos no taxativos de grupos alquilamino incluyen: $-NHCH_3$ y $-NHCH_2CH_3$. Cuando el término "dialquilamino" se utiliza sin el modificador "sustituido" se refiere al grupo $-NRR'$, donde R y R' pueden ser el mismo grupo alquilo o uno distinto, o R y R' pueden tomarse juntos para representar un alcanodiilo. Los ejemplos no taxativos de grupos dialquilamino incluyen: $-N(CH_3)_2$, $-N(CH_3)(CH_2CH_3)$ y *N*-pirrolidinilo. Los términos "alcoxiamino", "alquenilamino", "alquinilamino", "arilamino", "aralquilamino" y "heteroarilamino" y "alquilsulfonilamino", cuando se utilizan sin el modificador "sustituido", se refieren a los grupos definidos como $-NHR$, donde R es alcoxi, alquenilo, alquinilo, arilo, aralquilo y heteroarilo y alquilsulfonilo, respectivamente. Un ejemplo no taxativo de un grupo arilamino es $-NHC_6H_5$. Cuando el término "amido" (acilamino) se utiliza sin el modificador "sustituido" se refiere al grupo $-NHR$, donde R es un acilo, según la definición de este término que antecede. Un ejemplo no taxativo de un grupo amido es $-NHC(O)CH_3$. Cuando el término "alquilimino" se utiliza sin el modificador "sustituido" se refiere al grupo divalente $=NR$, donde R es un alquilo, según la definición de este término que antecede. El término "alquilaminodiilo" se refiere al grupo divalente $-NH$ -alcanodiil-, $-NH$ -alcanodiil- NH - o $-alcanodiil-NH-alcanodiil-$. Cuando cualquiera de estos términos se utiliza con el modificador "sustituido", se han remplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno por $-OH$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-NH_2$, $-NO_2$, $-CO_2H$, $-CO_2CH_3$, $-CN$, $-SH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-C(O)CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-C(O)NH_2$, $-OC(O)CH_3$ o $-S(O)_2NH_2$. Los grupos $-NHC(O)OCH_3$ y $-NHC(O)NHCH_3$ son ejemplos no taxativos de grupos amido sustituidos.

45 Cuando los términos "alquilsulfonilo" y "alquilsulfinilo" se utilizan sin el modificador "sustituido" se refieren a los grupos $-S(O)_2R$ y $-S(O)R$, respectivamente, donde R es un alquilo, según la definición de este término que antecede. Los términos "alquenilsulfonilo", "alquinsulfonilo", "arilsulfonilo", "aralquilsulfonilo" y "heteroarilsulfonilo", se definen de manera análoga. Cuando cualquiera de estos términos se utiliza con el modificador "sustituido", se han remplazado independientemente uno o más átomos de hidrógeno por $-OH$, $-F$, $-Cl$, $-Br$, $-I$, $-NH_2$, $-NO_2$, $-CO_2H$, $-CO_2CH_3$, $-CN$, $-SH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, $-C(O)CH_3$, $-N(CH_3)_2$, $-C(O)NH_2$, $-OC(O)CH_3$ o $-S(O)_2NH_2$.

55 Tal como se usa en la presente, un "auxiliar quiral" se refiere a un grupo quiral removible que puede influir en la estereoselectividad de una reacción. Los expertos en la técnica conocen dichos compuestos y muchos de ellos se encuentran disponibles en el mercado.

60 El uso de los términos "un" o "una", cuando se utilizan junto con el término "que comprende" en las reivindicaciones y/o memoria descriptiva, pueden referirse a "uno", pero también concuerdan con la definición de "uno o más", "al menos uno" y "uno o más de uno".

En toda la solicitud, el término "alrededor de" se utiliza para indicar que un valor incluye la variación inherente de error para el dispositivo o método que se está empleando para determinar el valor, o la variación que existe entre los sujetos de estudio.

65 Los términos "comprende", "tiene" e "incluye" son verbos copulativos de significado abierto. Toda forma o tiempo verbal de uno o más de estos verbos, como "comprende", "que comprende", "tiene", "que tiene", "incluye" y "que

incluye" también es de significado abierto. Por ejemplo, todo método que "comprenda," "tenga" o "incluya" una o más etapas no está limitado a tener únicamente esas una o más etapas y puede tener otras etapas no enumeradas.

5 El término "eficaz", según se utiliza este término en la memoria descriptiva y/o reivindicaciones, se refiere a que sea adecuado para alcanzar un resultado deseado, esperado o pretendido.

10 El término "hidrato", cuando se utiliza como modificador de un compuesto se refiere a que el compuesto tiene menos de una (p. ej., hemihidrato), una (p. ej., monohidrato) o más de una (p. ej., dihidrato) molécula de agua asociada a cada molécula de compuesto, como en formas sólidas del compuesto.

15 Tal como se utiliza en la presente, el término "IC₅₀" se refiere a una dosis inhibidora que es el 50 % de la respuesta máxima obtenida. Esta medida cuantitativa indica cuánto se necesita de un fármaco particular u otra sustancia (inhibidor) para inhibir un proceso biológico, bioquímico o químico (o componente de un proceso, es decir, una enzima, célula, receptor celular o microorganismo) a la mitad.

Un "isómero" de un primer compuesto es un compuesto individual en el cual cada molécula contiene los mismos átomos constitutivos que el primer compuesto, pero donde la configuración de estos átomos en tres dimensiones difiere.

20 Tal como se usa en la presente, el término "paciente" o "sujeto" se refiere a un organismo mamífero vivo, como un humano, mono, vaca, caballo, oveja, cabra, cerdo, perro, gato, ratón, rata, cobayo o especie transgénica de estos. En algunas realizaciones, el paciente también puede comprender aves, reptiles, anfibios, peces e insectos. En otras realizaciones, el paciente también puede comprender un animal de zoológico o un animal criado como mascota, como un perro, gato, ratón, rata, cobayo, lagarto, serpiente, pájaro, tortuga, rana o pez. Los ejemplos no taxativos de aves incluyen gallinas, pavos, patos, gansos, aves de caza como codorniz y faisán y aves mascota, como pericos, cacatúa, agapornis, loros y guacamayos. Las tortugas marinas, tortugas de agua dulce, tortugas de tierra, serpientes y lagartos representan ejemplos no taxativos de sujetos o pacientes reptiles. Las ranas, sapos, tritones y salamandras representan ejemplos no taxativos de sujetos anfibios. En determinadas realizaciones, el sujeto pez está representado por los siguientes ejemplos no taxativos: peces de agua dulce, como tilapia, salmón, peces gato, carpa, anguila y trucha, peces marinos como atún, bacalao, arenque, sardina, anchoa, platija, lenguado y tiburón, así como moluscos y crustáceos como camarón, gamba, pulpo, calamar, langosta, cangrejo, ostras, camarón antártico y mejillones. En determinadas realizaciones, el paciente es un insecto que incluyen los ejemplos no taxativos de abejas melíferas. En determinadas realizaciones, el paciente o sujeto es un primate. Los ejemplos no taxativos de sujetos humanos son adultos, jóvenes, niños y fetos.

35 Tal como se usa generalmente en la presente, "farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance de la opinión médica bien fundada, adecuados para su uso en contacto con los tejidos, órganos y/o fluidos corporales de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otros problemas o complicaciones, según una relación beneficio/riesgo aceptable.

40 "Sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales de compuestos de la presente invención que son farmacéuticamente aceptables, tal como se define anteriormente, y que poseen la actividad farmacológica deseada. Dichas sales incluyen las sales de adición de ácidos formadas con los ácidos inorgánicos como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares, o con los ácidos orgánicos como ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-hidroxietanodisulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido 4,4'-metileno-bis(3-hidroxi-2-eno-1-carboxílico), ácido 4-metilbicyclo[2.2.2]oct-2-eno-1-carboxílico, ácido acético, ácidos alifáticos mono y dicarboxílicos, ácidos alifáticos sulfúricos, ácidos aromáticos sulfúricos, ácido benzenosulfónico, ácido benzoico, ácido canforsulfónico, ácido carbónico, ácido cinnámico, ácido cítrico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido etanosulfónico, ácido fumárico, ácido glucoheptónico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido glicólico, ácido heptanoico, ácido hexanoico, ácido hidroxinaftoico, ácido láctico, ácido laurilsulfúrico, ácido maleico, ácido málico, ácido malónico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido mucónico, ácido *o*-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido oxálico, ácido *p*-clorobenzenosulfónico, ácidos alcanóicos sustituidos con fenilo, ácido propiónico, ácido *p*-toluenosulfónico, ácido pirúvico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido butilacético terciario, ácido trimetilacético y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables también incluyen sales de adición de bases que se pueden formar cuando los protones ácidos presentes pueden reaccionar con bases orgánicas o inorgánicas. Las bases inorgánicas aceptables incluyen hidróxido de sodio, carbonato de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de aluminio e hidróxido de calcio. Las bases orgánicas aceptables incluyen etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, *N*-metilglucamina y similares. Cabe destacar que el anión o catión particular que forma parte de cualquier sal de la presente invención no es fundamental, con la condición de que la sal, en su conjunto, sea farmacológicamente aceptable. Los ejemplos adicionales de sales farmacéuticamente aceptables y sus métodos de preparación y uso se presentan en el *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use* (2002).

65 El término "portador farmacéuticamente aceptable", como se usa en la presente, se refiere a un material, una composición o un vehículo farmacéuticamente aceptables, como un relleno, diluyente, excipiente, solvente o material encapsulante, líquido o sólido, involucrado en el traslado o transporte de un agente químico.

"Prevención" o "prevenir" incluye: (1) inhibir el inicio de una enfermedad en un sujeto o paciente que puede estar en riesgo y/o predispuesto a padecer la enfermedad pero que aún no experimenta ni muestra ninguna patología o sintomatología de la enfermedad, y/o (2) enlentecer el inicio de la patología o sintomatología de una enfermedad en un sujeto o paciente que puede estar en riesgo y/o predispuesto a padecer la enfermedad pero que aún no experimenta ni muestra ninguna patología o sintomatología de la enfermedad.

"Profármaco" se refiere a un compuesto que se puede convertir *in vivo* metabólicamente en un inhibidor de acuerdo con la presente invención. El profármaco en sí mismo puede asimismo presentar o no actividad con respecto a una proteína diana determinada. Por ejemplo, un compuesto que comprende un grupo hidroxilo se puede administrar como un éster que se convierte mediante hidrólisis *in vivo* en el compuesto hidroxilo. Los ésteres adecuados que se pueden convertir *in vivo* en compuestos hidroxilo incluyen acetatos, citratos, lactatos, fosfatos, tartratos, malonatos, oxalatos, salicilatos, propionatos, succinatos, fumaratos, maleatos, metilen-bis- α -hidroxinaftoato, gentisatos, isetionatos, di-*p*-toluilitartratos, metanosulfonatos, etanosulfonatos, bencenosulfonatos, *p*-toluenosulfonatos, ciclohexilsulfamatos, quinatos, ésteres de aminoácidos y similares. De manera similar, un compuesto que comprende un grupo amina se puede administrar como una amida que se convierte mediante hidrólisis *in vivo* en el compuesto amina.

El término "saturado", cuando se refiere a un átomo, significa que el átomo está conectado a otros átomos únicamente mediante enlaces simples.

Un "estereoisómero" o "isómero óptico" es un isómero de un compuesto determinado en el cual los mismos átomos se encuentran unidos a los mismos otros átomos, pero donde la configuración de estos átomos en tres dimensiones difiere. "Enantiómeros" son estereoisómeros de un compuesto determinado que son imágenes especulares entre sí, como la mano izquierda y derecha. "Diastereómeros" son estereoisómeros de un compuesto determinado que no son enantiómeros. Las moléculas quirales contienen un centro quiral, también denominado estereocentro o centro estereogénico, que es cualquier punto, si bien no necesariamente un átomo, de una molécula que tiene grupos tales que un intercambio de cualesquiera dos grupos produzca un estereoisómero. En los compuestos orgánicos, el centro quiral comúnmente es un átomo de carbono, fósforo o azufre, si bien también es posible que otros átomos sean estereocentros en compuestos orgánicos e inorgánicos. Una molécula puede tener múltiples estereocentros, lo que le proporciona muchos estereoisómeros. En los compuestos cuya estereoisomería se deba a centros estereogénicos tetraédricos (p. ej., carbono tetraédrico), la cantidad total de estereoisómeros hipotéticamente posibles no será superior a 2^n , donde n es la cantidad de estereocentros tetraédricos. Las moléculas con simetría frecuentemente tienen menos de la cantidad máxima posible de estereoisómeros. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina mezcla racémica. De manera alternativa, una mezcla de enantiómeros puede ser enriquecida enantioméricamente de modo que un enantiómero esté presente en una cantidad superior al 50 %. Comúnmente, los enantiómeros y/o diastereómeros se pueden resolver o separar mediante los procedimientos conocidos en la técnica. Se contempla que para cualquier estereocentro o eje de quiralidad para el cual no se haya definido la estereoquímica, dicho estereocentro o eje de quiralidad puede estar presente en su forma *R*, forma *S*, o como una mezcla de las formas *R* y *S*, incluidas las mezclas racémicas y no racémicas. Tal como se usa en la presente, la frase "sustancialmente libre de otros estereoisómeros" significa que la composición contiene ≤ 15 %, más preferentemente ≤ 10 %, incluso más preferentemente ≤ 5 % o más preferentemente ≤ 1 % de otro(s) estereoisómero(s).

"Cantidad eficaz", "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" se refiere a la cantidad de un compuesto que, cuando se le administra a un sujeto o paciente para tratar una enfermedad, es suficiente para llevar a cabo dicho tratamiento para la enfermedad.

"Tratamiento" o "tratar" incluyen (1) inhibir una enfermedad en un sujeto o paciente que experimenta o exhibe la patología o sintomatología de la enfermedad (p. ej., detener aun más el desarrollo de la patología y/o sintomatología), (2) mejorar una enfermedad en un sujeto o paciente que experimenta o exhibe la patología o sintomatología de la enfermedad (p. ej., revertir la patología y/o sintomatología) y/o (3) provocar una disminución que pueda ser medida de una enfermedad en un sujeto o paciente que experimenta o exhibe la patología o sintomatología de la enfermedad. En algunas realizaciones, el tratamiento de un paciente que padece una de las afecciones patológicas descritas en la presente comprende la administración a dicho paciente de una cantidad del compuesto descrito en la presente que es terapéuticamente eficaz para controlar la afección o para prolongar la capacidad de supervivencia del paciente más allá de lo esperado sin dicho tratamiento. Tal como se usa en la presente, el término "inhibición" de la afección también se refiere a enlentecer, interrumpir o detener la afección y no necesariamente indica una eliminación total de la afección. Se considera que prolongar la capacidad de supervivencia de un paciente, más allá de ser un efecto ventajoso considerable en sí mismo, también indica que la afección está controlada hasta cierto grado de manera beneficiosa.

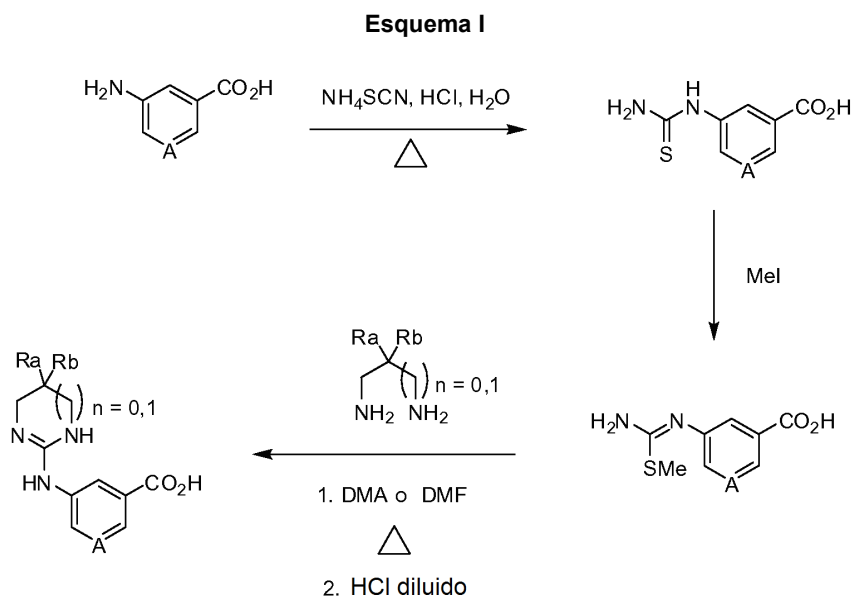
En la presente se utilizan otras abreviaturas que figuran a continuación: $^1\text{H-NMR}$ es resonancia magnética nuclear de protones, AcOH es ácido acético, Ar es argón, ACN o CH_3CN es acetonitrilo, análisis de CHN es análisis elemental de carbono/hidrógeno/nitrógeno, análisis de CHNCl es análisis elemental de carbono/hidrógeno/nitrógeno/cloro, análisis de CHNS es análisis elemental de carbono/hidrógeno/nitrógeno/azufre, agua DI es agua desionizada, DIC es diisopropil carbodiimida, DMA es *N,N*-dimetilacetamida, DMAP es 4-(*N,N*-

5 dimetilamino)piridina, DMF es *N,N*-dimetilformamida, EDCI es clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida, EtOAc es acetato de etilo, EtOH es etanol, FAB MS es espectroscopía de masa de bombardeo rápido de átomos, g es gramo(s), HOBT es 1-hidroxibenzotriazol hidrato, HPLC es cromatografía líquida de alto rendimiento, IBCF es isobutilcloroforniato, KSCN es tiocianato de potasio, L es litro, LiOH es hidróxido de litio, MEM es metoxietoximetilo, MEMCl es cloruro de metoxietoximetilo, MeOH es metanol, mg es miligramo, MgSO₄ es sulfato de magnesio, ml es mililitro, ml es mililitro, MS es espectroscopía de masas, MTBE es metil terc-butiléter, N₂ es nitrógeno, NaHCO₃ es bicarbonato de sodio, NaOH es hidróxido de sodio, Na₂SO₄ es sulfato de sodio, NMM es *N*-metilmorfolina, NMP es *N*-metil pirrolidinona, NMR es resonancia magnética nuclear, P₂O₅ es pentóxido de fósforo, PTSA es ácido para-toluenosulfónico, RPHPLC es cromatografía líquida de alto rendimiento de fase inversa, RT es temperatura ambiente, TFA es ácido trifluoroacético, THF es tetrahidrofurano, TMS es trimetilsililo y Δ es calentar la mezcla de reacción.

15 Las definiciones que anteceden suplantán cualquier definición contradictoria en cualquiera de las referencias que se incorporan a la presente a modo de referencia. Sin embargo, el hecho de que determinados términos se encuentran definidos no debería considerarse como indicación de que un término que no se define es indefinido. Por el contrario, se considera que todos los términos utilizados describen la invención para que un experto en la técnica pueda reconocer el alcance y poner en práctica la presente invención.

20 II. Compuestos y métodos de síntesis

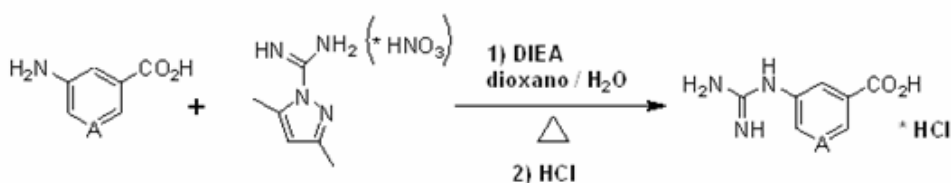
Los compuestos proporcionados por la presente descripción pueden elaborarse mediante la utilización de los métodos delineados anteriormente y que se describen adicionalmente en la sección de Ejemplos. Las secuencias sintéticas generales para preparar los compuestos útiles en la presente invención se delinean en los Esquemas I-XIV. Cuando corresponda, se describe tanto una explicación de los varios aspectos de la presente invención como los procedimientos reales para estos. Los siguientes Esquemas y Ejemplos pretenden ser meramente ilustrativos de la presente invención, y no pretenden limitarla en alcance ni espíritu. Los expertos en la técnica comprenderán fácilmente que se pueden utilizar variaciones conocidas de las condiciones y los procesos descritos en los Esquemas y Ejemplos para sintetizar los compuestos de la presente invención. Los materiales de partida y los equipos empleados se encontraban disponibles en el mercado, se prepararon mediante los métodos mencionados anteriormente y fueron reproducidos por los expertos en la técnica.



35 El Esquema I ilustra la metodología general útil para preparar la parte ácida aromática izquierda sustituida de la guanidina cíclica de la Fórmula I de la presente invención que luego se puede acoplar a un éster del gly- β -aminoácido, o al éster gly primero, seguido (después de la hidrólisis del éster) por el acoplamiento al éster del β -aminoácido apropiado. En resumen, en el Esquema I, el ácido amino benzoico (o piridina) apropiado se hace reaccionar con tiocianato de amonio en ácido clorhídrico diluido caliente para dar el ácido 3-tiourea benzoico (o piridina) resultante después del procedimiento normal. Los ácidos amino benzoicos (o piridina) iniciales se encuentran disponibles en el mercado o se pueden convertir en dichos ácidos amino benzoicos (o piridina) mediante la reducción del ácido nitro benzoico (o piridina) correspondiente, que se pueden obtener comercialmente o sintetizar mediante nitración del ácido benzoico (o piridina) apropiado, seguido por la reducción al ácido amino benzoico (o piridina) deseado, o mediante otras metodologías mencionadas que son conocidas por los expertos en la técnica. Este intermedio de tiourea se convierte en el derivado S-metilo mediante la reacción con yoduro de metilo en etanol

a reflujo. El propano 1,3-diamino-2-sustituido, o etilendiamina, se hace reaccionar con este intermedio resultante en DMA (o DMF) caliente. Luego de enfriarse, se forma un precipitado y el producto zwitteriónico se aísla mediante filtración. La sal de HCl se puede obtener mediante liofilización a partir del ácido clorhídrico diluido. De manera alternativa, el producto se puede aislar a partir de la mezcla de reacción original mediante eliminación de los volátiles y concentración. El producto resultante se recoge en agua y se ajusta el pH a alrededor de 5-7, donde el producto zwitteriónico se precipita y se aísla mediante filtración. La sal de HCl se puede obtener como se mencionó anteriormente o simplemente mediante disolución en ácido clorhídrico y concentración hasta convertirlo en sólido y secado.

10

Esquema IA

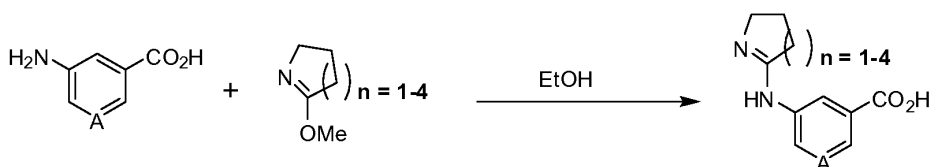
15

El Esquema IA ilustra la metodología útil para preparar la parte ácida aromática izquierda sustituida de la guanidina simple de la Fórmula I, que luego se puede acoplar a un éster de gly- β -aminoácido, o al éster de gly primero, seguido (después de la hidrólisis del éster) por el acoplamiento al éster de β -aminoácido apropiado. Esto también se puede lograr utilizando otros reactivos de guanidación apropiados conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, utilizando pirazol-carboxamidina. HCl. La metodología del Esquema IA se puede modificar utilizando técnicas y métodos convencionales para preparar compuestos alternativos útiles para el acoplamiento a los β -aminoácidos.

20

En resumen, en el Esquema IA, se agrega el ácido 3-aminobenzoico (o piridina) apropiado a nitrato de 3,5-dimetilpirazol-1-carboxamidina en dioxano/agua y DIEA. La mezcla se agita a reflujo, el precipitado se filtra, se lava y se seca. Luego, el precipitado se suspende adicionalmente en agua, se acidifica con HCl y se concentra. El solvente se retira y el residuo se suspende en éter y se seca para proporcionar el clorhidrato del ácido 3-guanidinobenzoico (o piridina) apropiado.

25

Esquema IB

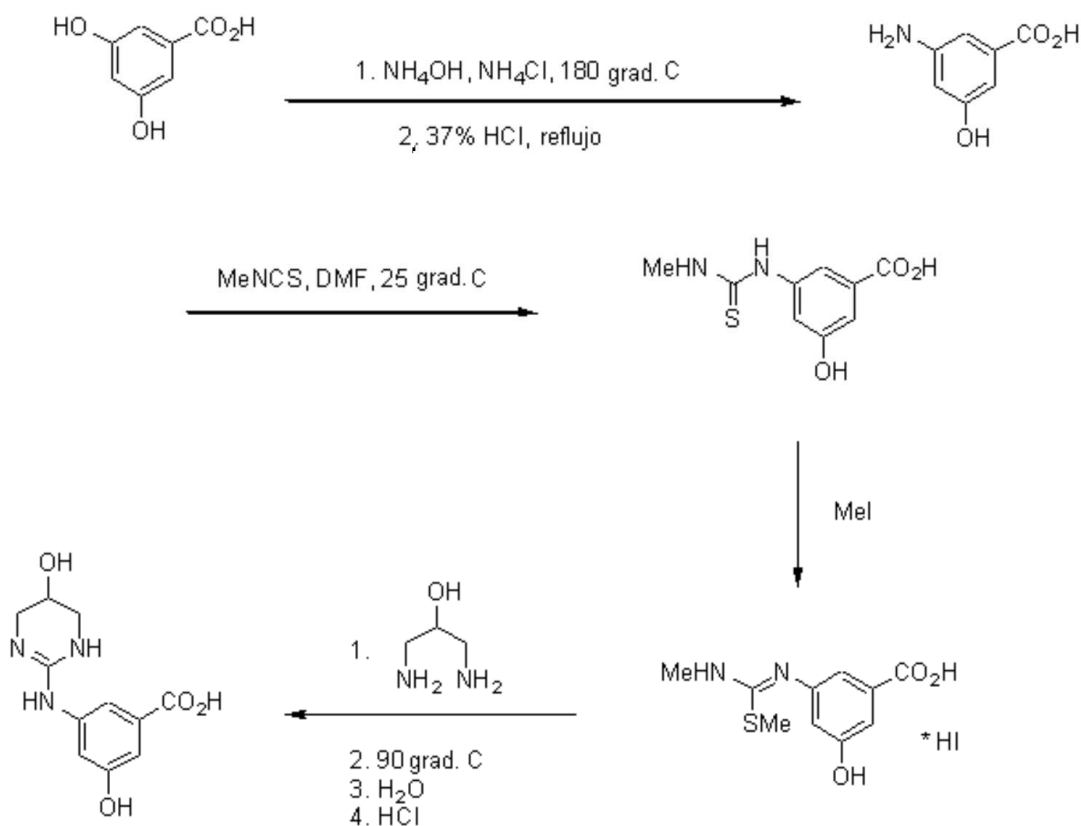
30

El Esquema IB ilustra la metodología útil para preparar la parte ácida aromática izquierda sustituida de la amidina cíclica de la Fórmula I, que luego se puede acoplar a un éster del gly- β -aminoácido, o al éster de gly primero, seguido (después de la hidrólisis del éster) por el acoplamiento al éster del β -aminoácido apropiado.

35

En su conjunto, los Esquemas I, IA y IB ilustran las metodologías generales para la síntesis de los ácidos benzoico y piridina del lado izquierdo que consisten en los varios sustituyentes definidos para W y Z en la Fórmula I y II.

Esquema II

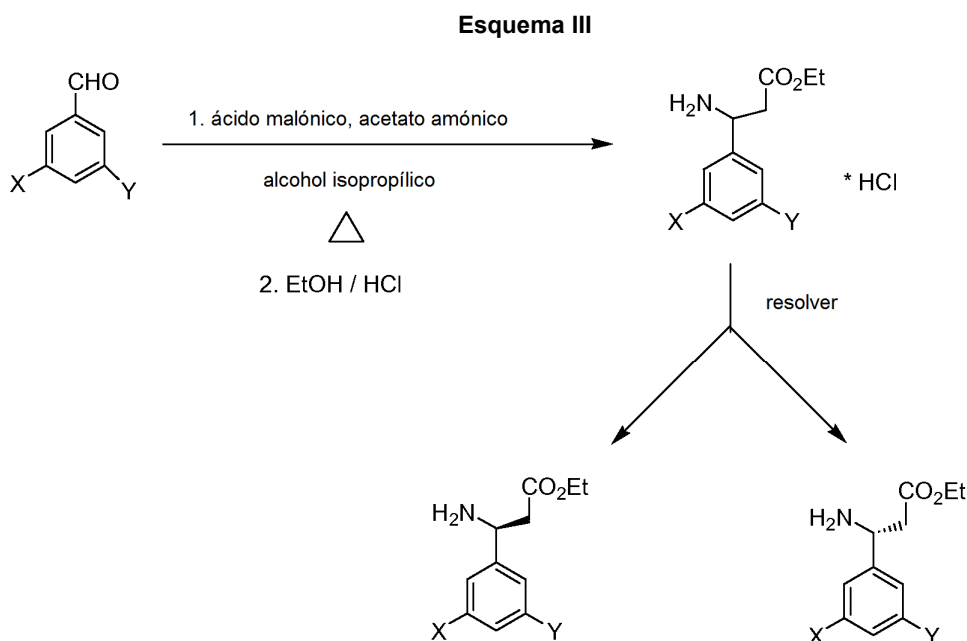


5 El Esquema II ilustra la metodología general útil para preparar una parte preferida del ácido tetrahidropirimidinobenzoico de la Fórmula I o II de la presente invención que luego se puede acoplar a un éster del gly- β -aminoácido, o al éster de gly primero, seguido (después de la hidrólisis del éster) por el acoplamiento al éster del β -aminoácido apropiado. En resumen, en el Esquema II, el ácido 3,5-dihidroxi-benzoico se convierte en el ácido 3-amino-5-hidroxi-benzoico utilizando el procedimiento descrito en *Austr. J. Chem.* (1981) o Becker *et al.*, (1983), que se incorporan a la presente mediante esta referencia. El producto se hace reaccionar con isotiocianato de metilo en DMF a temperatura ambiente, ilustrado por *Organic Process Research & Development*, 2004, que se incorpora a la presente mediante esta referencia, para proporcionar el ácido tiourea-5-hidroxi-benzoico de 3-*N'*-metilo después del procedimiento normal. Este intermedio de tiourea se convierte en el derivado de S-metilo mediante la reacción con yoduro de metilo por debajo de 40 °C. Se hace reaccionar 1,3-diamino-2-hidroxipropano con este intermedio resultante en DMA (o DMF) caliente. Luego de enfriarse, se forma un precipitado y el producto zwitteriónico se aísla mediante filtración. La sal de HCl se puede obtener mediante liofilización a partir del ácido clorhídrico diluido. De manera alternativa, el producto se puede aislar a partir de la mezcla de reacción original mediante eliminación de los volátiles y concentración. El producto resultante se recoge en agua y se ajusta el pH a alrededor de 5-7, donde el producto zwitteriónico se precipita y se aísla mediante filtración. La sal de HCl se puede obtener como se mencionó anteriormente o simplemente mediante disolución en ácido clorhídrico y concentración hasta convertirlo en sólido y

10

15

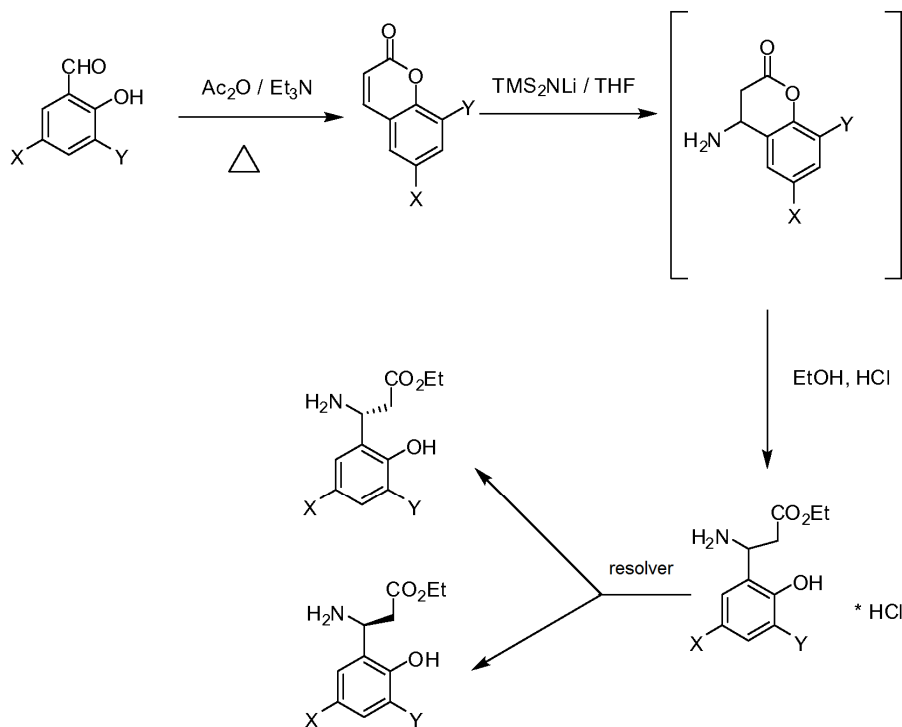
20 secado.



5 El Esquema III ilustra una metodología general para la síntesis de la parte éster del aminoácido beta de la Fórmula I o II de la presente invención, donde Z = H, a partir de un benzaldehído apropiado. Este éster del aminoácido beta luego se puede acoplar a Boc-glicina seguido (después de retirar el grupo protector Boc) por el acoplamiento al ácido benzoico apropiado descrito en los Esquemas I y II, o al ácido benzoico que se ha acoplado a glicina. En resumen, en el Esquema III, se agrega acetato de amonio y luego ácido malónico al benzaldehído apropiado en 10 caliente y se seca para proporcionar el aminoácido beta racémico deseado. El éster de etilo se sintetiza calentando este ácido en exceso de etanol con exceso de gas de HCl. Estos ésteres de aminoácido beta racémicos se pueden resolver en los enantiómeros (R) y (S) preferidos mediante separación cromatográfica quiral o mediante resolución enzimática, como se describe en Faulconbridge *et al.*, (2000) o Landis *et al.*, (2002), que se incorporan a la presente mediante esta referencia.

15

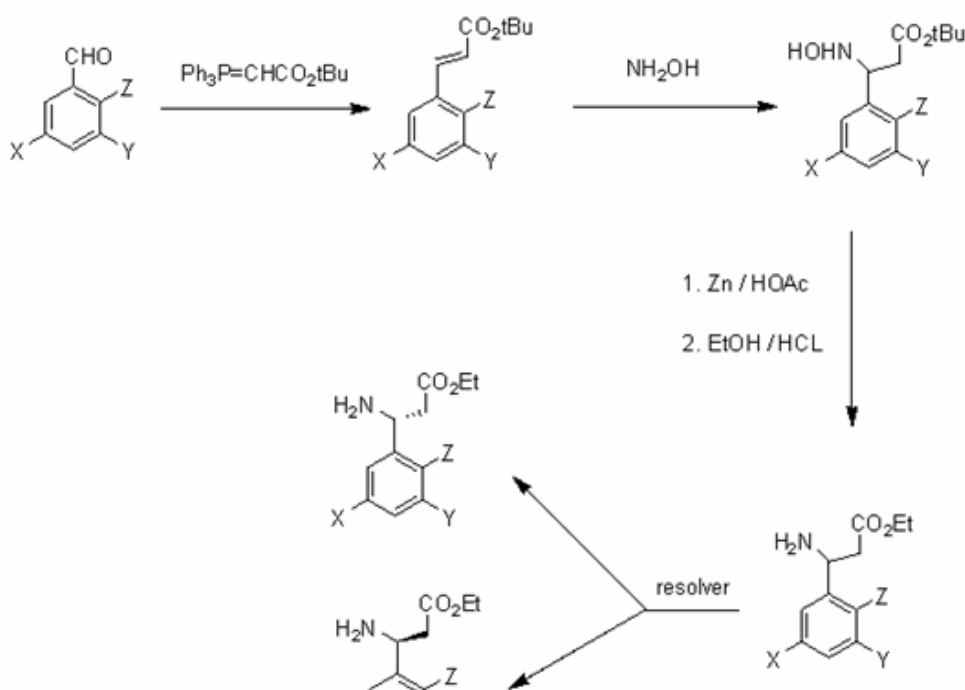
Esquema IV



El Esquema IV ilustra una metodología general para la síntesis de la parte éster del aminoácido beta de la Fórmula I o II de la presente invención, donde Z = OH, a partir de un benzaldehído apropiado. Este éster del aminoácido beta luego se puede acoplar a Boc-glicina seguido (después de retirar el grupo protector Boc) por el acoplamiento al ácido benzoico apropiado descrito en los Esquemas I y II (método preferido), o al ácido benzoico que se ha acoplado a glicina. En resumen, las cumarinas se preparan fácilmente a partir de salicilaldehídos utilizando una reacción de Perkin modificada ilustrada, por ejemplo, en el *Textbook of Practical Organic Chemistry*, 1989, de Vogel, que se incorpora a la presente mediante esta referencia. Las cumarinas sustituidas apropiadamente se convierten en 3-aminohidrocumarinas de manera similar a Rico (1994), que se incorpora a la presente mediante esta referencia, que se abren fácilmente en alcohol ácido para proporcionar ésteres del ácido 3-amino-3-(3,5-sustituido-2-hidroxi)fenil propanoico. Estos ésteres del aminoácido beta racémicos se pueden resolver en los enantiómeros (R) y (S) preferidos mediante separación cromatográfica quiral (por ejemplo, mediante el derivado CBZ del éster racémico, que se separa en una columna quiral de fase inversa, proporcionando, después de la desprotección con, por ejemplo, TSMI, los enantiómeros del éster del aminoácido beta (S) y (R) puros) o mediante resolución enzimática, como se describe en Faulconbridge *et al.*, (2000) o Landis *et al.*, (2002), que se incorporan a la presente mediante esta referencia.

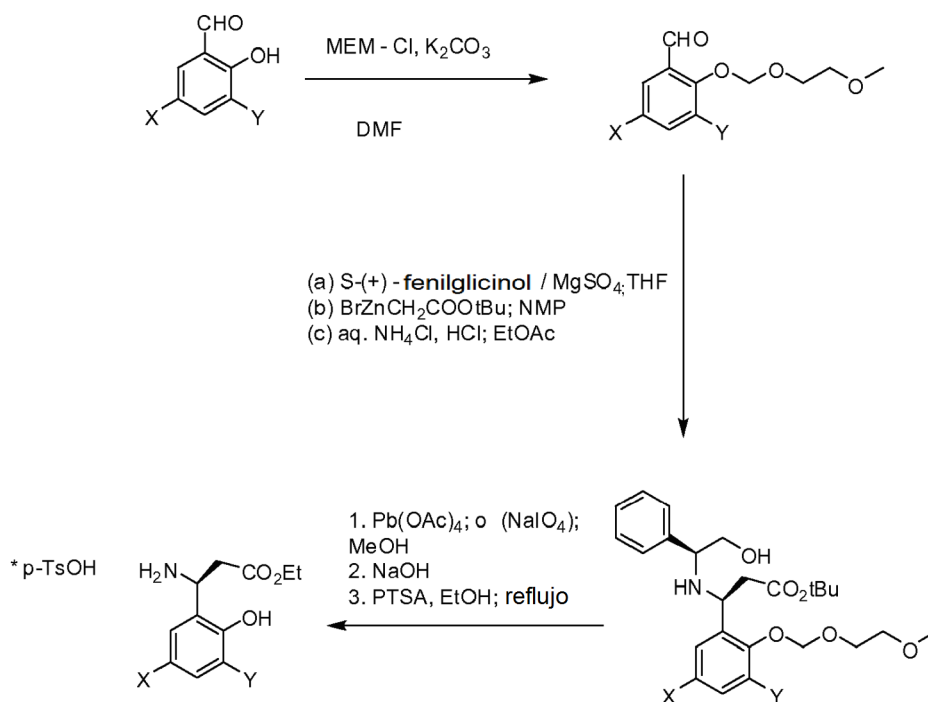
20

Esquema V

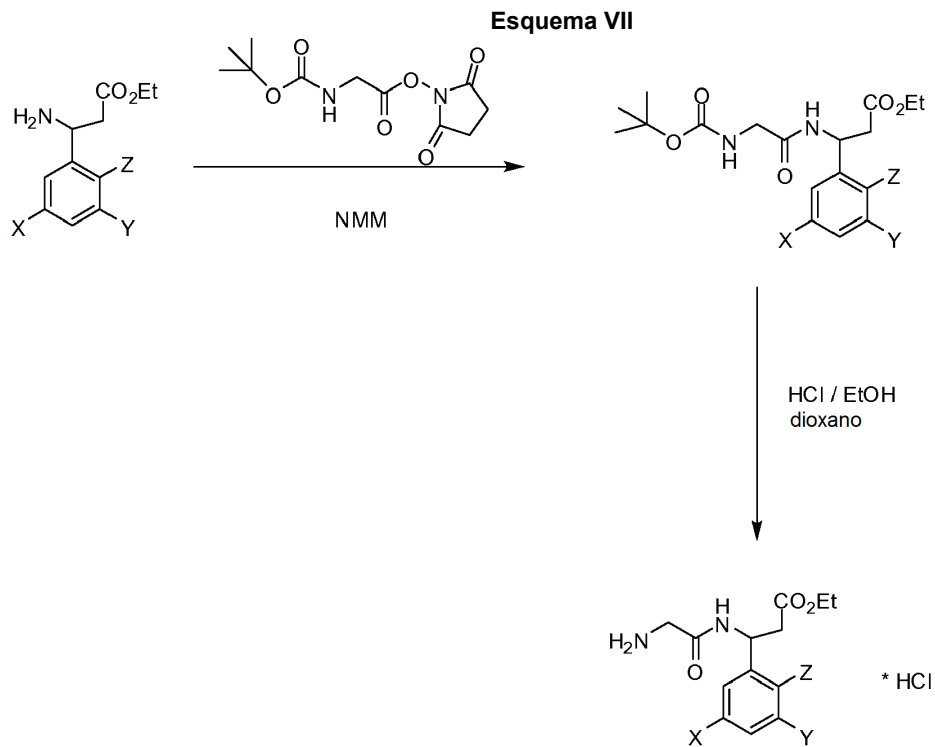


5 El Esquema V ilustra una metodología general alternativa para la síntesis de la parte éster del aminoácido beta de la
 Fórmula I o II de la presente invención, a partir de un benzaldehído apropiado. Este éster del aminoácido beta luego
 se puede acoplar a Boc-glicina seguido (después de retirar el grupo protector Boc) por el acoplamiento al ácido
 benzoico apropiado descrito en los Esquemas I y II, o al ácido benzoico que se ha acoplado a glicina. En resumen,
 el benzaldehído apropiado se convierte en el cinamato correspondiente mediante la reacción de Wittig. La adición de
 10 Michael de hidroxilamina al cinamato resultante proporciona el éster del aminoácido beta *N*-hidroxilado. La reducción
 del éster del aminoácido beta de *N*-hidroxi con $\text{Zn}/\text{ácido acético}$ proporciona, después de la conversión al éster de
 etilo correspondiente en EtOH/HCl , el éster del aminoácido beta deseado como un racemato. Como en el Esquema
 IV, estos ésteres del aminoácido beta racémicos se pueden resolver en los enantiómeros (R) y (S) preferidos
 mediante separación cromatográfica quiral (por ejemplo, mediante el derivado CBZ del éster racémico, que se
 separa en una columna quiral de fase inversa, proporcionando, después de la desprotección con, por ejemplo, TMSI,
 15 los enantiómeros del éster del aminoácido beta (S) y (R) puros) o mediante resolución enzimática, como se describe
 en Faulconbridge *et al.*, (2000) o Landis *et al.*, (2002), que se incorporan a la presente mediante esta referencia.

Esquema VI



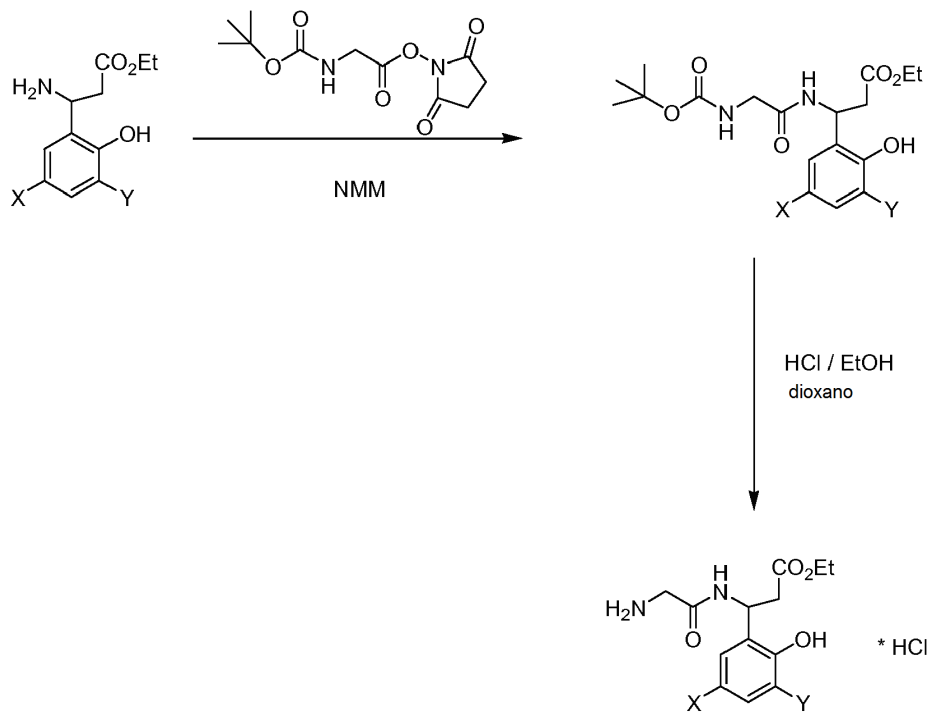
- 5 El Esquema VI ilustra una metodología general alternativa para la síntesis quiral de la parte éster del aminoácido beta de la Fórmula I o II de la presente invención, donde Z es OH, a partir de un benzaldehído apropiado y utilizando un auxiliar quiral. Este éster del aminoácido beta luego se puede acoplar a Boc-glicina seguido (después de retirar el grupo protector Boc) por el acoplamiento al ácido benzoico apropiado descrito en los Esquemas I y II (método particular) o al ácido benzoico que se ha acoplado a glicina. Como se describió, el Esquema VI ilustra la síntesis quiral del enantiómero (S) preferido del éster del aminoácido beta deseado utilizando S-fenilglicinol como el auxiliar quiral (se proporciona la síntesis del isómero (R) mediante la utilización de R-fenilglicinol en su lugar). Las referencias bibliográficas que describen dichas reacciones incluyen: *Organic Process Research & Development* (2004); Awasthi *et al.*, (2005); Patente de Estados Unidos 6,414,180; Patente de Estados Unidos 5,840,961, que se incorporan a la presente mediante esta referencia. En resumen, primero se trata el salicilaldehído apropiado con cloruro de MEM y carbonato de potasio para proporcionar el salicilaldehído protegido por MEM. El salicilaldehído protegido con éter de MEM luego se hace reaccionar con S-fenilglicinol en presencia de sulfato de magnesio en THF para proporcionar la imina. Luego se agrega el reactivo de Reformatsky, bromoacetato de terc-butilo de cinc, a la imina en N-metilpirrolidina. El auxiliar quiral del éster del aminoácido beta resultante se escinde mediante el tratamiento con tetraacetato de plomo. El procedimiento básico de la mezcla de reacción y luego el calentamiento a reflujo con ácido *p*-toluenosulfónico en etanol proporciona la sal de PTSA deseada del éster del aminoácido beta (S)-beta.
- 10
- 15
- 20



5 El Esquema VII ilustra una metodología general para preparar la parte de etil-N-gly-beta-aminoácido de la Fórmula I de la presente invención, que se puede acoplar a la parte del ácido benzoico de la Fórmula I o II que se describe en los Esquemas I y II). Este método describe el acoplamiento de un éster del aminoácido beta a glicina. En resumen, el éster del aminoácido beta deseado (en los Esquemas III-VI que anteceden se describen ejemplos de metodologías) se trata con Boc glicina activada. La eliminación del grupo protector Boc (mediante el tratamiento con etanol/HCl, por ejemplo) proporciona la glicina amida del éster del aminoácido beta correspondiente (el enantiómero

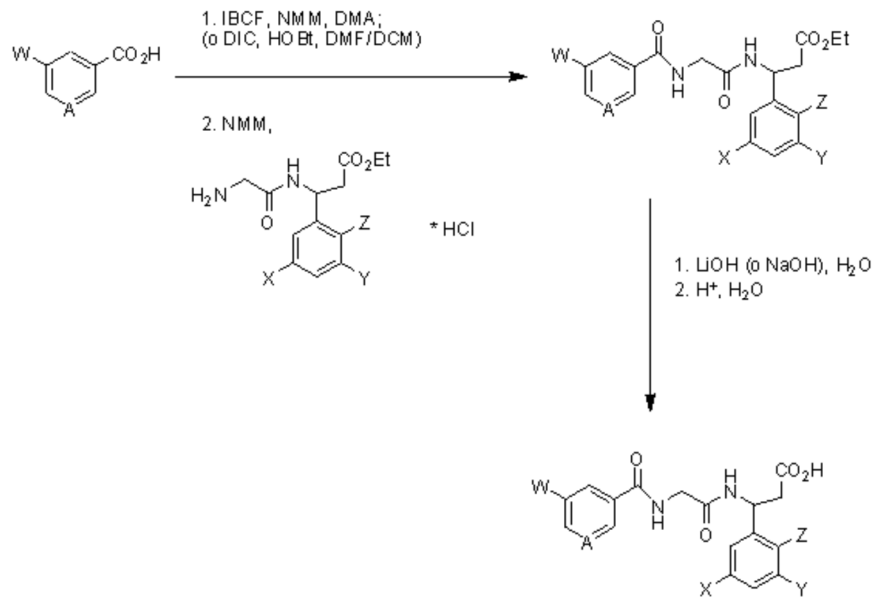
10 (S) preferido se proporciona mediante la utilización del éster del aminoácido beta (S), que se describe en los esquemas que anteceden).

Esquema VIII



- 5 El Esquema VIII ilustra una metodología general para preparar la parte de etil-N-gly-beta-aminoácido de la Fórmula I o II de la presente invención donde Z = OH, que se puede acoplar a la parte del ácido benzoico de la Fórmula I que se describe en los Esquemas I y II). Este método describe el acoplamiento de un éster del aminoácido beta (donde Z = OH) a glicina. En resumen, el éster del aminoácido beta deseado (en los Esquemas III-VI que anteceden se describen ejemplos de metodologías) se trata con Boc glicina activada. La eliminación del grupo protector Boc (mediante el tratamiento con etanol/HCl, por ejemplo) proporciona la glicina amida del éster del aminoácido beta correspondiente (el enantiómero (S) preferido se proporciona mediante la utilización del éster del aminoácido beta (S), que se describe en los esquemas que anteceden). El Esquema VIII es un método preferido para la síntesis de los compuestos de fórmula I, donde Z = OH.
- 10

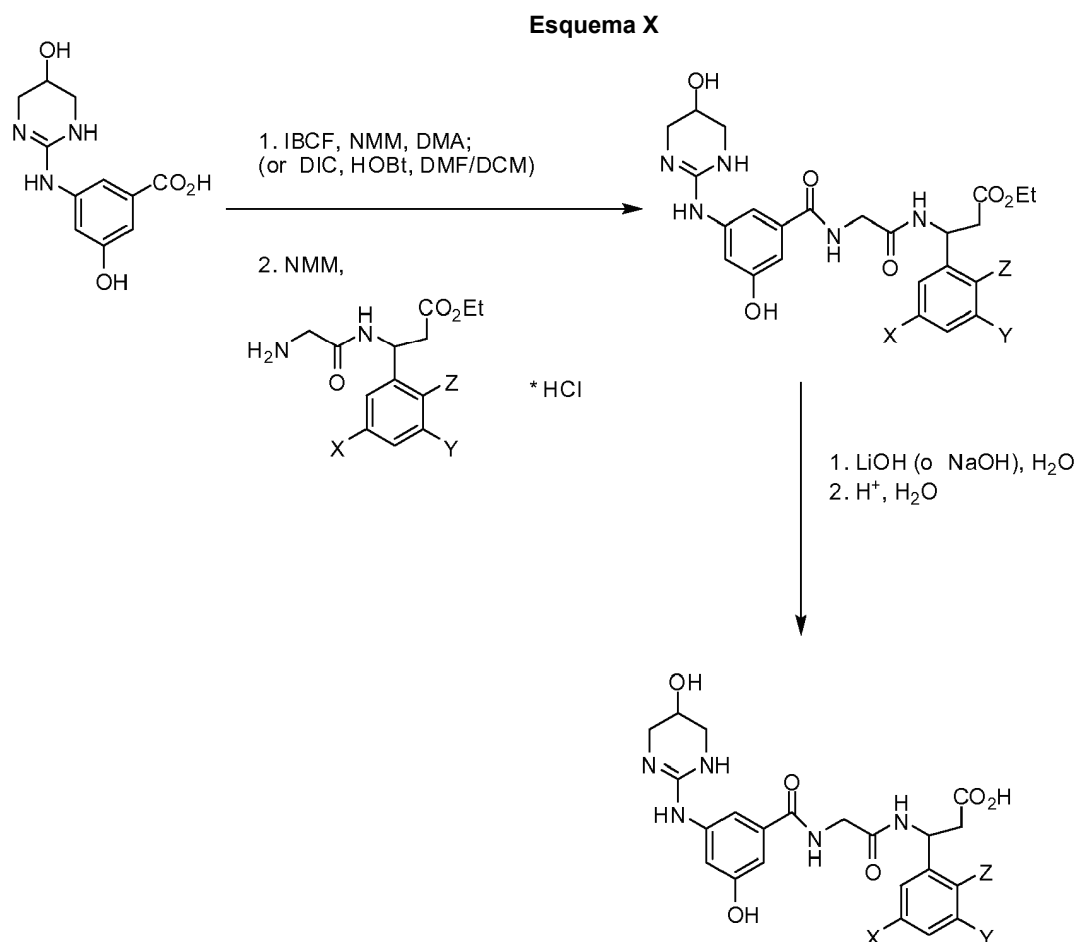
Esquema IX



5 El Esquema IX ilustra una metodología general útil para preparar varios compuestos de la presente invención. En resumen, el ácido aromático del lado izquierdo apropiado (descrito, por ejemplo, en los Esquemas I, IA, IB y II) se activa para el acoplamiento utilizando los métodos conocidos. Por lo tanto, después de disolverlo en un solvente adecuado, como DMA, se agrega un equivalente de NMM. La mezcla de reacción se enfría hasta la temperatura de baño de hielo y se agrega IBCF. Al intermedio de anhídrido mixto se agrega el éster de aminoácido gly-β y NMM.

10 Luego de finalizar la reacción, el producto se purifica mediante HPLC preparativa y el éster se hidroliza hasta convertirse en el ácido mediante el tratamiento con una base como LiOH en un solvente adecuado (dioxano/agua o acetonitrilo/agua). De manera alternativa, se puede utilizar un ácido adecuado, como TFA. El producto se aísla mediante HPLC preparativa o aislamiento del zwitterión a pH 5-7 y conversión en la sal deseada mediante procedimientos estándar. (Se proporciona el enantiómero (S) preferido mediante utilización del éster del aminoácido beta (S), que se describe en los esquemas que anteceden).

15

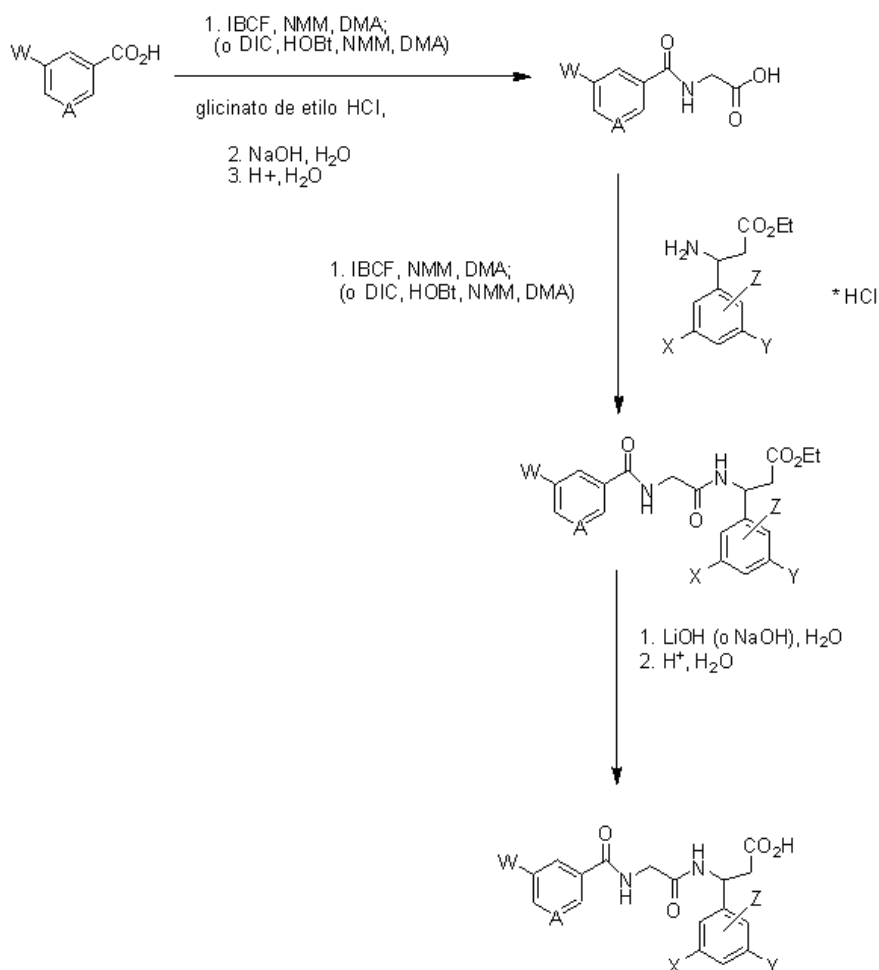


5 El Esquema X ilustra una metodología general útil para preparar varios compuestos de la presente invención. En resumen, se activa el ácido 3-hidroxi-5-[(1,4,5,6-tetrahidro-5-hidroxi-2-pirimidinil)amino]benzoico (que se describe, por ejemplo, en el Esquema II) para el acoplamiento utilizando los métodos conocidos. Por lo tanto, después de disolverlo en un solvente adecuado, como DMA, se agrega un equivalente de NMM. La mezcla de reacción se enfría hasta la temperatura de baño de hielo y se agrega IBCF. Al intermedio de anhídrido mixto se agrega el éster de gly-β-aminoácido y NMM. Luego de finalizar la reacción, el producto se purifica mediante HPLC preparativa y el éster se hidroliza hasta convertirse en el ácido mediante el tratamiento con una base como LiOH en un solvente adecuado (dioxano/agua o acetonitrilo/agua). De manera alternativa, se puede utilizar un ácido adecuado, como TFA. El producto se aísla mediante HPLC preparativa o aislamiento del zwitterión a pH 5-7 y conversión en la sal deseada mediante procedimientos estándar. (Se proporciona el enantiómero (S) preferido mediante utilización del éster del aminoácido beta (S), que se describe en los esquemas que anteceden).

10

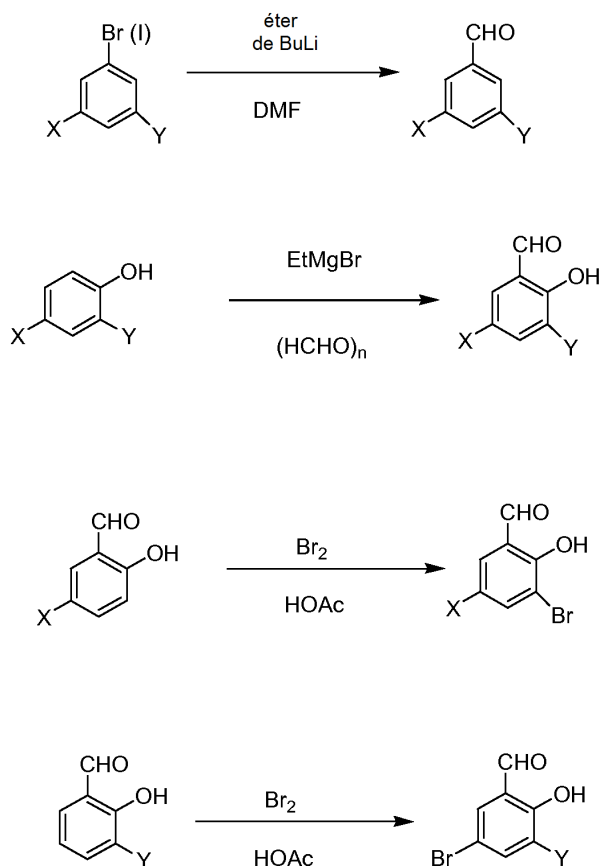
15

Esquema XI



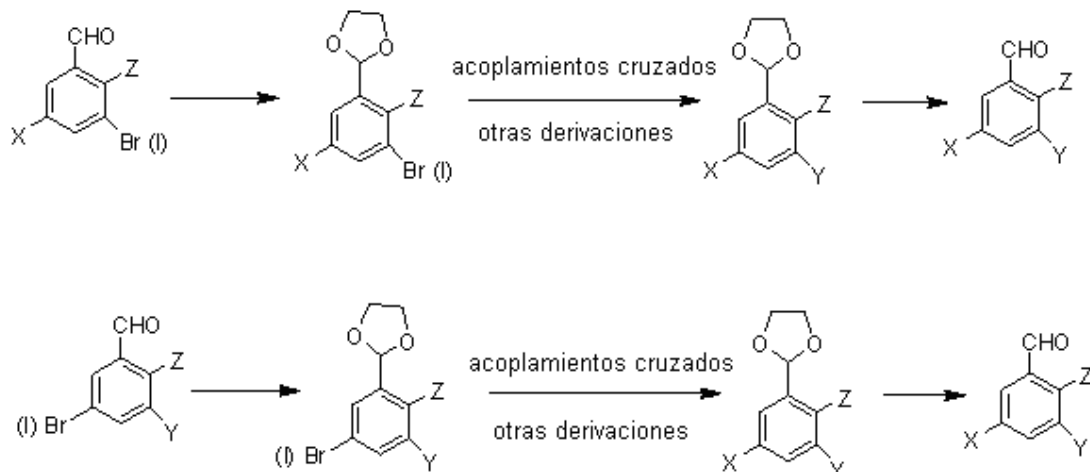
- 5 El Esquema XI ilustra una metodología general útil para preparar varios compuestos de la presente invención. En resumen, se activa el ácido aromático del lado izquierdo apropiado (descrito, por ejemplo, en los Esquemas I, IA, IB y II) para el acoplamiento utilizando los métodos conocidos. Por lo tanto, después de disolverlo en un solvente adecuado, como DMA, se agrega un equivalente de NMM. La mezcla de reacción se enfría hasta la temperatura de baño de hielo y se agrega IBCF. Al intermedio de anhídrido mixto se agrega HCl de etil glicinato y NMM. Luego de finalizar la reacción, el producto se purifica mediante HPLC preparativa y el éster se hidroliza hasta convertirse en el ácido mediante el tratamiento con una base como NaOH en un solvente adecuado (agua, dioxano/agua o acetonitrilo/agua), seguido por acidificación. Luego, el aducto de gly se activa para el acoplamiento utilizando los métodos conocidos. Por lo tanto, después de disolverlo en un solvente adecuado, como DMA, se agrega un equivalente de NMM. La mezcla de reacción se enfría hasta la temperatura de baño de hielo y se agrega IBCF. Al intermedio de anhídrido mixto se agrega la sal del éster del aminoácido beta apropiado (descrito, por ejemplo, en los Esquemas III-VI que anteceden) y NMM. Luego de finalizar la reacción, el producto se purifica mediante HPLC preparativa y el éster se hidroliza hasta convertirse en el ácido mediante el tratamiento con una base como LiOH en un solvente adecuado (dioxano/agua o acetonitrilo/agua). De manera alternativa, se puede utilizar un ácido adecuado, como TFA. El producto se aísla mediante HPLC preparativa o aislamiento del zwitterión a pH 5-7 y conversión en la sal deseada mediante procedimientos estándar (se proporciona el enantiómero (S) particular mediante la utilización del éster del aminoácido beta (S), que se describe en los esquemas que anteceden).
- 10
- 15
- 20

Esquema XII



- 5 El Esquema XII ilustra metodologías de síntesis generales para los materiales de partida de benzaldehído que no se encuentran disponibles fácilmente en fuentes comerciales y que son útiles para preparar varios compuestos de la presente invención como se describe en los esquemas anteriores. En los últimos dos ejemplos que anteceden, las reacciones de bromación ilustradas pueden sustituir los métodos conocidos de cloración aromática, proporcionando así los benzaldehídos sustituidos con cloro correspondientes. Dichos métodos son conocidos en la técnica. Ver Kurahashi *et al.*, (2011) en la sección de información de respaldo; Nomura *et al.*, (2007), y *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure* (2007), que se incorporan a la presente mediante esta referencia.
- 10

Esquema XIII

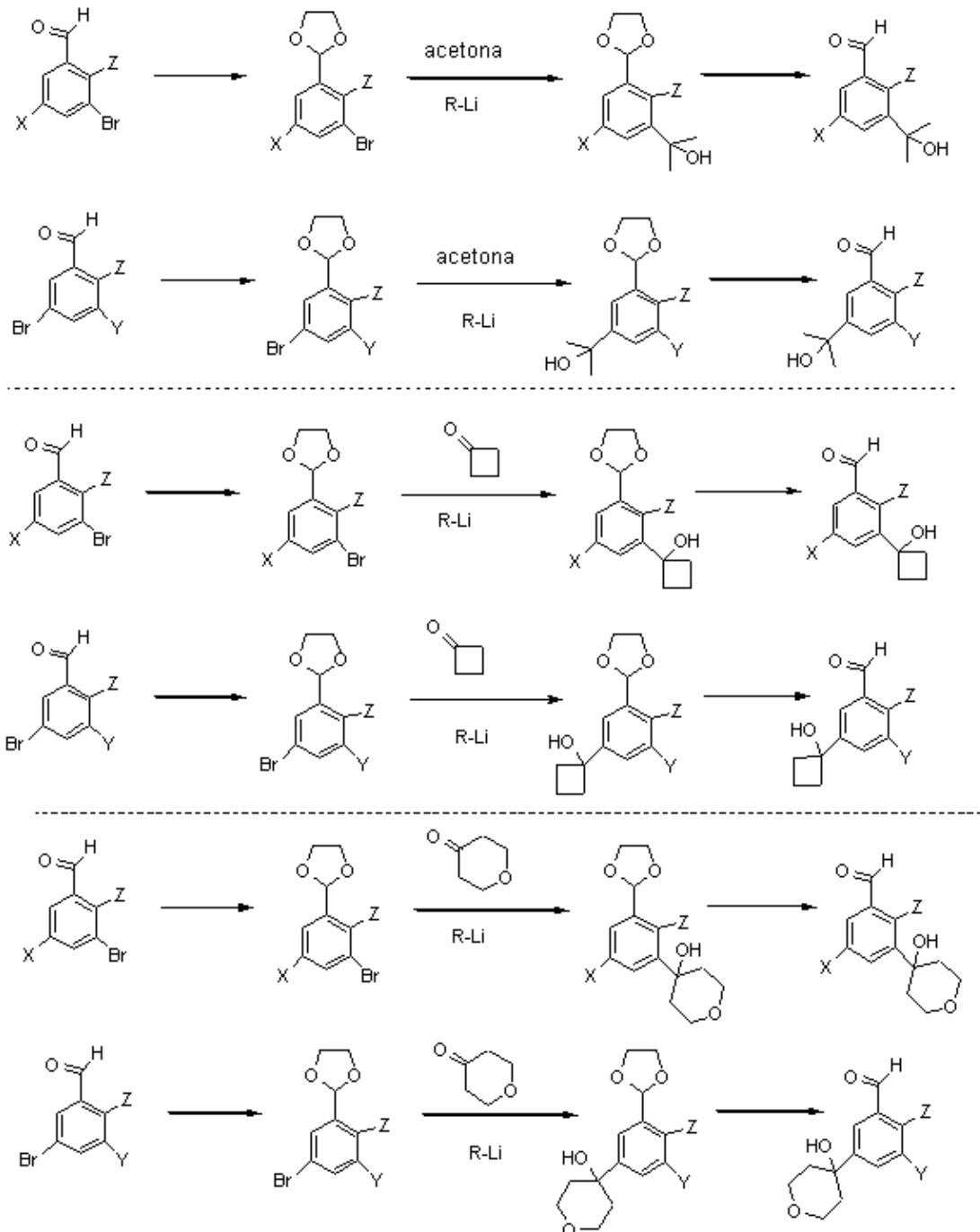


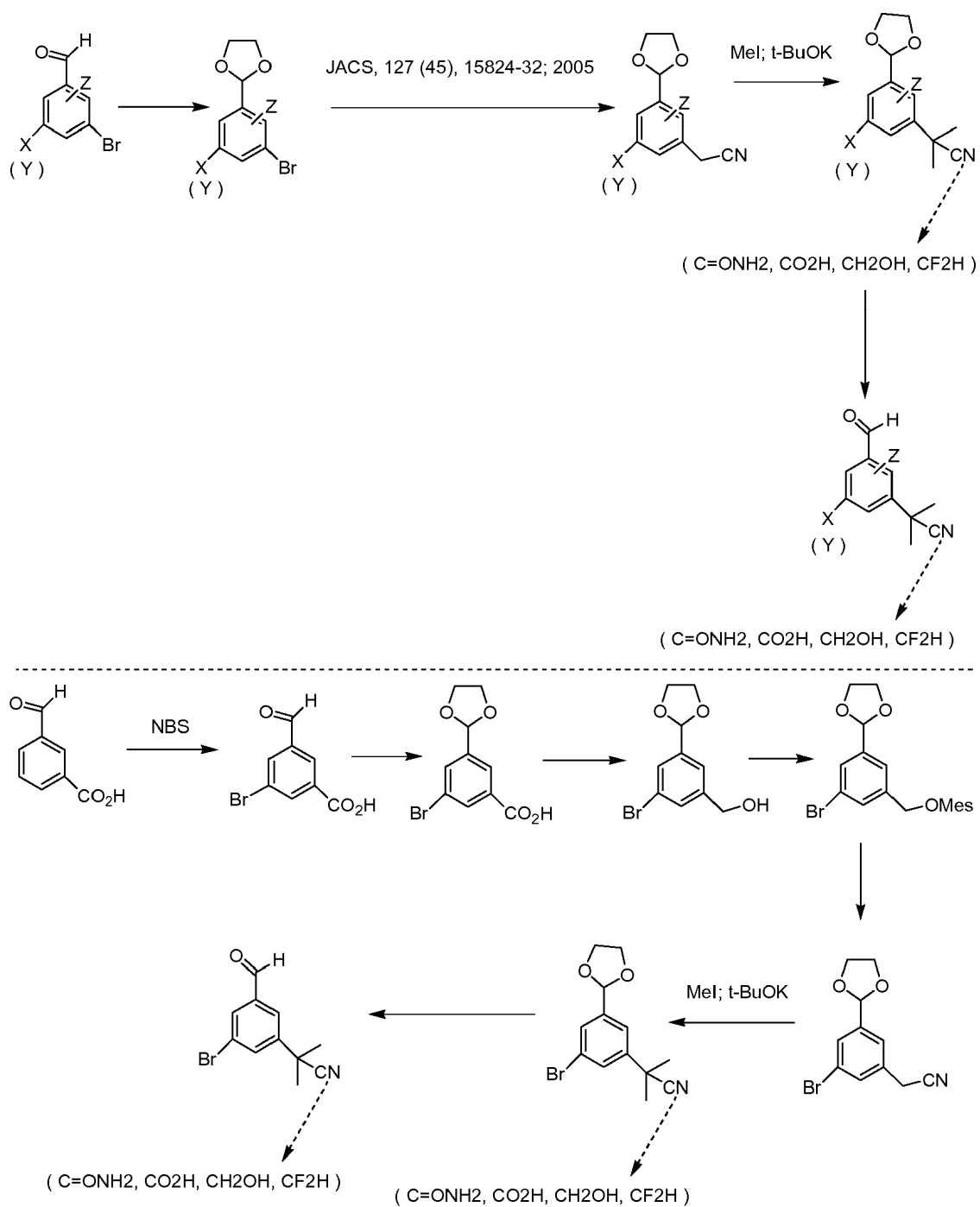
15

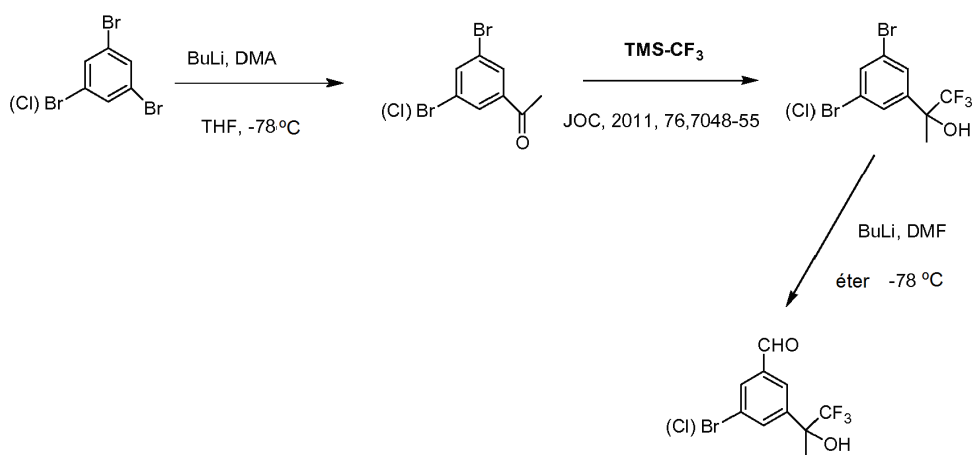
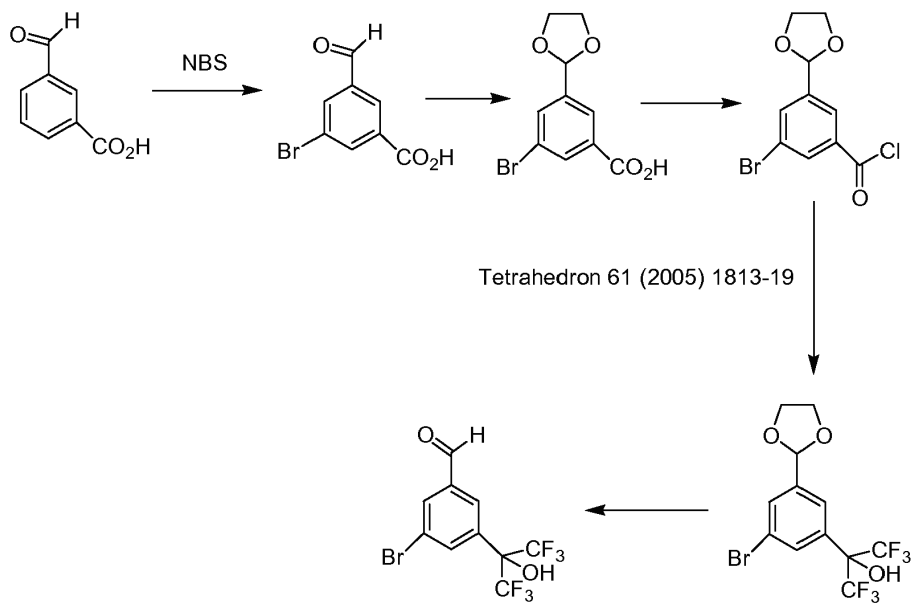
5 El Esquema XIII ilustra metodologías de síntesis generales para los materiales de partida de benzaldehído que no se encuentran disponibles fácilmente en fuentes comerciales y que son útiles para preparar varios compuestos de la presente invención como se describe en los esquemas anteriores. En particular, ilustra las metodologías generales para los análogos de benzaldehído que utilizan un reactivo Br o I aromático protegido con aldehído apropiado, mientras que el Br o I se puede trasladar usando acoplamiento cruzado u otras derivaciones permitidas por Br o I

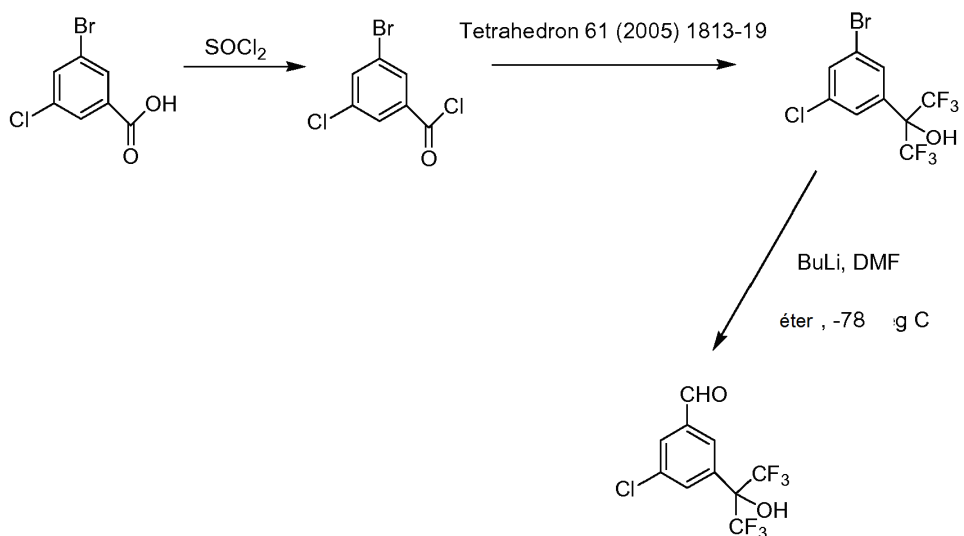
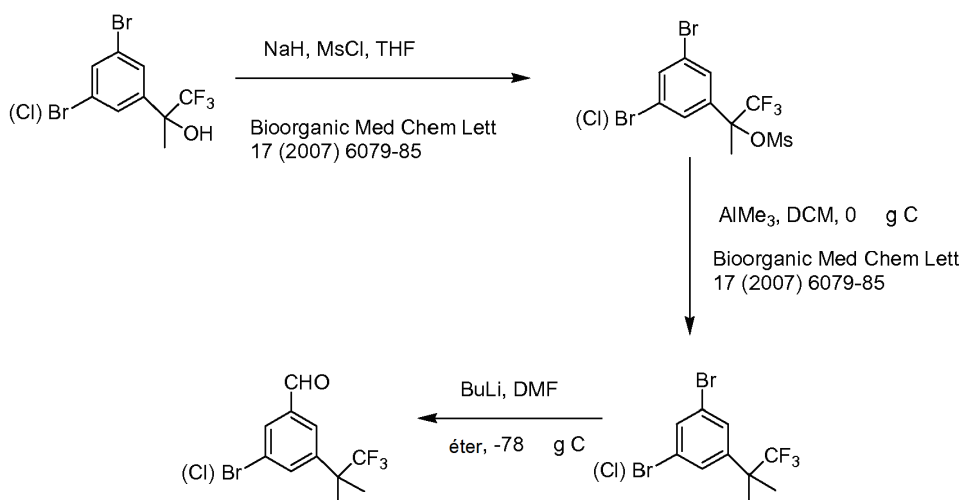
10 aromático muy conocidas por los expertos en la técnica y que proporcionan materiales de partida de benzaldehído útiles para preparar varios compuestos de la presente invención, como se describe en los esquemas anteriores. Cuando Z es OH, el grupo hidroxilo se puede proteger con varios grupos protectores conocidos por los expertos en la técnica, según sea necesario para llevar a cabo de forma eficaz los procedimientos de síntesis ilustrados. El grupo protector se puede retirar posteriormente con reactivos de desprotección conocidos. Se pretende que estos sean métodos de síntesis generales que los expertos en la técnica puedan conocer y poner en práctica fácilmente, y no pretenden tener un alcance restrictivo.

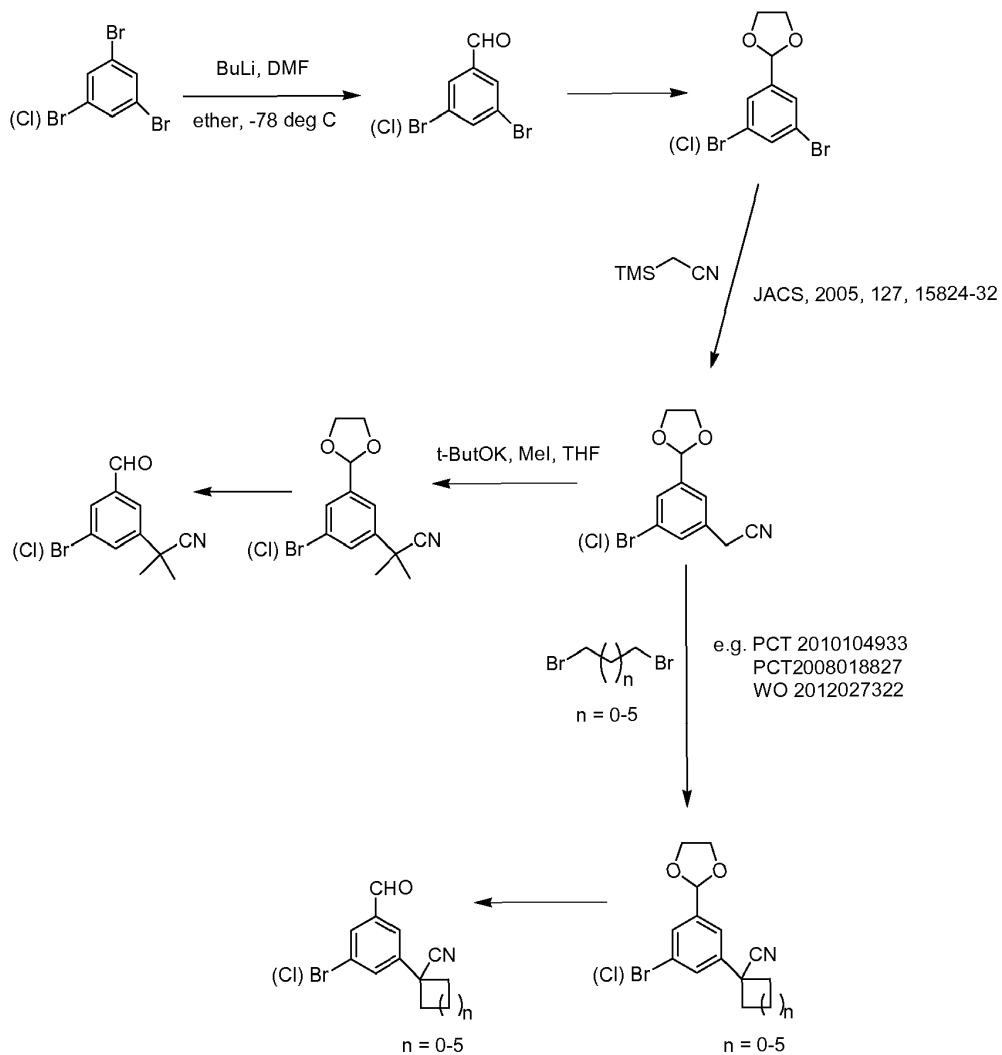
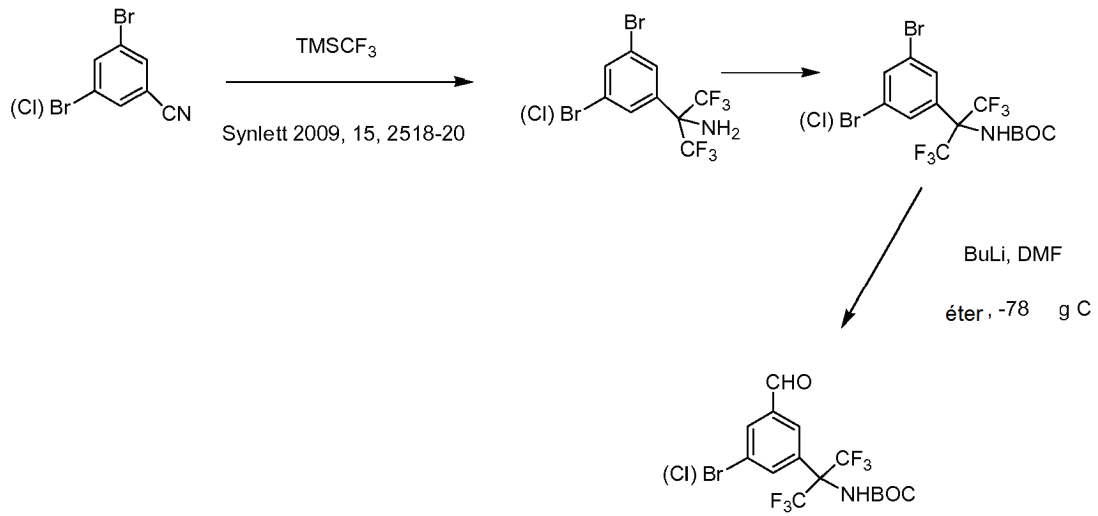
Esquema XIII A

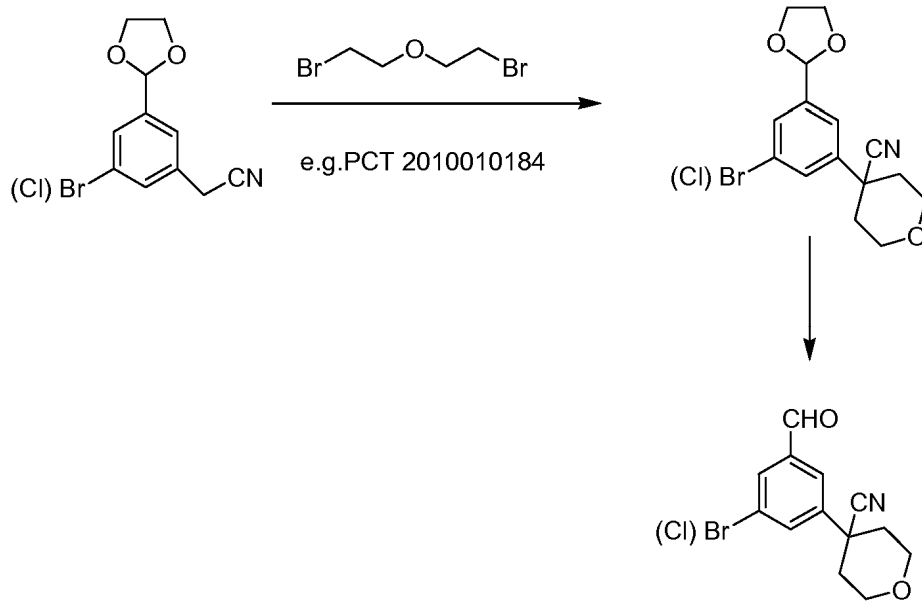


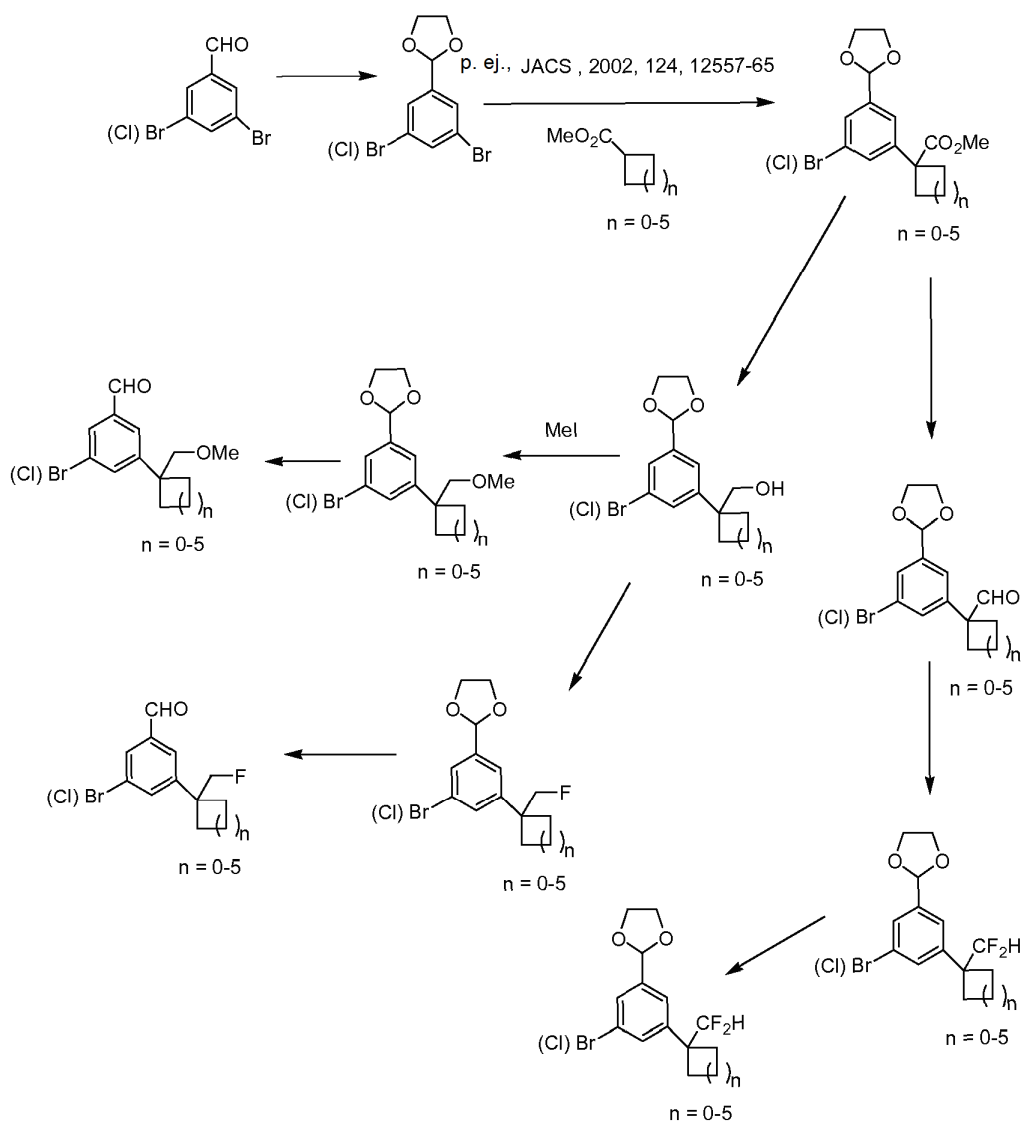


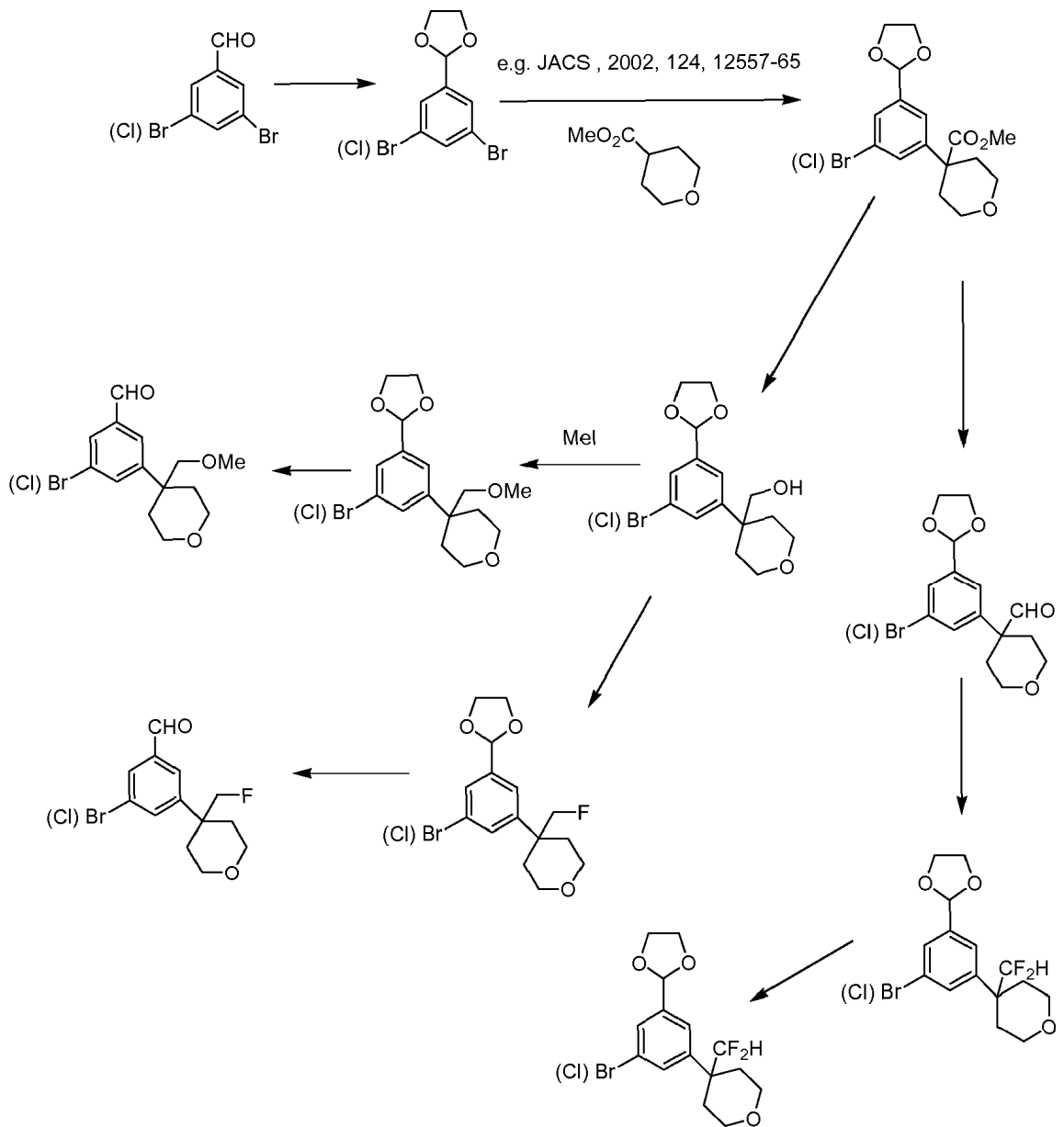


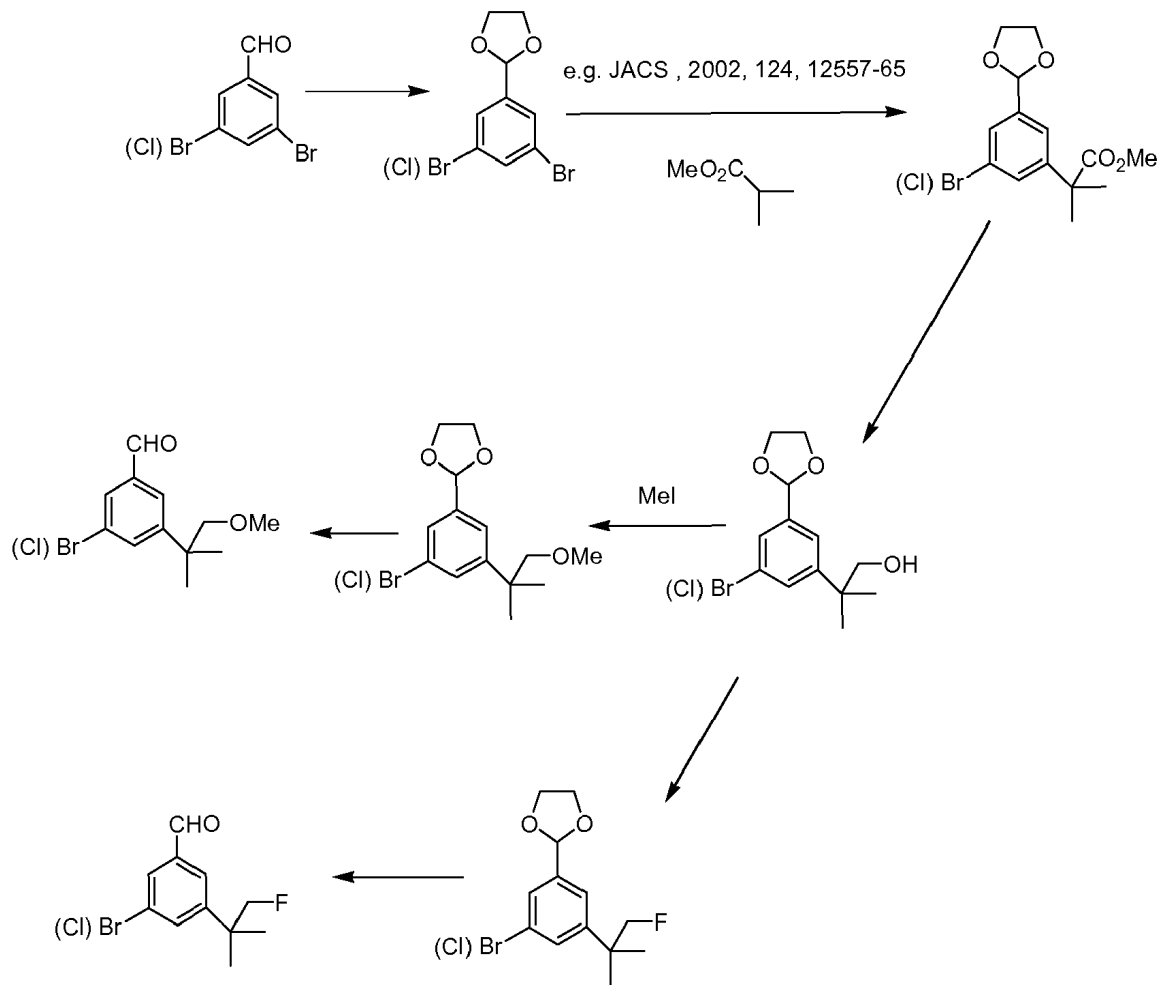


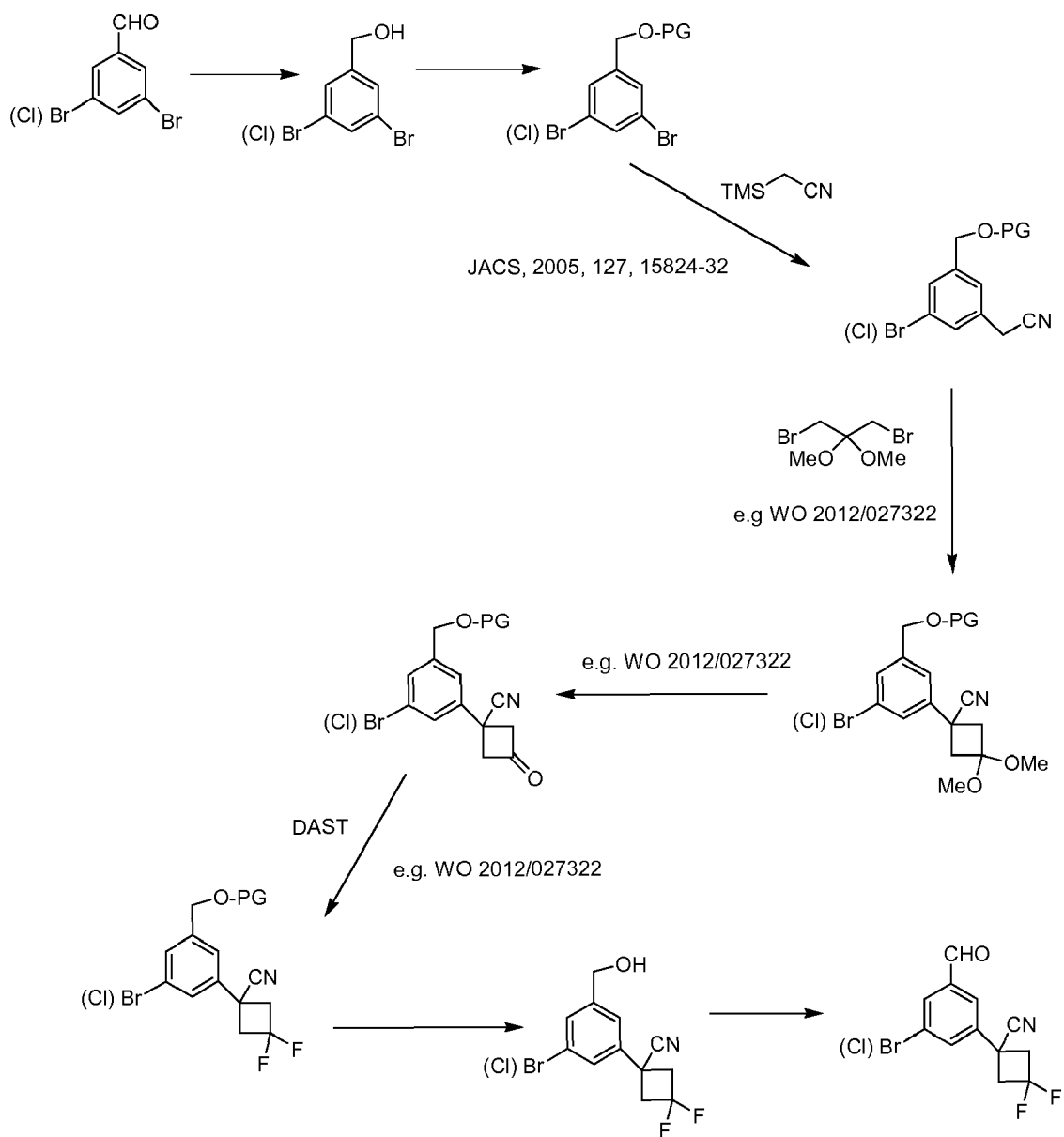


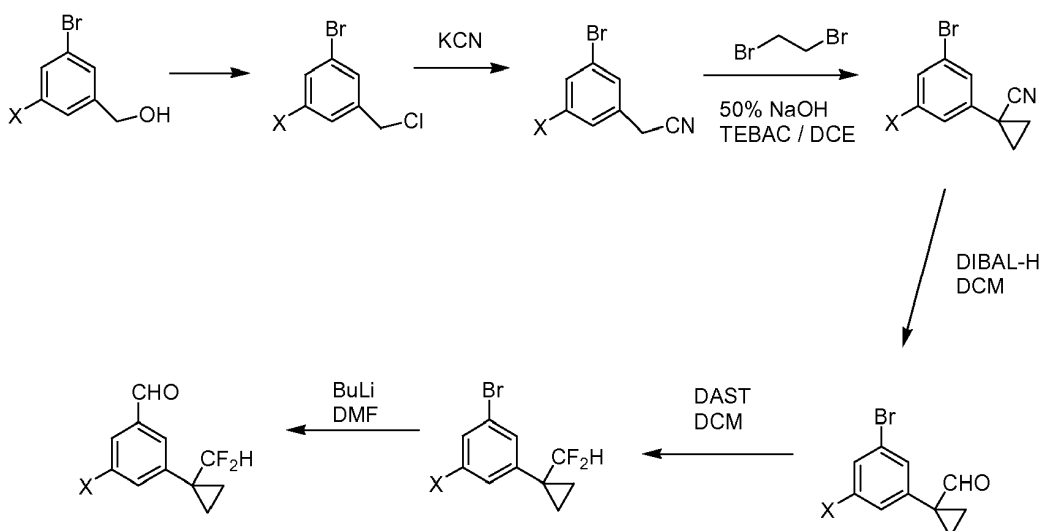




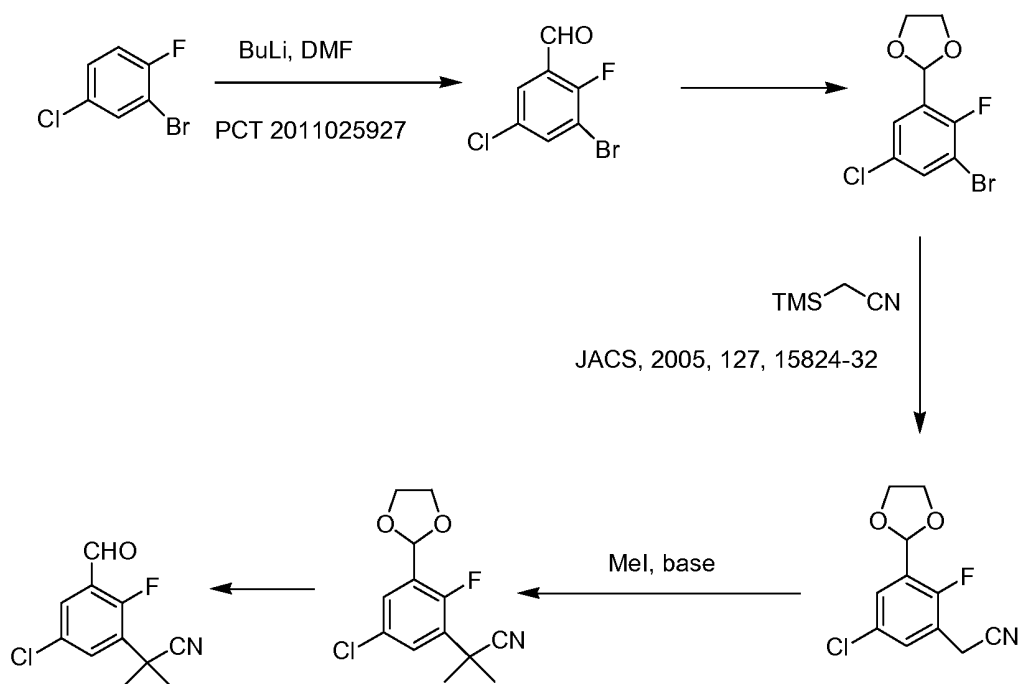








X= Br, Cl, CF₃, otra X definida



5

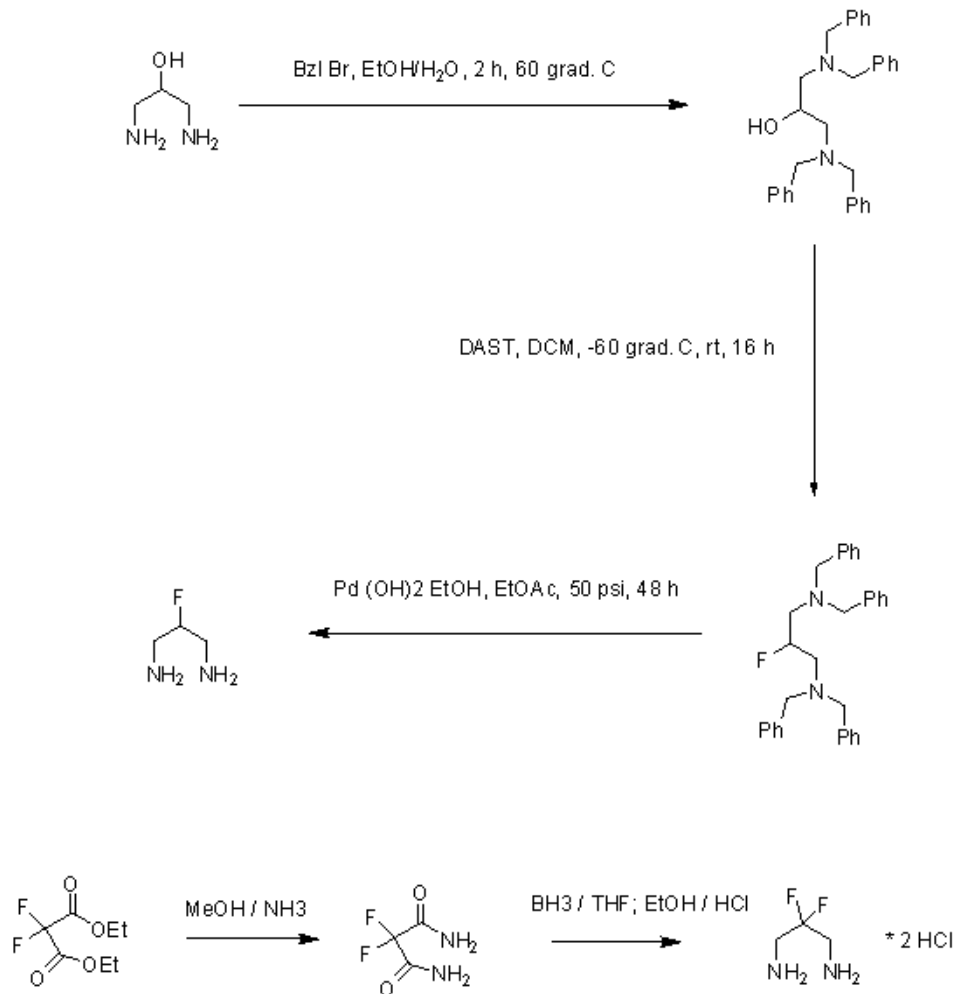
Todas las referencias enumeradas en el Esquema XIII A se incorporan a la presente mediante esta referencia.

10 El Esquema XIII A también ilustra metodologías de síntesis generales para los materiales de partida de benzaldehído que no se encuentran disponibles fácilmente en fuentes comerciales y que son útiles para preparar varios compuestos de la presente invención como se describe en los esquemas anteriores. Cuando Z es OH, el grupo hidroxilo se puede proteger con varios grupos protectores conocidos por los expertos en la técnica, según sea necesario para llevar a cabo de forma eficaz los procedimientos de síntesis ilustrados. El grupo protector se puede retirar posteriormente con reactivos de desprotección conocidos. Ver, por ejemplo, Greene y Wuts (1999), que se incorpora a la presente mediante esta referencia. Además, el sustituyente ilustrado como (Cl)Br- en los esquemas que anteceden puede sustituir un trifluorometilo u otro grupo apto, como se define para X en la fórmula general. Estos esquemas pretenden ilustrar los métodos para generar benzaldehídos diana que se puedan usar para sintetizar los compuestos reivindicados en la presente pero que no se encuentran disponibles en el mercado. No pretenden tener un carácter restrictivo y pueden adaptarse y modificarse adicionalmente según los conocimientos de los expertos en la técnica.

15

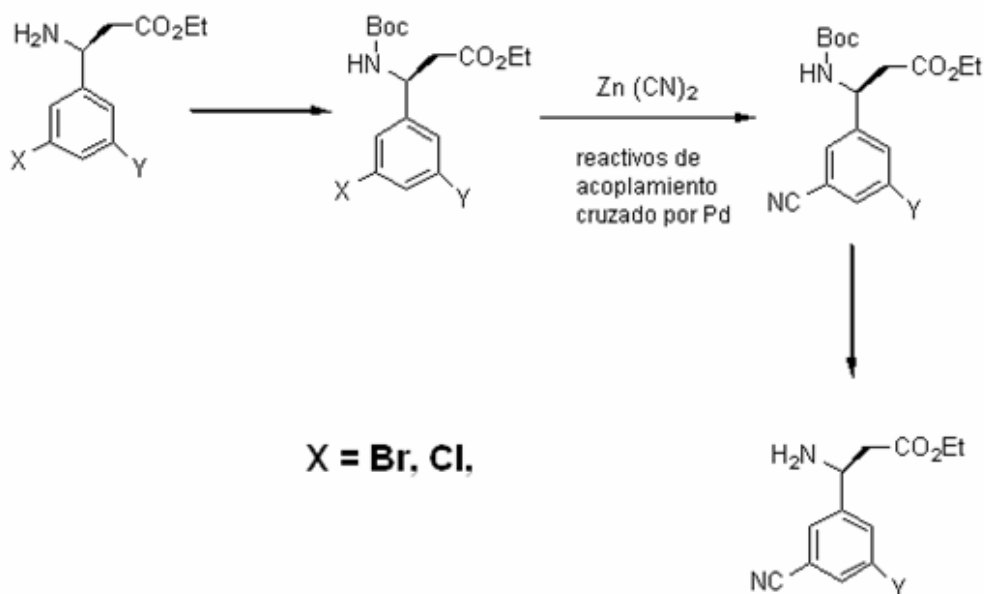
20

Esquema XIV



El Esquema XIV ilustra las metodologías de síntesis generales para la síntesis de los intermedios de diamina útiles para preparar la parte del ácido tetrahidropirimidinobenzoico de la Fórmula I de la presente invención, como se describe en el Esquema I, y donde A = H y B = F, o donde A y B son ambos = F.

Esquema XV



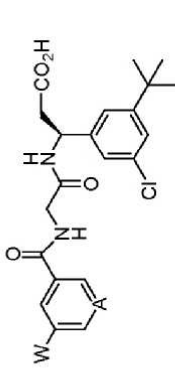
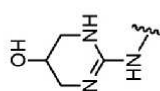
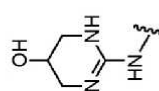
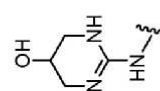
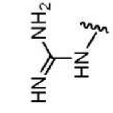
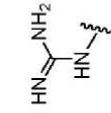
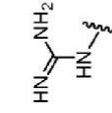
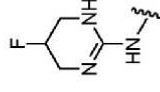
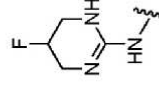
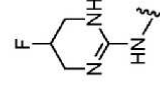
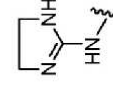
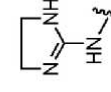
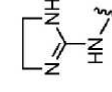
5 El Esquema XV ilustra un método de síntesis conveniente para la introducción de un sustituyente ciano en la síntesis de reactivos del éster de amino beta, donde X es ciano, como se define en la fórmula general e Y puede ser múltiples sustituyentes aptos, como se define en la fórmula general y se caracteriza en los esquemas que anteceden y los ejemplos posteriores. Este esquema ilustra un método para la síntesis de compuestos donde X es ciano y no pretende tener carácter restrictivo y puede adaptarse y modificarse adicionalmente según los conocimientos de los expertos en la técnica.

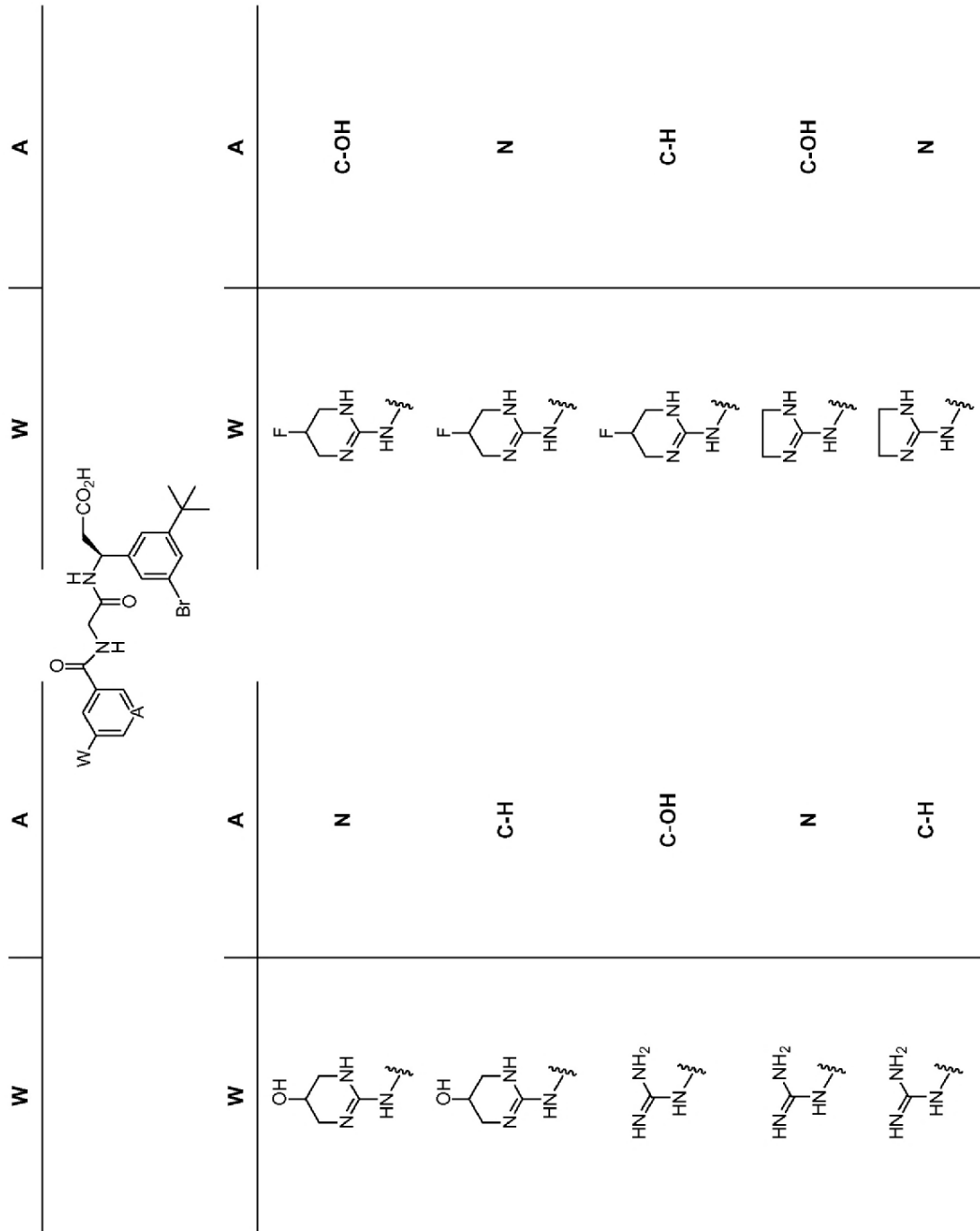
10 Todos los métodos descritos anteriormente se pueden modificar y optimizar adicionalmente utilizando los principios y las técnicas ilustradas en las patentes de Estados Unidos 6,013,651 y 6,028,223, que se incorporan a la presente mediante esta referencia, así como los principios y las técnicas de química orgánica aplicados por un experto en la técnica. Dichos principios y técnicas se ilustran, por ejemplo, en *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure* (2007), que se incorpora a la presente mediante esta referencia.

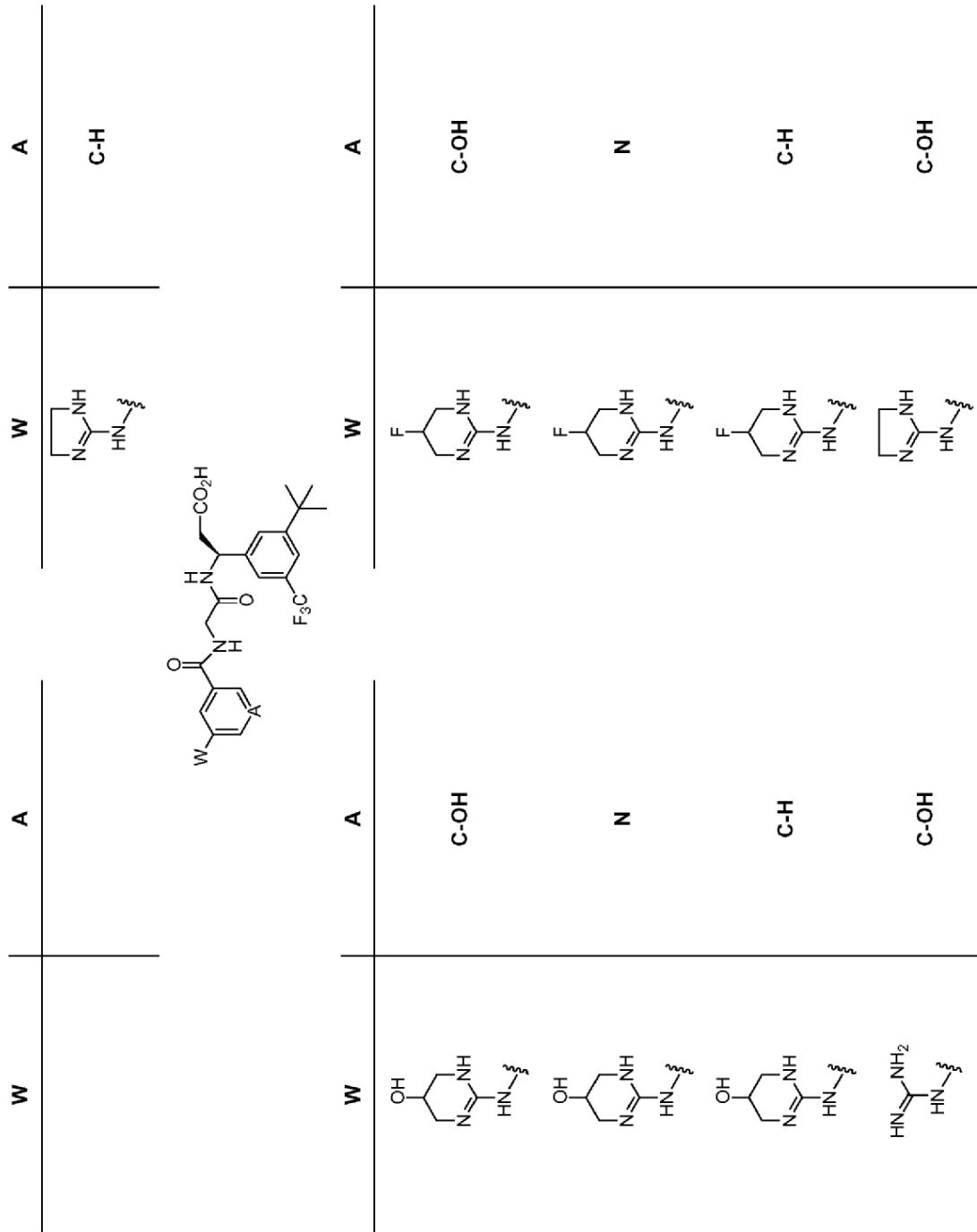
15 Los ejemplos no taxativos de los compuestos que pueden producirse mediante los métodos de la presente, y utilizarse en estos, se enumeran en la Tabla A (a continuación):

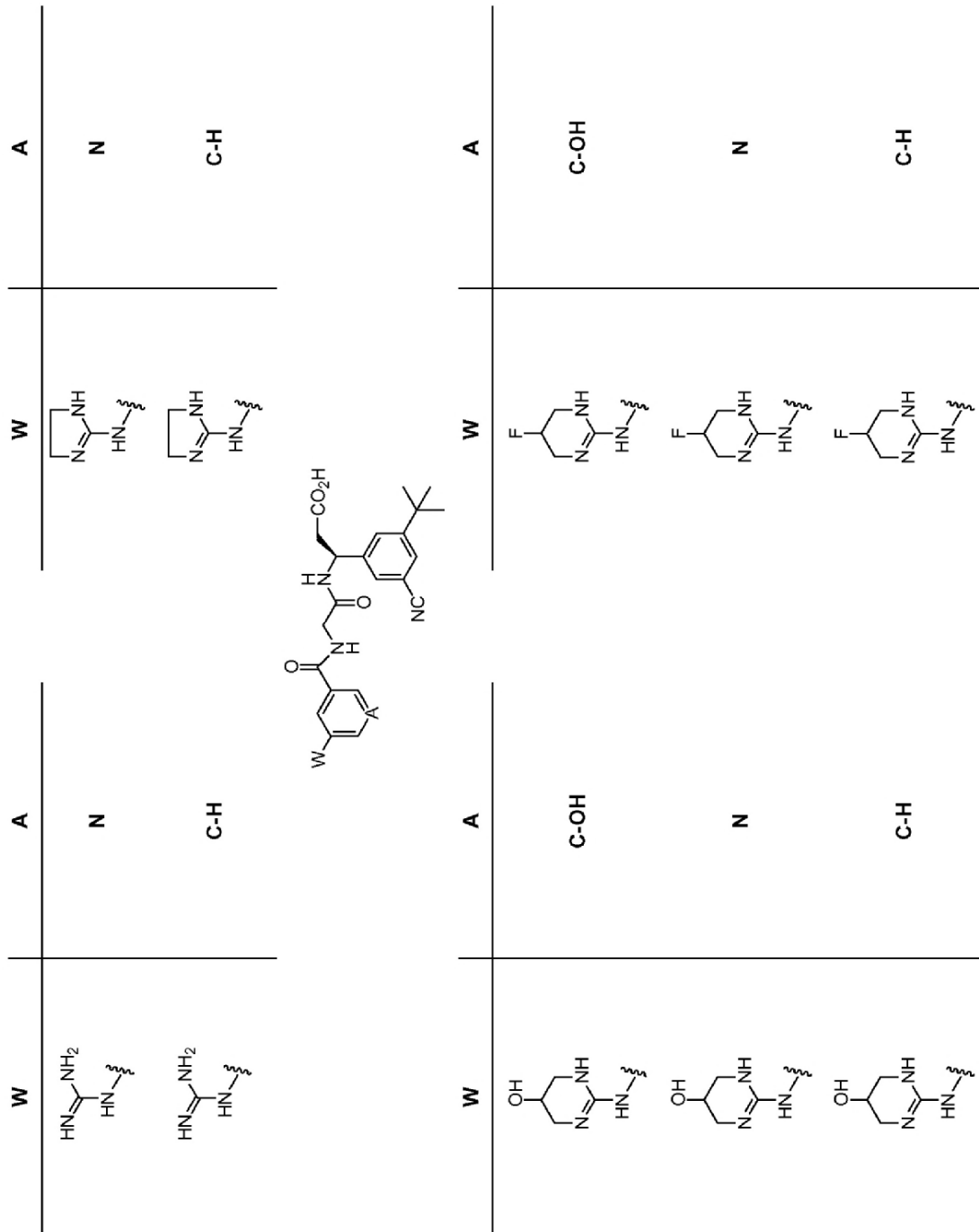
20

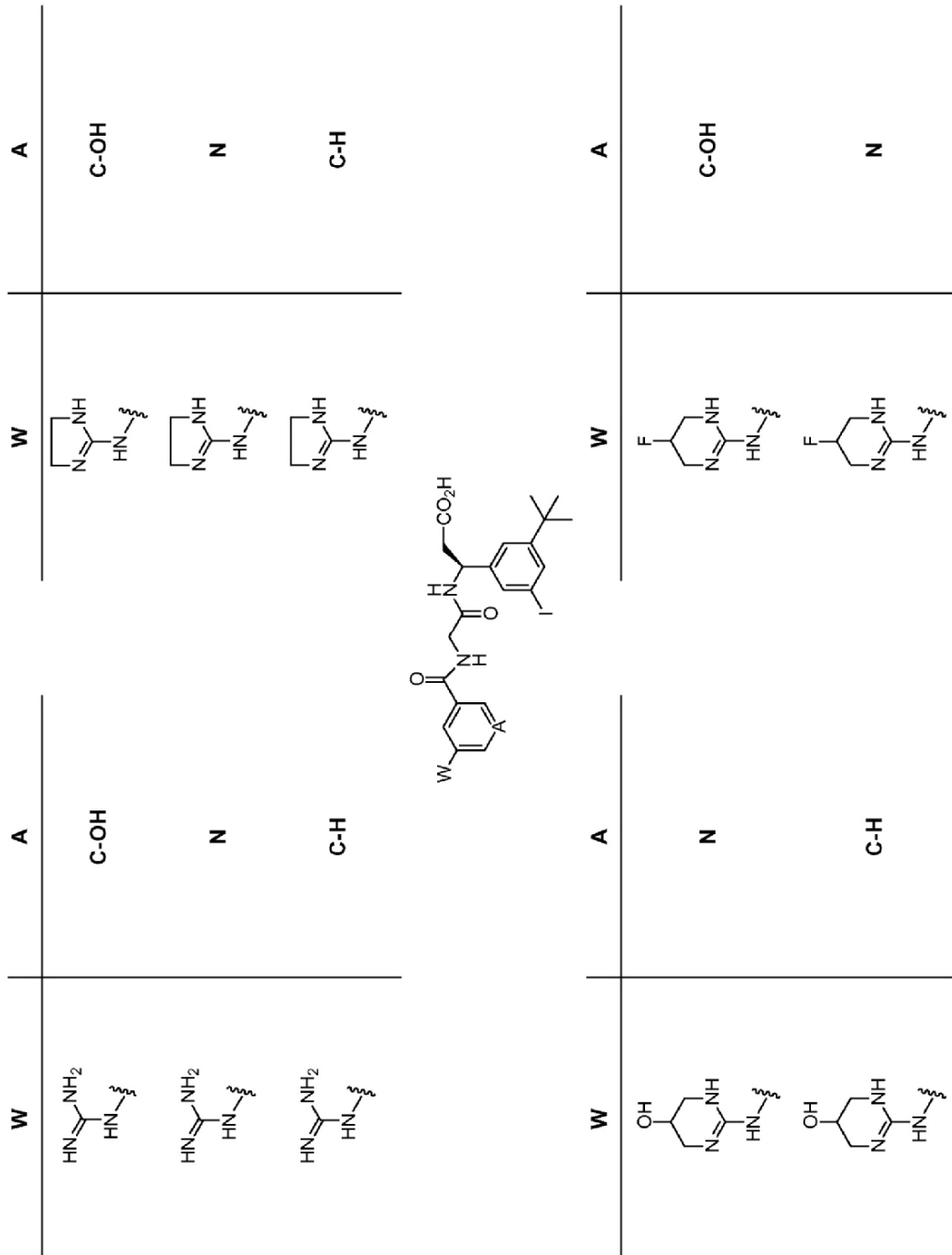
Tabla A. Ejemplos de derivados de aminoácidos beta

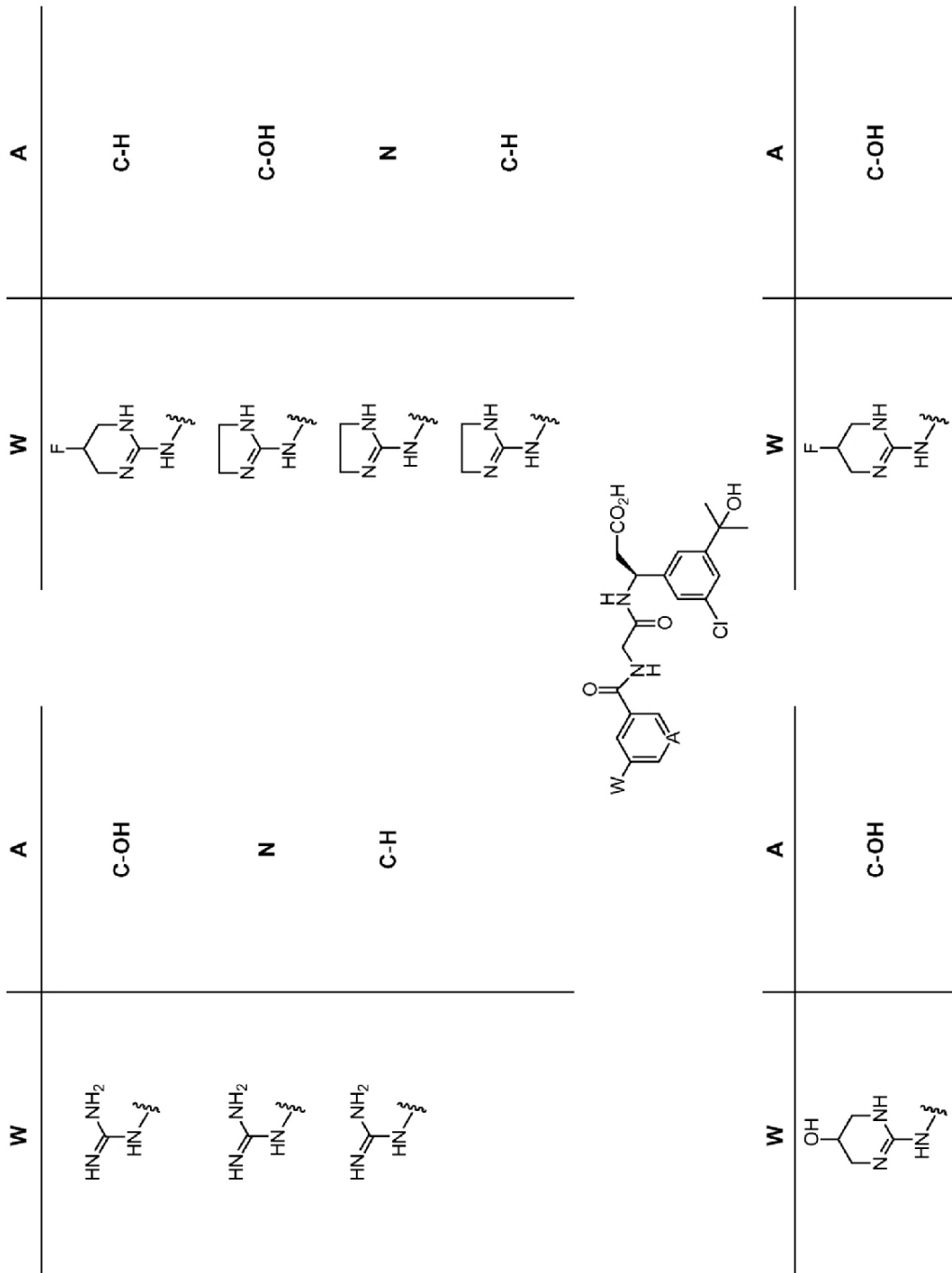
|  | | | | | | | | |
|---|------|---|------|--|--|--|--|--|
| W | A | A | | | | | | |
|  | C-OH | | | | | | | |
|  | N | | | | | | | |
|  | C-H | | | | | | | |
|  | C-OH | | | | | | | |
|  | N | | | | | | | |
|  | C-H | | | | | | | |
| | | W | | | | | | |
| | |  | C-OH | | | | | |
| | |  | N | | | | | |
| | |  | C-H | | | | | |
| | |  | C-OH | | | | | |
| | |  | N | | | | | |
| | |  | C-H | | | | | |

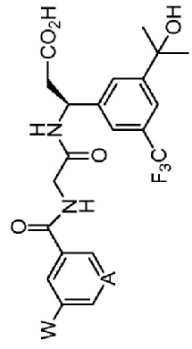
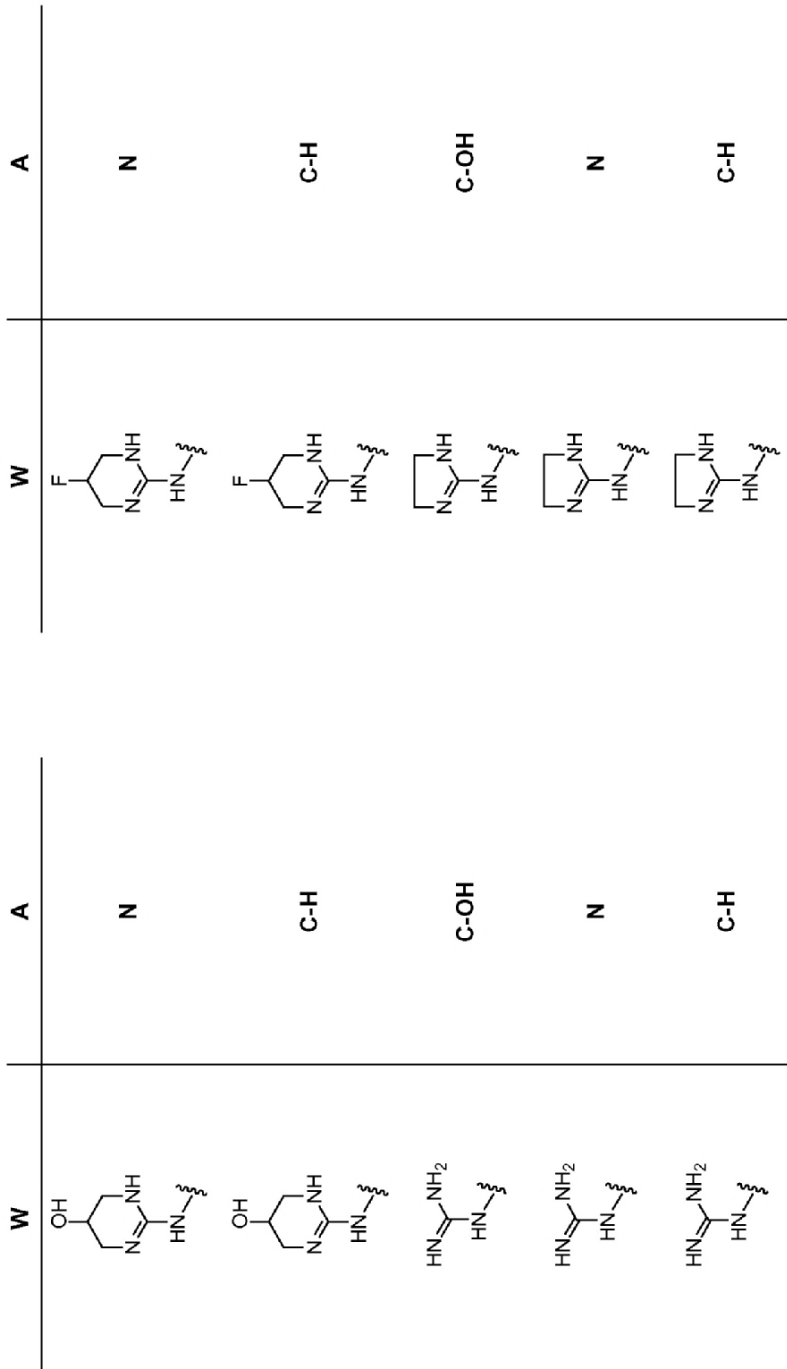


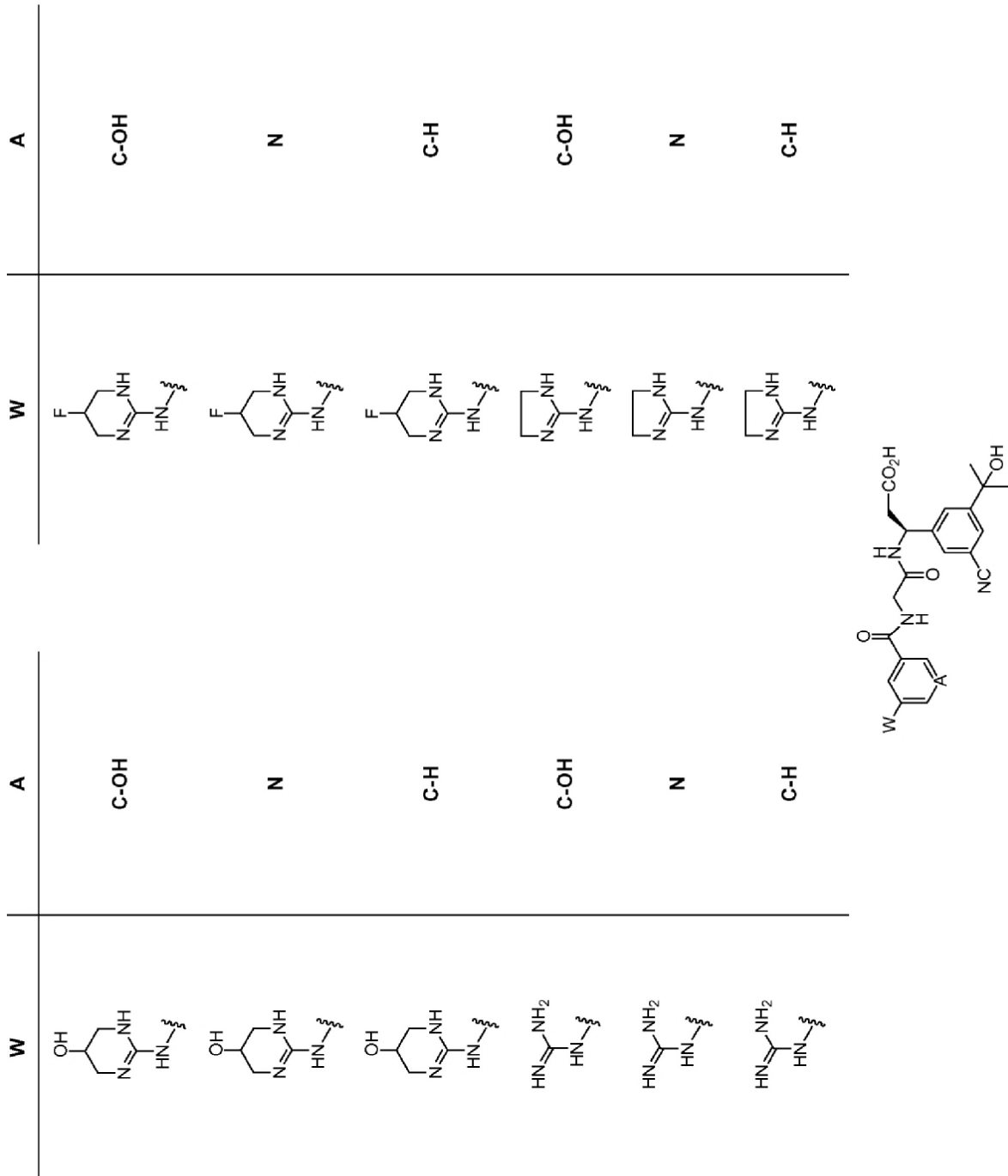


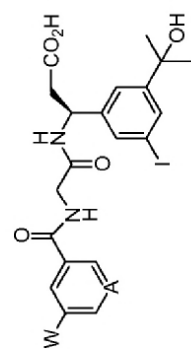
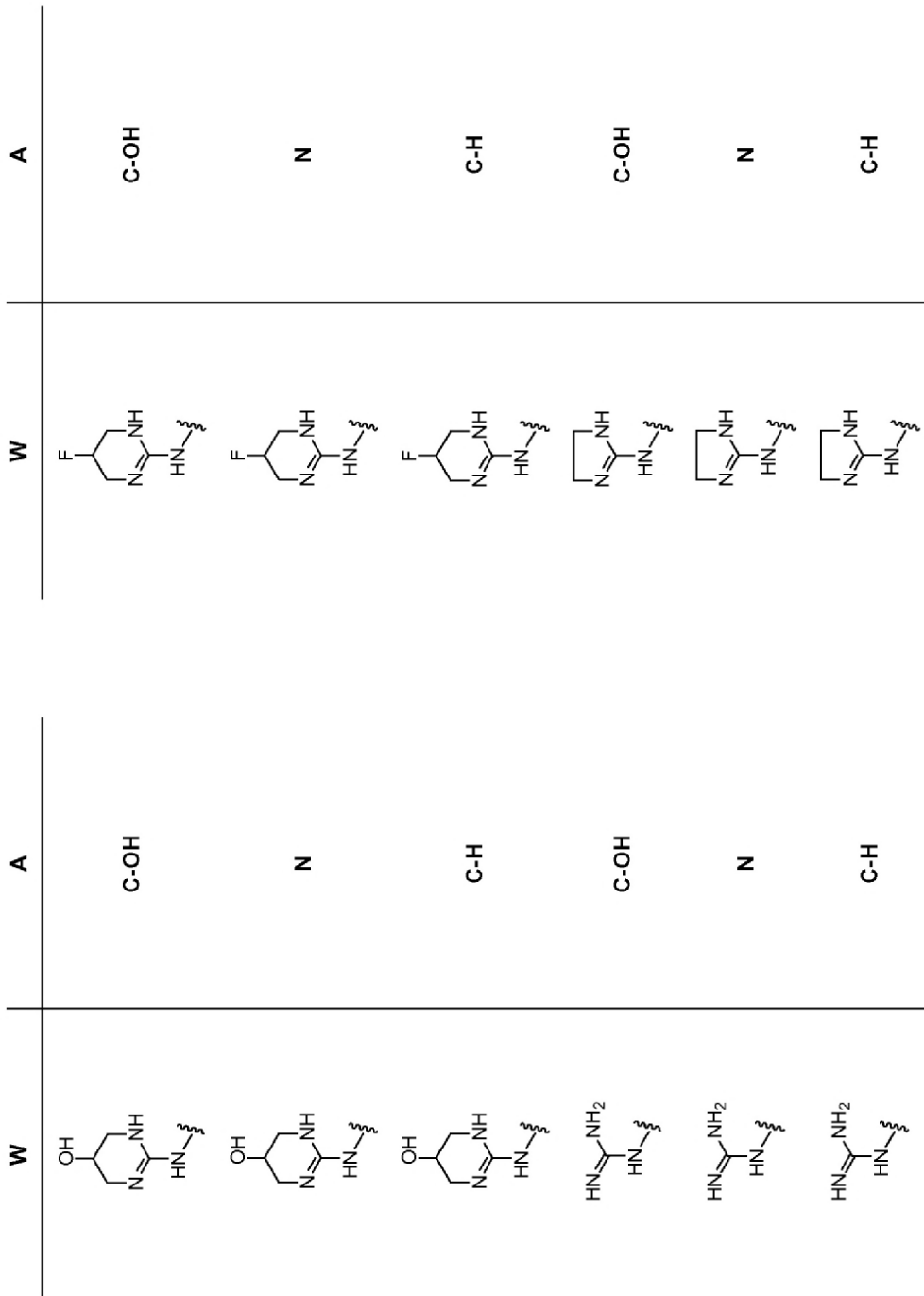


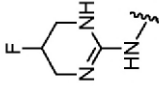
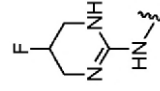
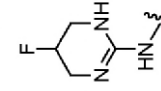
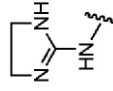
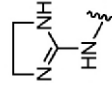
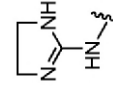
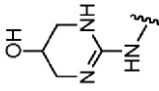
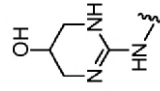
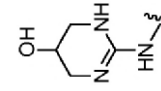
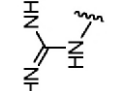
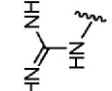
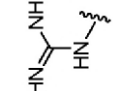


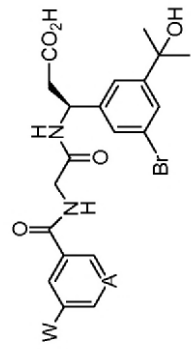


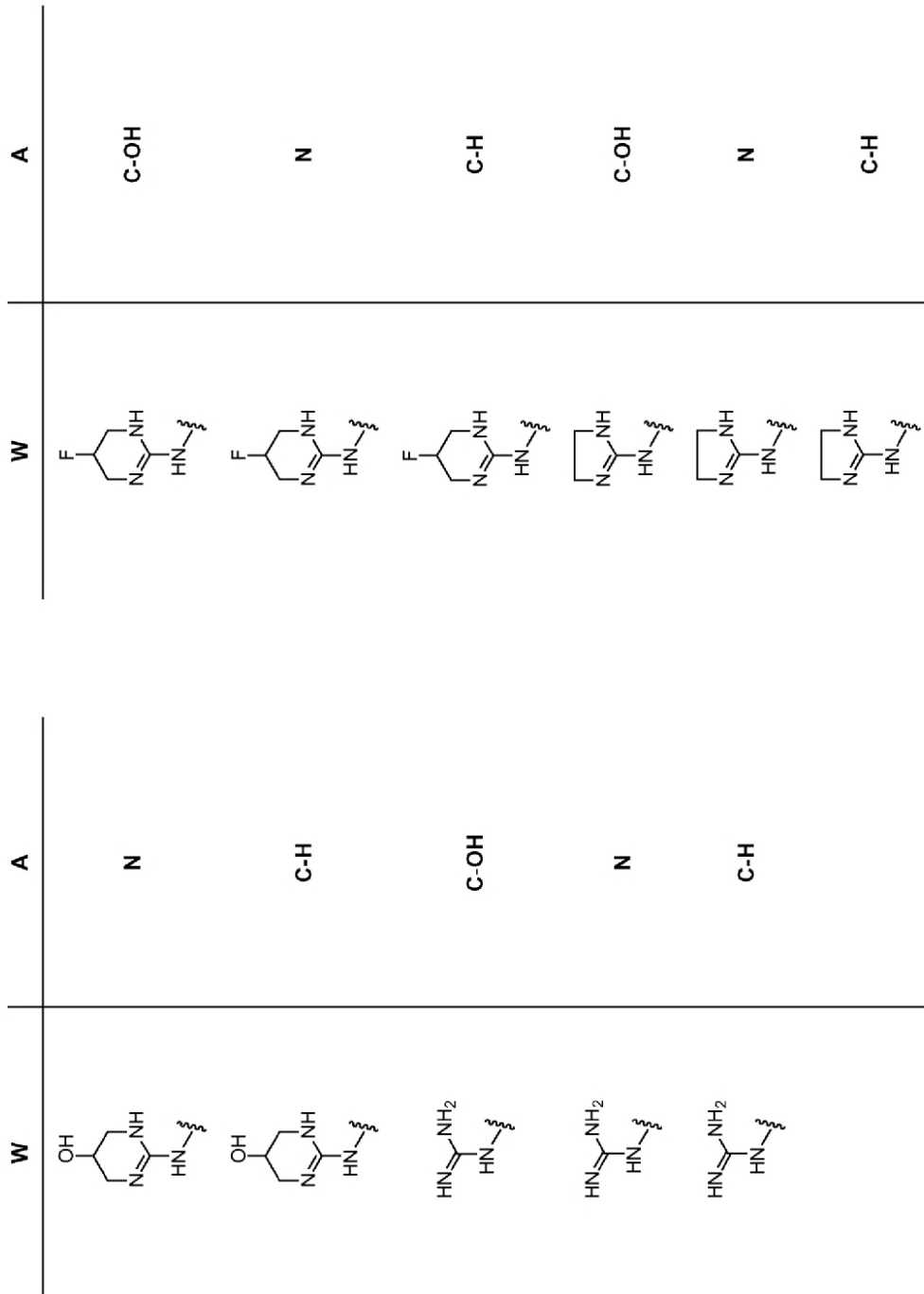


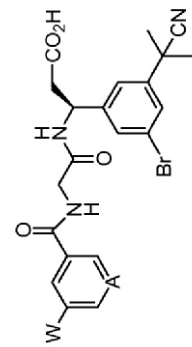
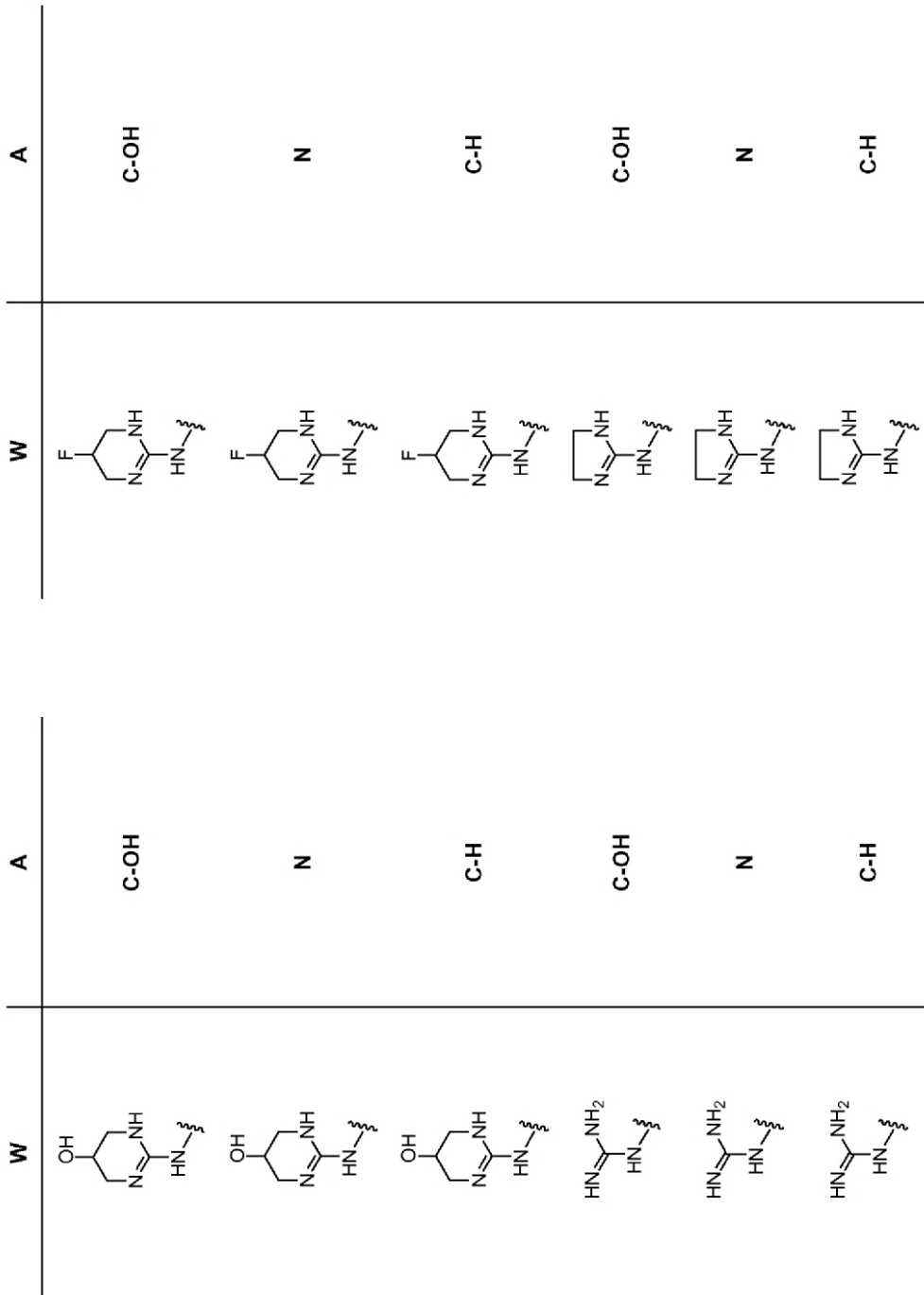


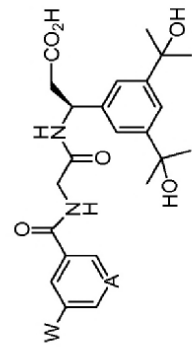
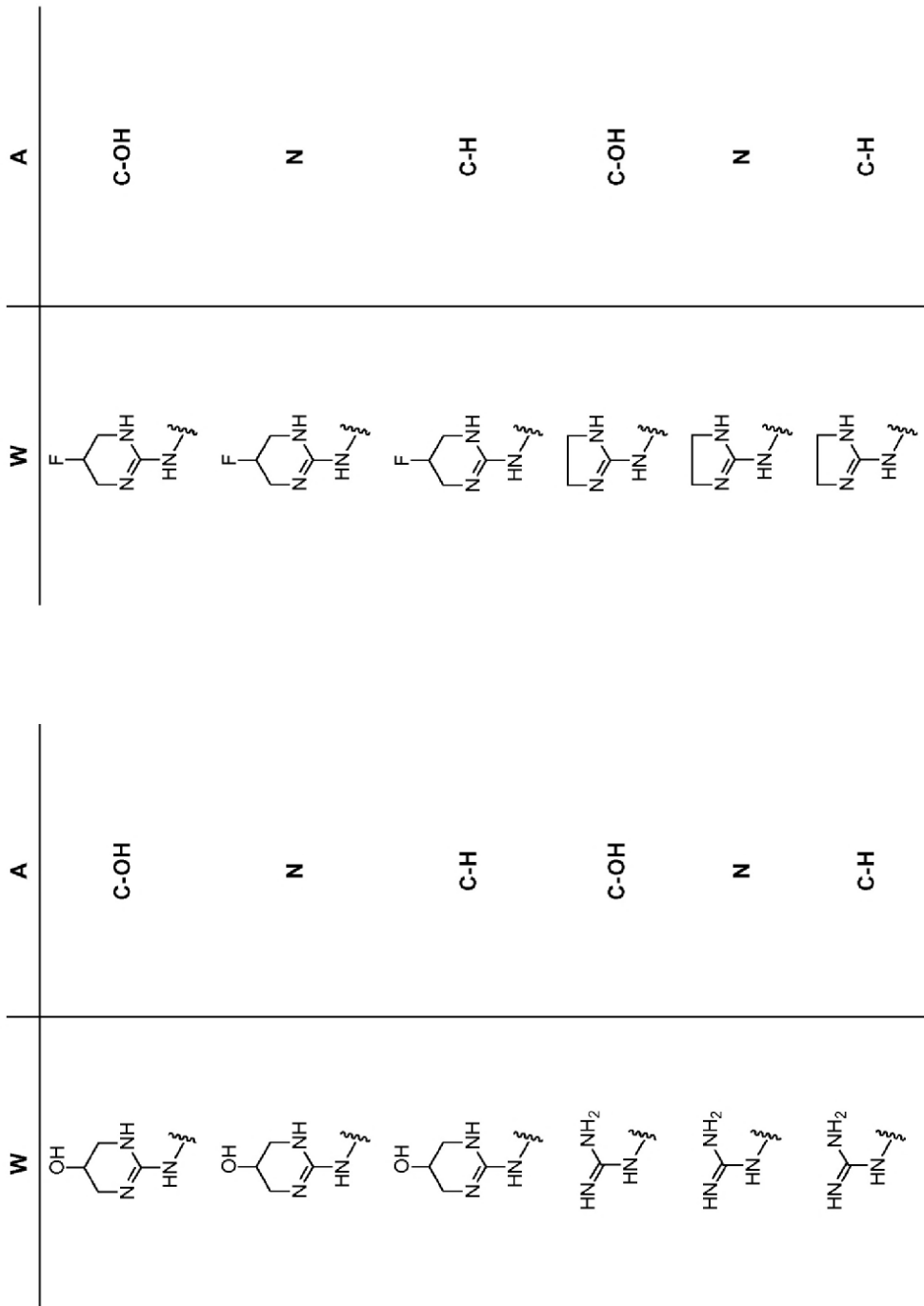


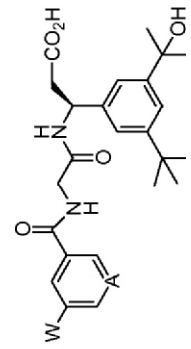
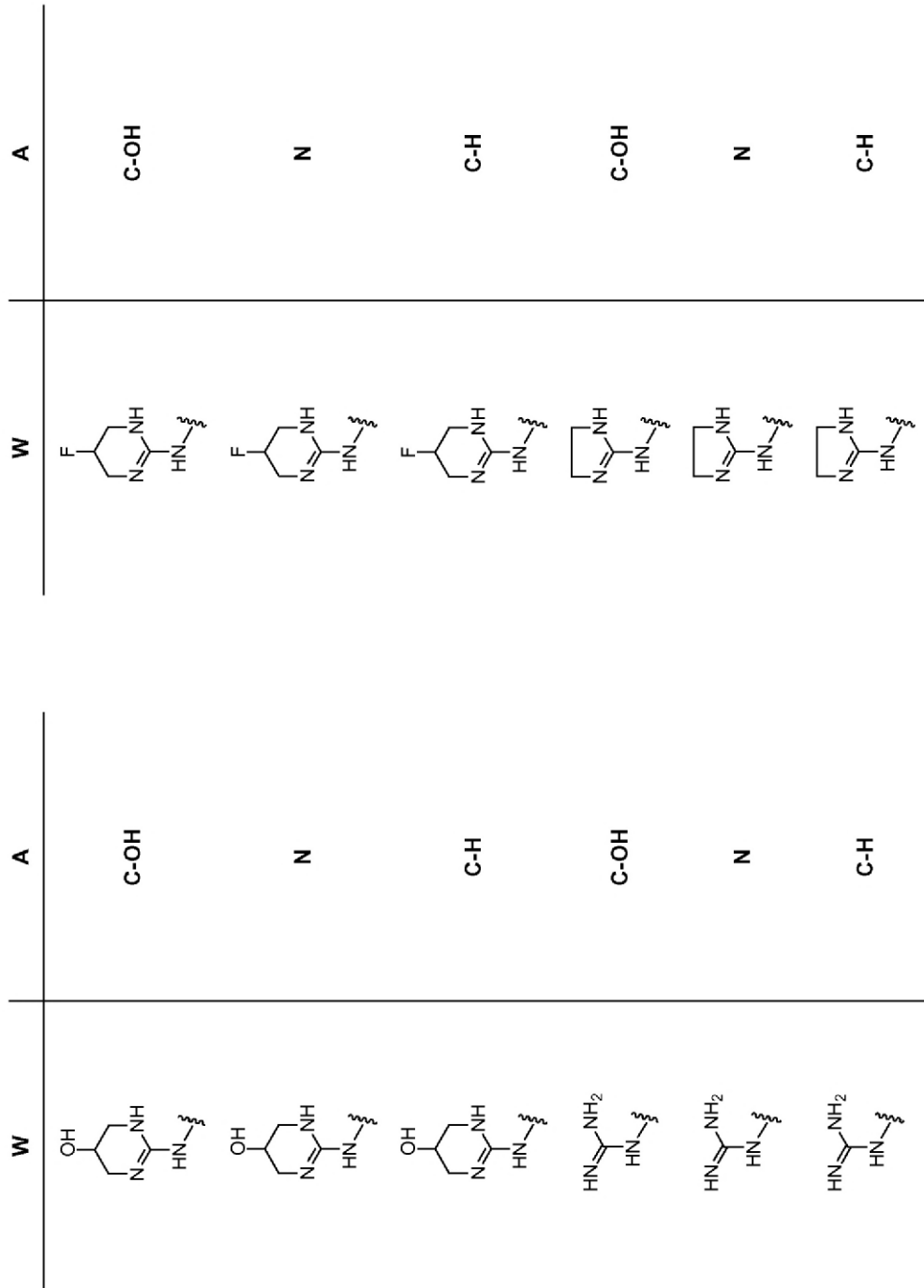
| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|--|---|
| A | C-OH | N | C-H | C-OH | N | C-H |
| W |  |  |  |  |  |  |
| A | C-OH | N | C-H | C-OH | N | C-H |
| W |  |  |  |  |  |  |

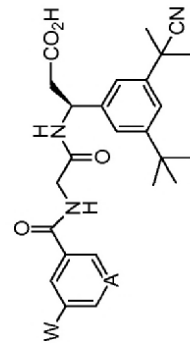
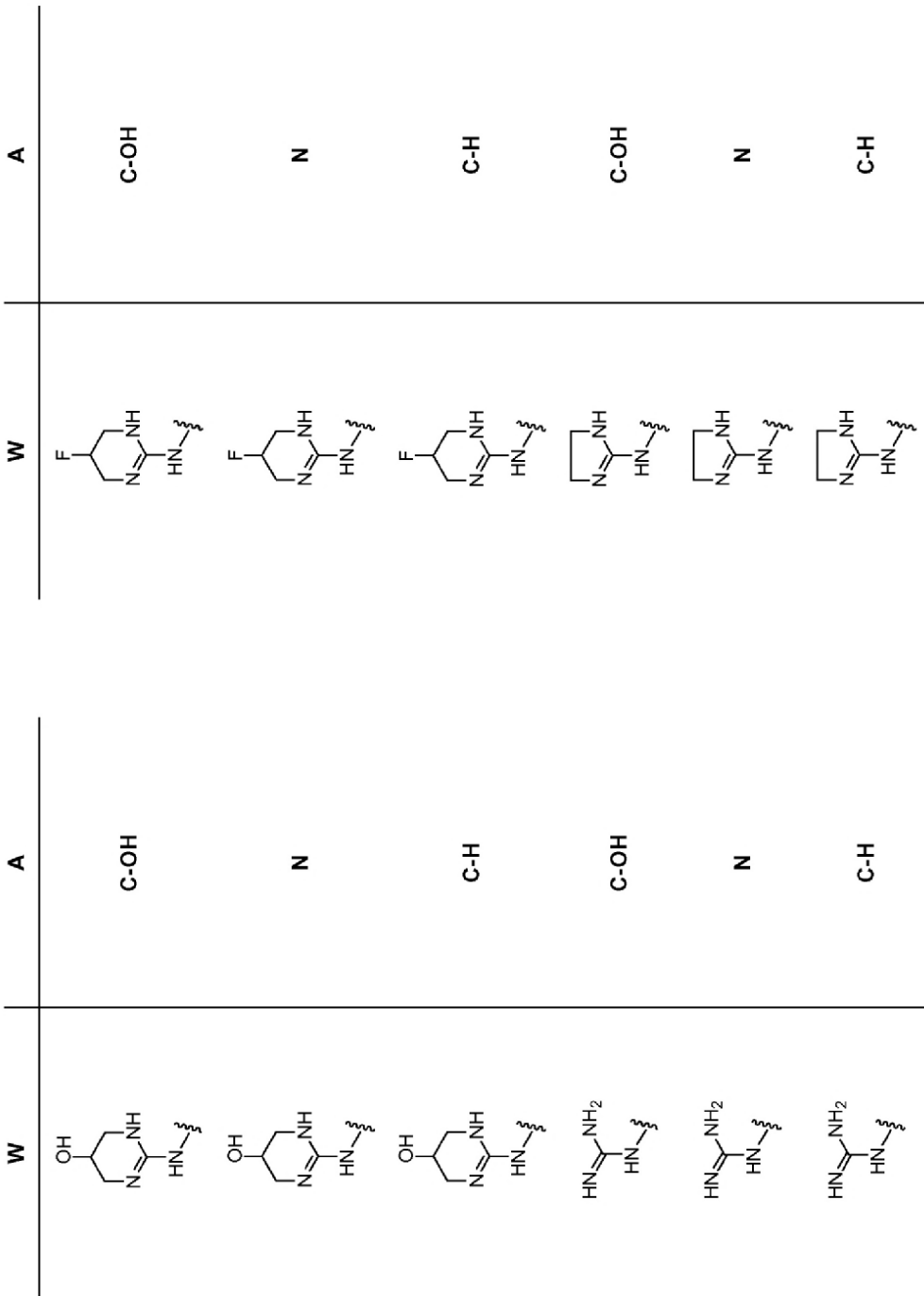


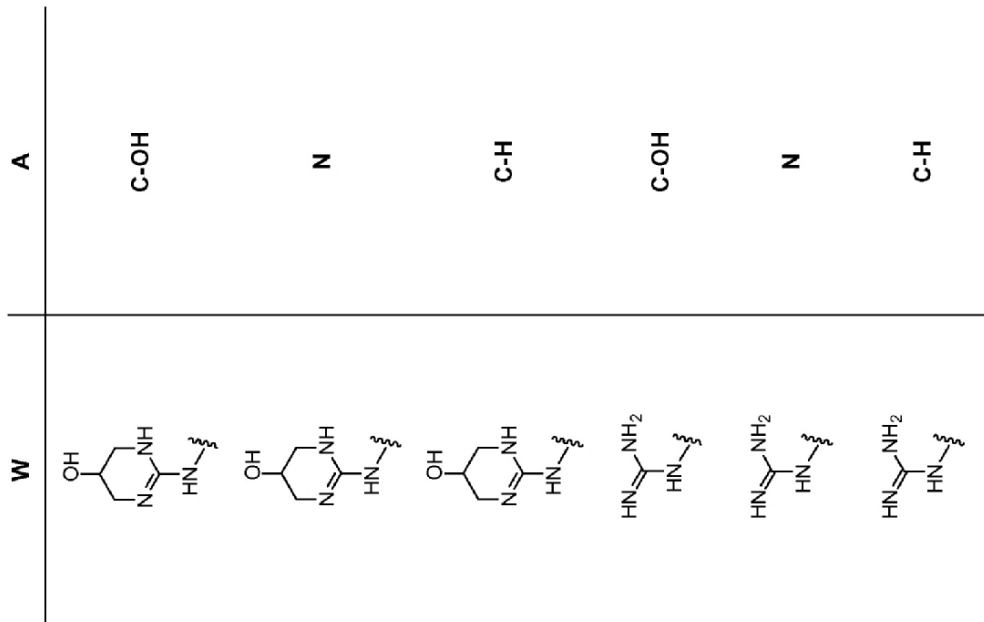
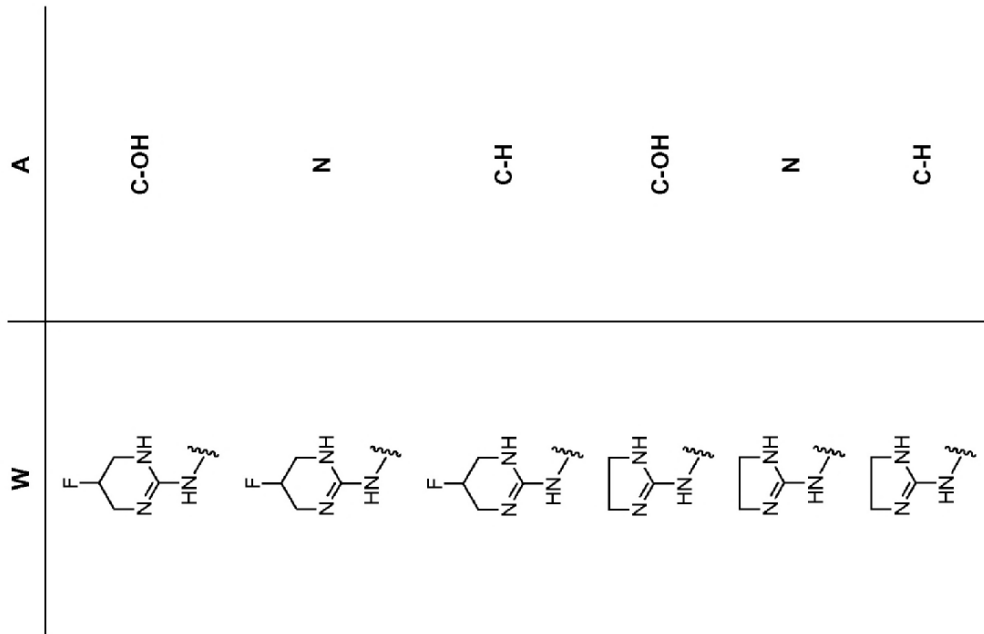


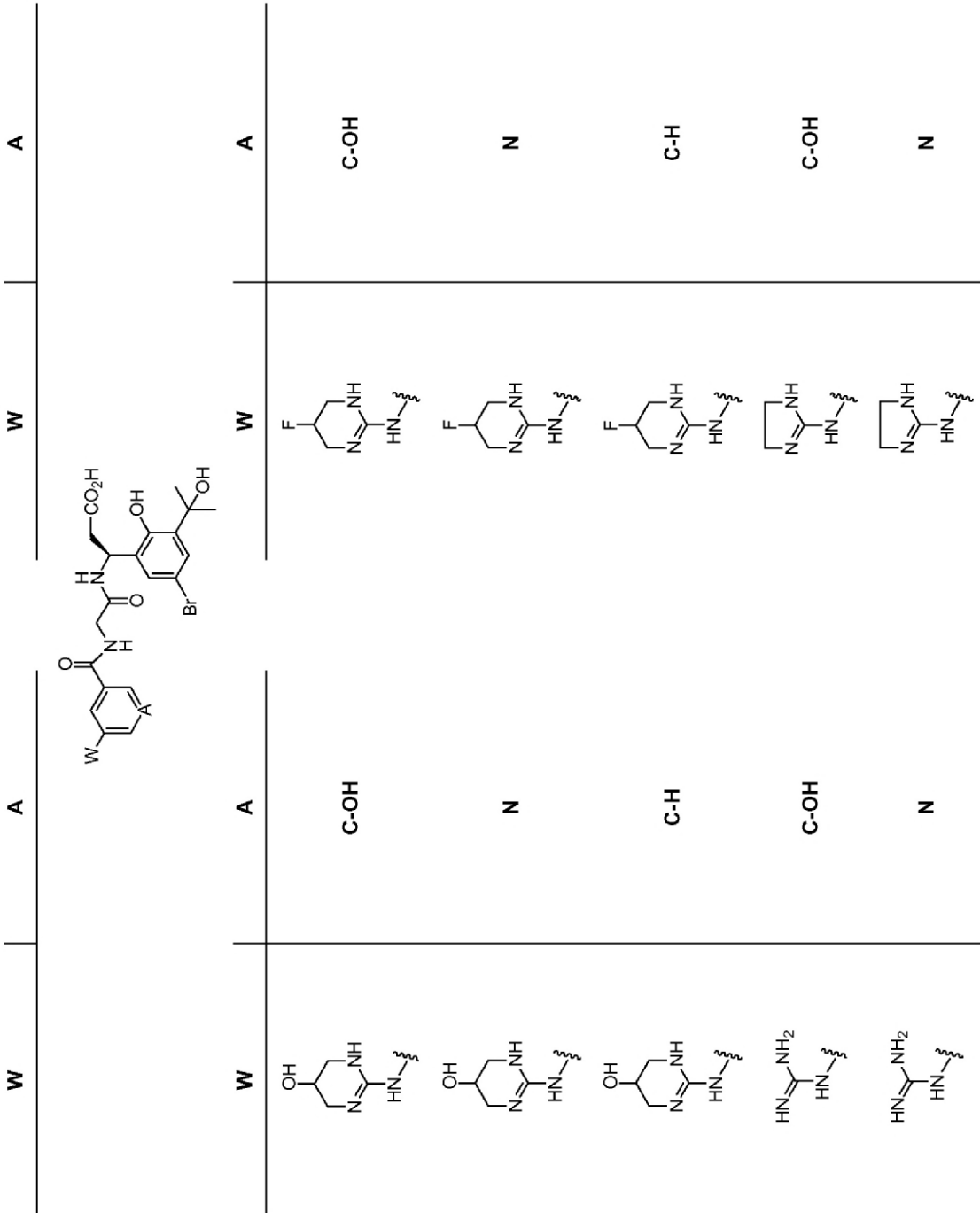


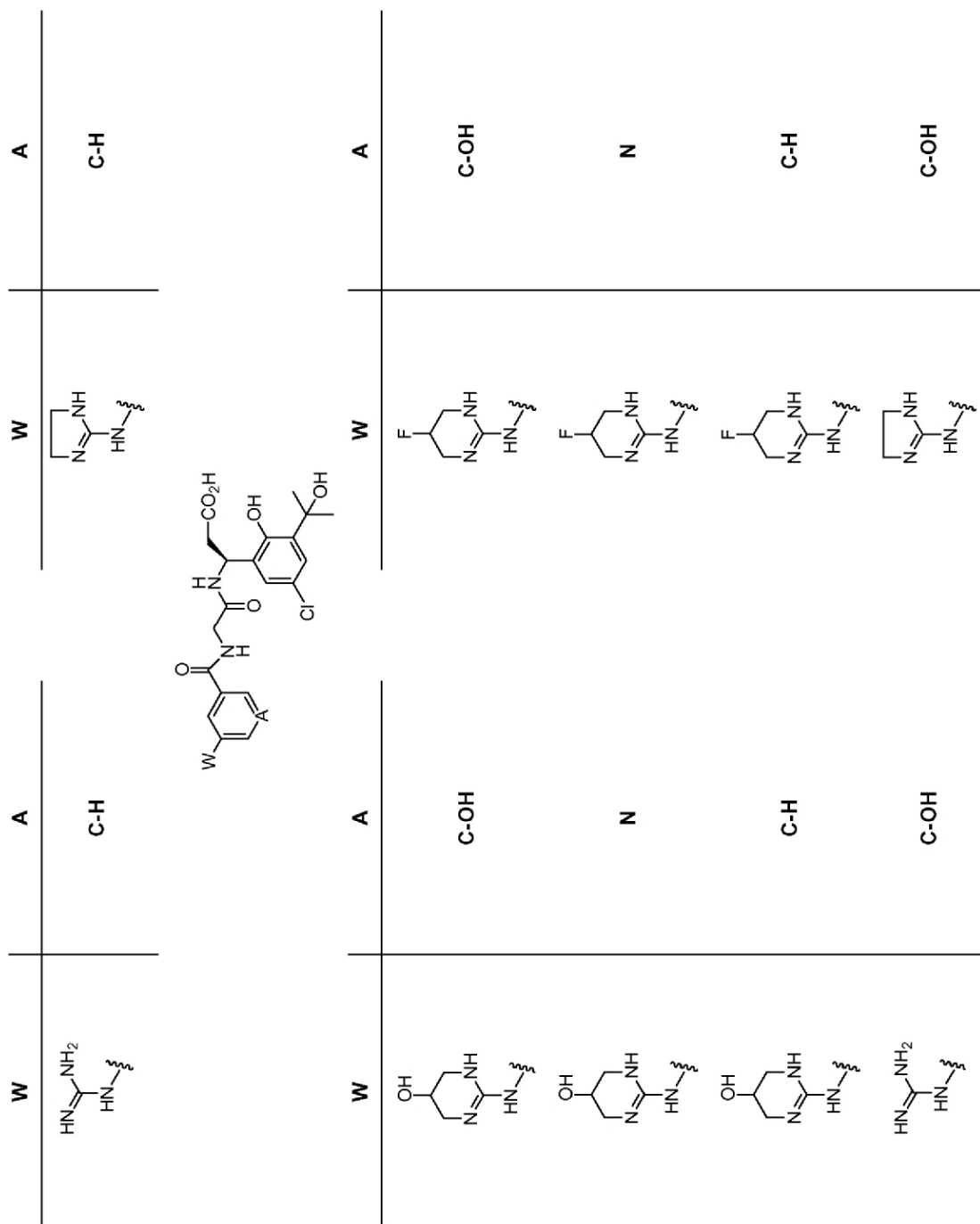


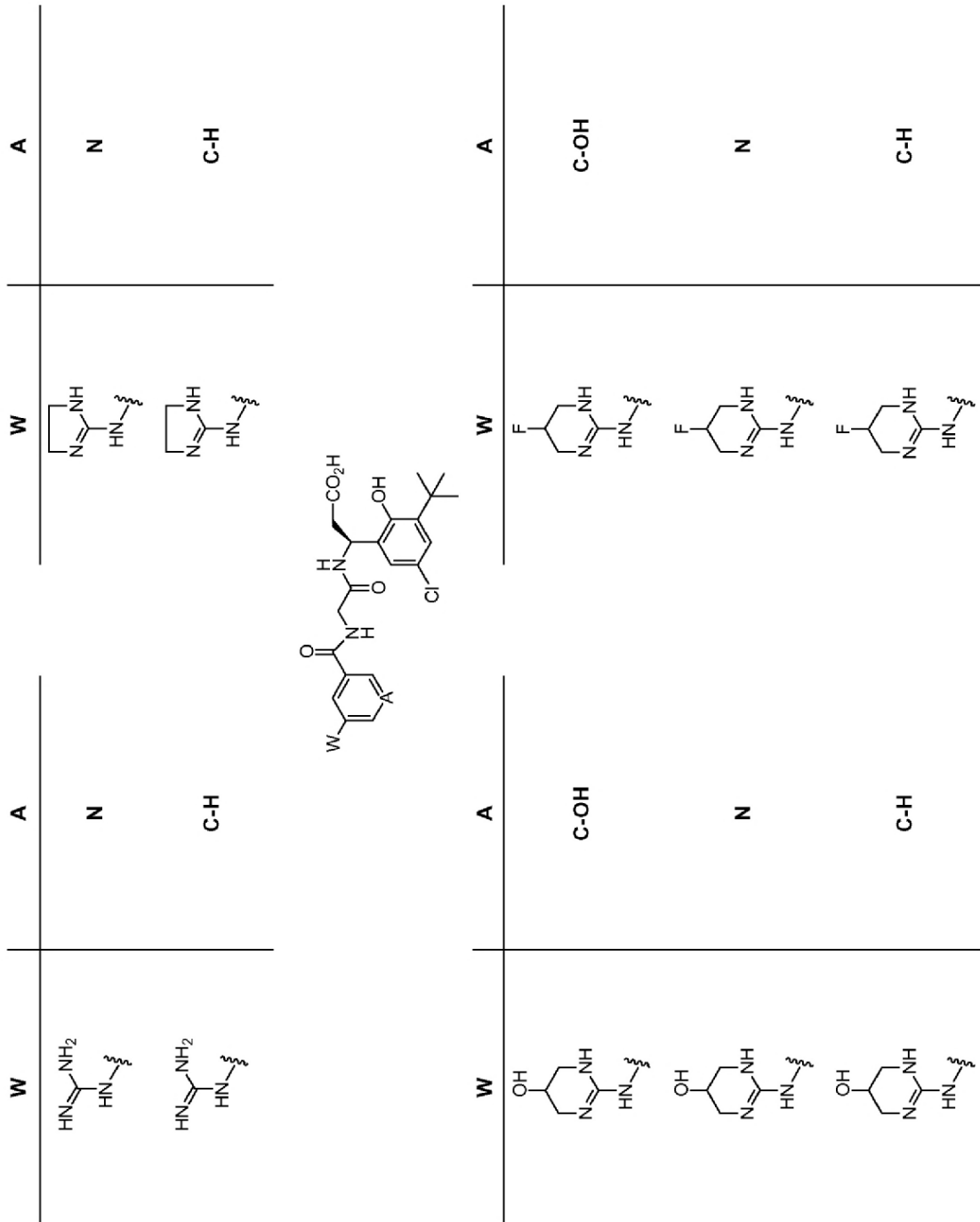


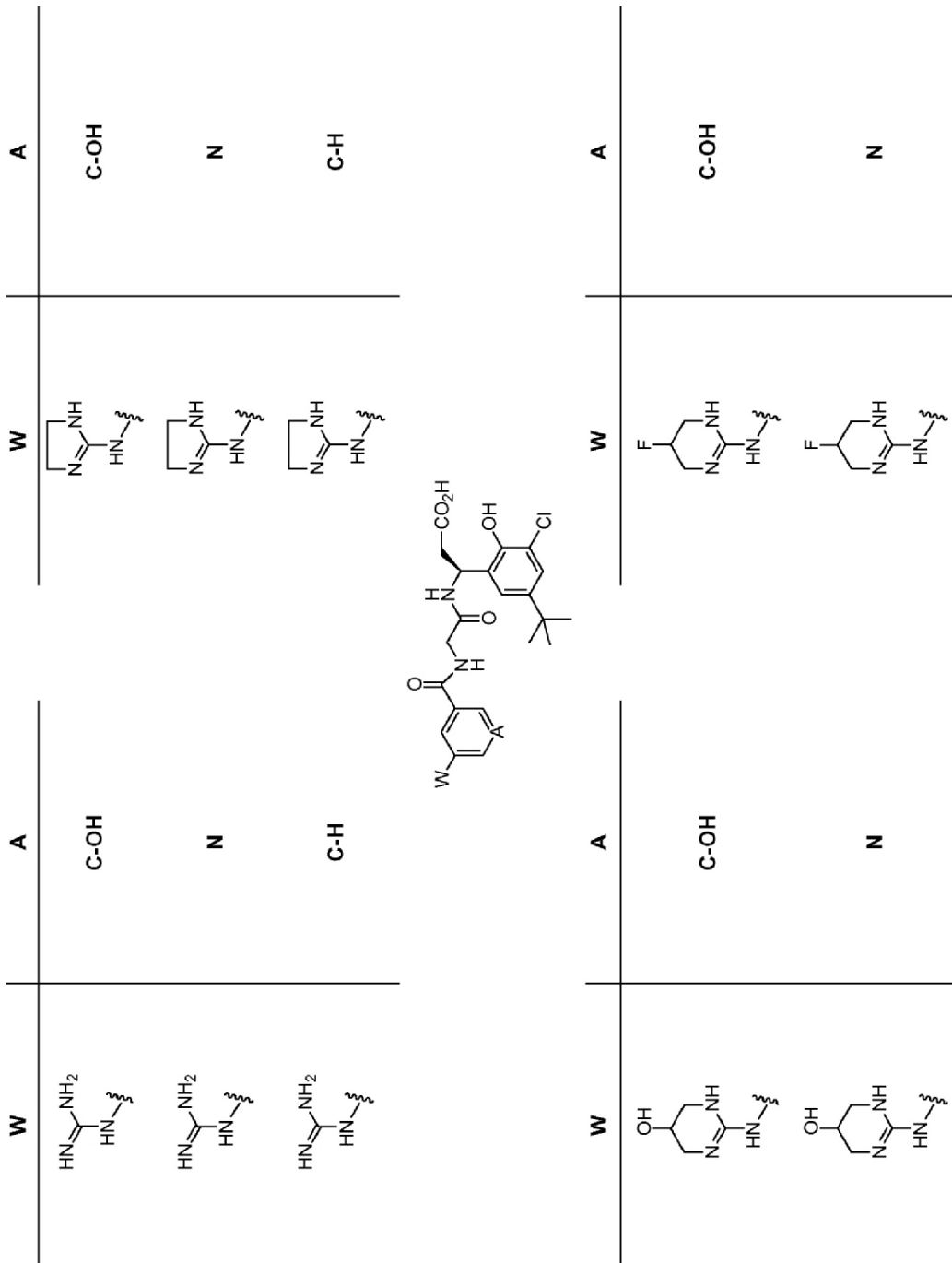


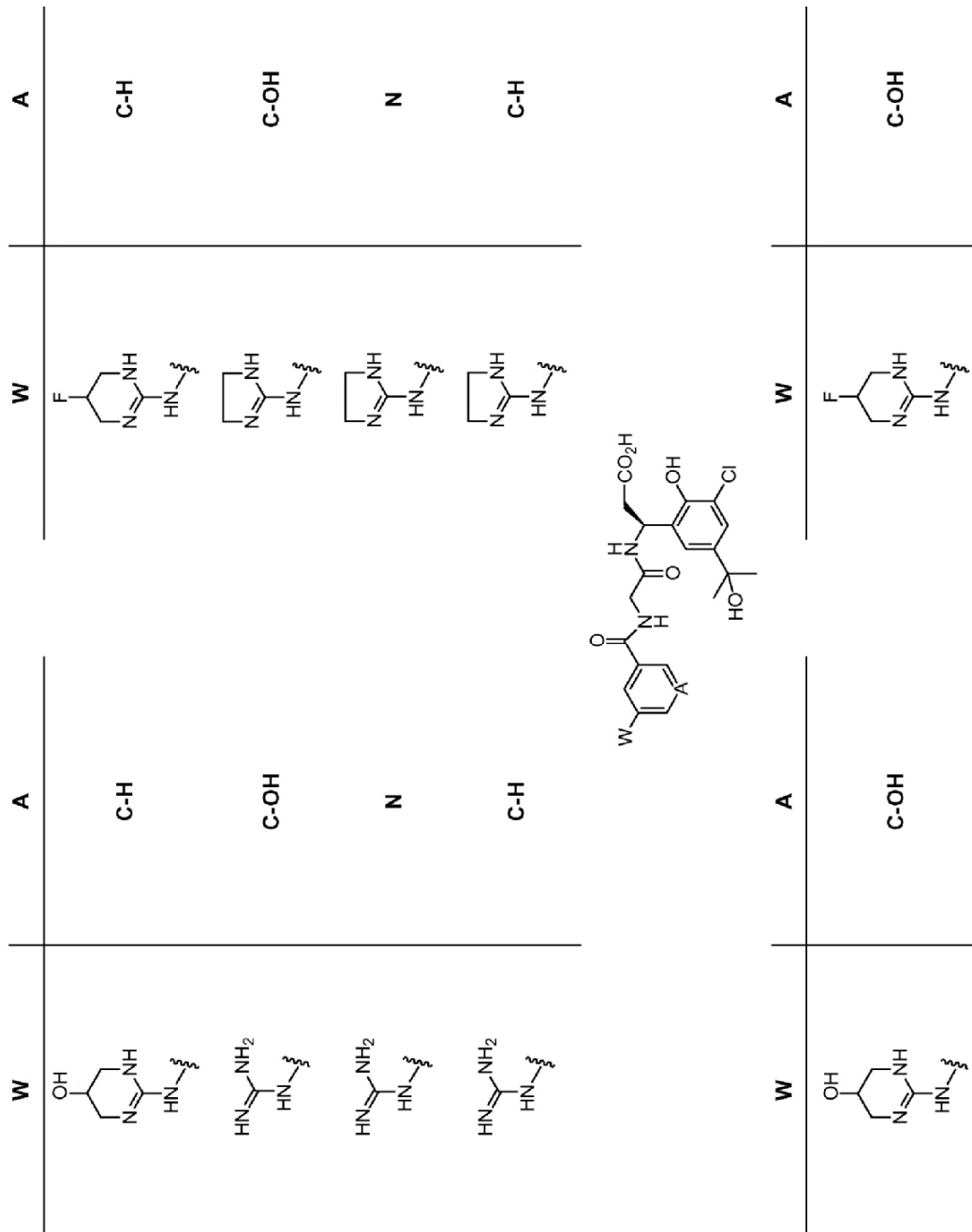


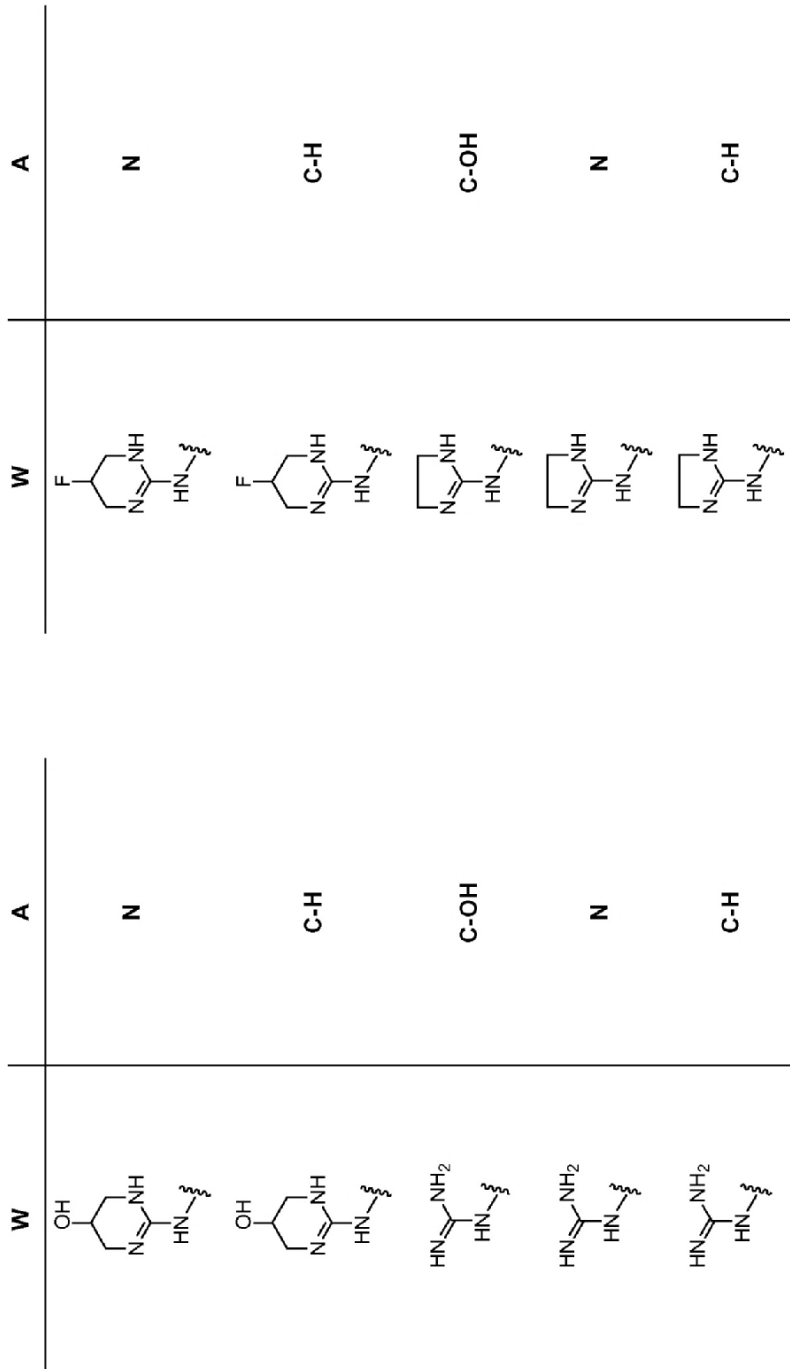


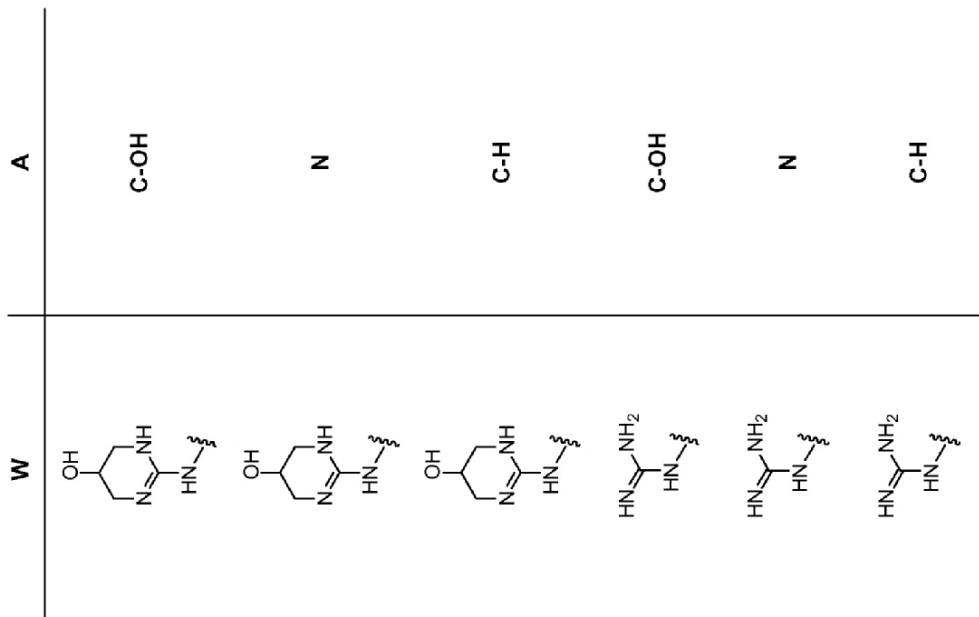
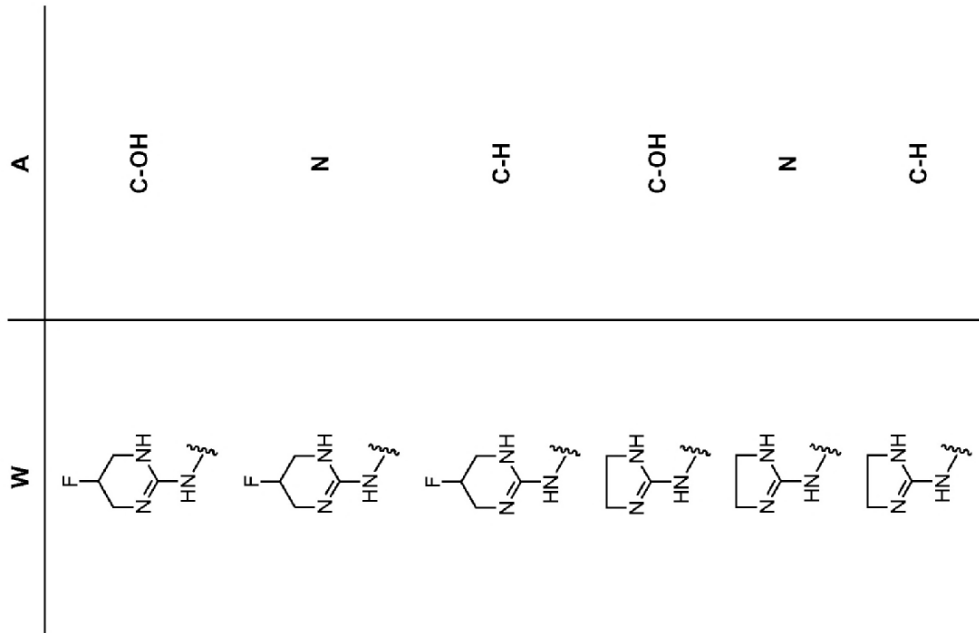


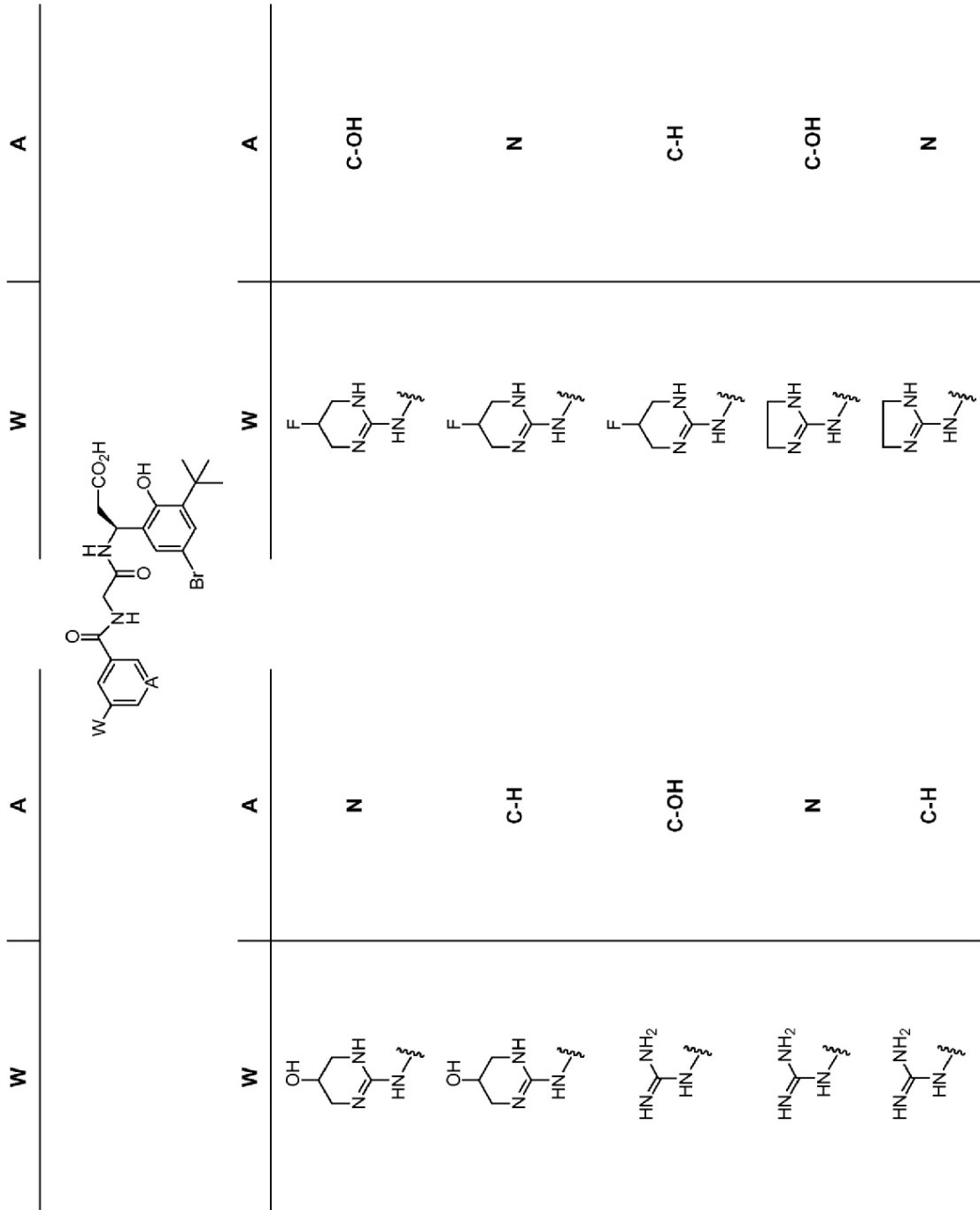


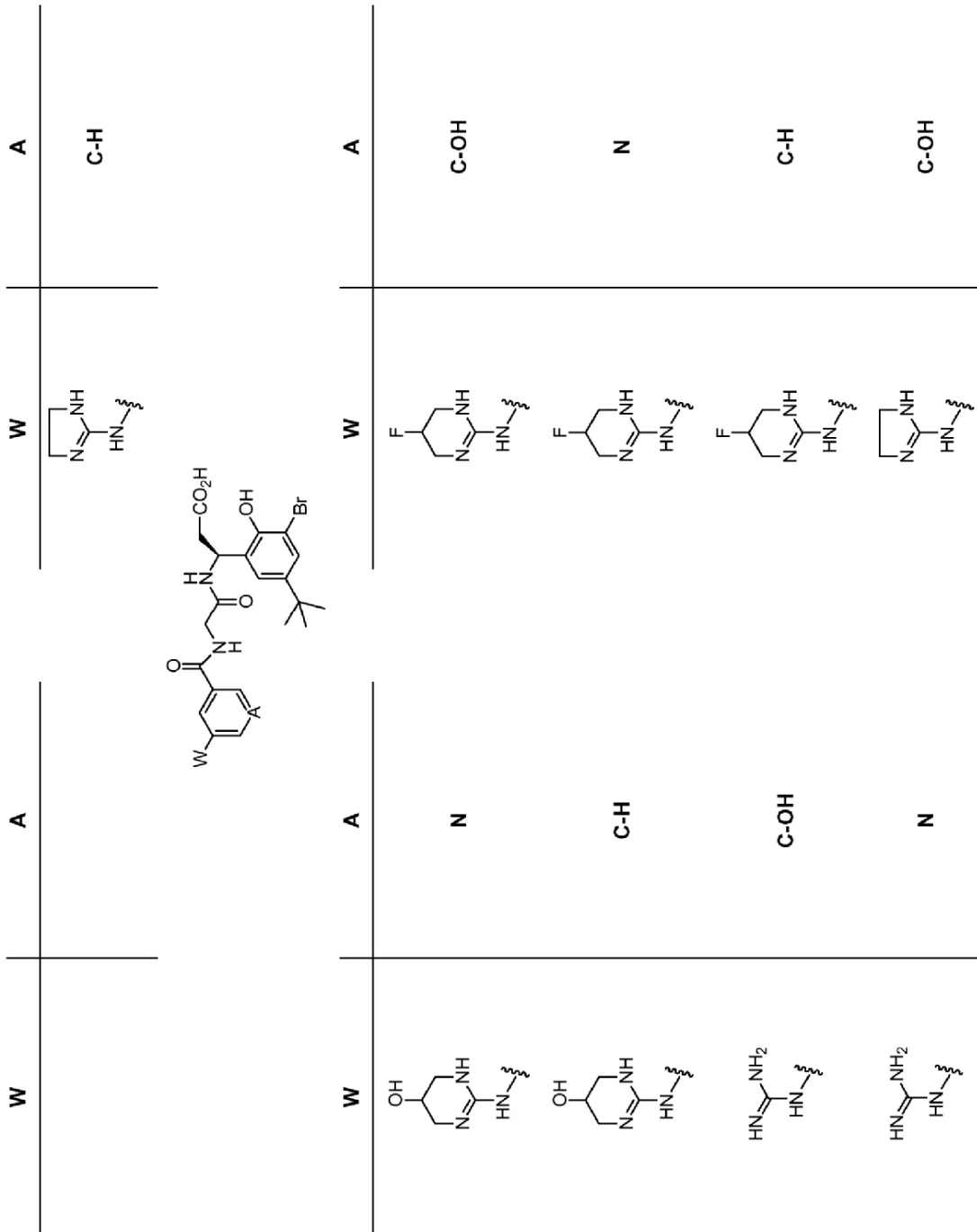


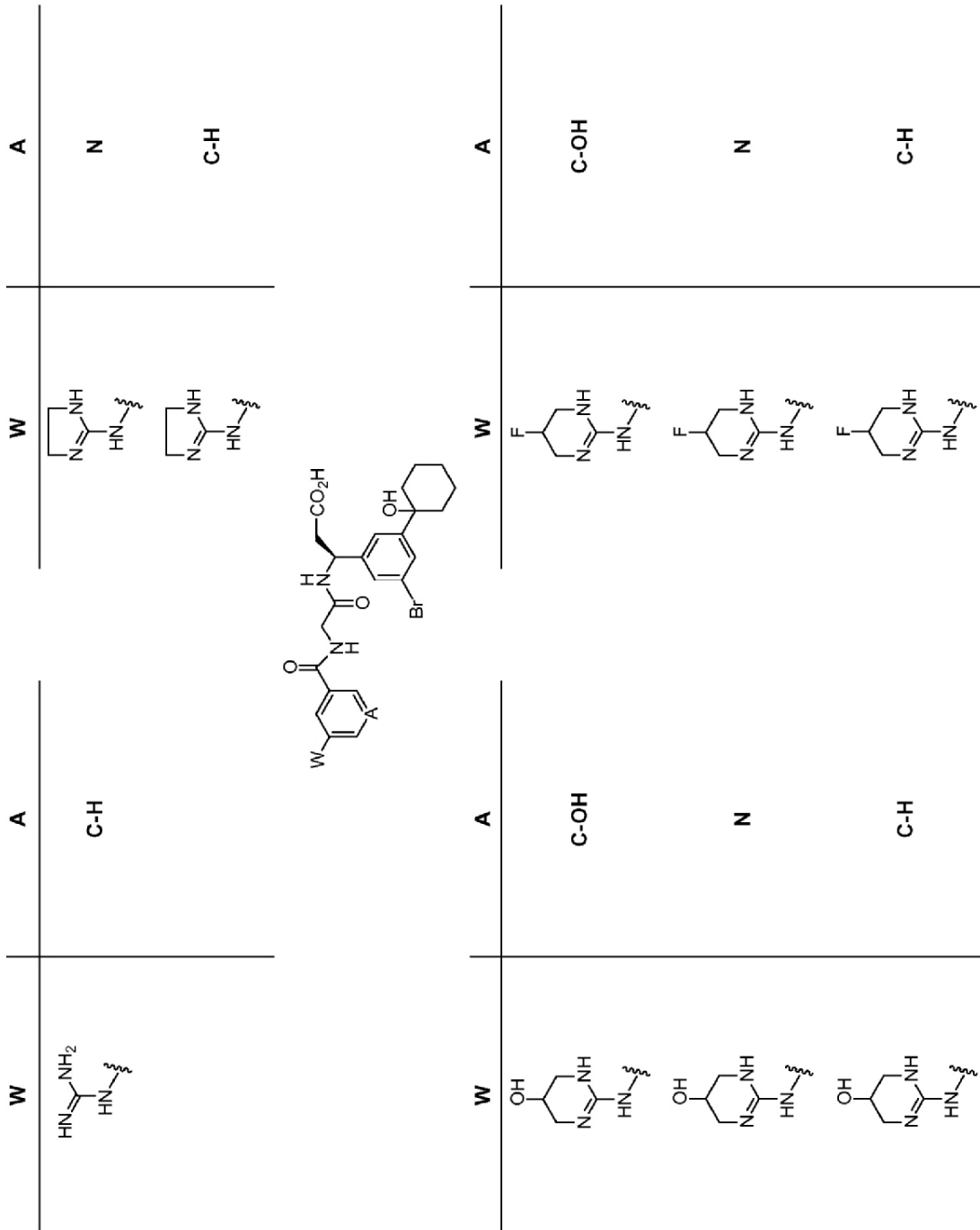


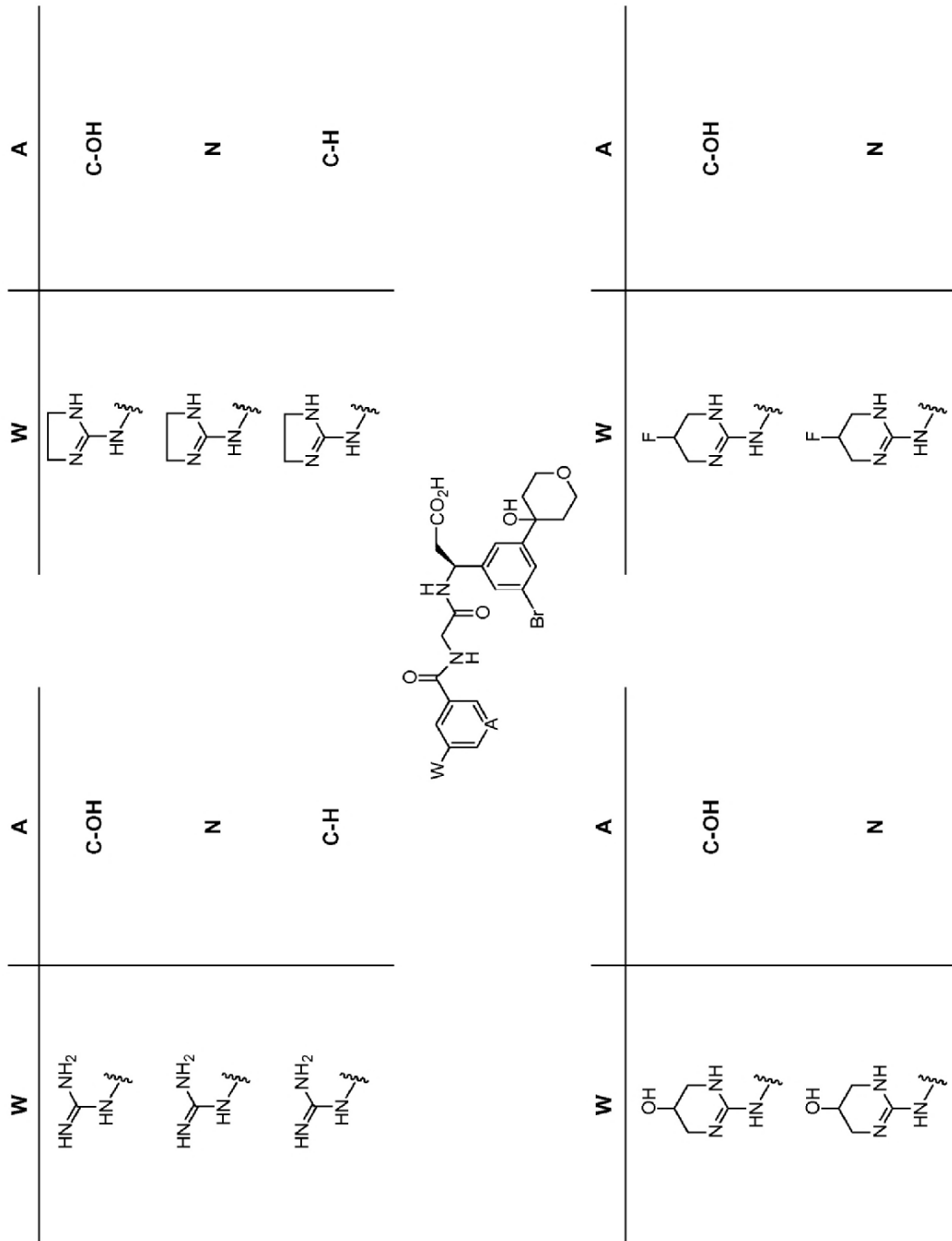


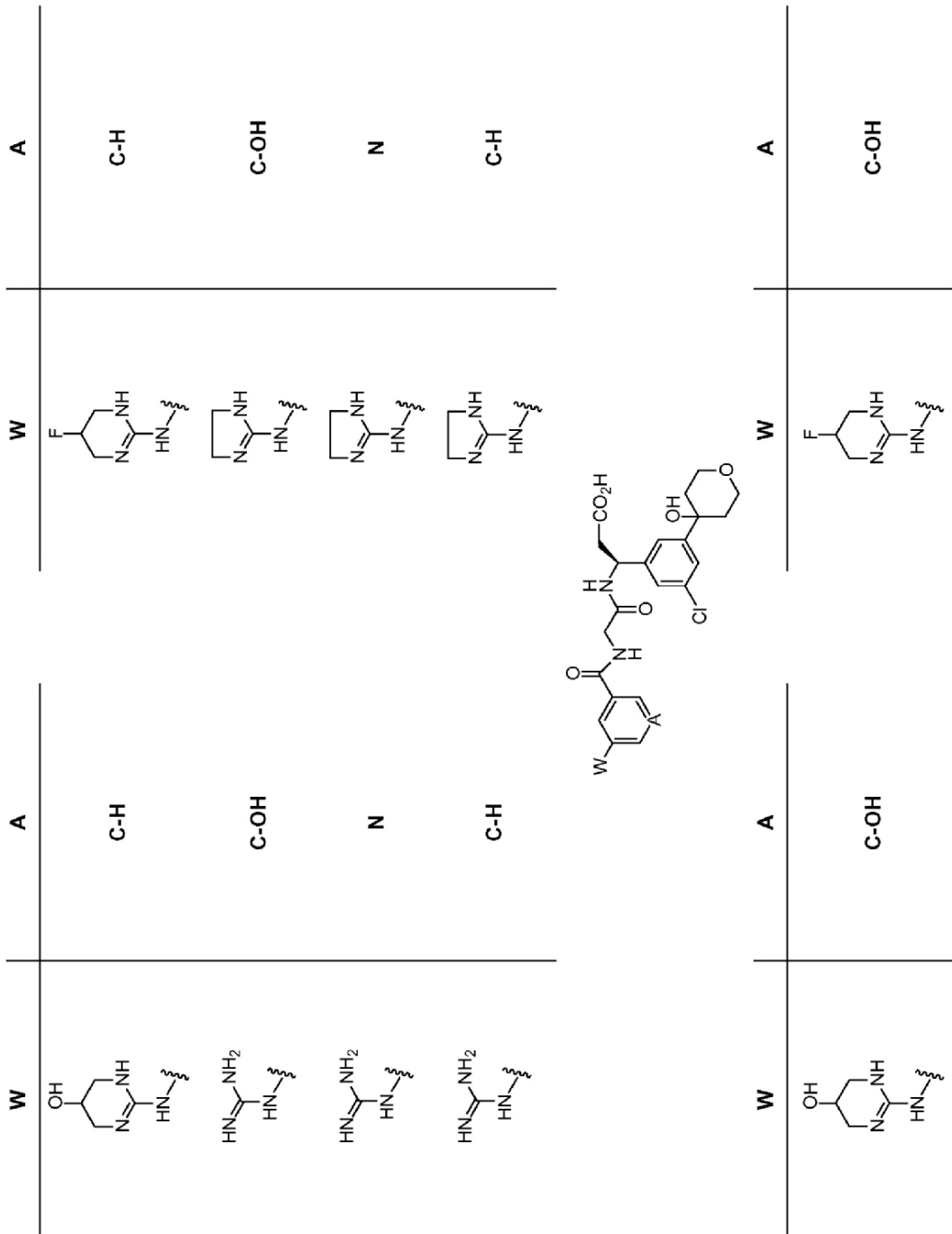


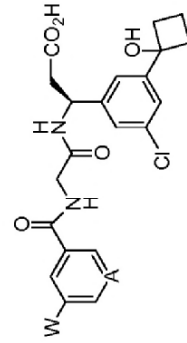
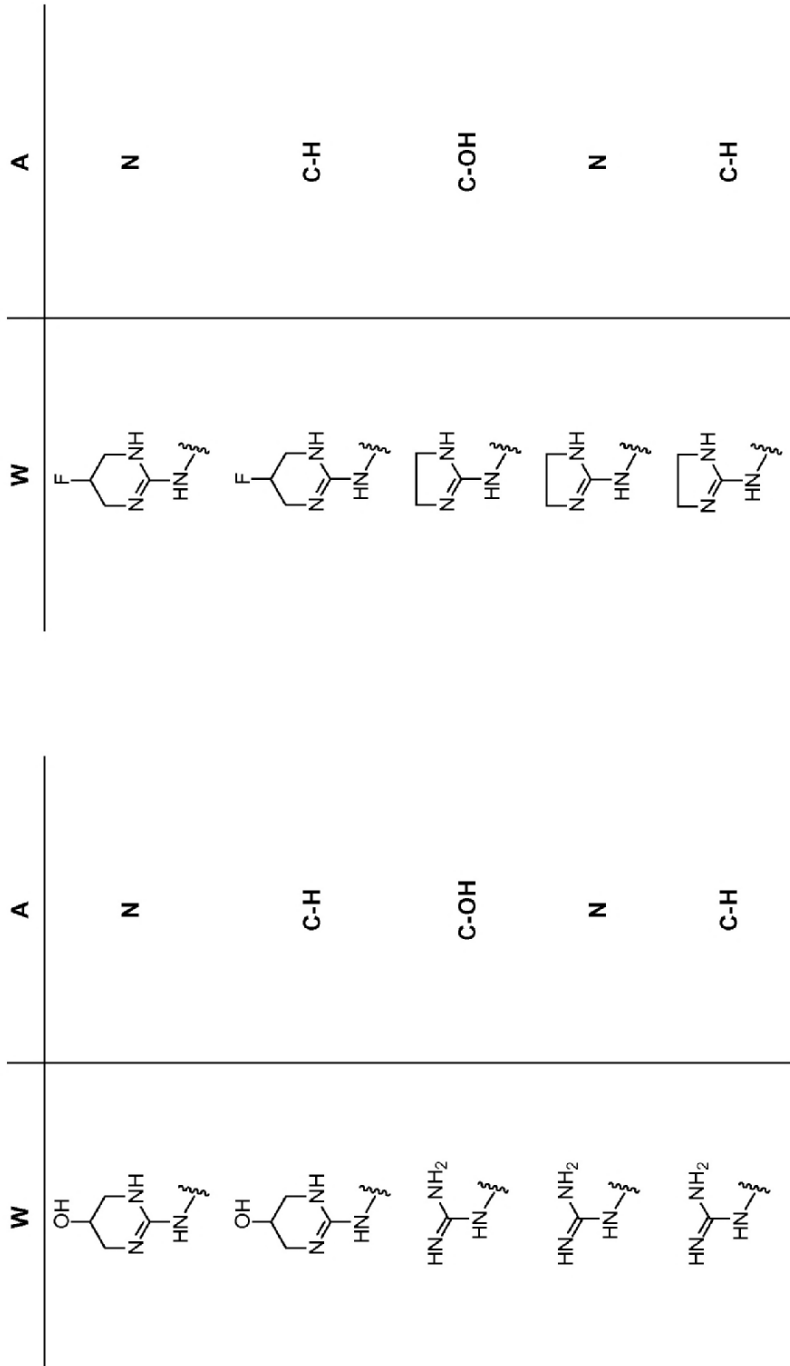


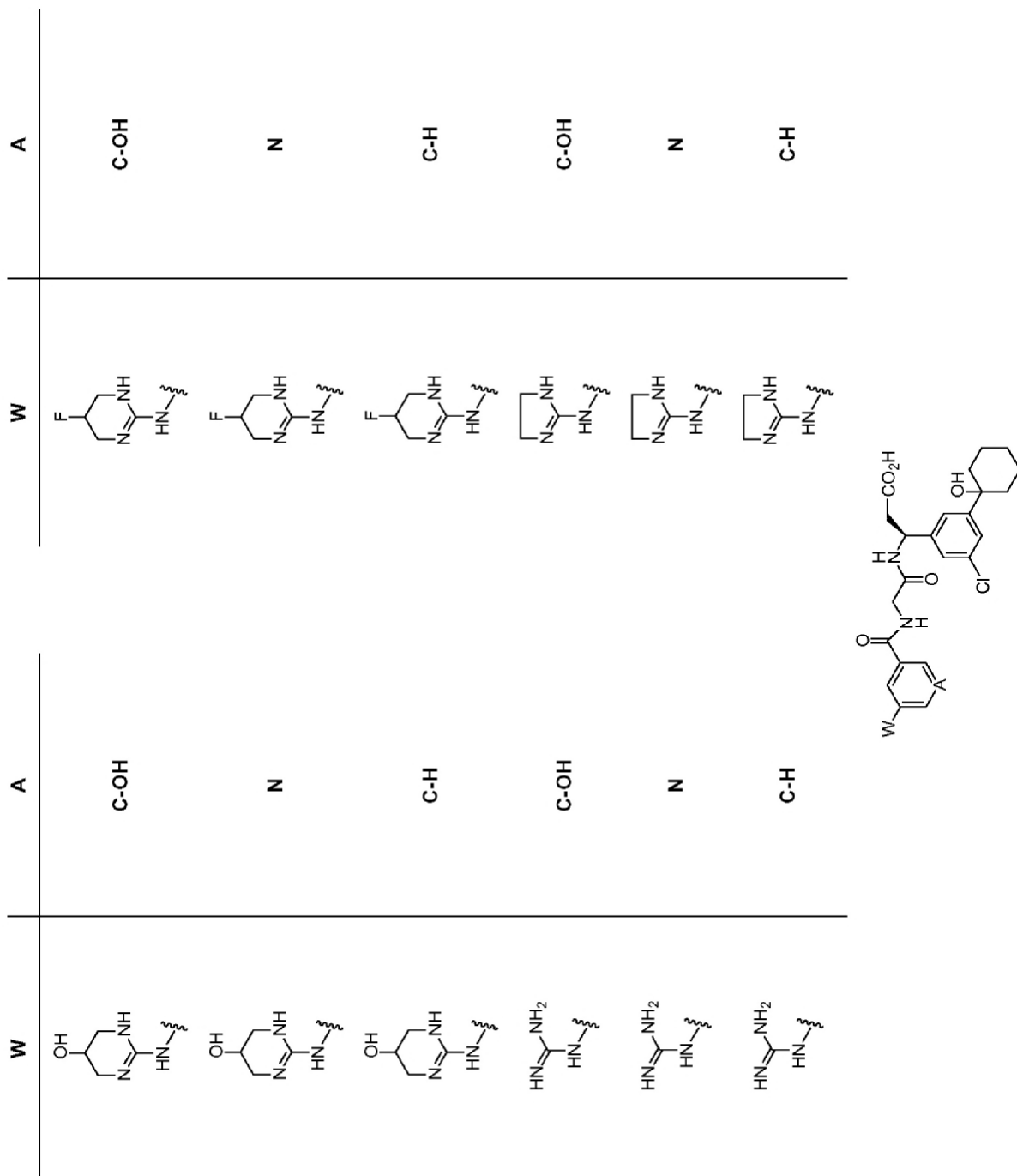


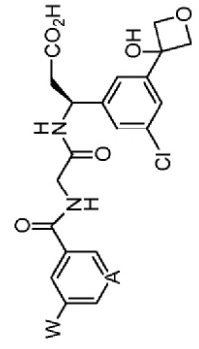
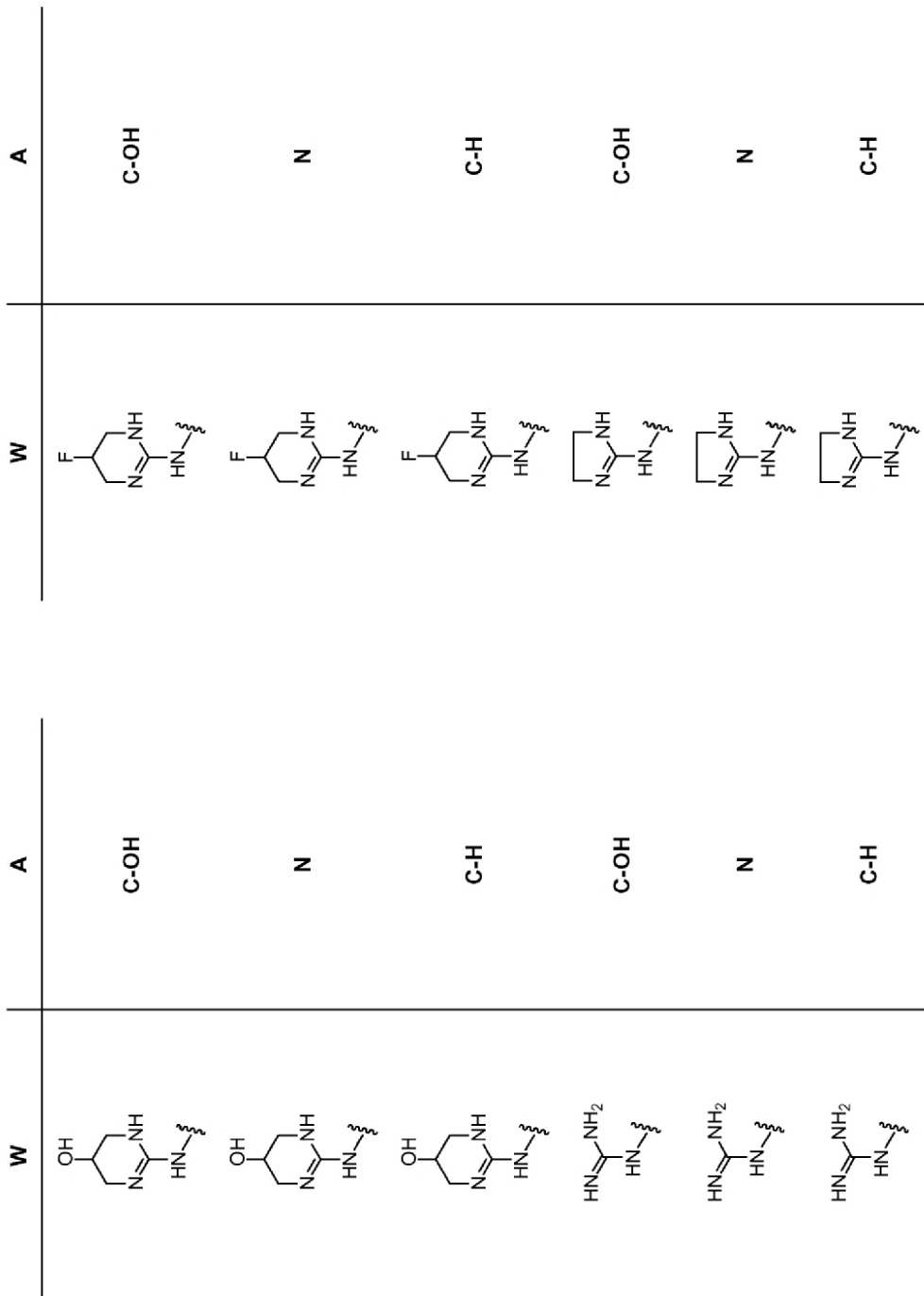


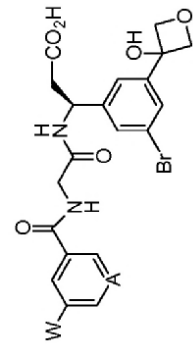
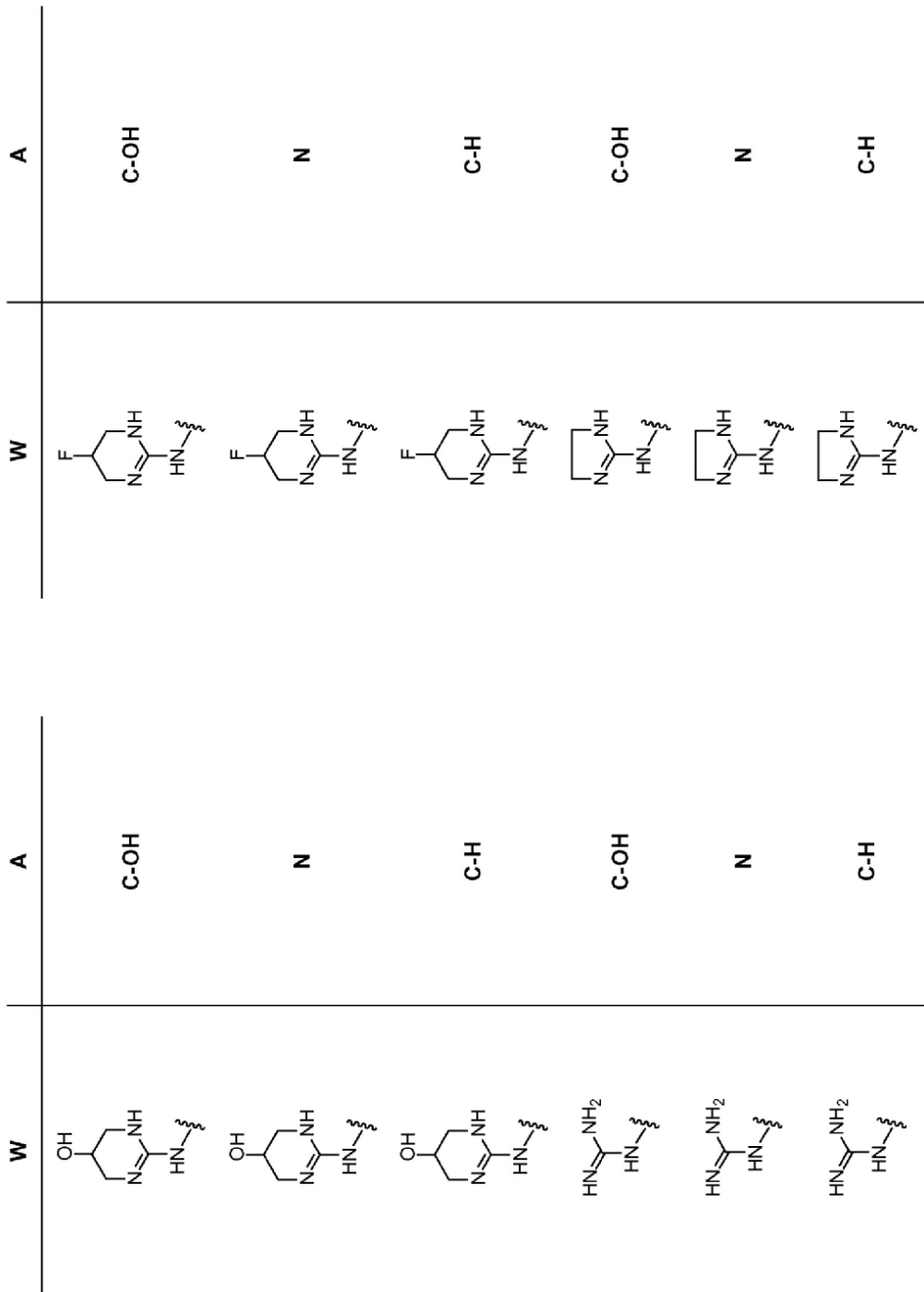


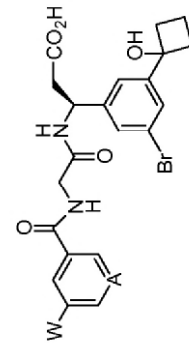
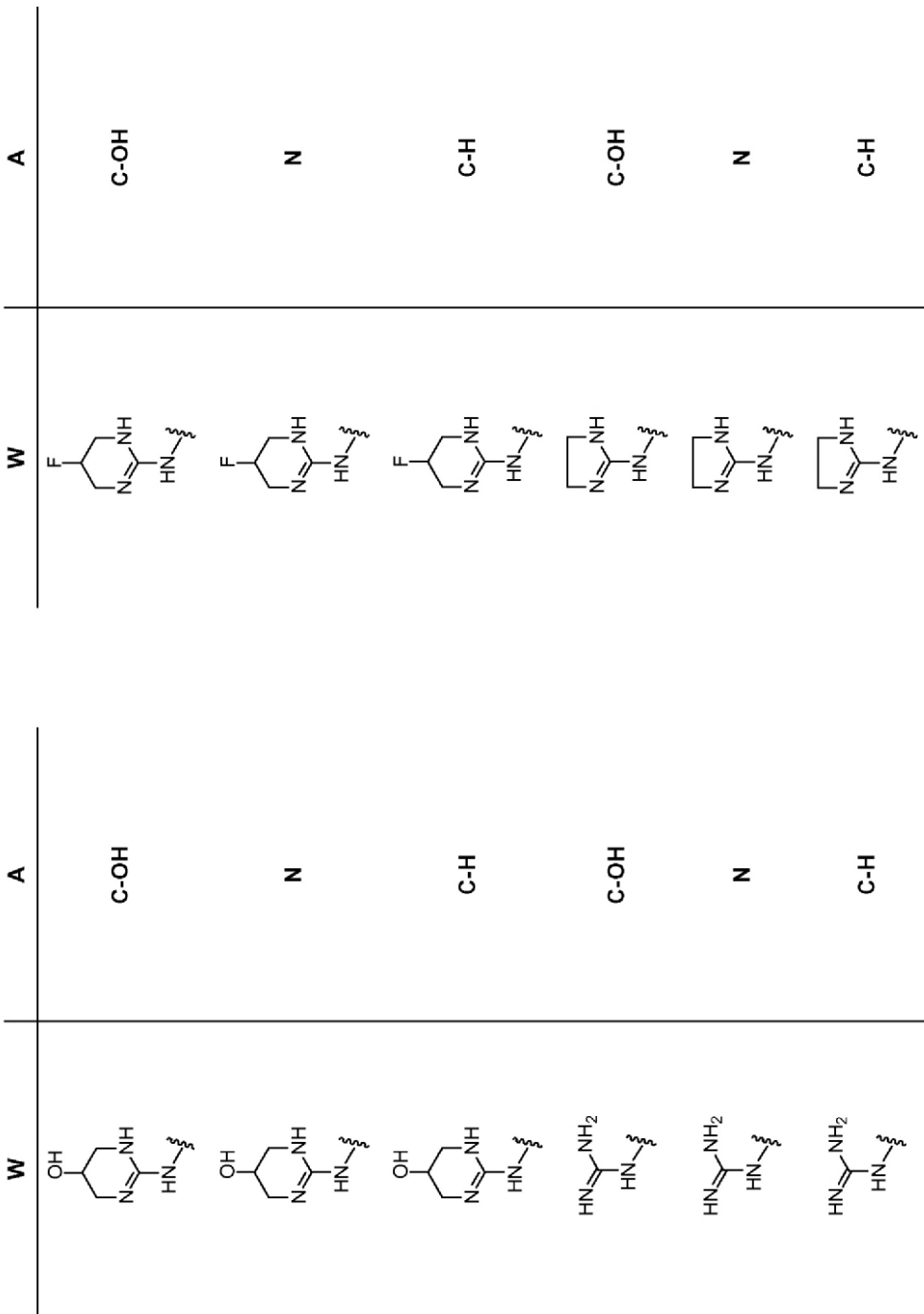


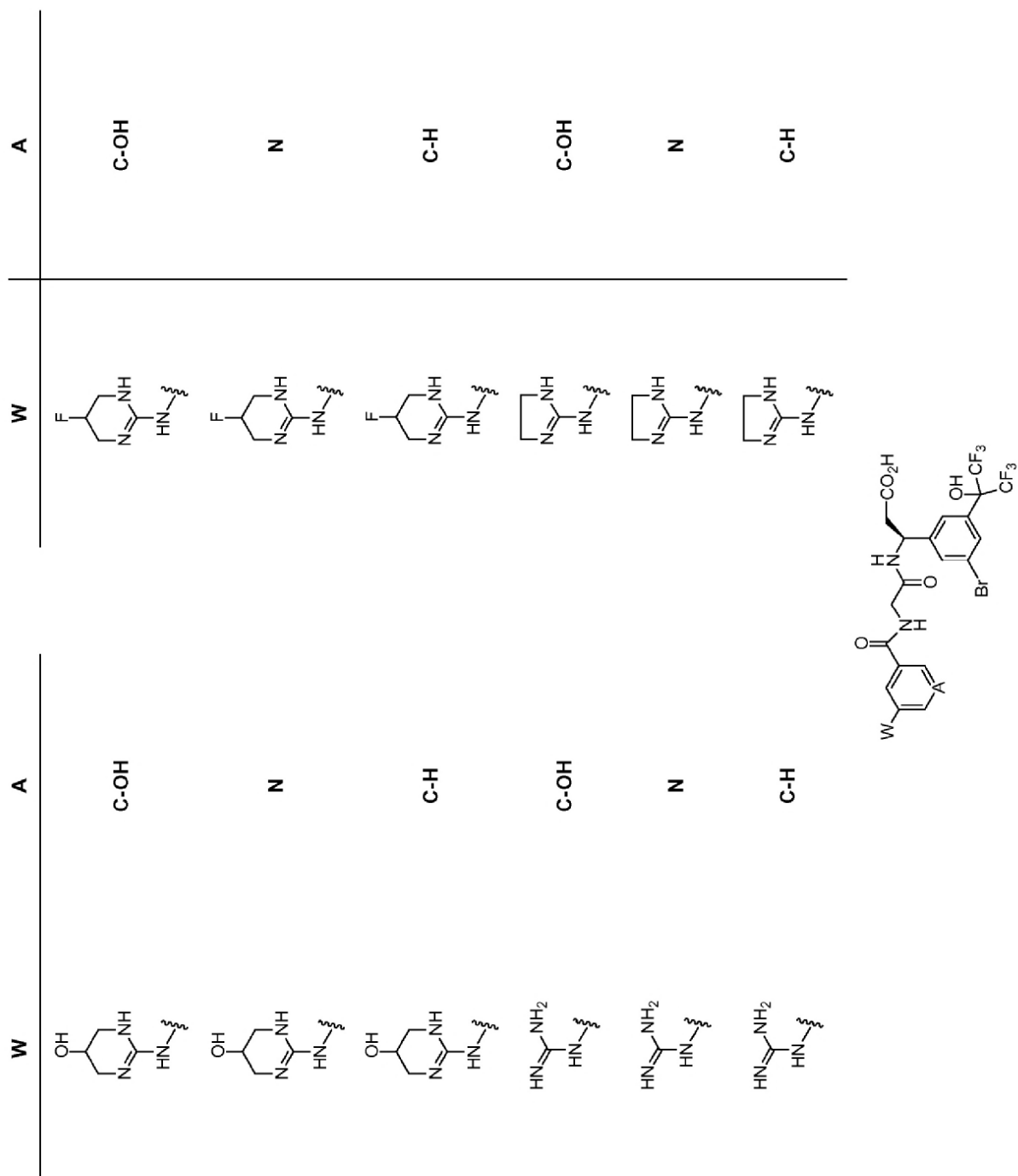


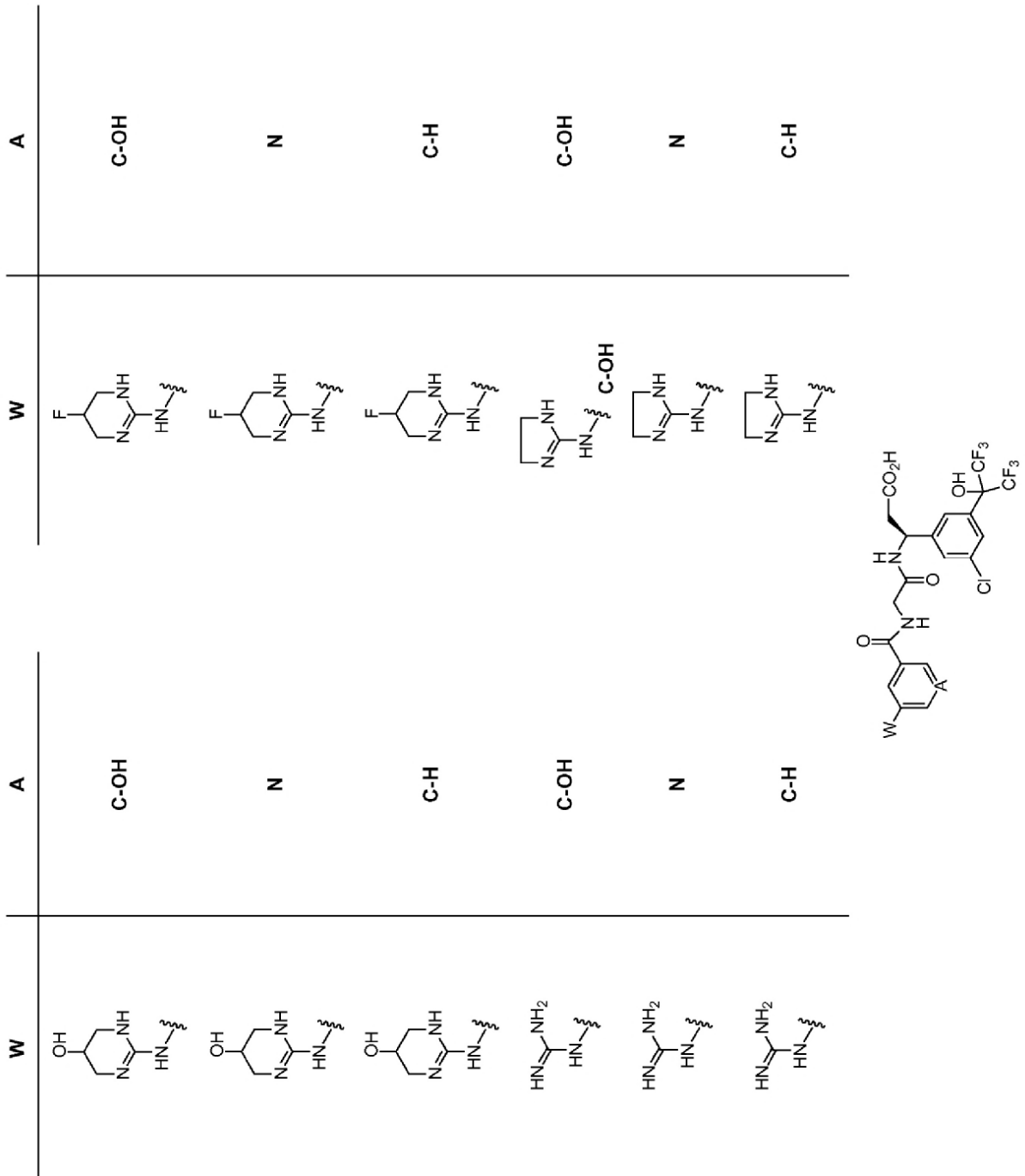


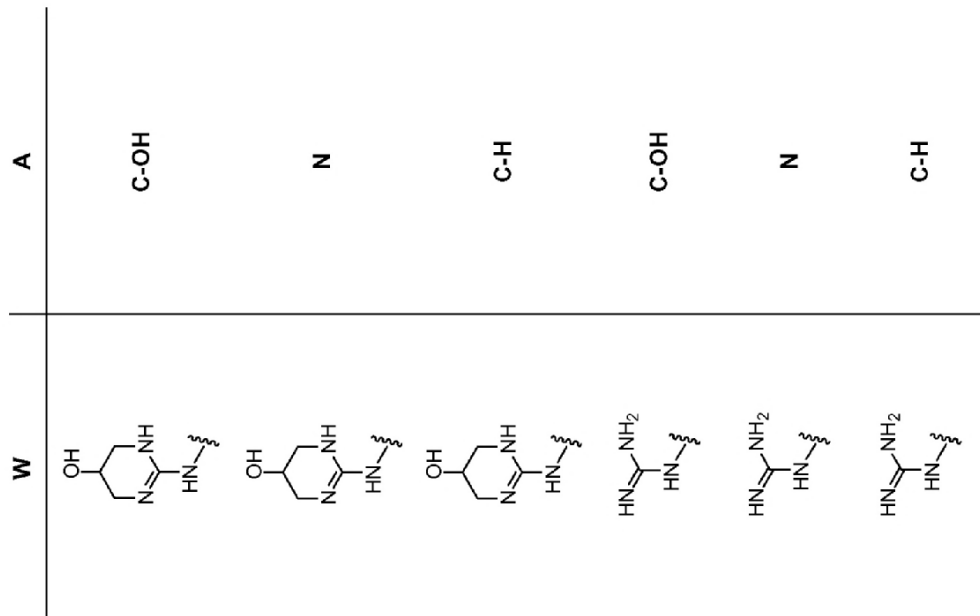
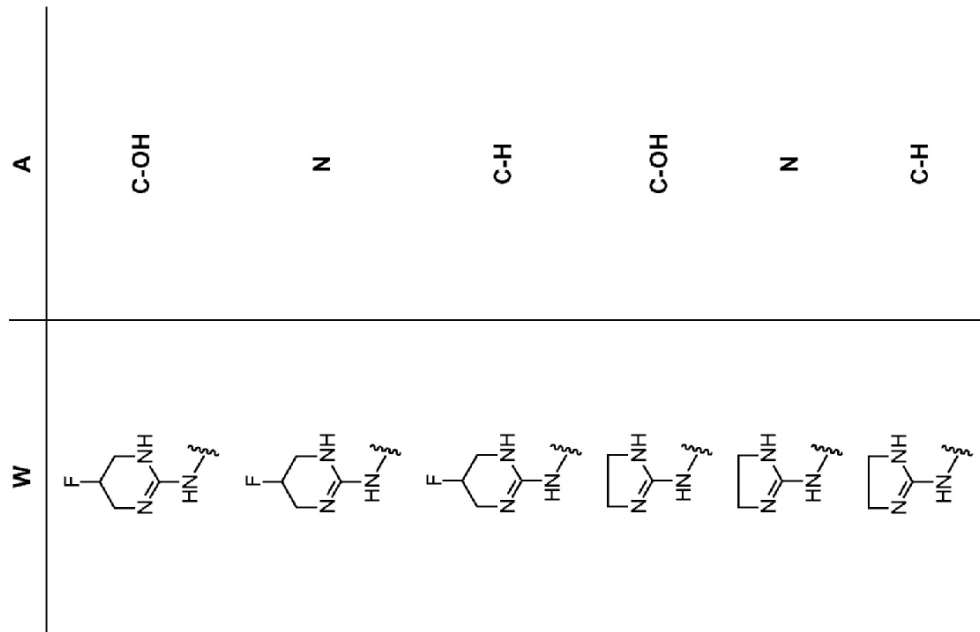


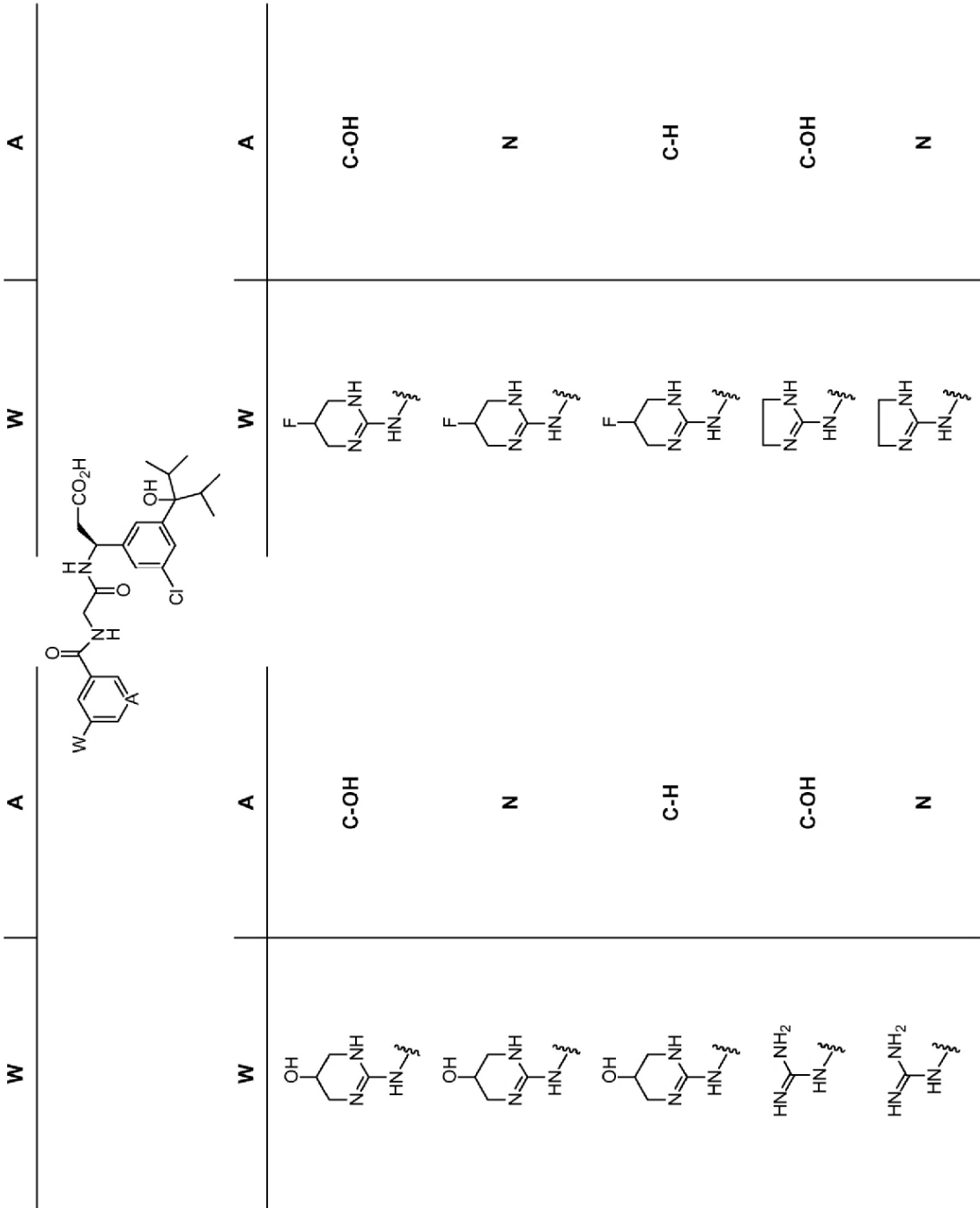


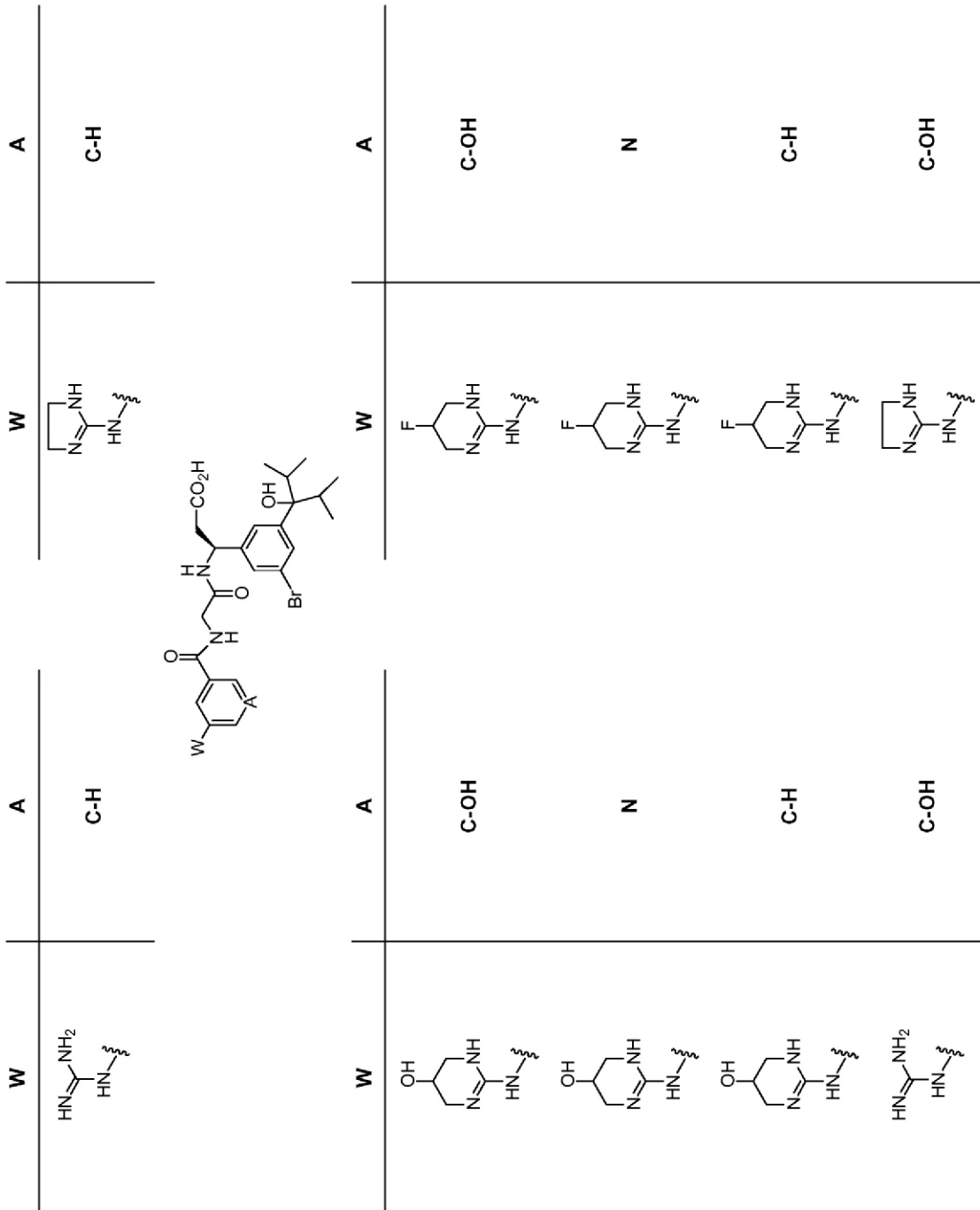


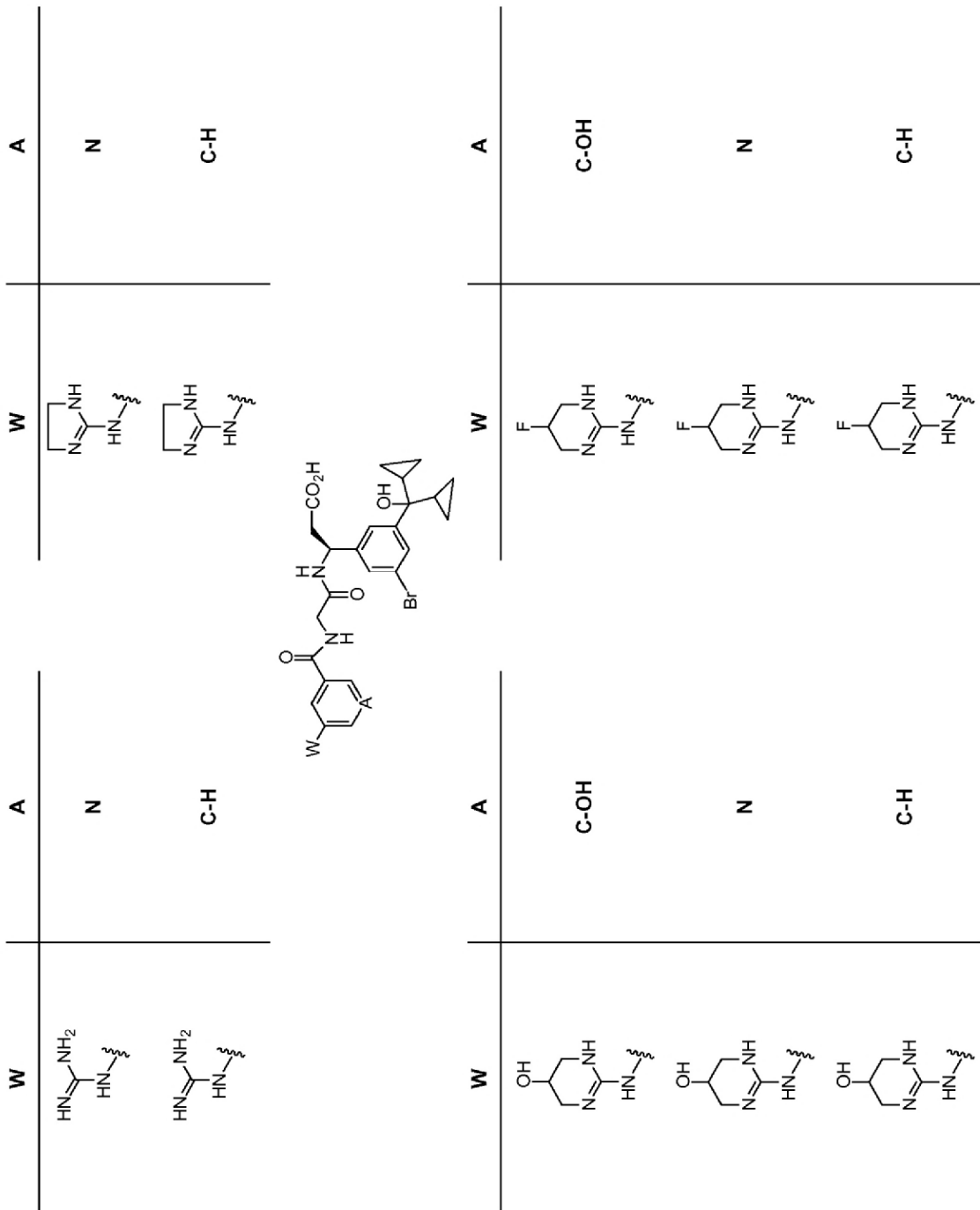


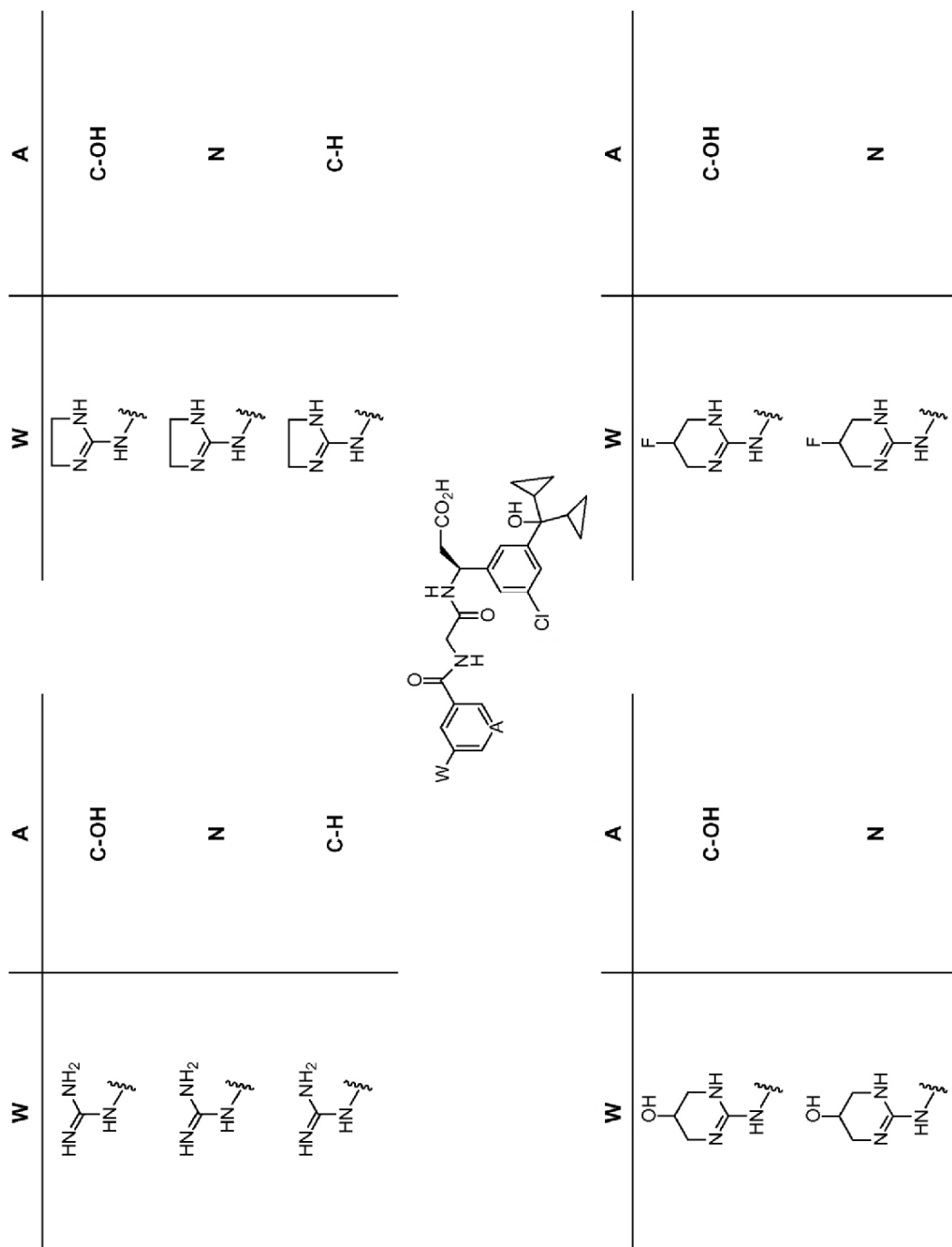


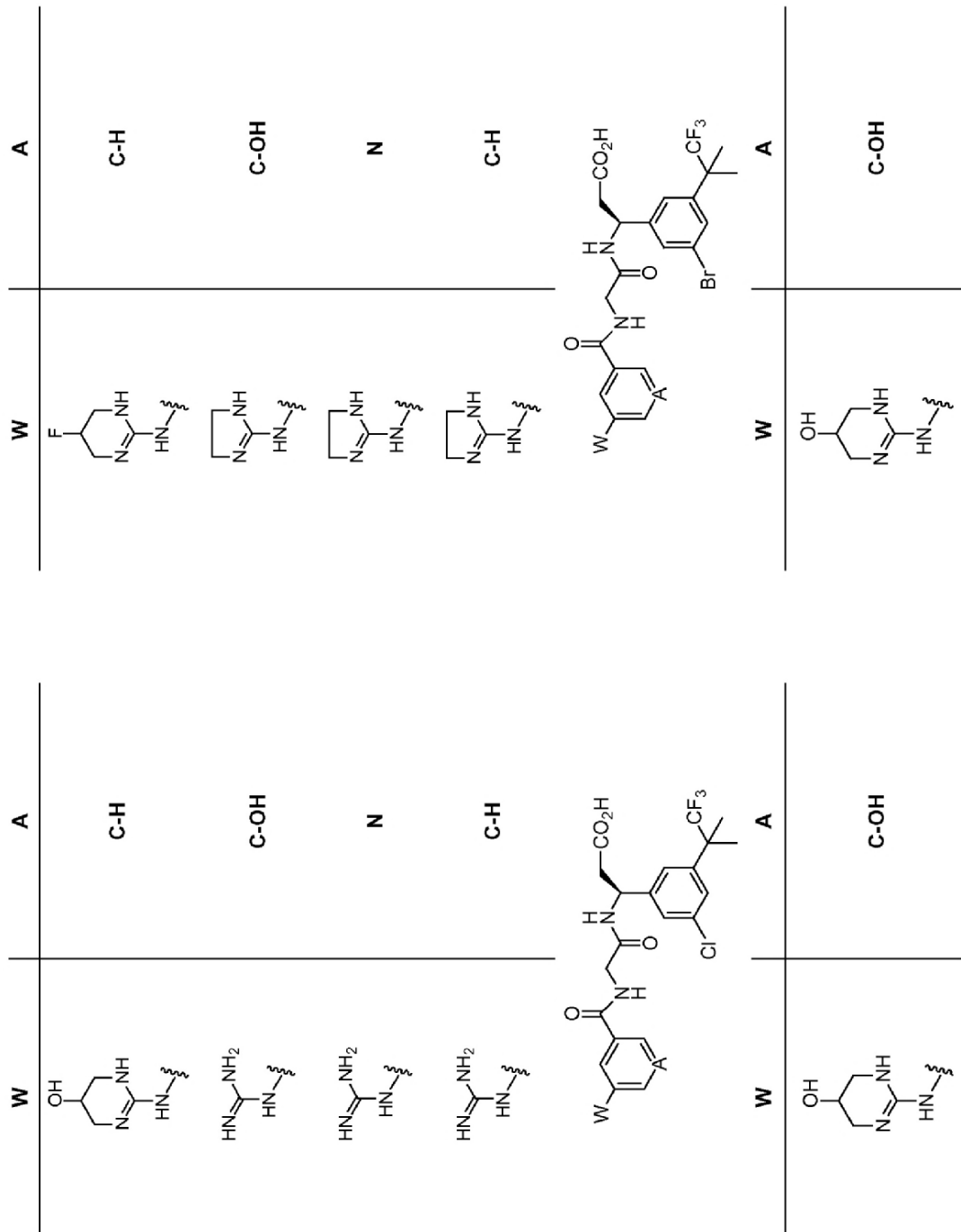


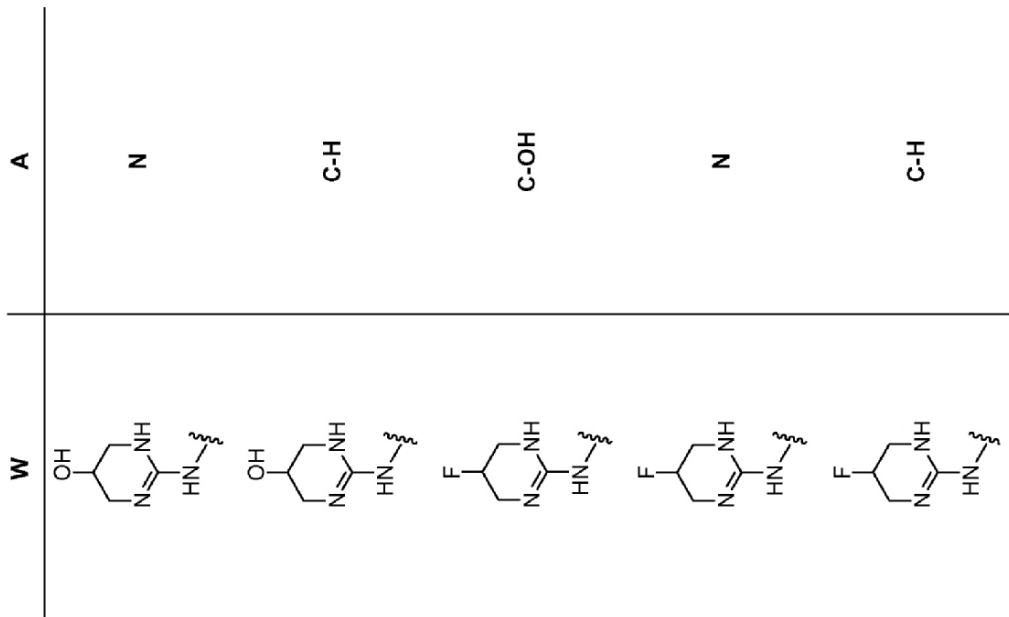
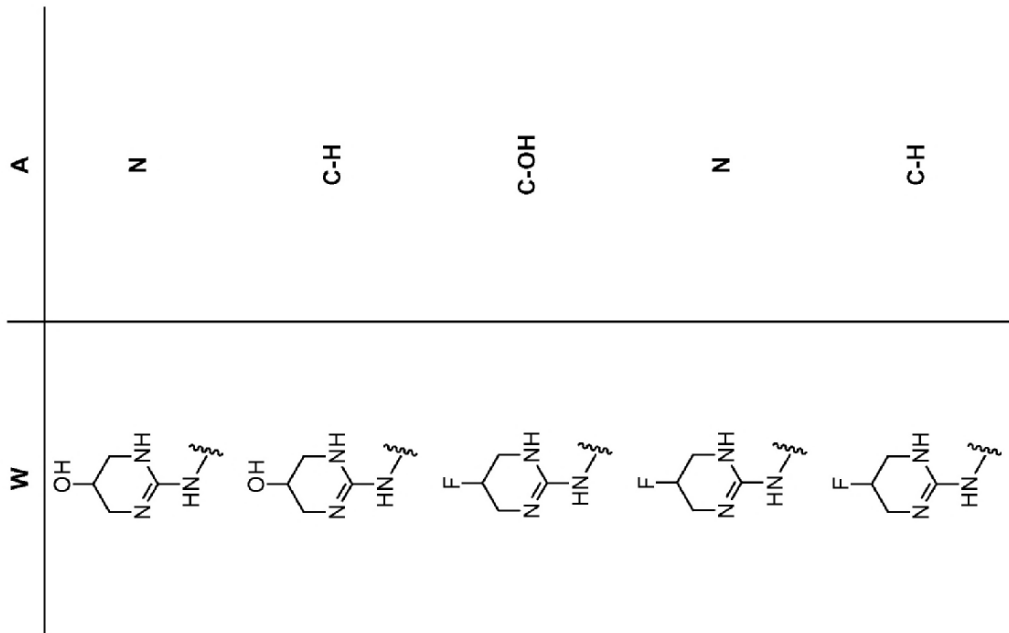


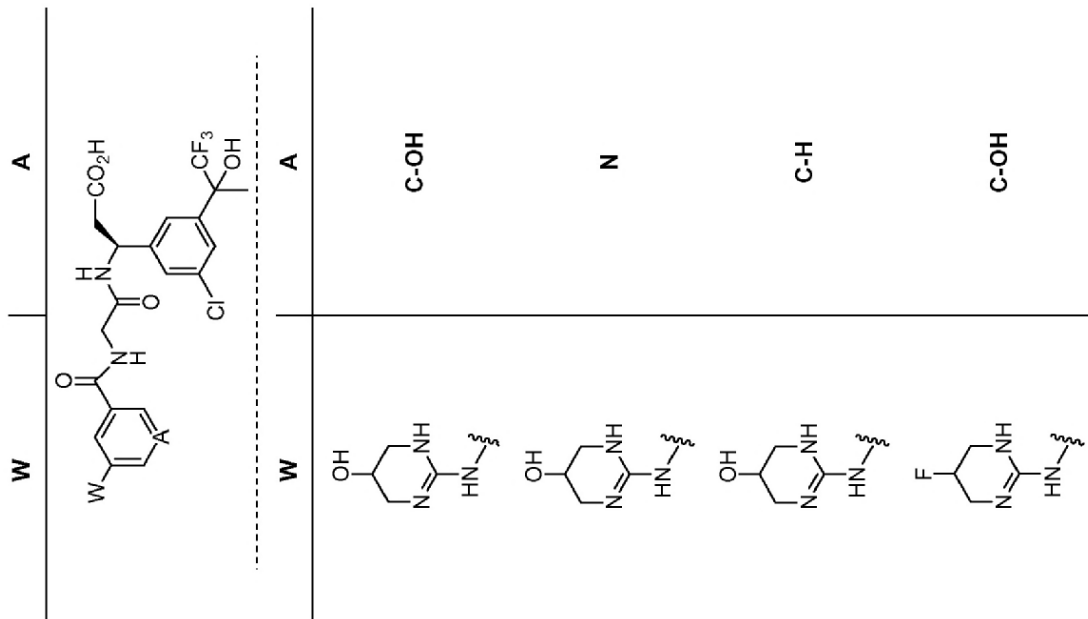
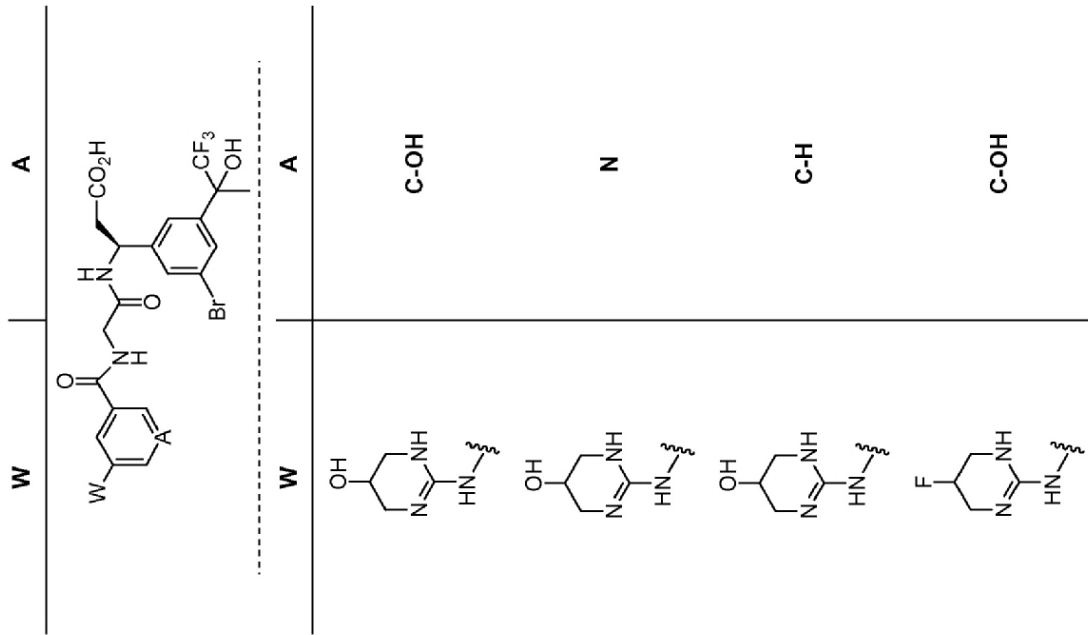


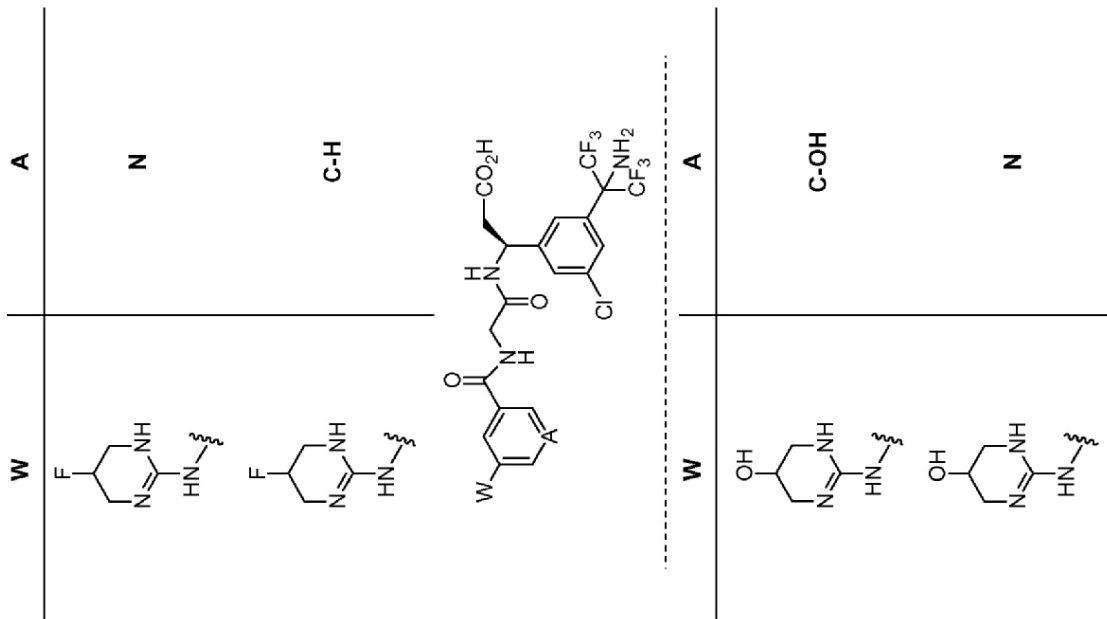
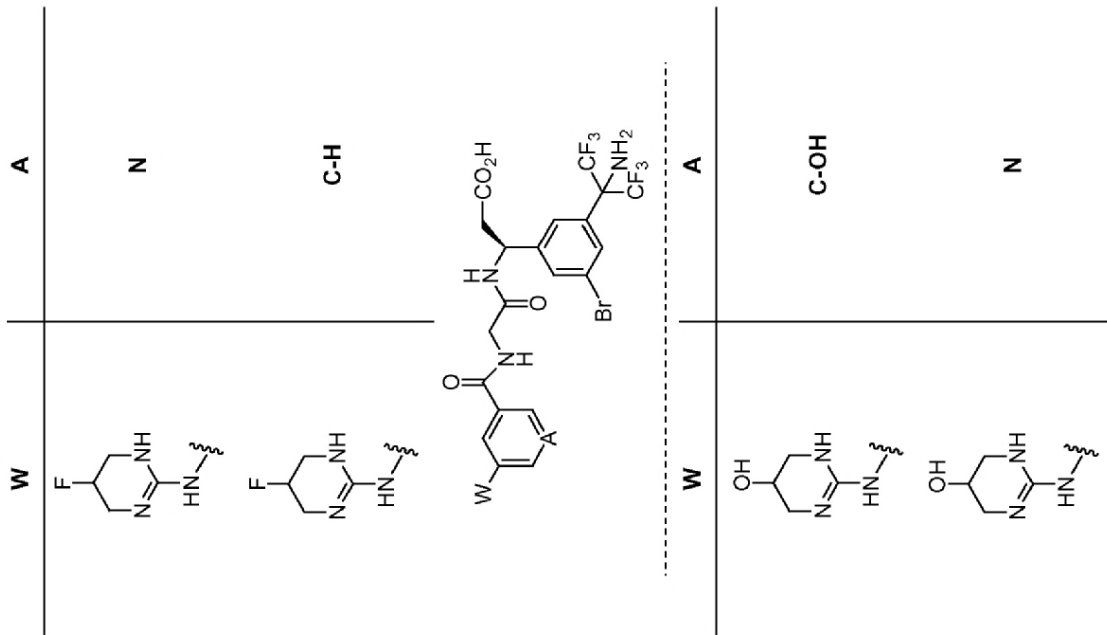


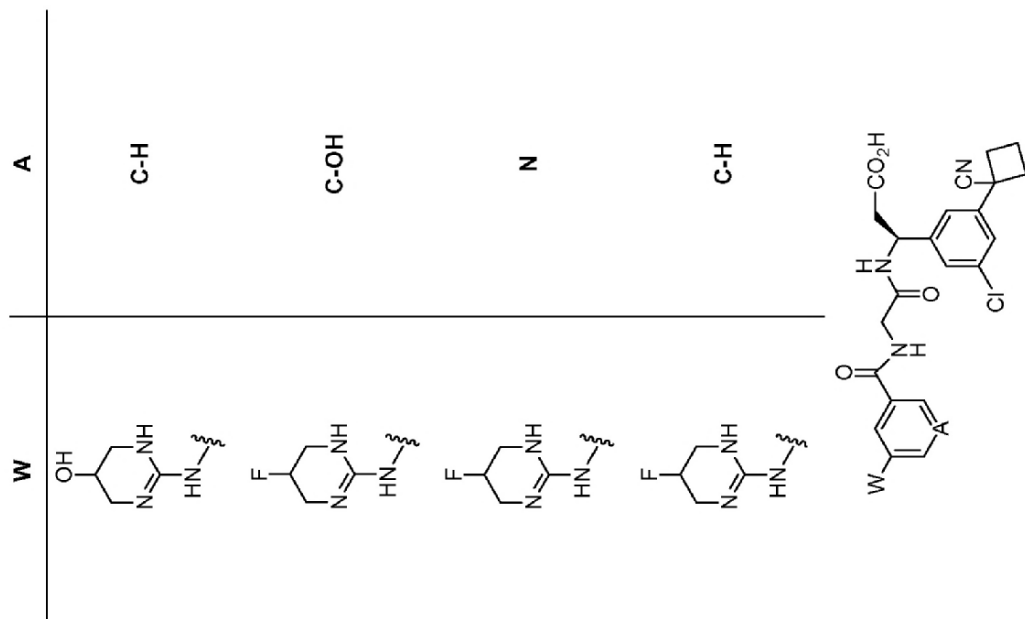
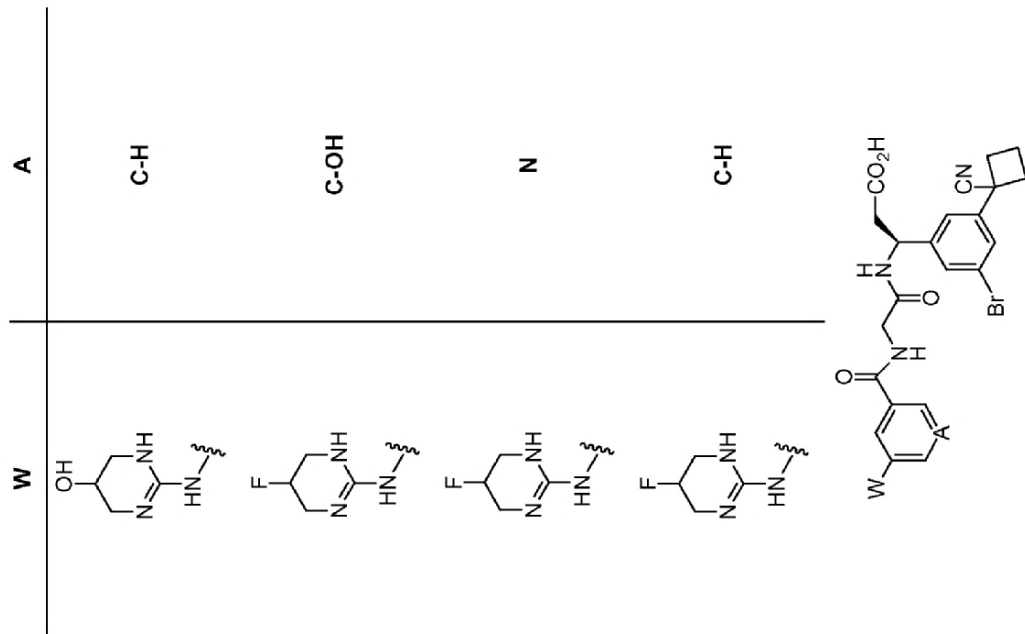


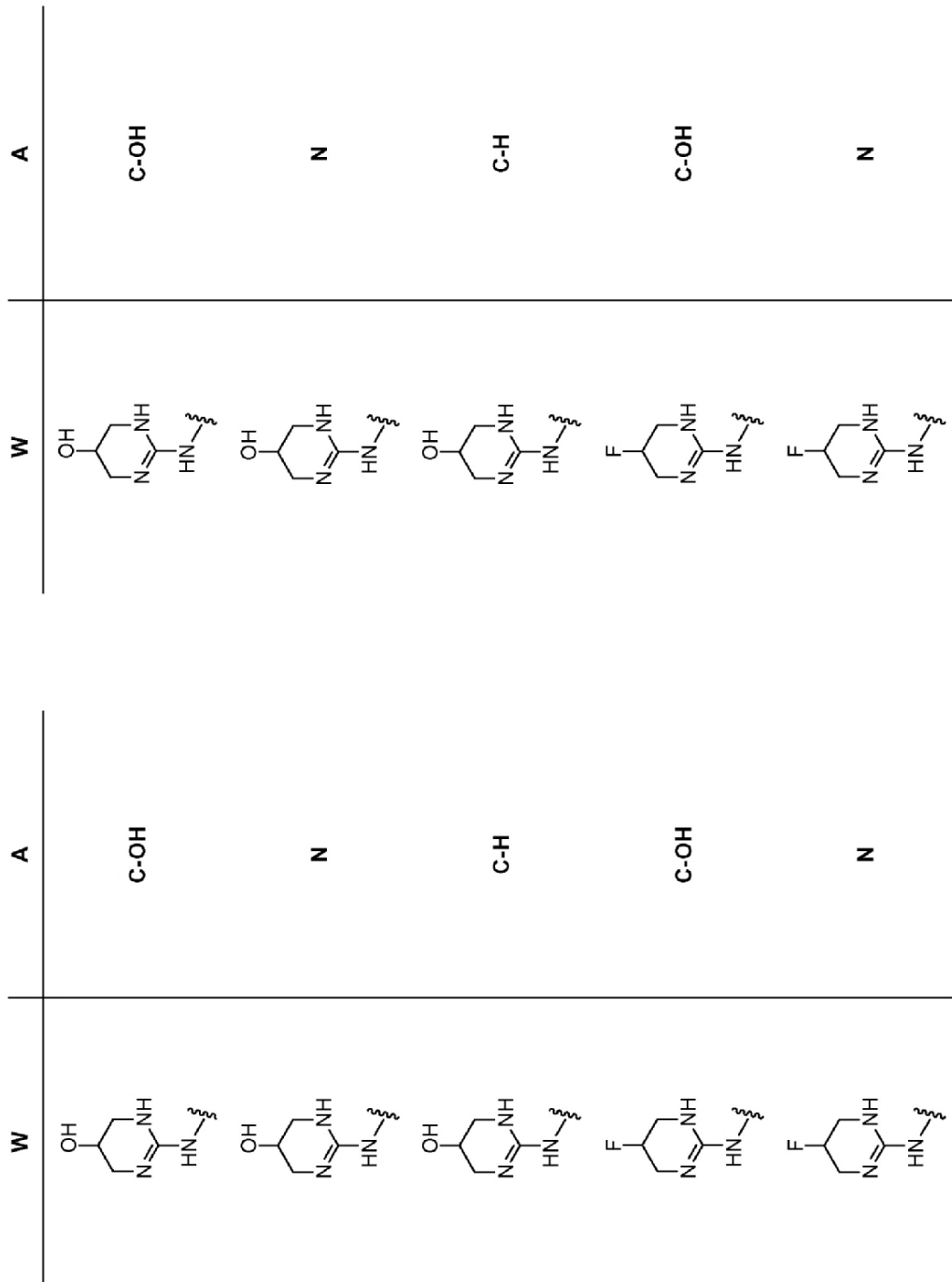


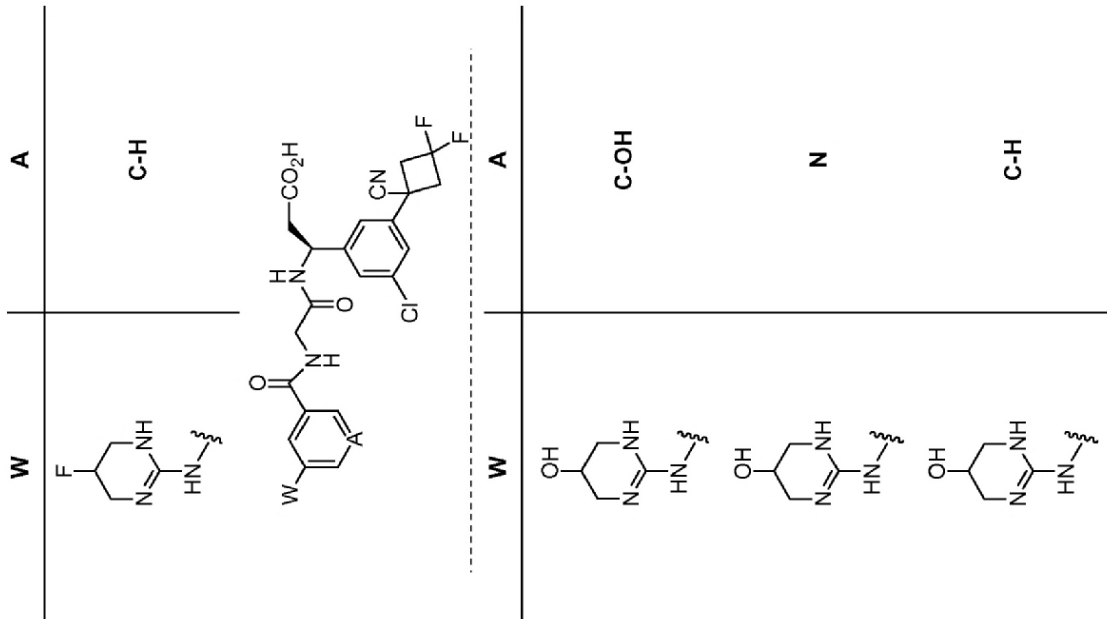
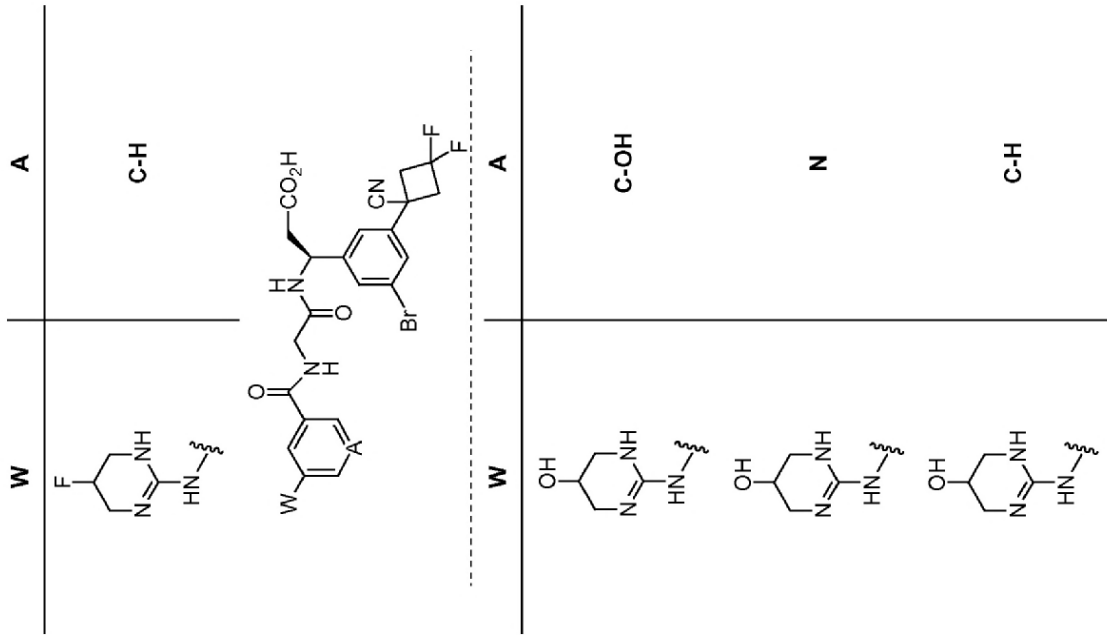


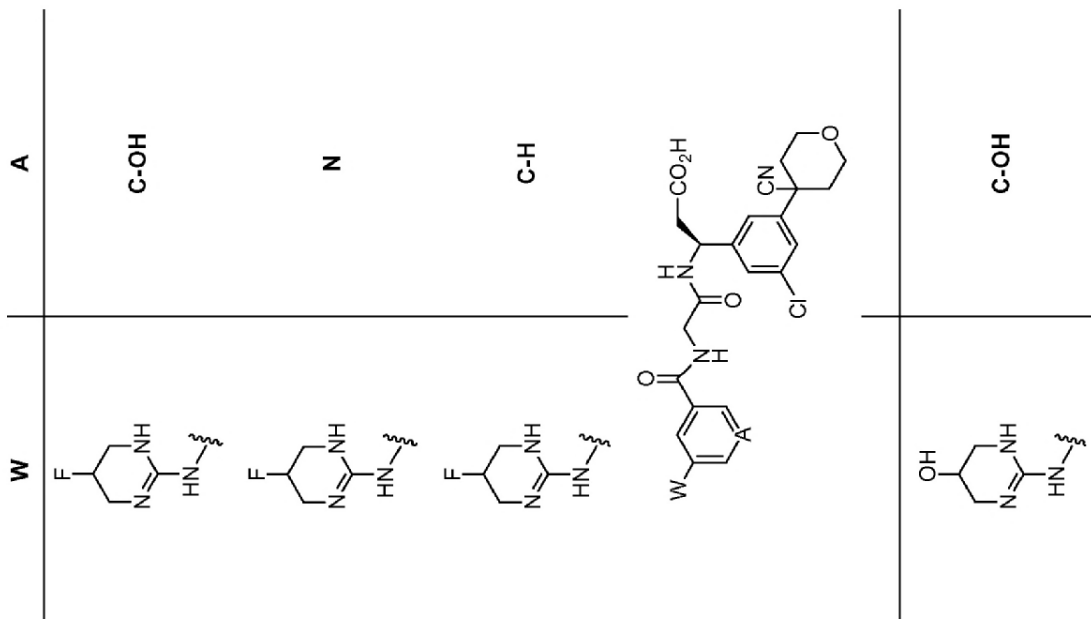
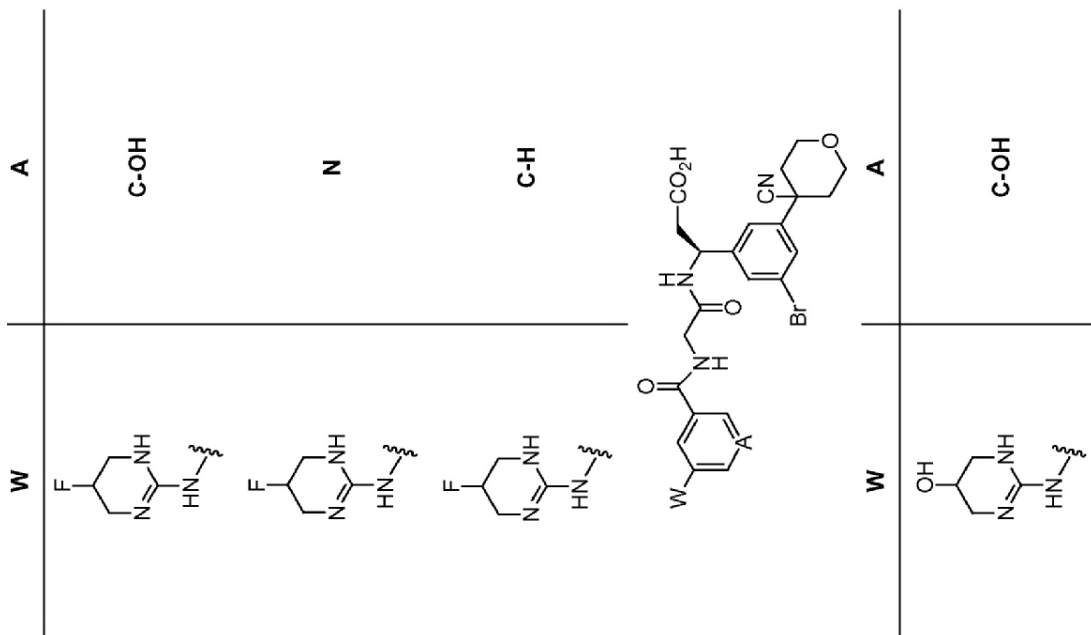


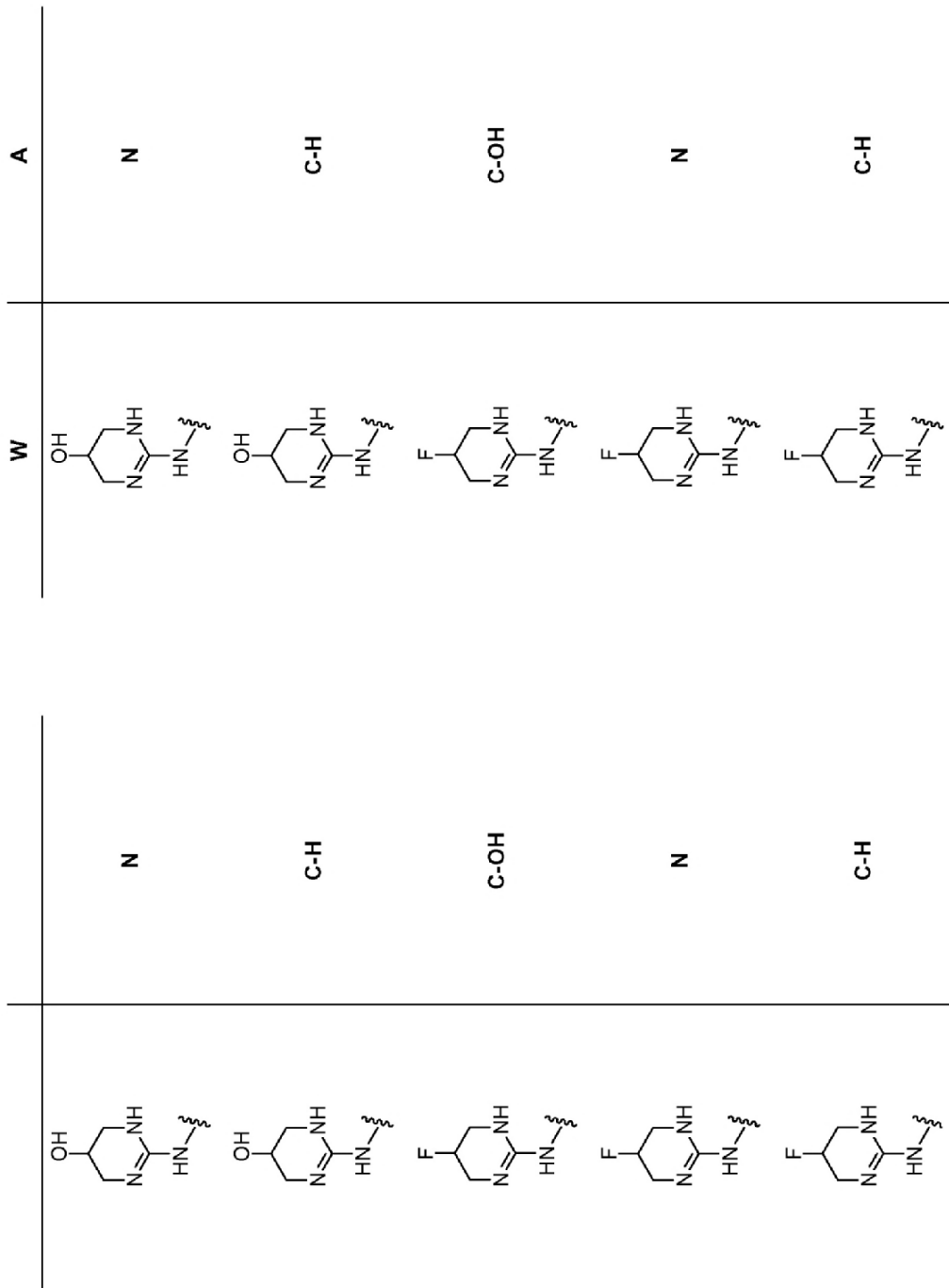


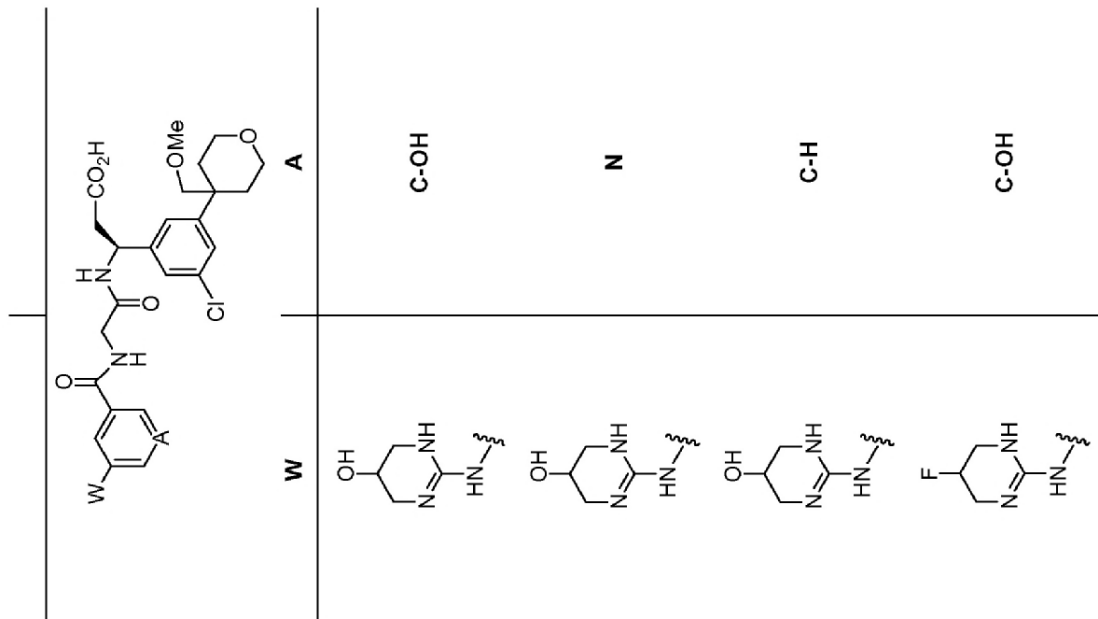
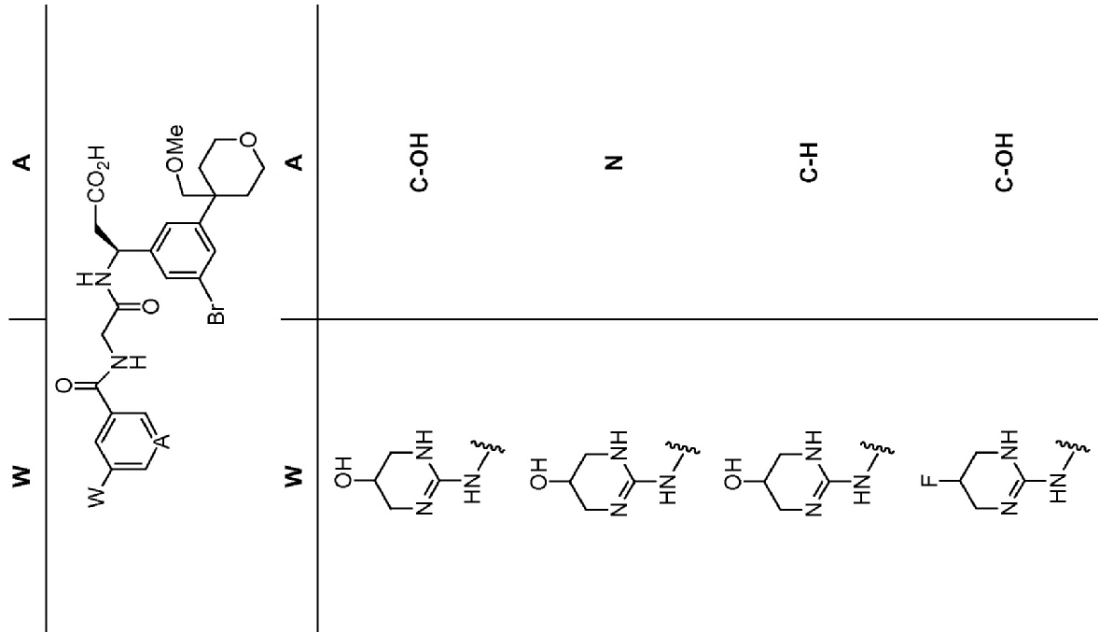


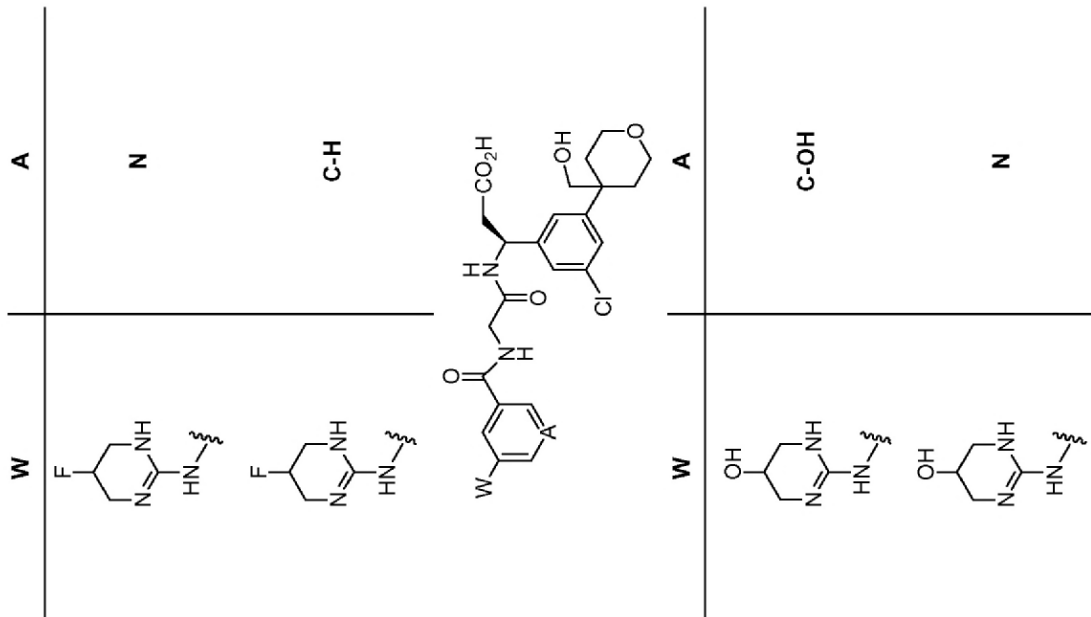
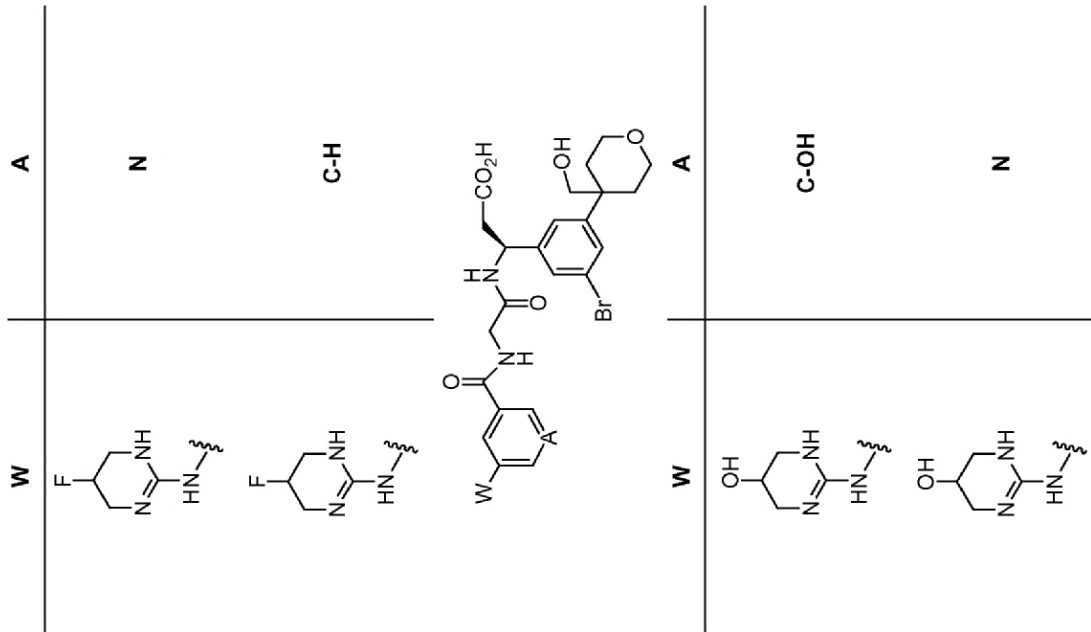


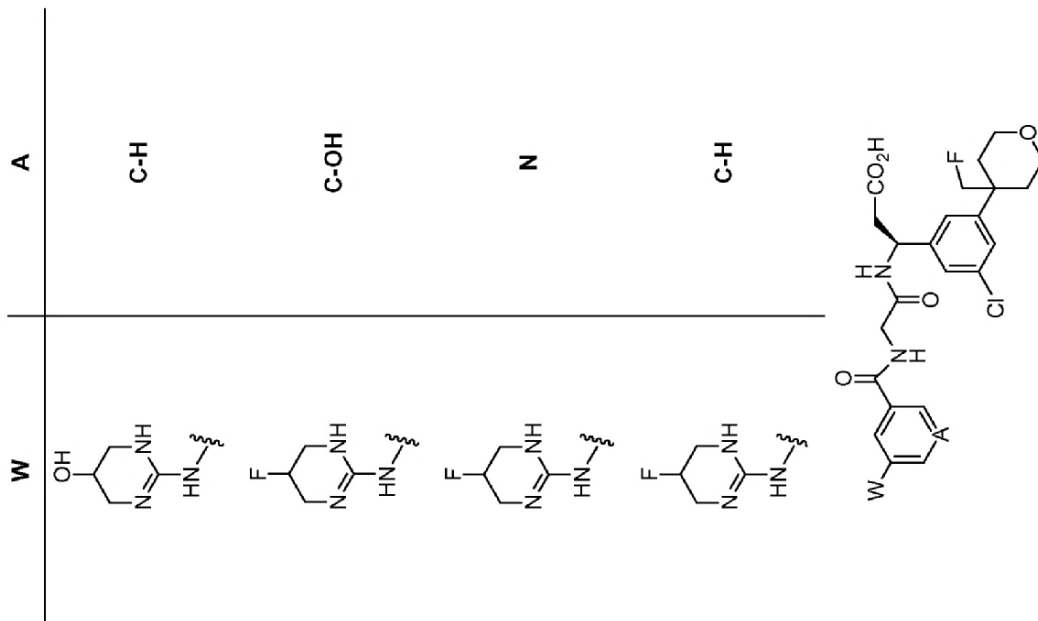
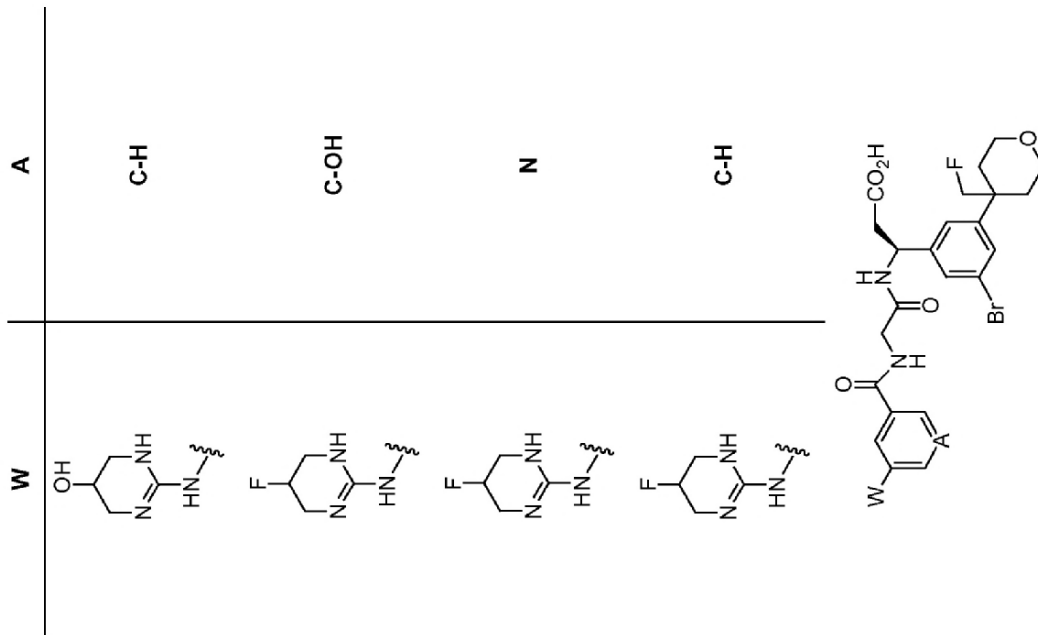


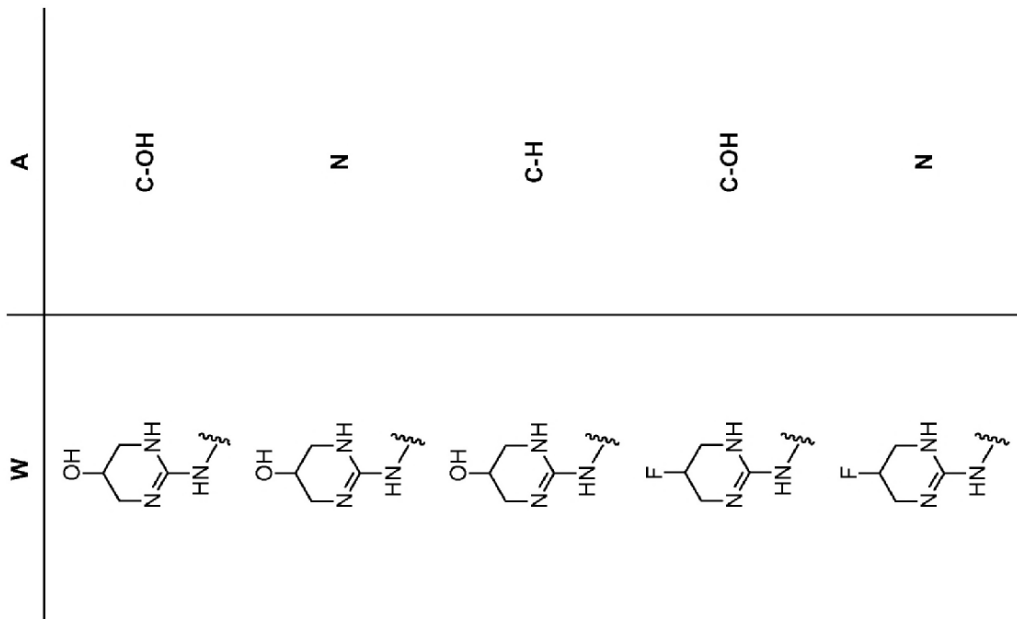
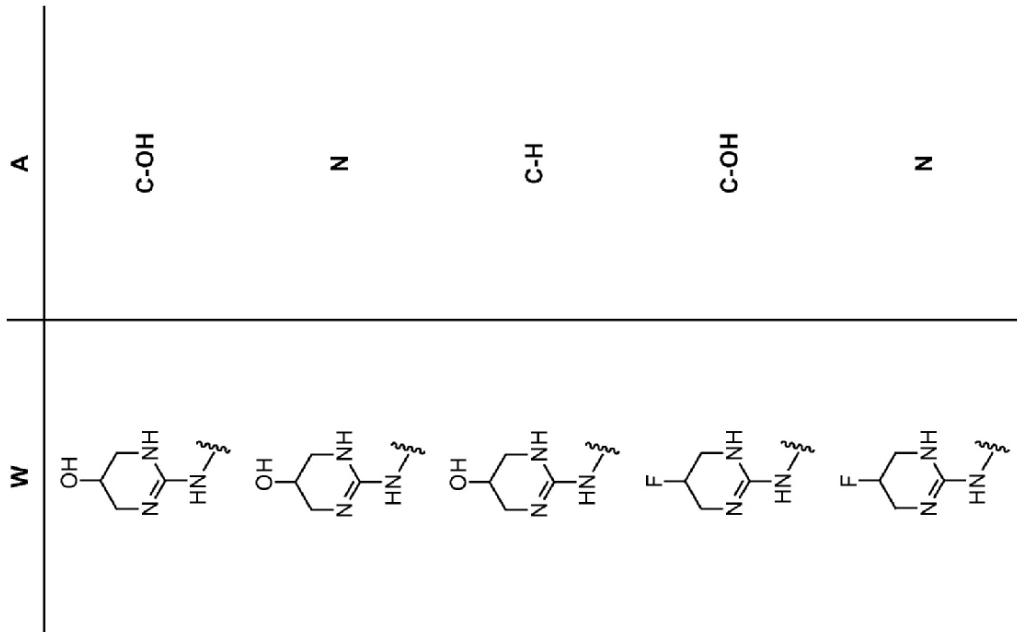


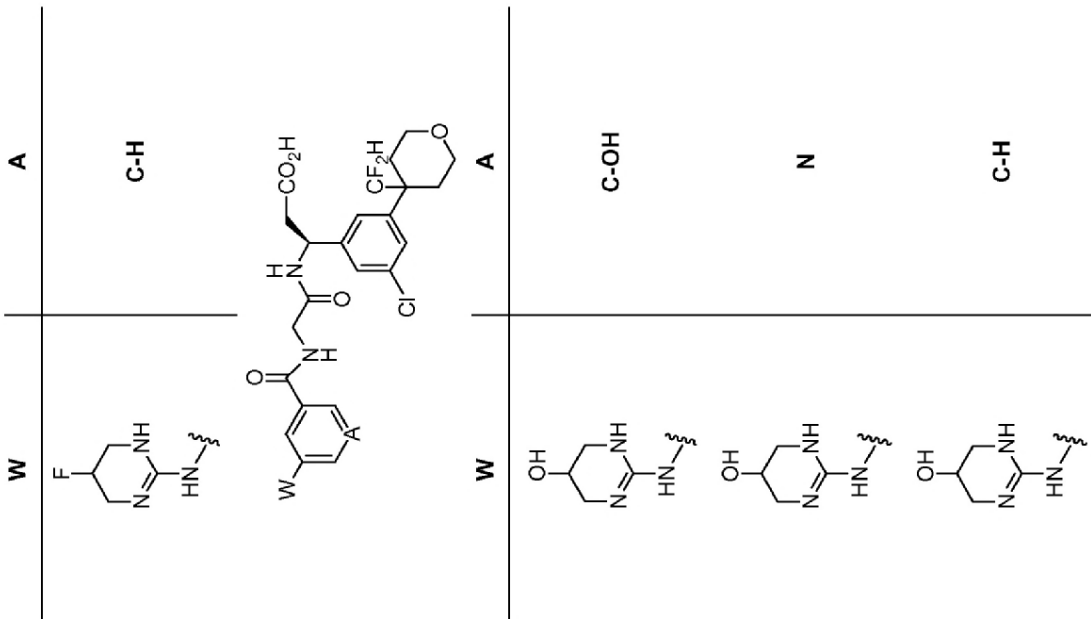
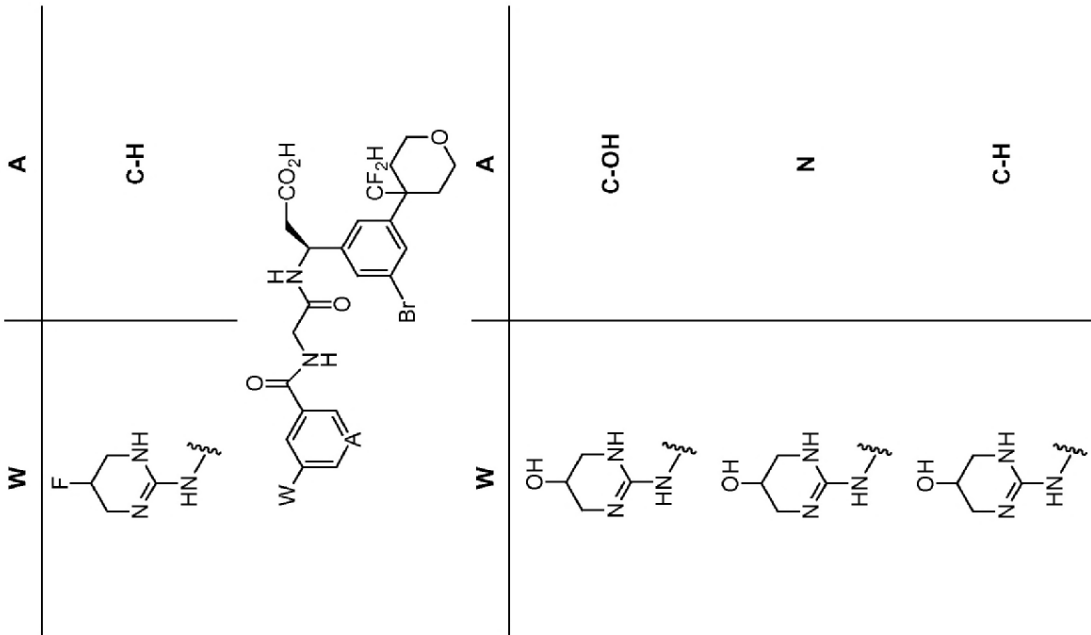


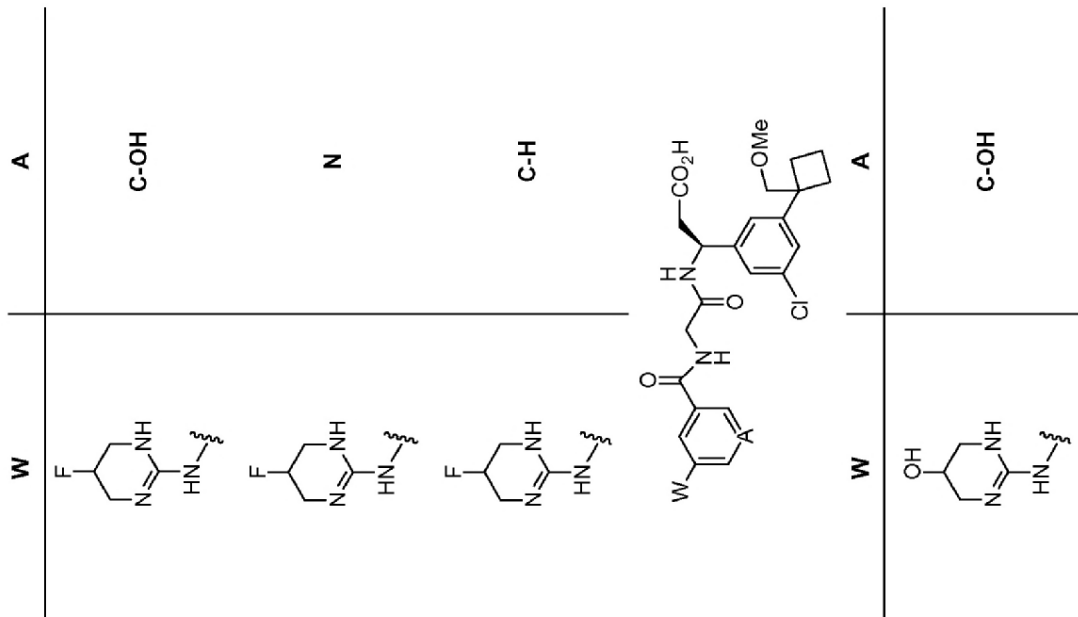
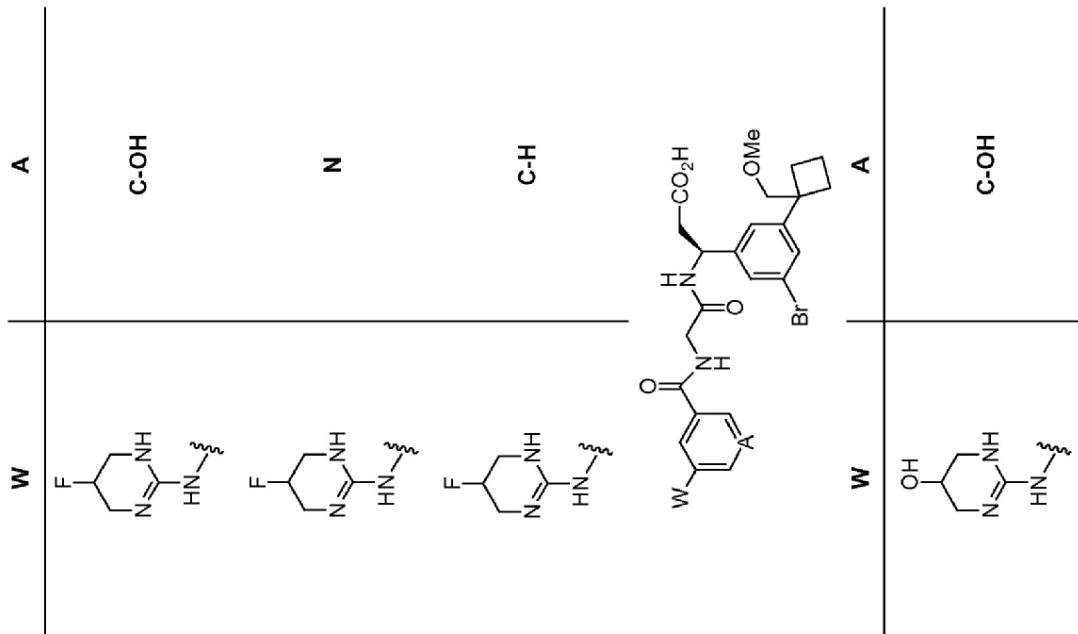


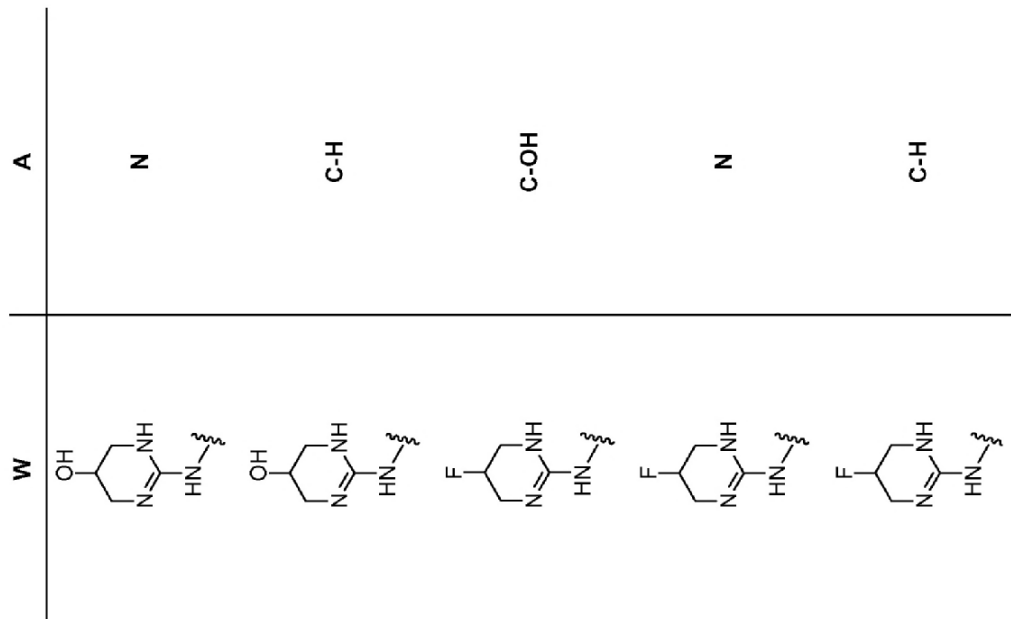
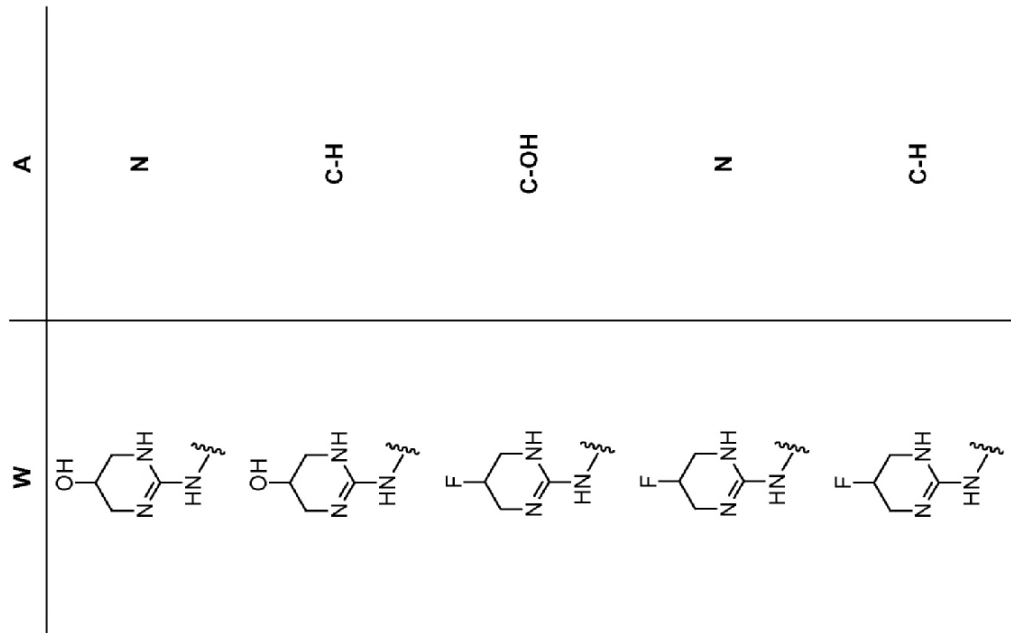


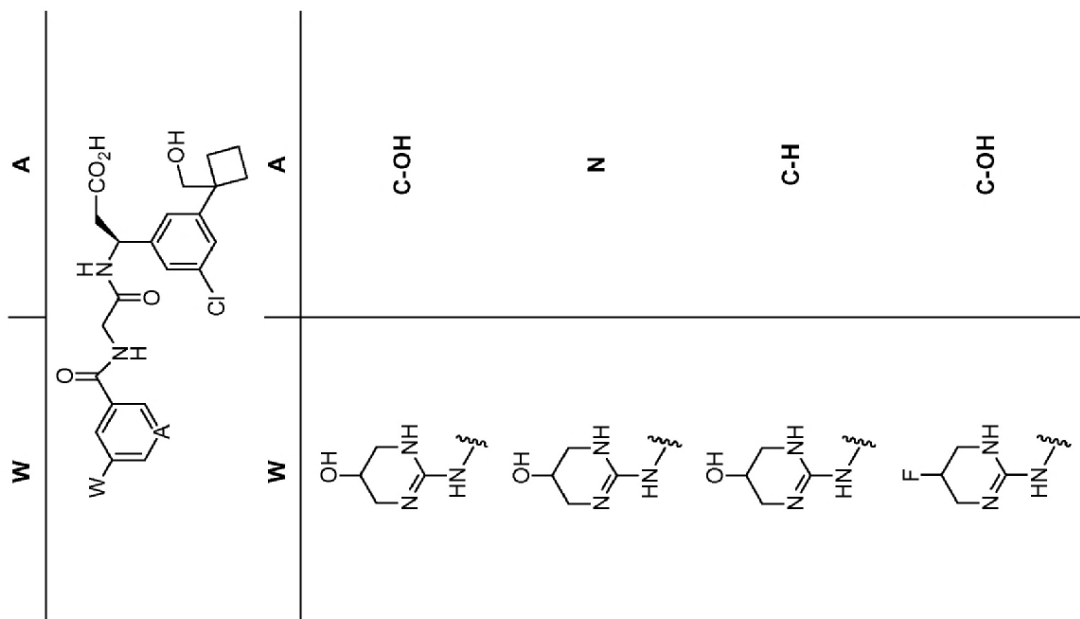
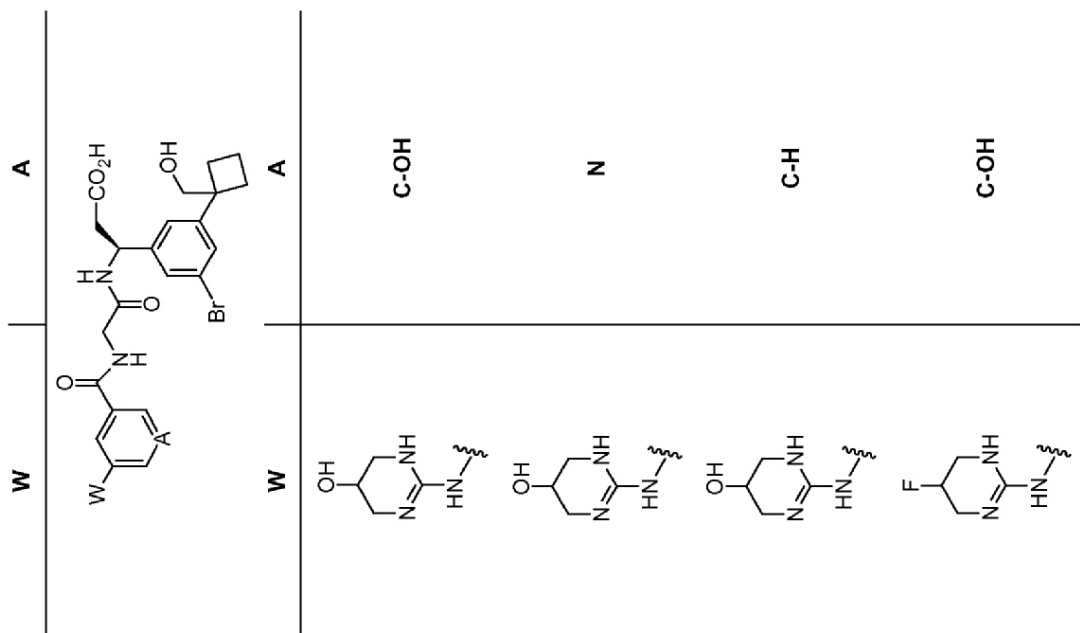


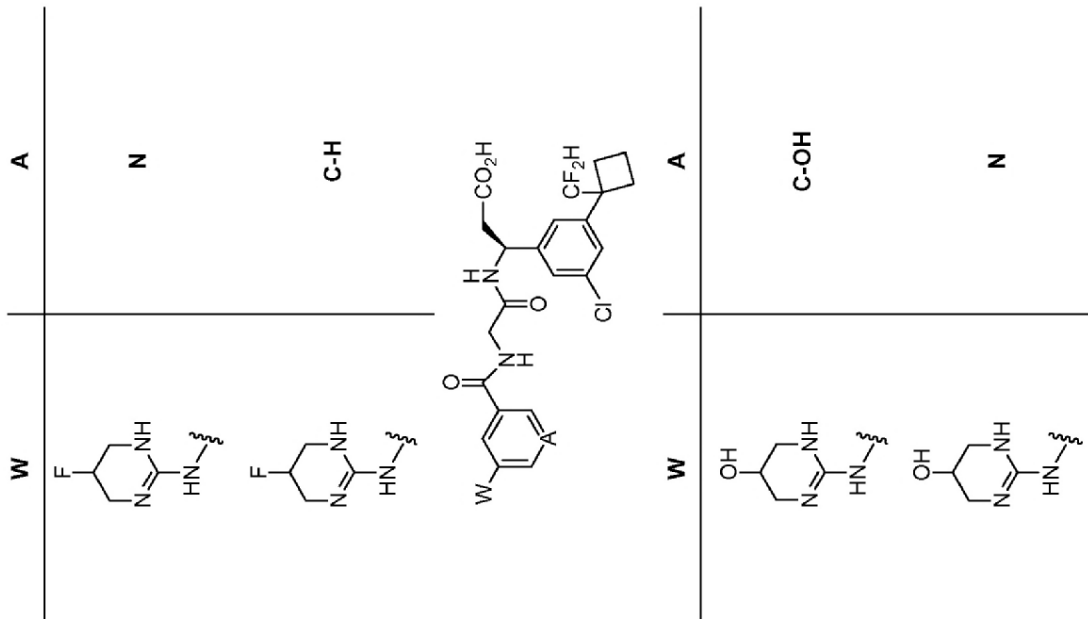
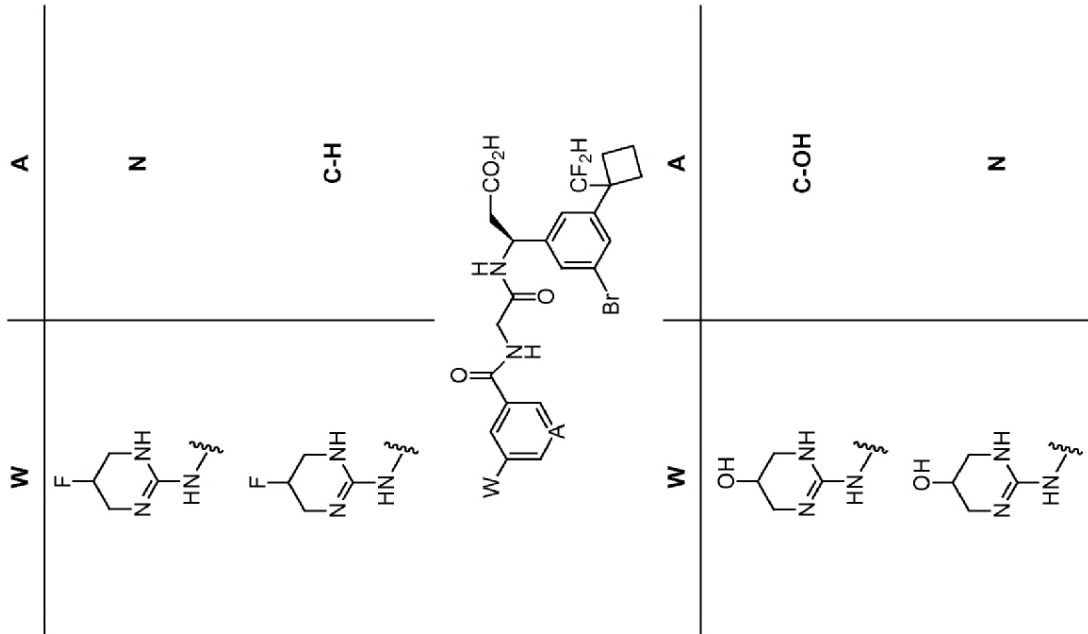


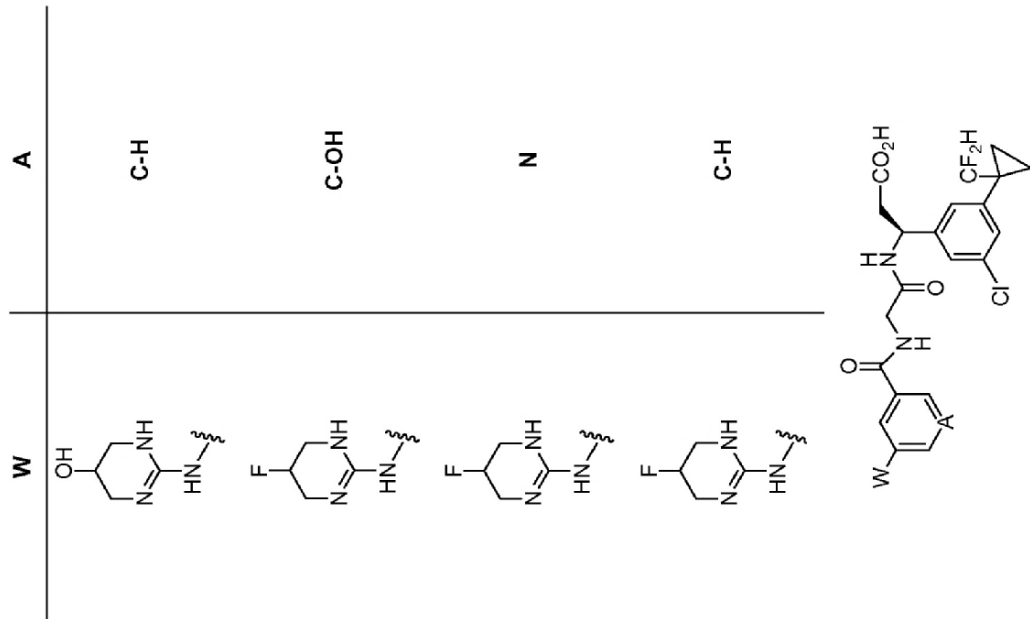
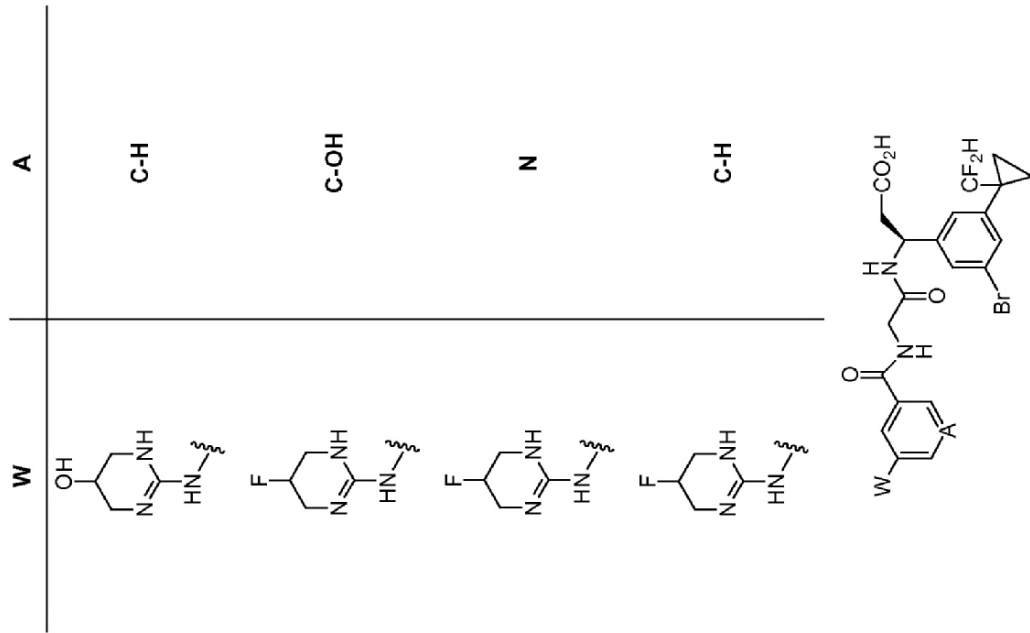


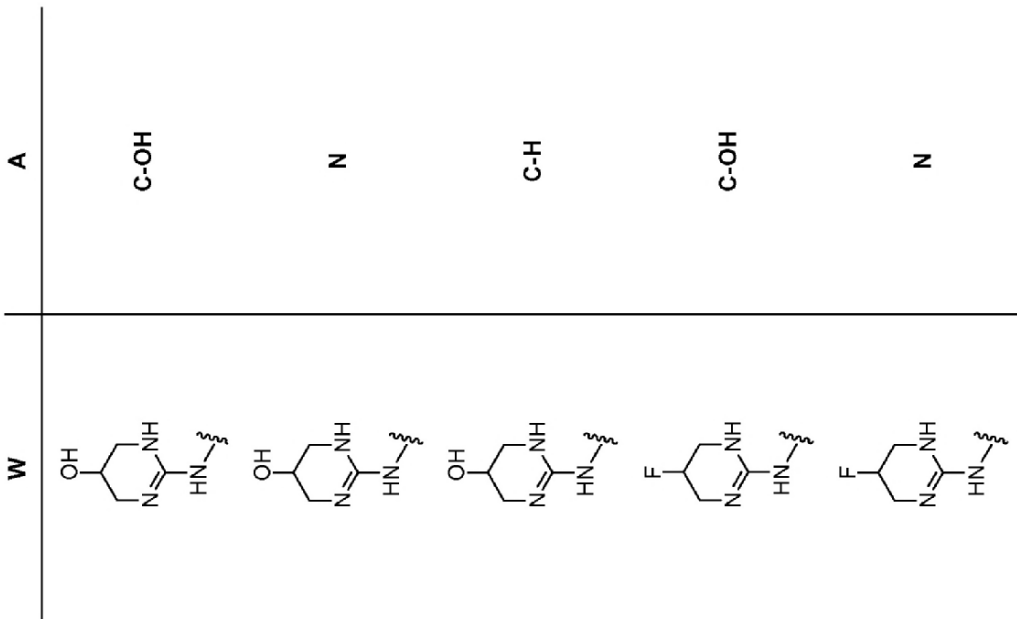
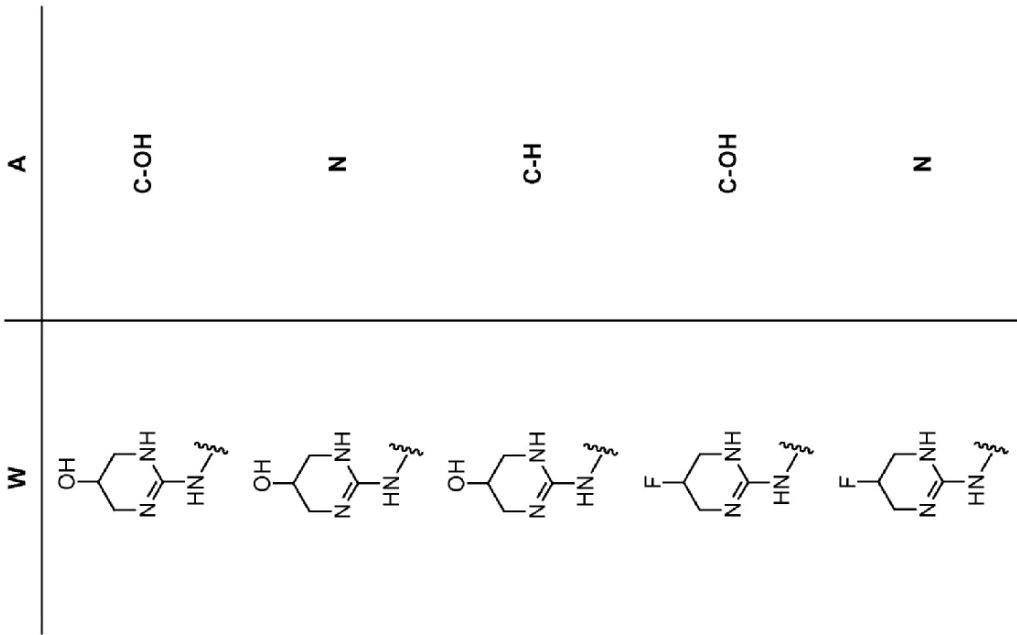


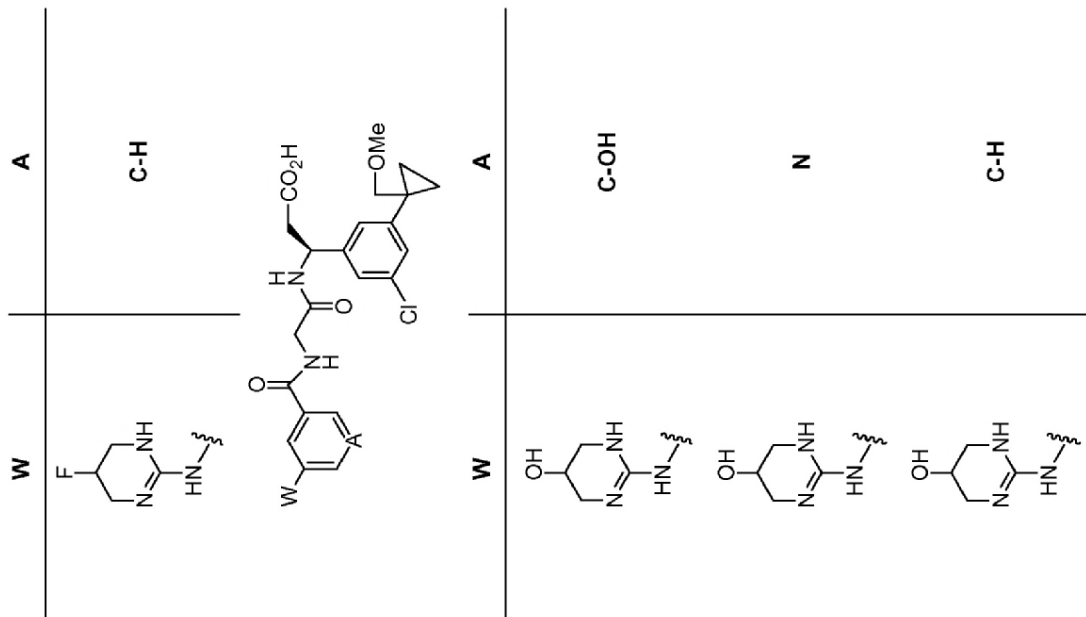
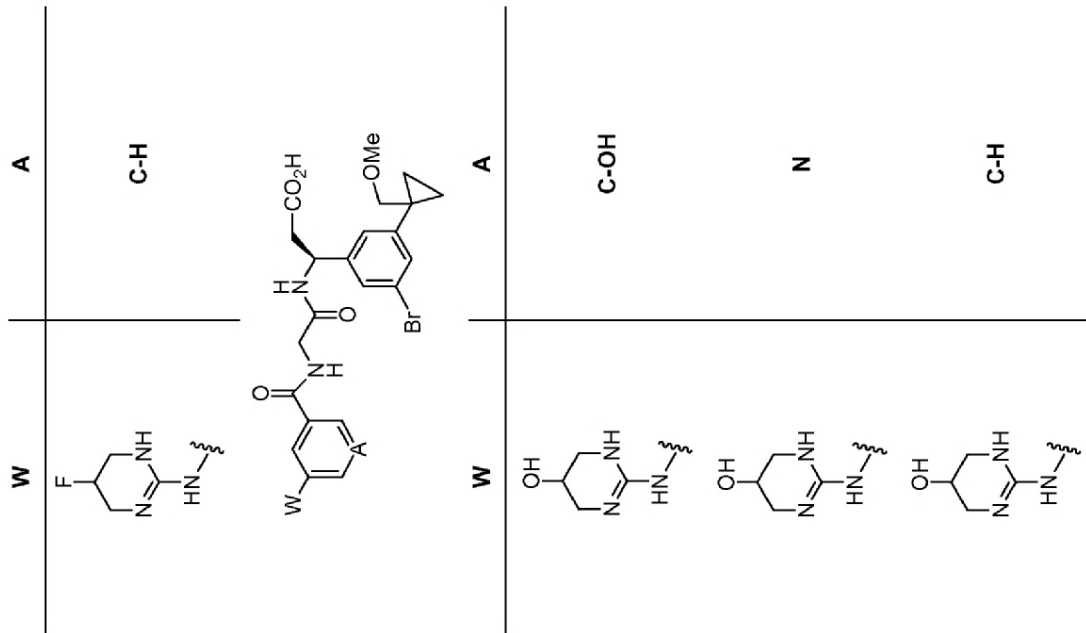


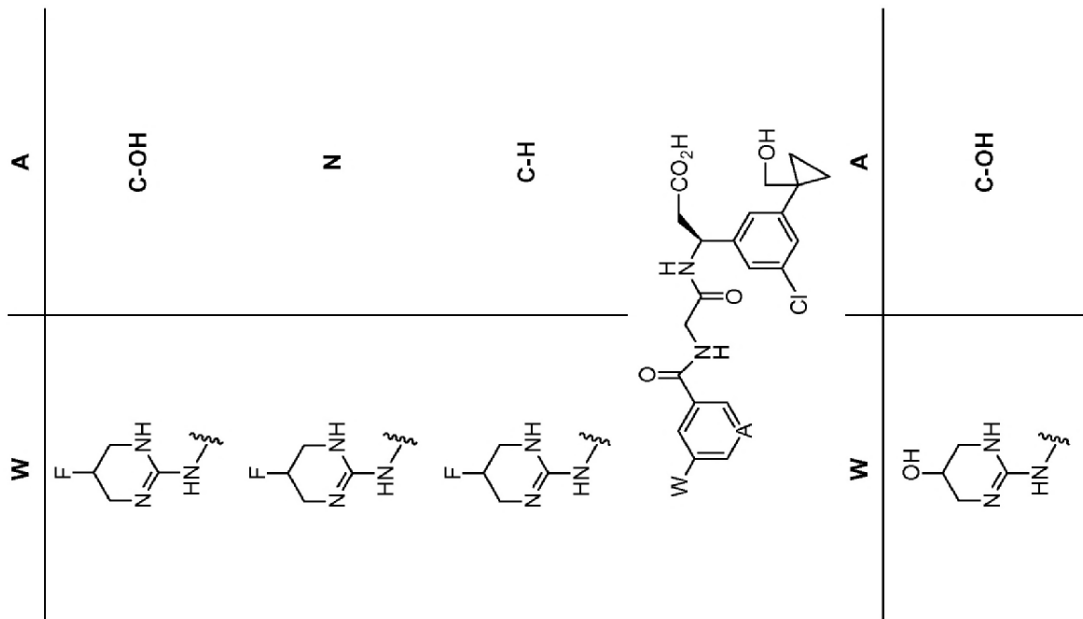
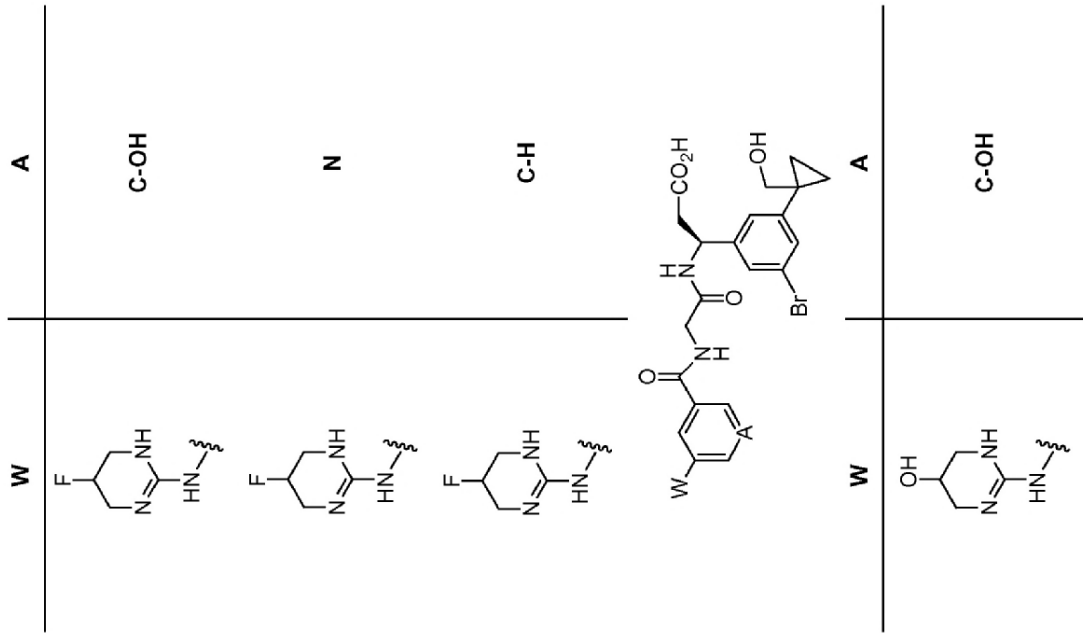


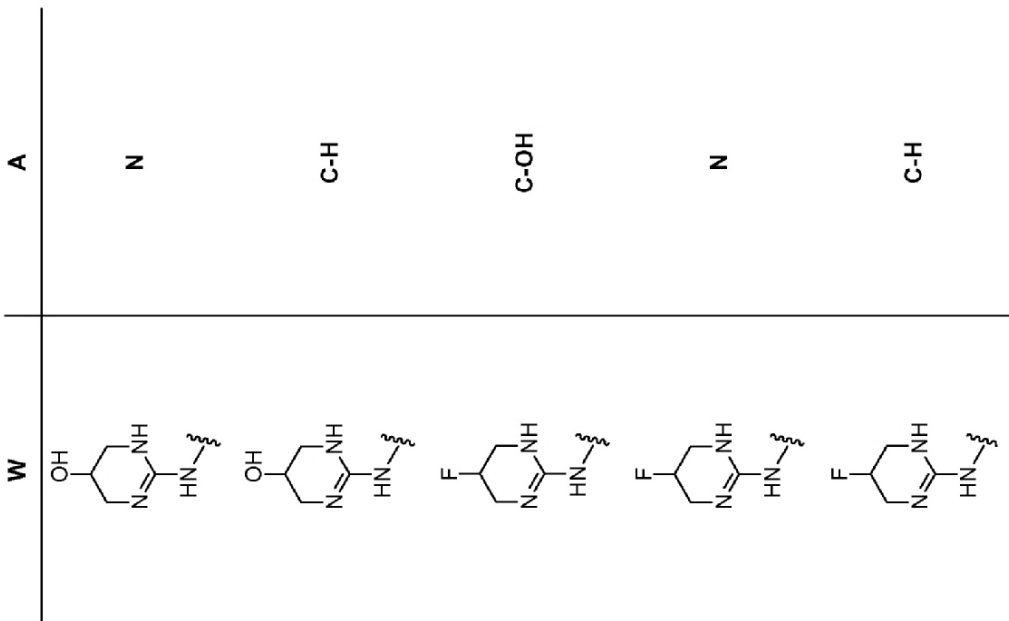
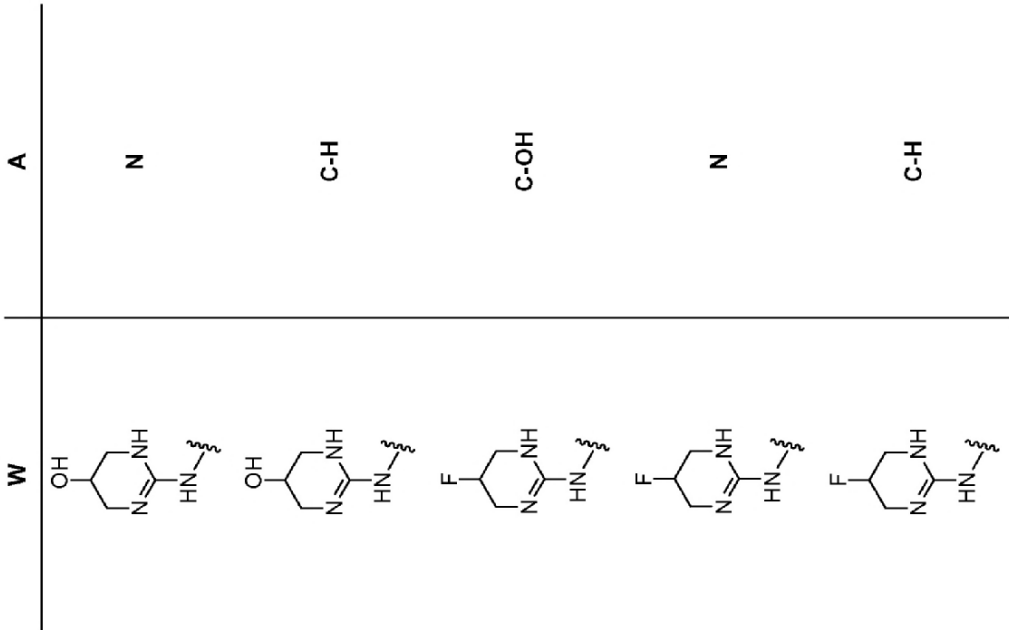


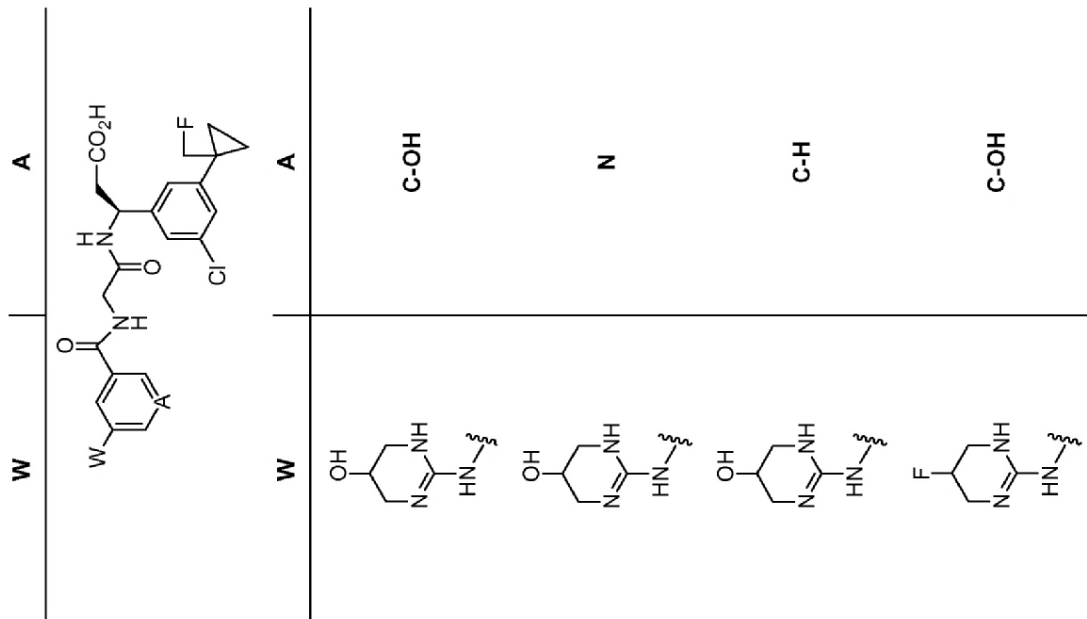
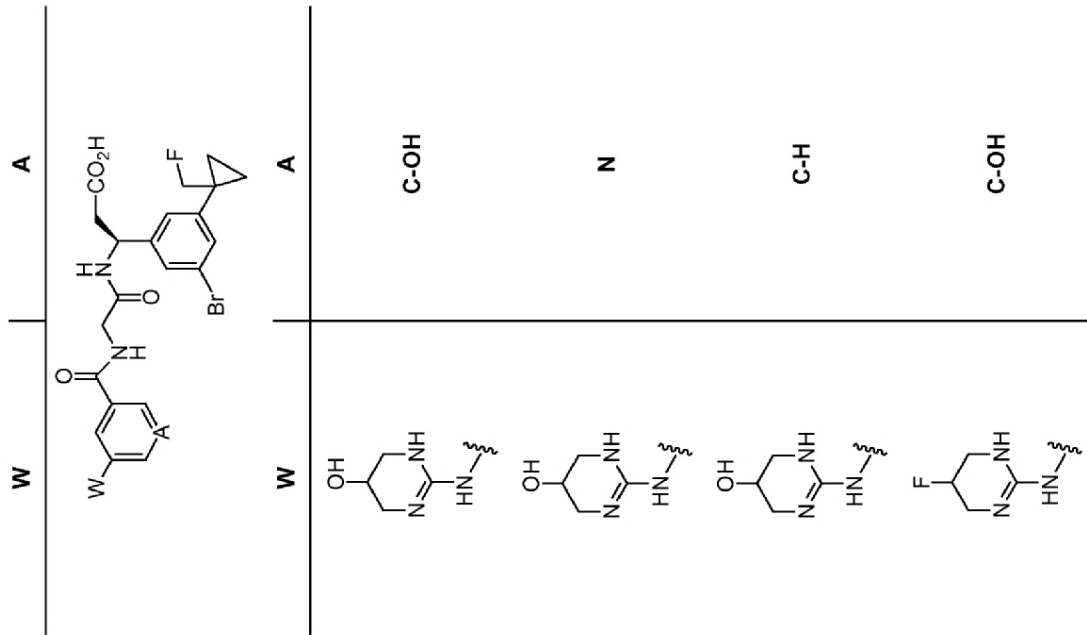


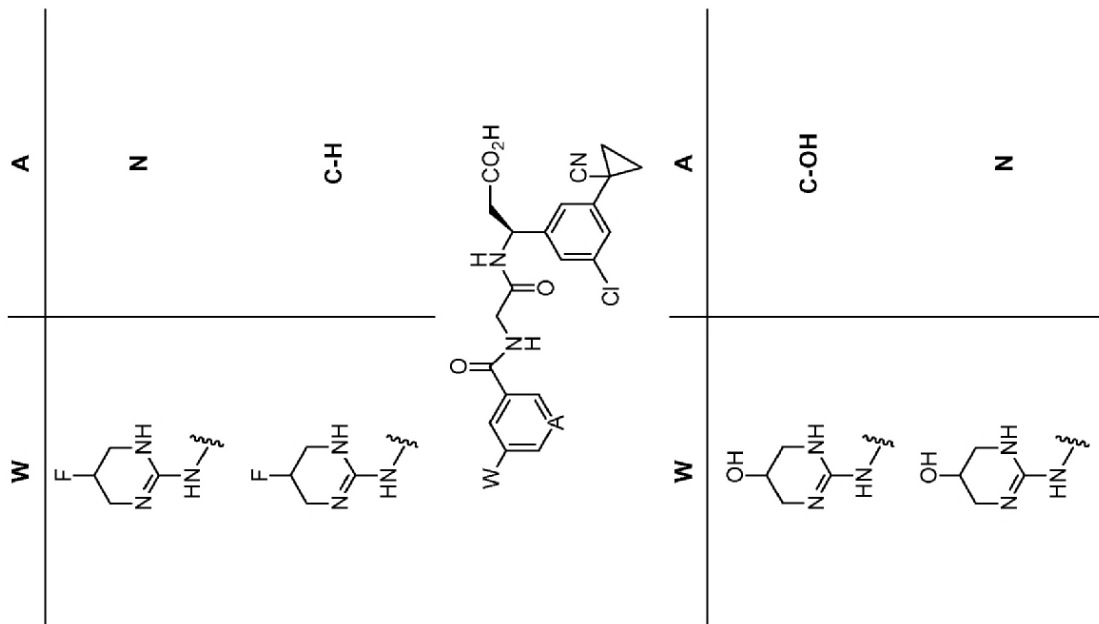
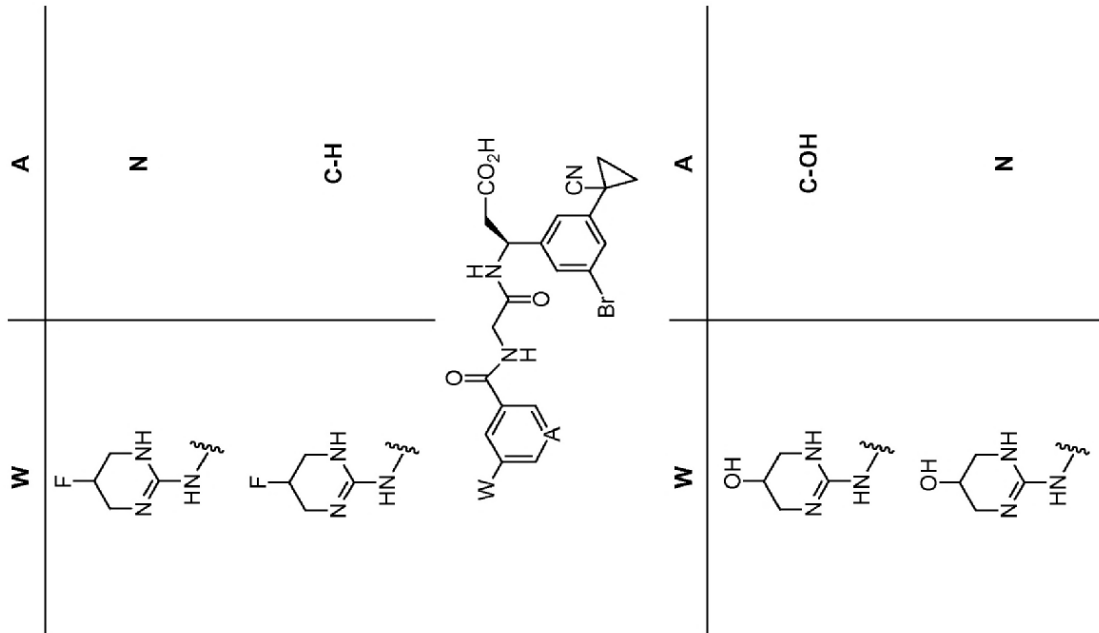


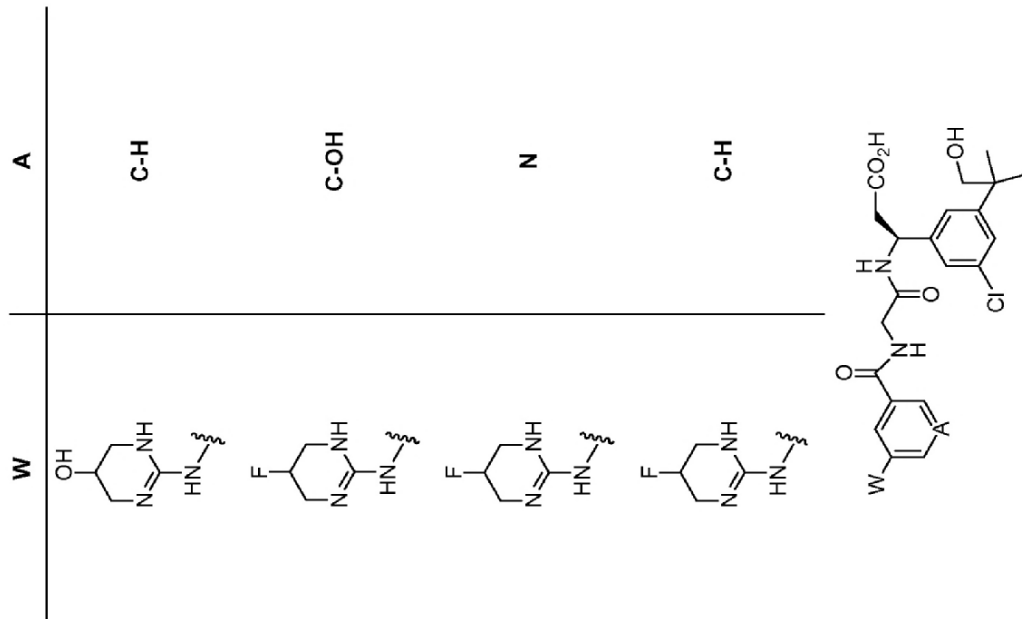
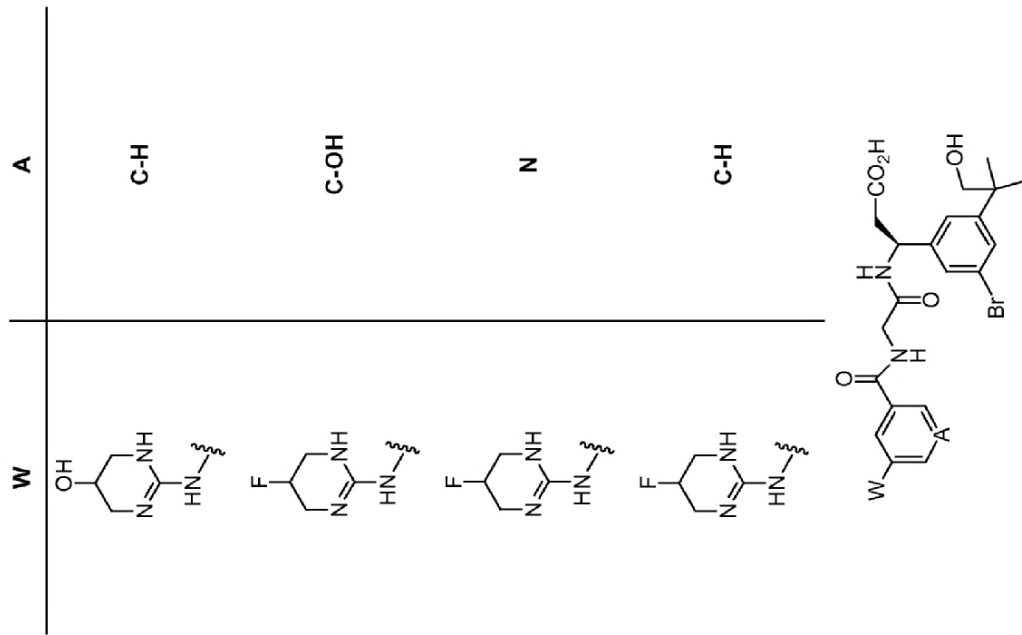


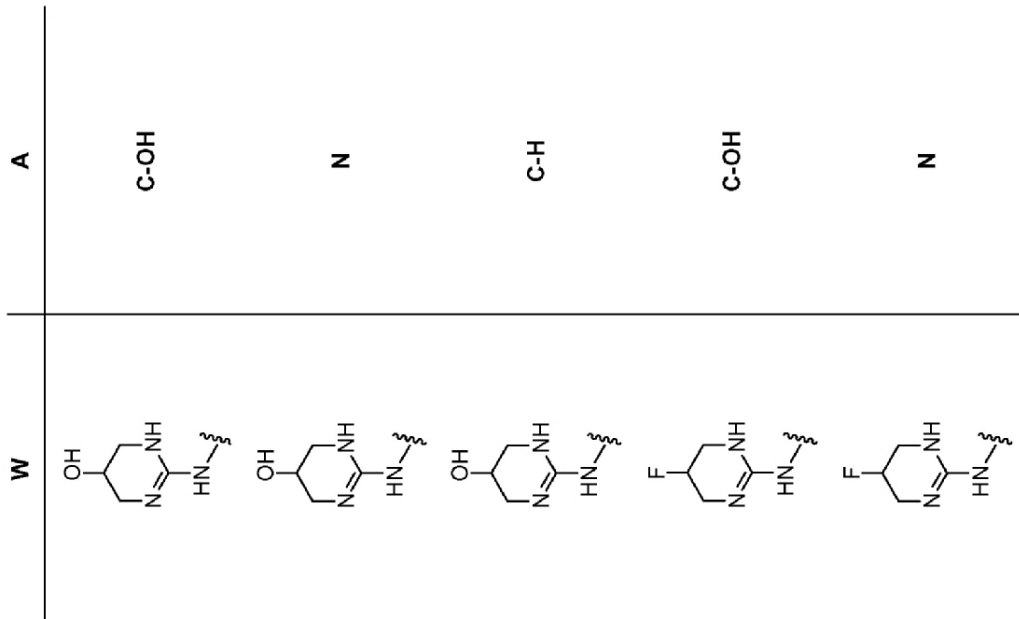
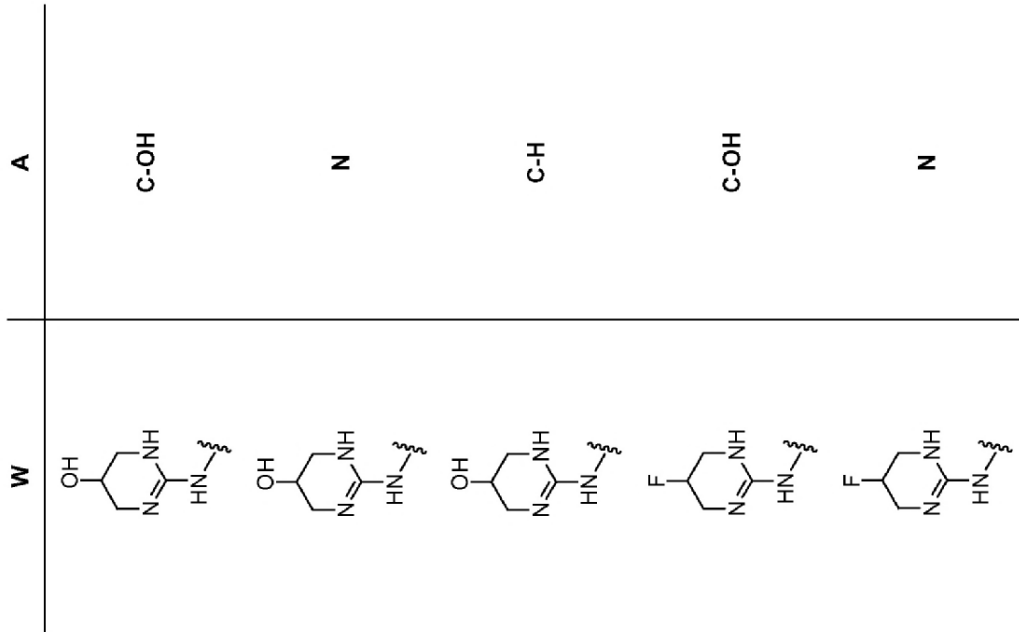


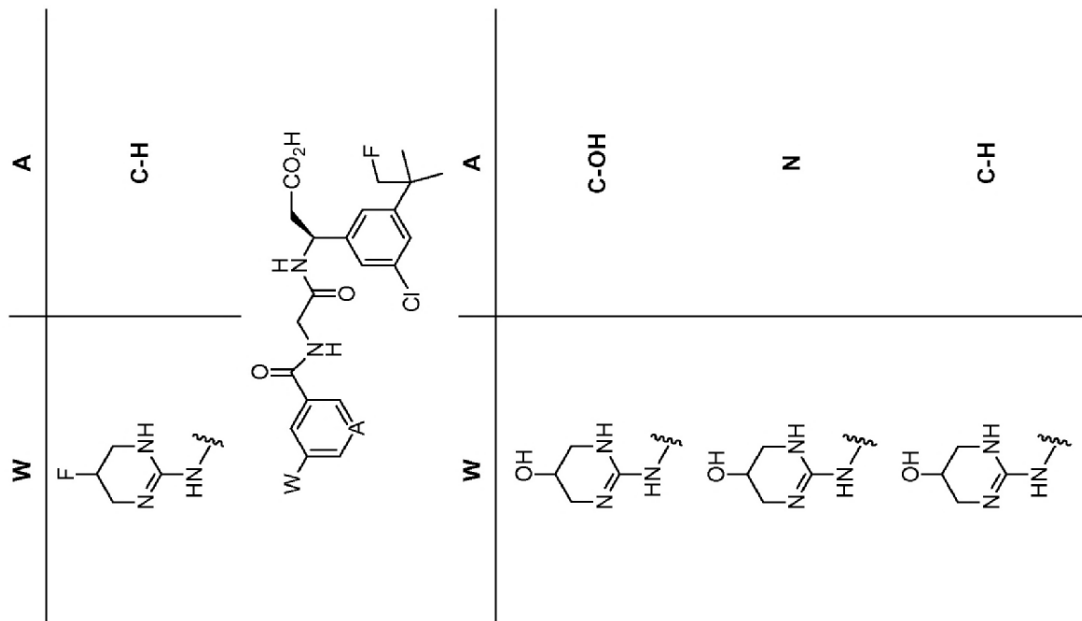
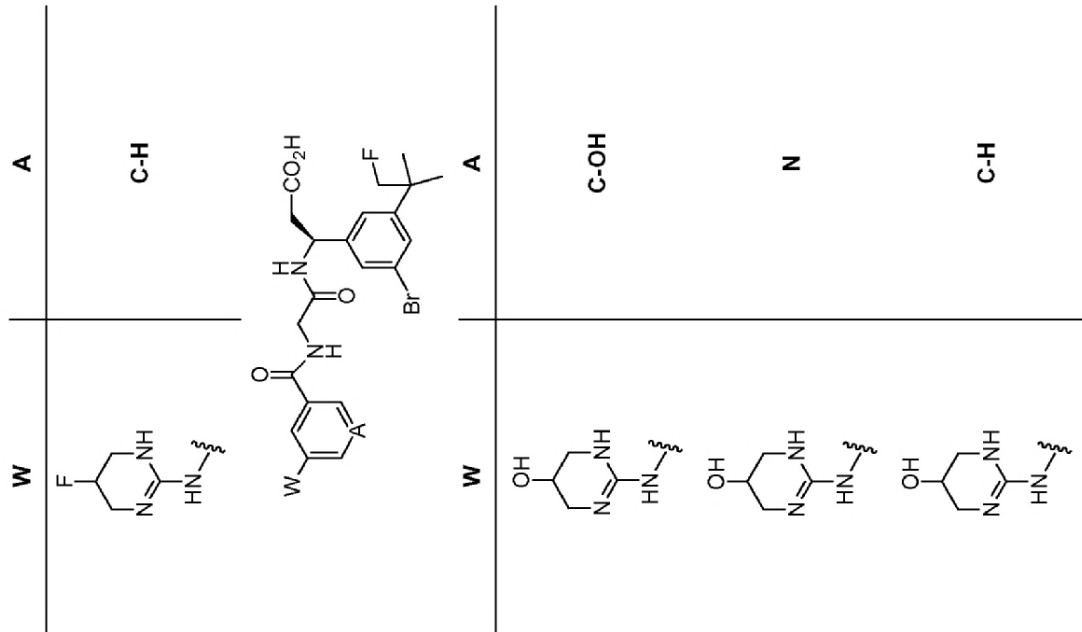


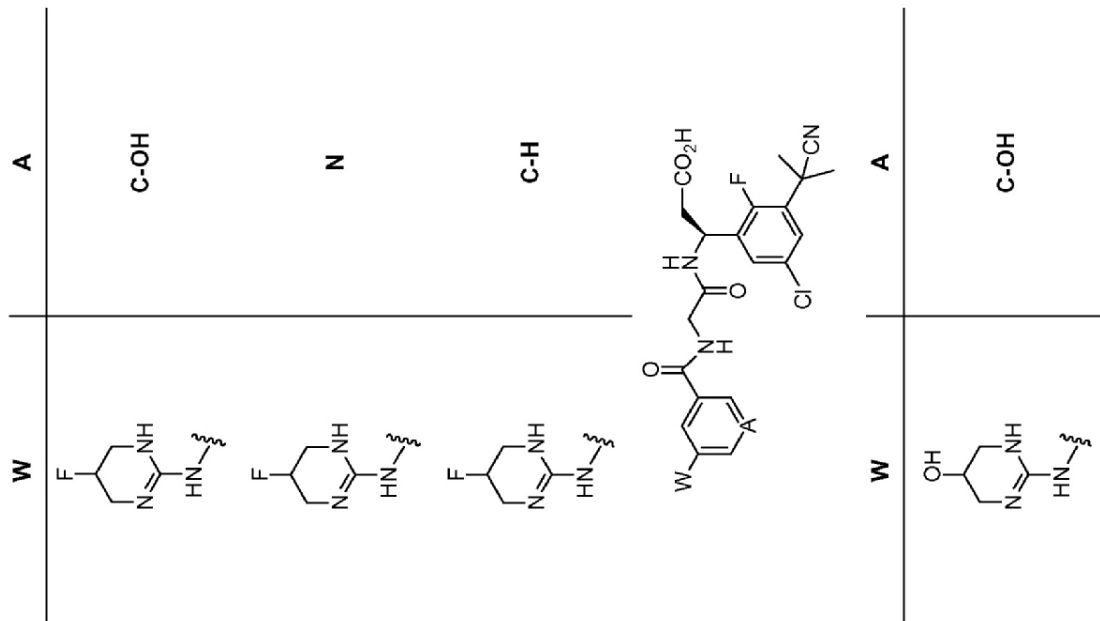
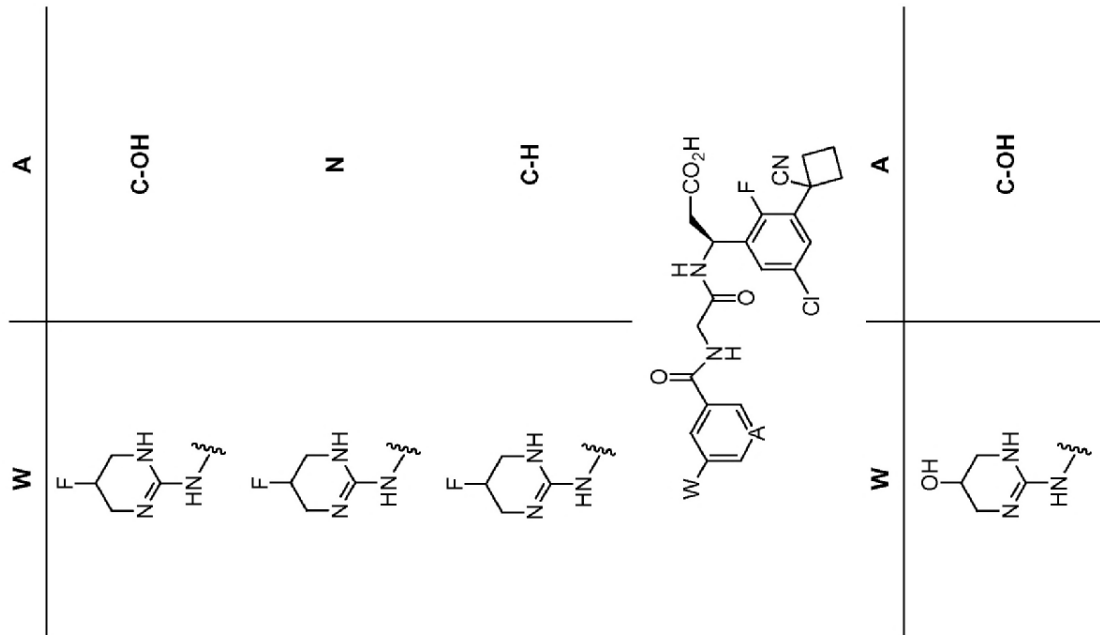


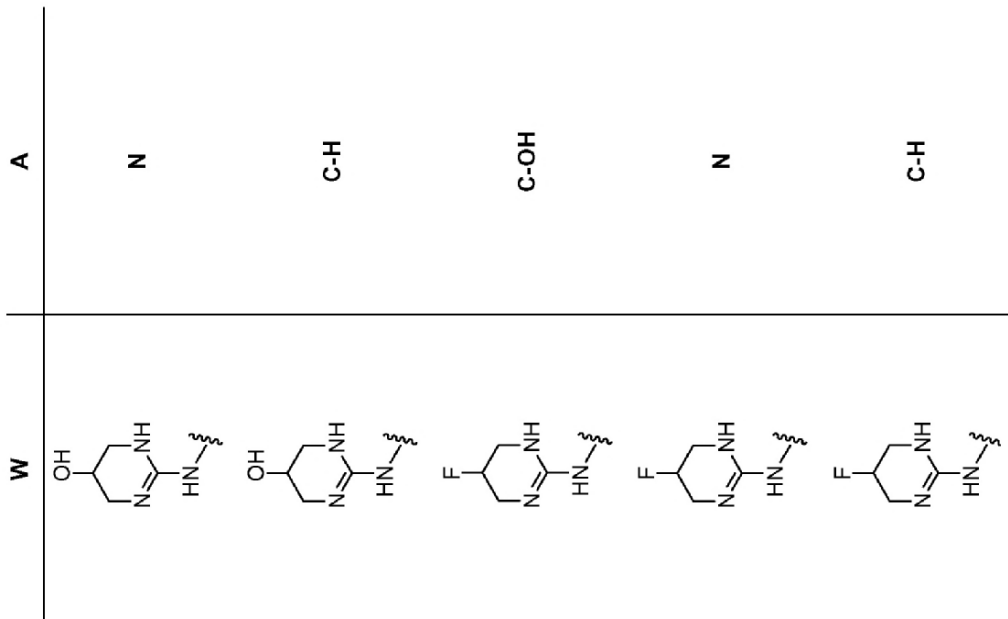
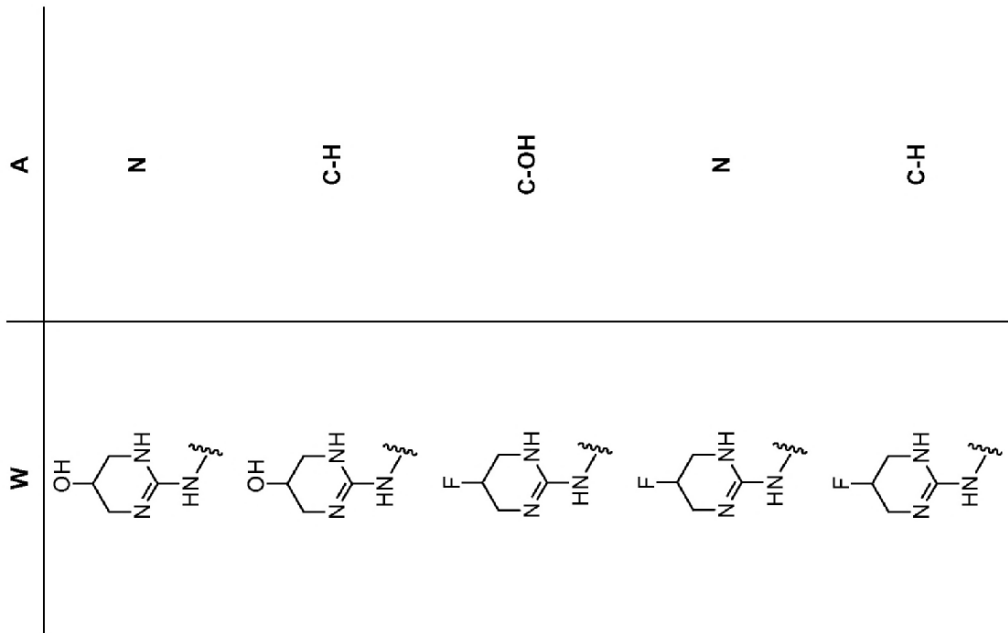


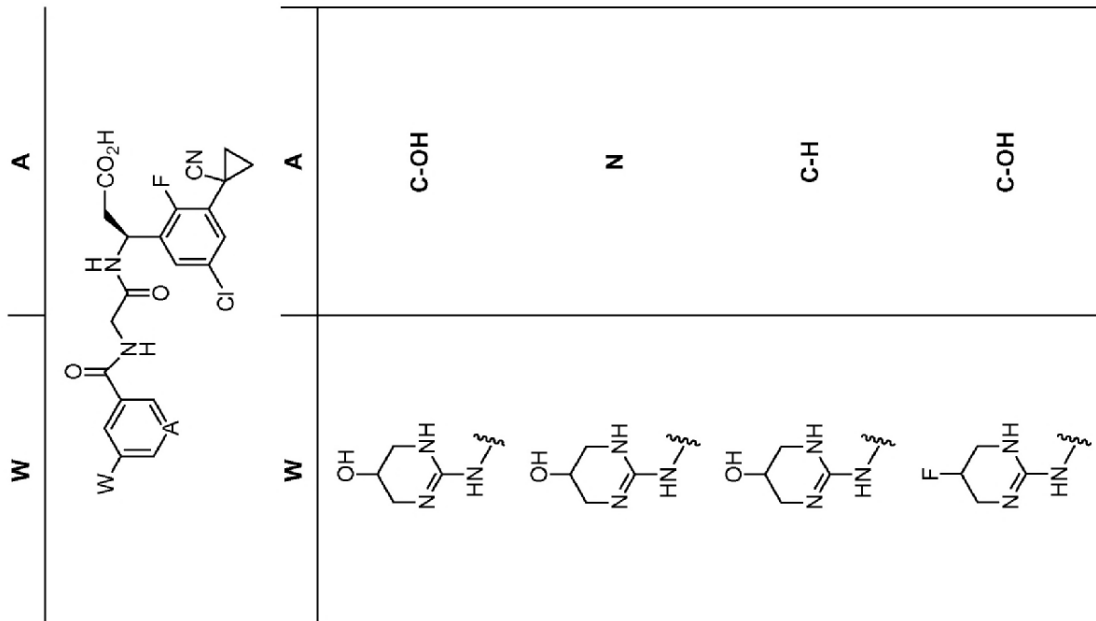
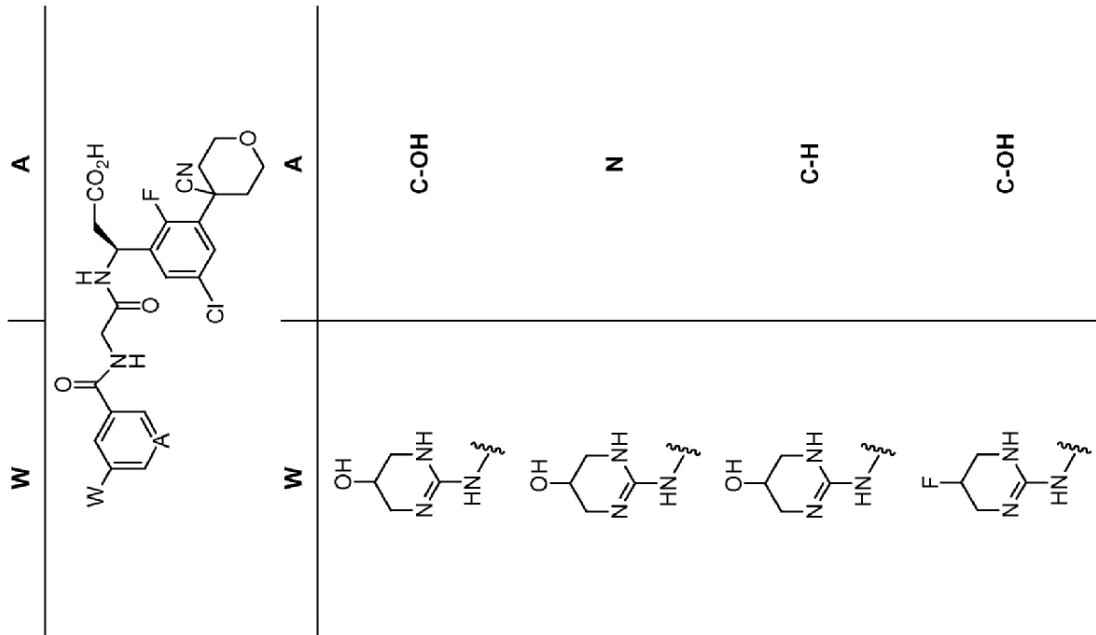


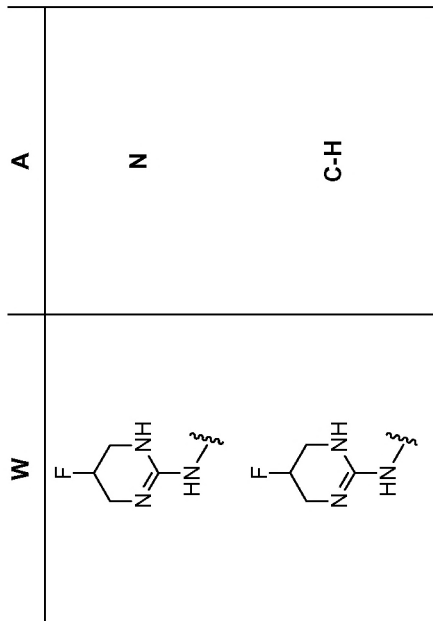
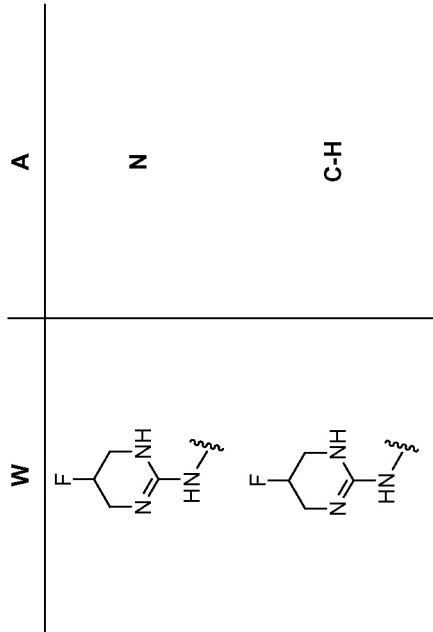












Los compuestos empleados en los métodos de la invención pueden contener uno o más átomos de carbono o nitrógeno sustituidos asimétricamente y se pueden aislar en forma ópticamente activa o racémica. Por lo tanto, se desean todas las formas quirales, diastereoméricas, racémicas y epiméricas y todas las formas isoméricas geométricas de una estructura, salvo que se indique específicamente la estereoquímica o forma isomérica específica. El enantiómero (S) de la parte del aminoácido beta de la fórmula I es el enantiómero preferido. Los compuestos pueden ocurrir como racematos y mezclas racémicas, enantiómeros simples, mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales. En algunas realizaciones, se obtiene un diastereómero simple. Los centros quirales de los compuestos de la presente invención pueden tener la configuración S o R, según se define en las Recomendaciones de la IUPAC 1974. Por ejemplo, las mezclas de estereoisómeros se pueden separar usando las técnicas ilustradas en la sección de Ejemplos que figura a continuación, así como las modificaciones de estas. También se incluyen las formas tautoméricas, así como las sales farmacéuticamente aceptables de dichos isómeros y tautómeros.

Los átomos que conforman los compuestos de la presente invención pretenden incluir todas las formas isotópicas de dichos átomos. Los compuestos de la presente invención incluyen los que tienen uno o más átomos que se han modificado o enriquecido isotópicamente, en particular, los que tienen isótopos farmacéuticamente aceptables o los que son útiles para investigación farmacéutica. Los isótopos, como los que se utilizan en la presente, incluyen los átomos que tienen el mismo número atómico pero números de masa diferentes. A modo de ejemplo general y de modo no taxativo, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio y tritio, y los isótopos de carbono incluyen ^{13}C y ^{14}C . De manera similar, se contempla que uno o más átomos de carbono de un compuesto de la presente invención se puedan reemplazar con uno o más átomos de silicio. Además, se contempla que uno o más átomos de oxígeno de un compuesto de la presente invención se puedan reemplazar con uno o más átomos de azufre o selenio.

Los compuestos descritos en el presente documento también pueden existir en forma de profármaco. Dado que los profármacos son conocidos por fomentar varias cualidades deseadas de los productos farmacéuticos (p. ej., solubilidad, biodisponibilidad, elaboración, etc.), los compuestos descritos en el presente documento pueden, si se desea, administrarse en forma de profármaco. Por lo tanto, la invención contempla profármacos de compuestos de la presente invención, así como métodos para administrar los profármacos. Los profármacos de los compuestos descritos en el presente documento se pueden preparar modificando los grupos funcionales presentes en el compuesto de forma tal que las modificaciones se escindan, ya sea en manipulación de rutina o *in vivo*, para proporcionar el compuesto original. Por consiguiente, los profármacos incluyen, por ejemplo, los compuestos descritos en la presente, en los cuales un grupo hidroxilo, amino o carboxilo se une a cualquier grupo que, cuando el profármaco se administra a un sujeto, se escinde para formar un hidroxilo, amino o ácido carboxílico, respectivamente.

Cabe destacar que el anión o catión particular que forma parte de cualquier sal de la presente invención no es fundamental, con la condición de que la sal, en su conjunto, sea farmacológicamente aceptable. Los ejemplos adicionales de sales farmacéuticamente aceptables y sus métodos de preparación y utilización se presentan en el *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use* (2002), que se incorpora a la presente mediante referencia.

Cabe destacar además que los compuestos de la presente invención incluyen los que se han modificado adicionalmente para que comprendan sustituyentes que se pueden convertir en hidrógeno *in vivo*. Esto incluye los grupos que se pueden convertir en un átomo de hidrógeno por medios enzimológicos o químicos que incluyen, de modo no taxativo, hidrólisis e hidrogenólisis. Los ejemplos incluyen grupos hidrolizables, como grupos acilo, grupos que tienen un grupo oxicarbonilo, residuos de aminoácidos, residuos de péptidos, *o*-nitrofenilsulfenilo, trimetilsililo, tetrahidropirano, difenilfosfinilo y similares. Los ejemplos de grupos acilo incluyen formilo, acetilo, trifluoroacetilo y similares. Los ejemplos de grupos que tienen un grupo oxicarbonilo incluyen etoxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo ($-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$, Boc), benciloxicarbonilo, *p*-metoxibenciloxicarbonilo, viniloxicarbonilo, β -(*p*-toluenosulfonil)etoxicarbonilo y similares. Los residuos de aminoácidos adecuados incluyen, de modo no taxativo, residuos de Gly (glicina), Ala (alanina), Arg (arginina), Asn (asparagina), Asp (ácido aspártico), Cys (cisteína), Glu (ácido glutámico), His (histidina), Ile (isoleucina), Leu (leucina), Lys (lisina), Met (metionina), Phe (fenilalanina), Pro (prolina), Ser (serina), Thr (treonina), Trp (triptófano), Tyr (tirosina), Val (valina), Nva (norvalina), Hse (homoserina), 4-Hyp (4-hidroxiprolina), 5-Hyl (5-hidroxilisina), Orn (ornitina) y β -Ala. Los ejemplos de residuos de aminoácidos adecuados también incluyen residuos de aminoácidos que están protegidos con un grupo protector. Los ejemplos de grupos protectores adecuados incluyen los que se emplean comúnmente en la síntesis de péptidos, que incluyen los grupos acilo (como formilo y acetilo), grupos arilmetoxicarbonilo (como benciloxicarbonilo y *p*-nitrobenciloxicarbonilo), grupos *tert*-butoxicarbonilo ($-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$, Boc) y similares. Los residuos de péptidos adecuados incluyen los residuos de péptidos que comprenden de dos a cinco residuos de aminoácidos. Los residuos de estos aminoácidos o péptidos pueden estar presentes en configuraciones estereoquímicas de la forma D, la forma L o mezclas de estos. Además, el residuo de aminoácido o péptido puede tener un átomo de carbono asimétrico. Los ejemplos de residuos de aminoácidos adecuados que tienen un átomo de carbono asimétrico incluyen los residuos de Ala, Leu, Phe, Trp, Nva, Val, Met, Ser, Lys, Thr y Tyr. Los residuos de péptidos que tienen un átomo de carbono asimétrico incluyen residuos de péptidos que tienen uno o más residuos de aminoácidos constitutivos que tienen un átomo de carbono asimétrico. Los ejemplos de grupos protectores de aminoácidos adecuados incluyen los que se emplean comúnmente en la síntesis de péptidos, que incluyen los grupos acilo (como formilo y acetilo), grupos arilmetoxicarbonilo (como benciloxicarbonilo y *p*-nitrobenciloxicarbonilo), grupos *tert*-butoxicarbonilo ($-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$) y similares. Otros ejemplos de sustituyentes "que se pueden convertir en hidrógeno *in vivo*"

5 incluyen los grupos que se pueden hidrogenar y eliminar mediante reducción. Los ejemplos de grupos adecuados que se pueden hidrogenar y eliminar mediante reducción incluyen, de modo no taxativo, grupos arilsulfonilo (como *o*-toluenosulfonilo); grupos metilo sustituidos con fenilo o benciloxi (como bencilo, trilito y benciloximetilo), grupos arilmetoxicarbonilo (como benciloxicarbonilo y *o*-metoxi-benciloxicarbonilo) y grupos haloetoxicarbonilo (como β,β -tricloroetoxicarbonilo y β -yodoetoxicarbonilo).

10 Los compuestos de la invención también pueden tener la ventaja de que pueden ser más eficaces, menos tóxicos, tener mayor duración, ser más potentes, producir menos efectos secundarios, tener una absorción más fácil y/o presentar un mejor perfil farmacocinético (p. ej., mayor biodisponibilidad oral y/o menor depuración), y/o presentar otras propiedades farmacológicas, físicas o químicas útiles con respecto a los compuestos conocidos en la técnica previa, ya sea para su uso en las indicaciones establecidas en la presente o de otro modo.

15 III. Actividad biológica

15 Es otro objetivo de la invención proporcionar composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos descritos anteriormente. Dichos compuestos y composiciones son útiles para inhibir o antagonizar integrinas y, por lo tanto, en otra realización, la presente invención se refiere a un método para inhibir o antagonizar la integrina $\alpha 5\beta 1$ en particular, y adicionalmente inhibir o antagonizar las integrinas $\alpha v\beta 6$ y $\alpha v\beta 8$. Dichos compuestos y composiciones se pueden usar para inhibir o antagonizar integrinas adicionales, como $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$ y $\alpha v\beta 1$ (que se definen en la
20 presente como integrinas relacionadas). La invención implica adicionalmente tratar o inhibir afecciones patológicas asociadas con las mismas, como angiogénesis, que incluye angiogénesis tumoral, fibrosis y enfermedades fibróticas, como fibrosis pulmonar, renal, cardíaca y hepática, esclerodermia, cicatrización, como cicatrices de retina, córnea y dérmicas, retinopatía, que incluye retinopatía diabética y degeneración macular, vitreorretinopatía, que incluye retinopatía del prematuro (ROP) y vitreorretinopatía exudativa familiar (FEVR), osteoporosis, hipercalcemia humoral
25 maligna, enfermedad de Paget, metástasis tumoral, crecimiento de tumores sólidos (neoplasia), artritis, que incluye artritis reumatoide, enfermedad periodontal, psoriasis, migración de células de músculo liso y restenosis en un mamífero que necesita dicho tratamiento. De manera adicional, dichos agentes farmacéuticos son útiles como agentes antivirales y antimicrobianos. Además, dichos agentes farmacéuticos son útiles como moduladores del sistema inmunitario mediante la inhibición de la activación de TGF- β que resulta de inhibir o antagonizar las
30 integrinas diana. Dicha modulación inmunitaria afecta la actividad inmunitaria y las funciones de los linfocitos T reguladores y T efectores y, por lo tanto, pueden ser útiles en el tratamiento de patologías inmunitarias relacionadas, incluidas las enfermedades autoinmunes como la esclerosis múltiple, así como en el tratamiento de tumores y patógenos infecciosos.

35 IV. Métodos terapéuticos

La presente invención se refiere a los campos de la farmacéutica, la medicina y la biología celular. Más específicamente, se refiere a agentes farmacéuticos (compuestos) que son útiles como antagonistas del receptor de integrina, con actividad biológica particularmente excepcional como antagonistas de la integrina $\alpha 5\beta 1$ y, de forma
40 adicional, como antagonistas excepcionales de las integrinas $\alpha v\beta 6$ y $\alpha v\beta 8$. Como tales, estos compuestos son útiles en composiciones farmacéuticas y en métodos para el tratamiento de afecciones mediadas por dichas integrinas mediante la inhibición o antagonización de estas integrinas.

45 Determinados compuestos de la invención pueden combinar el antagonismo de $\alpha 5\beta 1$ con el antagonismo de otras integrinas que se unen a RGD. Dichos antagonistas mixtos pueden ser especialmente útiles en el tratamiento o la prevención de enfermedades donde más de una integrina promueve la angiogénesis aberrante. También pueden ser útiles cuando un segundo proceso de enfermedad, codependiente o independiente de la angiogénesis, es mediado por integrinas RGD que se pueden ver afectadas de forma simultánea por el antagonista anti-angiogénico. En particular, los tumores dependen de forma crucial de la formación de nuevos vasos sanguíneos para mantener el
50 crecimiento por sobre unos pocos milímetros de diámetro. La angiogénesis aberrante en la retina es una característica de muchos trastornos de cegamiento como degeneración macular húmeda vinculada a la edad, vitreorretinopatías, retinopatía del prematuro y retinopatía diabética. Se ha vinculado la angiogénesis con el avance de la fibrosis hepática y pulmonar, así como con el crecimiento del pannus sinovial en la artritis reumatoide.

55 Las integrinas $\alpha v\beta 3$ y $\alpha v\beta 5$ han estado implicadas en la promoción de la angiogénesis (Avraamides *et al.*, 2008), de forma que se puede predecir que su antagonismo además de $\alpha 5\beta 1$ proporciona un bloqueo superior de este proceso. También se sabe que la integrina $\alpha v\beta 3$ tiene incidencia en la metástasis de células tumorales y en la resorción ósea elevada asociada con la osteoporosis y algunos cánceres. Los antagonistas de la invención poseen una actividad variada contra al menos cinco integrinas que se indicó que se unen al complejo TGF β de citocina latente *in vitro*: $\alpha v\beta 1$, $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$, $\alpha v\beta 6$ y $\alpha v\beta 8$. Ver (Asano *et al.*, 2005; Mu *et al.*, 2002; Munger *et al.*, 1999; Wipff *et al.*, 2007 y Munger *et al.*, 1998), que se incorporan a la presente mediante esta referencia. El TGF β se expresa frecuentemente junto con el VEGF de citocina angiogénica e induce su síntesis (Ferrari *et al.*, 2006). Aparte de tener actividad reguladora vascular, el TGF β es un potente inductor de fibrosis en muchos tejidos como los de pulmón, hígado, riñón y epitelial (Nishimura, 2009). Virtualmente todo el TGF β se secreta de células en un complejo que
60 contiene el péptido asociado con la latencia (LAP). Las integrinas $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$ y $\alpha v\beta 6$ interactúan con el motivo de RGD dentro del LAP, lo cual produce un cambio en la conformación del complejo que permite que el TGF β se una a

receptores celulares que activan las vías profibróticas. La integrina $\alpha\beta 8$ también activa el TGF β de forma dependiente de RGD, pero utiliza un mecanismo dependiente de proteasa distinto a las otras integrinas.

El TGF β latente se encuentra presente en todos los tejidos y lo activan las integrinas de forma limitada al tiempo y el espacio. Por lo tanto, la sobrerregulación de la integrina epitelial $\alpha\beta 6$ en los pulmones o el hígado puede promover la cicatrización y el depósito de colágeno de forma localizada, tal como se observó en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (Horan *et al.*, 2008) o fibrosis hepática (Popov *et al.*, 2008). De manera similar, $\alpha\beta 5$ y en menor medida $\alpha\beta 3$ se encuentran presentes en las células mesenquimales y tienen la capacidad de activar el TGF β mesenquimal (Wipff *et al.*, 2007; Scotton *et al.*, 2009). La integrina $\alpha\beta 8$ se expresa en subconjuntos de tipos de células epiteliales, neurales, inmunológicas y mesenquimales. En la piel, la activación del TGF β que acompaña el proceso de cicatrización media el depósito de matriz y promueve la formación de cicatrices. Los compuestos de la presente invención, debido a su capacidad de inhibir de forma simultánea diversas integrinas que activan el TGF β , tienen el potencial de una mayor eficacia en el tratamiento de la fibrosis que cualquier compuesto descrito previamente con perfiles inhibidores más limitados. Adicionalmente, estos compuestos que tienen una potencia de $\alpha\beta 1$ excepcional tienen un potencial de beneficio único en enfermedades caracterizadas por patologías fibróticas y angiogénicas aberrantes.

El TGF β es un importante inductor en la formación de linfocitos T que regulan FoxP3⁺ (T_{reg}) (Yoshimura, 2011). Por lo tanto, los compuestos de la presente invención que inhiben la activación del TGF β pueden reducir la actividad de los T_{reg} y, a su vez, alivian la supresión inmunológica en enfermedades como el cáncer, cuando se administran solos o en combinación con terapias existentes. La mitigación de la actividad de T_{reg} con dichos compuestos también tiene el potencial de mejorar la actividad de las vacunas destinadas a prevenir o tratar el cáncer y enfermedades infecciosas. En presencia de IL-6, el TGF β promueve la conversión de linfocitos T naturales en células TH17 (Yoshimura, 2011). Estas células promueven diversas enfermedades autoinmunes. Se indicó que los ratones que carecen de toda expresión de $\alpha\beta 8$ en las células dendríticas tienen una protección casi completa contra la encefalitis autoinmune experimental, un modelo de esclerosis múltiple (Melton *et al.*, 2010). Por lo tanto, los compuestos de la presente invención que inhiben la activación del TGF β pueden reducir la actividad de Th17 y ser útiles en la prevención o el tratamiento de enfermedades autoinmunes, cuando se administran solos o en combinación con terapias existentes.

Se sabe que el antagonismo de la integrina $\alpha IIb\beta 3$ (también conocida como receptor de fibrinógenos) bloquea la agregación plaquetaria como parte del proceso de coagulación sanguínea. Por consiguiente, para evitar un mayor sangrado al tratar afecciones o enfermedades mediadas por la integrina $\alpha\beta 1$ y otras integrinas, sería beneficioso utilizar compuestos que eviten la $\alpha IIb\beta 3$ de forma selectiva. También se describió una incidencia de $\alpha\beta 5$ en el mantenimiento normal de la retina (Nandrot *et al.*, 2006). Por lo tanto, en algunos usos de compuestos, puede ser deseable evitar la inhibición de $\alpha\beta 5$.

Tal como se indicó anteriormente, las integrinas son una familia de proteínas integrales de la membrana citoplasmática que actúan como mediadores de las interacciones celulares con otras células y con la matriz extracelular (ECM). También inciden en la señalización celular y, por lo tanto, regulan la motilidad, la forma celular y el ciclo celular. Las integrinas no realizan solamente una señalización "del exterior al interior" típica de los receptores, sino que también actúan en un modo "del interior al exterior". Por lo tanto, estas transfieren la información desde la ECM a la célula y le revelan el estado de la célula al exterior, lo cual permite respuestas rápidas y flexibles a los cambios en el entorno, por ejemplo, para permitir la coagulación sanguínea mediante plaquetas.

Hay muchos tipos de integrinas y muchas células tienen múltiples tipos en su superficie. Las integrinas tienen una importancia vital para todos los animales y se han encontrado en todos los animales investigados, desde las esponjas hasta los mamíferos. De tal forma, los compuestos que se dirigen a integrinas han encontrado diversos usos en diferentes animales, incluyendo mascotas, ganado, animales de zoológico y animales salvajes. Las integrinas han sido estudiadas de forma extensa en los humanos. Las integrinas trabajan junto con otras proteínas como las cadherinas, moléculas de adhesión celular de la superfamilia de inmunoglobulinas, selectinas y sindecanos para mediar la comunicación e interacción entre células así como entre célula y matriz. Las integrinas se unen a la superficie celular y componentes de la ECM como fibronectina, vitronectina, colágeno y laminina.

Al liberarse en la membrana celular, se especula que los dímeros de integrina recientemente sintetizados se encuentran en la misma conformación "curva" revelada por los estudios estructurales descritos previamente. Una corriente de pensamiento indica que esta forma curva evita su interacción con sus ligandos, si bien las formas curvas pueden predominar en estructuras de EM de alta resolución de integrina unidas a un ligando de la ECM. Por lo tanto, los dímeros de integrina aparentemente no deben ser 'derechos' para cebarlos y permitir su unión a la ECM. En las células, el cebado se logra mediante una proteína denominada Talin, que se une al extremo β del dímero de integrina y cambia su conformación. Adicionalmente, las proteínas talin tienen la capacidad de dimerizarse y, por lo tanto, se piensa que intervienen en la aglomeración de dímeros de integrina que lleva a la formación de una adhesión focal. Recientemente, también se descubrió que las proteínas Kindlina-1 y Kindlina-2 interactúan con la integrina y la activan.

Cada integrina se forma mediante heterodimerización no covalente de subunidades de glicoproteínas alfa y beta, cuya combinación conlleva actividades biológicas distintas como unión, migración, proliferación, diferenciación y

supervivencia celular. Actualmente se han descrito 24 integrinas en mamíferos que se forman mediante emparejamiento de 18 subunidades α y 8 subunidades β :

Tabla 1 – Integrinas

| Gen | Proteína | Sinónimo | Tipo |
|--------|----------|--------------------|------|
| ITGA1 | CD49a | VLA1 | Alfa |
| ITGA2 | CD49b | VLA2 | Alfa |
| ITGA3 | CD49c | VLA3 | Alfa |
| ITGA4 | CD49d | VLA4 | Alfa |
| ITGA5 | CD49e | VLA5 | Alfa |
| ITGA6 | CD49f | VLA6 | Alfa |
| ITGA7 | ITGA7 | FLJ25220 | Alfa |
| ITGA8 | ITGA8 | | Alfa |
| ITGA9 | ITGA9 | RLC | Alfa |
| ITGA10 | ITGA10 | | Alfa |
| ITGA11 | ITGA11 | HsT18964 | Alfa |
| ITGAD | CD11D | FLJ39841 | Alfa |
| ITGAE | CD103 | HUMINAE | Alfa |
| ITGAL | CD11a | LFA1A | Alfa |
| ITGAM | CD11b | MAC-1 | Alfa |
| ITGAV | CD51 | VNRA, MSK8 | Alfa |
| ITGAW | ITGAW | | Alfa |
| ITGAX | CD11c | | Alfa |
| ITGB1 | CD29 | FNRB, MSK12, MDF2 | Beta |
| ITGB2 | CD18 | LFA-1, MAC-1, MF17 | Beta |
| ITGB3 | CD61 | GP3A, GPIIIa | Beta |
| ITGB4 | CD104 | | Beta |
| ITGB5 | ITGB5 | FLJ26658 | Beta |
| ITGB6 | ITGB6 | | Beta |
| ITGB7 | ITGB7 | | Beta |
| ITGB8 | ITGB8 | | Beta |

5

De manera adicional, se forman variantes de algunas de las subunidades mediante empalme diferencial, por ejemplo, existen cuatro variantes de la subunidad beta-1. Se generan alrededor de 24 integrinas únicas mediante diferentes combinaciones de estas subunidades α y β , si bien la cantidad varía de acuerdo con diferentes estudios.

- 10 Las subunidades de integrina se extienden en toda la membrana plasmática y, en general, tienen dominios citoplasmáticos muy cortos de alrededor de 40-70 aminoácidos. La excepción es la subunidad beta-4, que tiene un dominio citoplasmático de 1088 aminoácidos, uno de los dominios citoplasmáticos conocidos más extensos de todas las proteínas de membrana. Fuera de la membrana plasmática celular, las cadenas α y β se encuentran cercanas en una extensión de alrededor de 23 nm y los extremos N finales de 5 nm de cada cadena forman una región de unión al ligando para la matriz extracelular (ECM).
- 15

La masa molecular de las subunidades de integrina puede variar entre 90 kDa y 160 kDa. Las subunidades beta tienen cuatro secuencias de repetición ricas en cisteína. Tanto las subunidades α como β se unen a diversos cationes divalentes. Se desconoce el papel de los cationes divalentes en la subunidad α , pero puede estabilizar los pliegues de la proteína. Los cationes en las subunidades β son de mayor interés: se encuentran directamente implicados en la coordinación de al menos algunos de los ligandos a los que se unen las integrinas.

20

Hay diversas formas de clasificar las integrinas. Por ejemplo, un subconjunto de las cadenas α tiene un elemento estructural adicional (o "dominio") introducido hacia el extremo N, el dominio alfa-A (denominado de esta forma debido a que tiene una estructura similar a los dominios A que se encuentran en la proteína del factor de von Willebrand, también se denomina dominio α -I). Las integrinas que transportan este dominio se unen a colágenos (p. ej., las integrinas $\alpha 1, \beta 1$ y $\alpha 2, \beta 1$) o actúan como moléculas de adhesión entre células (integrinas de la familia $\beta 2$). Este dominio α -I es el sitio de unión para ligandos de dichas integrinas. Las integrinas que no transportan este dominio introducido también tienen un dominio A en su sitio de unión al ligando, pero este dominio A se encuentra en la subunidad β .

25

30

En ambos casos, los dominios A transportan hasta tres sitios de unión a cationes divalentes. Uno se encuentra permanentemente ocupado en concentraciones fisiológicas de cationes divalentes y transporta un ion de calcio o magnesio, los cationes divalentes principales en la sangre, a concentraciones medianas de 1,4 mM (calcio) y 0,8 mM (magnesio). Los otros dos sitios se ocupan con cationes al unirse los ligandos -al menos para los ligandos que utilizan un aminoácido ácido en sus sitios de interacción. Un aminoácido ácido se encuentra presente en el sitio de interacción de integrina de muchas proteínas de la ECM, por ejemplo como parte de la secuencia de aminoácidos,

35

ácido Arginina-Glicina-Aspártico ("RGD").

La invención también se refiere a un método para inhibir o antagonizar la integrina $\alpha 5\beta 1$ de forma particular, así como $\alpha v\beta 6$ y $\alpha v\beta 8$ e integrinas relacionadas. De manera más específica, se refiere a un método para inhibir afecciones patológicas asociadas con las mismas, como angiogénesis, incluyendo angiogénesis tumoral, fibrosis y enfermedades fibróticas como fibrosis pulmonar, renal, cardíaca y hepática, formación de cicatrices, como cicatrices de retina, córnea y dérmicas, retinopatía, incluyendo retinopatía diabética y degeneración macular, vitreorretinopatía, incluyendo retinopatía del prematuro (ROP) y vitreorretinopatía exudativa familiar (FEVR), osteoporosis, hipercalemia humoral maligna, enfermedad de Paget, metástasis tumoral, crecimiento tumoral sólido (neoplasia), artritis, incluyendo artritis reumatoide, enfermedad periodontal, psoriasis, restenosis y migración de células de músculo liso, enfermedad autoinmune, como esclerosis múltiple y patógenos infecciosos mediante administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto descrito previamente para lograr dicha inhibición junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

Para el antagonismo o la inhibición selectiva de $\alpha 5\beta 1$, $\alpha v\beta 6$, $\alpha v\beta 8$ e integrinas relacionadas, los compuestos de la presente invención se pueden administrar por vía oral, parenteral o mediante atomizador para inhalación, o por vía tópica en formulaciones de dosificación unitaria con portadores, adyuvantes y vehículos convencionales farmacéuticamente aceptables. El término parenteral, tal como se usa en la presente, incluye, por ejemplo, técnicas de infusión subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraesternal, o por vía intraperitoneal.

Los compuestos de la presente invención se administran mediante cualquier vía adecuada en forma de una composición farmacéutica adaptada para dicha vía y en una dosis eficaz para el tratamiento deseado. El experto en la técnica puede determinar fácilmente las dosis terapéuticamente eficaces de los compuestos necesarias para tratar la afección médica o para prevenir o detener su avance, utilizando enfoques preclínicos y clínicos conocidos en las técnicas medicinales.

Por consiguiente, la presente invención proporciona un método para tratar afecciones mediadas por la inhibición o antagonización de $\alpha 5\beta 1$, $\alpha v\beta 6$, $\alpha v\beta 8$ y receptores de integrina de la superficie celular relacionados, donde el método comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto seleccionado de la clase de compuestos descritos anteriormente, donde uno o más compuestos se administran en asociación con uno o más portadores y/o diluyentes y/o adyuvantes (denominados en la presente de forma colectiva como materiales "portadores") no tóxicos farmacéuticamente aceptables y, si así se desea, otros ingredientes activos. De forma más específica, la presente invención proporciona un método para inhibir $\alpha 5\beta 1$, $\alpha v\beta 6$, $\alpha v\beta 8$ y receptores de integrina en la superficie celular relacionados. De manera más preferente, la presente invención proporciona un método para inhibir la angiogénesis, incluyendo angiogénesis tumoral, inhibir y tratar fibrosis y enfermedades fibróticas como fibrosis pulmonar y fibrosis hepática, inhibir y tratar la formación de cicatrices, como cicatrices de la retina, córnea y dérmicas, inhibir y tratar la retinopatía, incluyendo retinopatía diabética y degeneración macular, inhibir y tratar la vitreorretinopatía, incluyendo retinopatía del prematuro (ROP) y vitreorretinopatía exudativa familiar (FEVR), inhibir la resorción ósea, tratar la osteoporosis, tratar la hipercalemia humoral maligna, tratar la enfermedad de Paget, inhibir la metástasis tumoral, inhibir el crecimiento de tumores sólidos (neoplasia), tratar la artritis, incluyendo artritis reumatoide, tratar la enfermedad periodontal, tratar la psoriasis, inhibir la restenosis y migración de células de músculo liso, tratar la enfermedad autoinmune, como esclerosis múltiple, e inhibir y tratar patógenos infecciosos.

Según las técnicas experimentales estándar de laboratorio y procedimientos conocidos y valorados por los expertos en la técnica, así como comparaciones con compuestos con utilidad sabida, los compuestos descritos previamente se pueden utilizar en el tratamiento de pacientes que padecen las afecciones patológicas precedentes. Un experto en la técnica observará que la selección del compuesto más adecuado de la invención se encuentra dentro de la capacidad del experto en la técnica y dependerá de diversos factores, incluyendo la evaluación de los resultados obtenidos en modelos animales y ensayos estándar.

Tal como se indicó previamente, los compuestos de la invención se pueden utilizar en diversas áreas biológicas, profilácticas o terapéuticas. Se contempla que estos compuestos son útiles para prevenir o tratar cualquier enfermedad o afección donde tienen incidencia $\alpha 5\beta 1$, $\alpha v\beta 6$, $\alpha v\beta 8$ e integrinas relacionadas.

V. Formulaciones farmacéuticas y vías de administración

Para administración a un animal, especialmente un mamífero que necesita dicho tratamiento, los compuestos en una cantidad terapéuticamente eficaz se combinan generalmente con uno o más excipientes adecuados para indicar la vía de administración. Se contempla la formulación de los compuestos de la presente invención de una forma que se pueda aplicar al tratamiento de un paciente veterinario así como de un paciente humano. En algunas realizaciones, el paciente veterinario puede ser una mascota, ganado, animales de zoológico y animales salvajes. Los compuestos se pueden mezclar con lactosa, sacarosa, polvo de almidón, ésteres de celulosa de ácidos alcanóicos, alquil ésteres de celulosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácidos fosfórico y sulfúrico, gelatina, acacia, alginato de sodio, polivinilpirrolidona y/o alcohol polivinílico y se pueden colocar en comprimidos o cápsulas para una administración conveniente. De forma alternativa, los compuestos se pueden disolver en agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de maní,

aceite de sésamo, alcohol bencílico, cloruro de sodio y/o diversos amortiguadores. En la técnica farmacéutica se conocen ampliamente otros excipientes y modos de administración y se pueden adaptar al tipo de animal tratado.

5 Las composiciones farmacéuticas útiles en la presente invención pueden estar sujetas a usos farmacéuticos convencionales, tales como esterilización y/o pueden contener portadores y excipientes farmacéuticos convencionales, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, amortiguadores, etc.

10 Los compuestos de la presente descripción se pueden administrar mediante diversos métodos, *p. ej.*, por vía oral o mediante inyección (*p. ej.*, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, etc.). Dependiendo de la vía de administración, los compuestos activos se pueden recubrir con un material para proteger al compuesto de la acción de ácidos y otras condiciones naturales que pueden inactivar al compuesto. También se pueden administrar mediante perfusión/infusión continua del lugar de la herida o enfermedad.

15 Para administrar un compuesto terapéutico mediante vías de administración que no sean parenterales, puede ser necesario recubrir el compuesto o administrarlo conjuntamente con un material para evitar su inactivación. Por ejemplo, el compuesto terapéutico se le puede administrar a un paciente en un portador adecuado, por ejemplo, liposomas, o en un diluyente. Los diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones salinas y soluciones amortiguadoras acuosas. Los liposomas incluyen emulsiones CGF de agua en aceite en agua, así como liposomas convencionales.

20 El compuesto terapéutico también se puede administrar por vía parenteral, intraperitoneal, intraespinal o intracerebral. También pueden prepararse las dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos, así como en aceites. En condiciones habituales de almacenamiento y uso, estas preparaciones pueden contener un conservante para evitar el crecimiento de microorganismos.

25 Las composiciones farmacéuticas que pueden ser adecuadas para el uso inyectable incluyen dispersiones o soluciones acuosas estériles (cuando sean solubles en agua) y polvos estériles para la preparación extemporánea de dispersiones o soluciones inyectables estériles. En todos los casos, la composición debe ser estéril y fluida en la medida en que exista la posibilidad de colocarla en una jeringa fácilmente. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y se debe preservar contra la acción contaminante de microorganismos como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (como glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido y similares), mezclas adecuadas de estos y aceites vegetales. La fluidez adecuada se puede mantener, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula necesario en el caso de la dispersión y utilizando tensioactivos.

30 La prevención de la acción de microorganismos se puede lograr mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, es preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio o polialcoholes, tales como manitol y sorbitol. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede provocarse incluyendo en la composición un agente de retraso de la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio o gelatina.

35 Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando el compuesto terapéutico en la cantidad necesaria en un solvente adecuado con un ingrediente o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido por esterilización filtrada. Generalmente, las dispersiones se preparan mediante la incorporación del compuesto terapéutico en un portador estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes necesarios de los mencionados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de la preparación son el secado al vacío y la liofilización, que proporcionan un polvo de un ingrediente activo (es decir, el compuesto terapéutico) más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución de estos previamente filtrada en condiciones estériles.

40 El compuesto terapéutico se puede administrar por vía oral, por ejemplo, con un diluyente inerte o un portador comestible asimilable. El compuesto terapéutico y otros ingredientes también pueden quedar comprendidos en una cápsula de gelatina dura o blanda, formados en comprimidos o incorporados directamente en la dieta del sujeto. Para la administración terapéutica oral, el compuesto terapéutico puede incorporarse con excipientes y utilizarse en forma de comprimidos que se puedan ingerir, comprimidos bucales, pastillas, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. Por supuesto, el porcentaje del compuesto terapéutico en las composiciones y preparaciones se puede variar. La cantidad del compuesto terapéutico en dichas composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtiene una dosificación adecuada.

45 50 55 60 65 Es especialmente ventajoso formular composiciones parenterales en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. La forma de dosificación unitaria tal como se usa en la presente se refiere a unidades físicamente separadas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos que se desea tratar, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto terapéutico calculado para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico necesario. La especificación de las formas de dosificación unitaria de la invención está impuestas por y dependen directamente de (a) las características exclusivas del compuesto terapéutico y el efecto terapéutico particular que se desea lograr y (b) las limitaciones

inherentes en la técnica de formación de compuestos con dicho compuesto terapéutico para el tratamiento de una afección seleccionada en un paciente.

5 El compuesto terapéutico también se puede administrar por vía tópica a la piel, los ojos o la mucosa. De forma alternativa, si se desea el suministro local a los pulmones, el compuesto terapéutico se puede administrar mediante inhalación en una formulación de aerosol o polvo seco.

10 Los compuestos activos se administran en una dosificación terapéuticamente eficaz suficiente para tratar un estado asociado con una afección en un paciente. Por ejemplo, se puede evaluar la eficacia de un compuesto en un sistema de modelo animal que puede predecir la eficacia en el tratamiento de la enfermedad en un humano u otro animal, como los sistemas de modelos que se muestran en los ejemplos y dibujos.

15 Un intervalo de dosis eficaces de un agente terapéutico se puede extrapolar a partir de dosis eficaces determinadas en estudios animales para varios animales diferentes. En general, se puede calcular una dosis equivalente humana (HED) en mg/kg de acuerdo con la siguiente fórmula (ver, p. ej., Reagan-Shaw *et al.*, *FASEB J.*, 22(3):659-661, 2008, que se incorpora a la presente mediante referencia):

$$\text{HED (mg/kg)} = \text{dosis animal (mg/kg)} \times (\text{K}_m \text{ animal} / \text{K}_m \text{ humana})$$

20 El uso de los factores de K_m en la conversión produce valores de HED más exactos, basados en el área de superficie corporal (BSA), en lugar de solamente en la masa corporal. Se conocen los valores de K_m para humanos y diversos animales. Por ejemplo, la K_m para un humano promedio de 60 kg (con una BSA de 1,6 m²) es de 37, mientras que un niño de 20 kg (BSA de 0,8 m²) tendría una K_m de 25. También se conocen las K_m para algunos modelos animales relevantes, incluyendo: K_m de ratón de 3 (con un peso de 0,02 kg y una BSA de 0,007), K_m de hámster de 5 (con un peso de 0,08 kg y una BSA de 0,02), K_m de rata de 6 (con un peso de 0,15 kg y una BSA de 0,025) y K_m de mono de 12 (con un peso de 3 kg y una BSA de 0,24).

30 Las cantidades exactas de la composición terapéutica dependen del criterio del médico y son específicas para cada individuo. No obstante, una dosis HED calculada proporciona una referencia general. Otros factores que afectan la dosis incluyen el estado físico y clínico del paciente, la vía de administración, la meta deseada del tratamiento y la potencia, estabilidad y toxicidad de la formulación terapéutica particular.

35 La cantidad de dosificación real de un compuesto de la presente descripción o la composición que comprende un compuesto de la presente descripción que se le administra a un sujeto se puede determinar en función de factores físicos y fisiológicos como el tipo de animal tratado, la edad, el sexo, el peso corporal, la gravedad de la afección, el tipo de enfermedad que se trata, intervenciones terapéuticas previas o simultáneas, la idiopatía del sujeto y la vía de administración. El experto puede determinar estos factores. El médico responsable de la administración determinará normalmente la concentración del o los ingredientes activos en una composición y la o las dosis adecuadas para el sujeto individual. El médico del individuo puede ajustar la dosificación en caso de contraindicaciones.

40 Una cantidad eficaz varía normalmente entre alrededor de 0,001 mg/kg y alrededor de 1000 mg/kg, entre alrededor de 0,01 mg/kg y alrededor de 750 mg/kg, entre alrededor de 100 mg/kg y alrededor de 500 mg/kg, entre alrededor de 1,0 mg/kg y alrededor de 250 mg/kg, entre alrededor de 10,0 mg/kg y alrededor de 150 mg/kg en una o más administraciones diarias de la dosis, durante uno o más días (dependiendo del esquema del modo de administración y los factores indicados previamente). Otros intervalos de dosis adecuados incluyen 1 mg a 10000 mg por día, 100 mg a 10000 mg por día, 500 mg a 10000 mg por día y 500 mg a 1000 mg por día. En algunas realizaciones particulares, la cantidad es menor a 10.000 mg por día con un intervalo de 750 mg a 9000 mg por día.

50 La cantidad eficaz puede ser inferior a 1 mg/kg/día, inferior a 500 mg/kg/día, inferior a 250 mg/kg/día, inferior a 100 mg/kg/día, inferior a 50 mg/kg/día, inferior a 25 mg/kg/día o inferior a 10 mg/kg/día. Puede encontrarse de forma alternativa en el intervalo de 1 mg/kg/día a 200 mg/kg/día. Por ejemplo, con relación al tratamiento de pacientes diabéticos, la dosis unitaria puede ser una cantidad que reduce la glucosa en sangre en al menos un 40 % en comparación con un sujeto sin tratamiento. En otra realización, la dosificación unitaria es una cantidad que reduce la glucosa en sangre hasta un nivel que es ± 10 % del nivel de glucosa en sangre de un sujeto no diabético.

55 En otros ejemplos no taxativos, una dosis también puede comprender entre alrededor de 1 microgramo/kg/peso corporal, alrededor de 5 microgramos/kg/peso corporal, alrededor de 10 microgramos/kg/peso corporal, alrededor de 50 microgramos/kg/peso corporal, alrededor de 100 microgramos/kg/peso corporal, alrededor de 200 microgramos/kg/peso corporal, alrededor de 350 microgramos/kg/peso corporal, alrededor de 500 microgramos/kg/peso corporal, alrededor de 1 miligramo/kg/peso corporal, alrededor de 5 miligramos/kg/peso corporal, alrededor de 10 miligramos/kg/peso corporal, alrededor de 50 miligramos/kg/peso corporal, alrededor de 100 miligramos/kg/peso corporal, alrededor de 200 miligramos/kg/peso corporal, alrededor de 350 miligramos/kg/peso corporal, alrededor de 500 miligramos/kg/peso corporal, a alrededor de 1000 mg/kg/peso corporal o más por administración y cualquier intervalo derivable de los mismos. En ejemplos no taxativos de un intervalo derivable de los números indicados en la presente, se puede administrar un intervalo de alrededor de 5 mg/kg/peso corporal a alrededor de 100 mg/kg/peso corporal, alrededor de 5 microgramos/kg/peso corporal a

alrededor de 500 miligramos/kg/peso corporal, *etc.*, según los números descritos previamente.

En determinadas realizaciones, una composición farmacéutica de la presente descripción puede comprender, por ejemplo, al menos alrededor de 0,1 % de un compuesto de la presente descripción. En otras realizaciones, el compuesto de la presente descripción puede comprender entre alrededor de 2 % y alrededor de 75 % del peso de la unidad o entre alrededor de 25 % y alrededor de 60 %, por ejemplo, y cualquier intervalo derivable de los mismos.

Se contemplan dosis únicas o múltiples de los agentes. El experto en la técnica puede determinar los intervalos de tiempo deseados para el suministro de múltiples dosis utilizando solamente la experimentación habitual. Como ejemplo, los sujetos pueden recibir dos dosis diarias a intervalos de aproximadamente 12 horas. En algunas realizaciones, el agente se administra una vez al día.

El o los agentes se pueden administrar en un cronograma habitual. Tal como se usa en la presente, un cronograma habitual se refiere a un período de tiempo designado predeterminado. El cronograma habitual puede comprender períodos de tiempo idénticos o que difieren en su extensión, siempre que el cronograma sea predeterminado. Por ejemplo, un cronograma habitual puede implicar una administración dos veces al día, todos los días, cada dos días, cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días, cada seis días, por semana, por mes, o cualquier cantidad fija de días o semanas entre medio. De forma alternativa, el cronograma habitual predeterminado puede implicar la administración dos veces al día durante la primera semana, seguida por una administración diaria durante varios meses, *etc.* En otras realizaciones, la invención dispone que el o los agentes se pueden ingerir por vía oral y que los tiempos de los mismos depende o no depende de la ingesta de alimentos. Por lo tanto, por ejemplo, el agente se puede ingerir cada mañana y/o cada noche, independientemente de cuándo haya comido o vaya a comer el sujeto.

VI. Terapia de combinación

Además de utilizarse como monoterapia, los compuestos de la presente invención también pueden utilizarse en terapias de combinación. Se puede lograr una terapia de combinación eficaz con una única composición o formulación farmacológica que incluye ambos agentes o con dos composiciones o formulaciones separadas administradas al mismo tiempo, donde una composición incluye un compuesto de la presente invención y la otra incluye el segundo agente o agentes. De forma alternativa, la terapia puede realizarse antes o después del tratamiento con el otro agente en intervalos que oscilan entre minutos y meses.

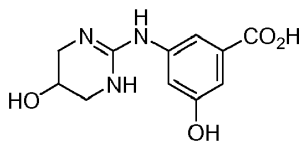
Ejemplos no taxativos de dicha terapia de combinación incluyen la combinación de uno o más compuestos de la invención con otro agente anti-inflamatorio, un agente quimioterapéutico, terapia de radiación, un antidepresivo, un agente antipsicótico, un antiepiléptico, un estabilizante anímico, un agente anti-infeccioso, un agente antihipertensivo, un agente hipocolesterolemizante u otro modulador de lípidos en sangre, un agente de promoción de pérdida de peso, un agente antitrombótico, un agente para tratar o prevenir eventos cardiovasculares como infarto de miocardio o apoplejía, un agente antidiabético, un agente para reducir el rechazo de trasplantes o enfermedad de injerto contra hospedador, un agente antiartrítico, un agente analgésico, un agente antiasmático u otro tratamiento para enfermedades respiratorias o un agente para el tratamiento o la prevención de trastornos epiteliales. Los compuestos de la invención se pueden combinar con agentes diseñados para mejorar la respuesta inmunitaria del paciente al cáncer, incluyendo (de forma no taxativa) vacunas contra el cáncer.

VII. Ejemplos

Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar realizaciones preferidas de la invención. Los expertos en la técnica deben observar que las técnicas descritas en los ejemplos a continuación representan técnicas que el inventor descubrió que funcionan de forma correcta en la práctica de la invención y, por lo tanto, se puede considerar que constituyen modos preferidos de ponerla en práctica. No obstante, los expertos en la técnica, en función de la presente descripción, deben observar que se pueden realizar muchos cambios en las realizaciones específicas descritas y seguir obteniendo un resultado igual o similar sin alejarse del espíritu y alcance de la invención. Los compuestos que no entran dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas son compuestos de referencia.

Instrumentación y métodos generales.

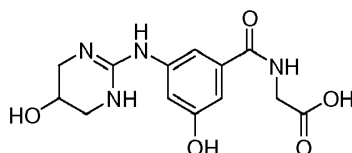
Se realizaron análisis HPLC analíticos en un sistema Agilent 1100 y se realizaron análisis de LC-MS en un sistema LC/MSD Agilent serie 1100. Se registraron los espectros de ionización química (CI) en masa a un voltaje de ionización de 70 eV en un espectrómetro de masa cuádruplo de CI Hewlett-Packard 5973 conectado a un cromatógrafo de gas Hewlett-Packard 6890 equipado con una columna Agilent Tech 12 m × 0,2 mm × 0,33 μm DB-1 (metil silicona reticulada). Los espectros de NMR se registraron en un espectrómetro Bruker *Avance-III*/400 MHz equipado con una sonda de NMR de banda ancha. Se utilizó la señal del solvente deuterado como referencia interna.

Ejemplo A**Preparación de ácido 3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)aminobenzoico**

5

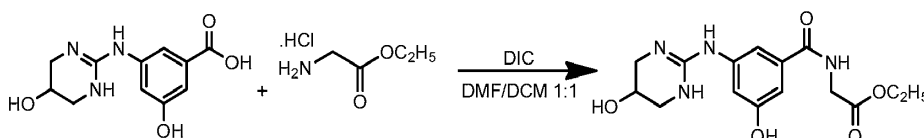
Se sintetizó ácido 3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)aminobenzoico de acuerdo con los procedimientos de la bibliografía (ver *Organic Process Research & Development*, 8:571-575, 2004, que se incorpora a la presente mediante referencia).

10

Ejemplo B**Preparación de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético**

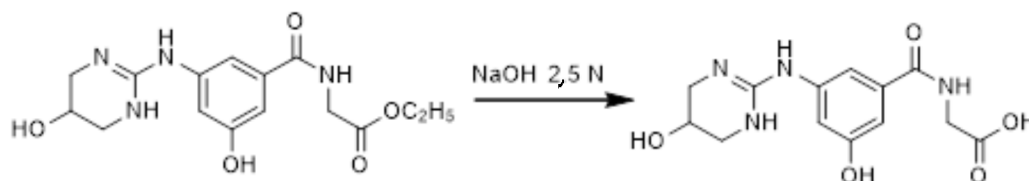
15

Se preparó ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético de acuerdo con el siguiente procedimiento:

Acoplamiento de ácido 3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)aminobenzoico con éster etílico de glicina:

A una suspensión de ácido 3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)aminobenzoico (9,013 g, 35,87 mmol) en una mezcla 1:1 de DMF (50,0 ml) y DCM (50,0 ml) se le agregó clorhidrato de éster etílico de glicina (5,02 g, 35,95 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida pura (6,75 ml, 43,60 mmol) a la mezcla de reacción anterior y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar una suspensión incolora. La mezcla de reacción bruta se utilizó como estaba para la hidrólisis del éster anterior.

30



La mezcla de reacción bruta anterior se enfrió a 10 °C (baño de hielo) y lentamente se añadió una solución de de NaOH 2,5N (90,0 ml) con agitación; la temperatura de la solución se mantuvo por debajo de 20 °C para proporcionar una suspensión/solución amarilla pálida. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. La mezcla de reacción se acidificó con HCl 5N con agitación hasta un pH 5 para proporcionar un precipitado incoloro y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otros 15 min y se filtró para proporcionar un sólido incoloro. El sólido se lavó con agua (1 x 25 ml) y luego con acetonitrilo (1 x 25 ml). El sólido se secó al vacío para proporcionar un polvo incoloro (9,686 g, rendimiento 88 %).

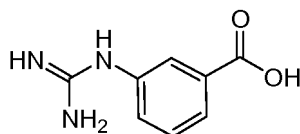
40

¹H NMR (400 MHz, D₂O): δ 3,37 (dd, J = 12,7 y 3,1 Hz, 2H), 3,50 (dd, J = 12,7 y 2,8 Hz, 2H), 4,17 (s, 2H), 4,37 (m, 1H), 6,97 (t, J = 2,01 Hz, 1H), 7,17-7,26 (m, 2H). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

45

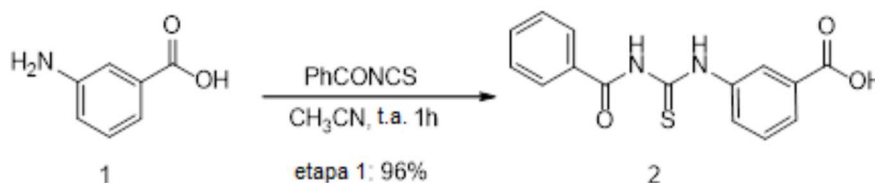
Ejemplo C:**Preparación de ácido 5-guanidino benzoico**

5



Se preparó ácido 5-guanidino benzoico de acuerdo con el siguiente procedimiento:

10

Etapas 1

15

Una mezcla del compuesto 1 (50 g, 0,36 mol) y isotiocianato de bencé (65,5 g, 0,40 mol) en CH_3CN (1,0 L) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La TLC no mostró restos de material de partida. El precipitado se filtró y lavó con CH_3CN , se secó para proporcionar el Compuesto 2 (104 g, 96 %) como un sólido amarillo claro.

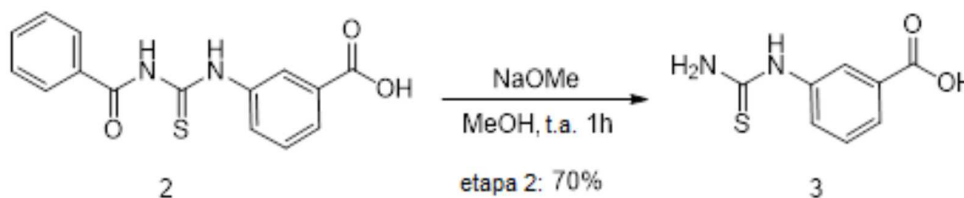
Información de la TLC: (DCM/MeOH=10/1)

Material: $R_f = 0,1$

Producto: $R_f = 0,2$

20

$^1\text{H NMR}$: 400 MHz DMSO δ 12,63 (s, 1H), 11,64 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,00-7,98 (d, $J=7,06\text{Hz}$, 2H), 7,90-7,83 (m, 2H), 7,67-7,65 (m, 1H), 7,57-7,53 (m, 3H).

Etapas 2

25

En una solución agitada del compuesto 2 (83 g, 0,28 mol) en CH_3OH anhidro (500 ml) se agregó NaOMe (16,44 g, 0,30 mol) lentamente a temperatura ambiente. En 10 min se produjo una solución transparente y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h. El solvente se retiró y el residuo se trituró con t-BuOMe para dejar un polvo amarillo claro. El polvo se diluyó con H_2O y se acidificó hasta un $\text{pH}=2-3$. El sólido amarillo formado se filtró y se secó para proporcionar el Compuesto 3 (38 g, 70 %).

30

Información de la TLC: (DCM/ CH_3OH =20/1 + CH_3COOH)

Material: $R_f = 0,5$

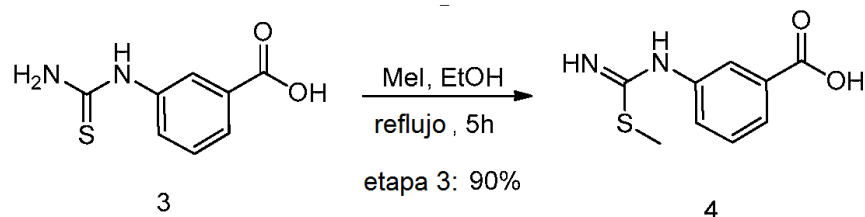
Producto: $R_f = 0,3$

35

$^1\text{H NMR}$: 400 MHz DMSO

δ 12,98 (s, 1H), 9,83 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,69-7,66 (m, 2H), 7,45-7,41 (m, 1H).

Etapa 3



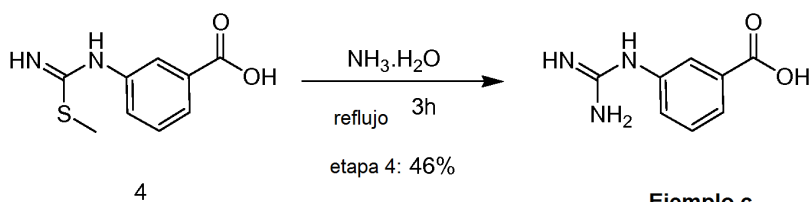
5 En una solución agitada del **compuesto 3** (15 g, 0,076 mol) en EtOH (80 ml) se añadió CH_3I (11,4 g, 0,08 mol) lentamente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calentó hasta reflujo y se agitó durante 5 h. La TLC no mostró restos de material de partida. El solvente se retiró y se obtuvo el **compuesto 4** (14,5 g, 90 %) como un aceite amarillo.

Información de la TLC: (DCM/ CH_3OH = 20/1 + CH_3COOH)

Material: $R_f = 0,3$

10 Producto: $R_f = 0,2$

Etapa 4



15 Se calentó una mezcla del compuesto 4 (14,5 g, 0,069 mol) en NH_4OH (100 ml) hasta reflujo y se agitó durante 3 h. El sólido formado se filtró y se secó. Se obtuvo ácido 5-guanidino benzoico (Ejemplo C) (5,68 g, 46 %) como un sólido blanco.

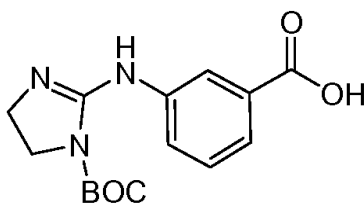
La LC/MS ($M+H = 180,1$) es coherente para el producto deseado.

^1H NMR: 400 MHz DMSO δ 12,71-12,67 (m, 1H), 8,16 (s, 3H), 7,74-7,72 (m, 2H), 7,40-7,31 (m, 2H).

20

Ejemplo D

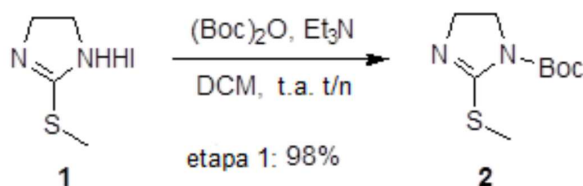
Preparación de ácido 3-[(4,5-dihidro-Boc-1H-imidazol-2-il)amino]-benzoico



Se preparó ácido 3-[(4,5-dihidro-Boc-1H-imidazol-2-il)amino]-benzoico de acuerdo con el siguiente procedimiento:

Etapa 1

30



En una solución agitada del compuesto 1 (23,0 g, 0,094 mol) y Et₃N (20,0 g, 0,198 mol) se agregó (Boc)₂O (20,5 g, 0,0942 mol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. Se retiró el solvente y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (PE:EA=10:1) para obtener el compuesto 2 (20 g, 98 %) como un aceite incoloro.

5 **Información de la TLC:** (PE/EA=5/1)

Material: R_f = 0,1

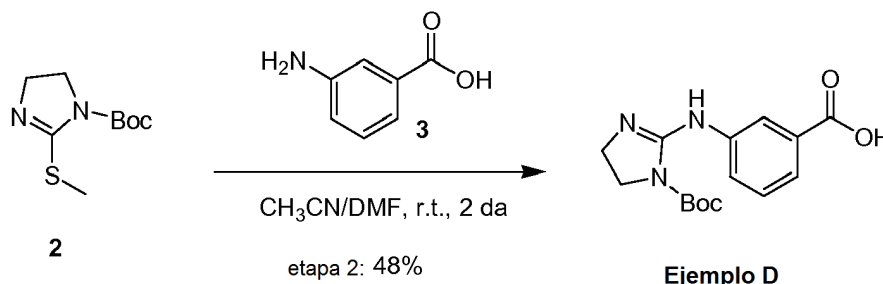
Producto: R_f = 0,4

¹H NMR: WH00398-025-1A 400 MHz CDCl₃

δ 3,84-3,82 (m, 4H), 2,38 (s, 3H), 1,50 (s, 9H).

10

Etapa 2



15 Se agitó una solución del compuesto 2 (11,6 g, 0,054 mol) y el compuesto 3 (7,0 g, 0,05 mol) en CH₃CN/DMF (50 ml/20 ml) a temperatura ambiente durante 2 d. El sólido formado se filtró y se secó. Se obtuvo el ejemplo D (7,28 g, 48 %) como un sólido blanco.

La LC/MS (M+H = 306) es coherente para el producto deseado.

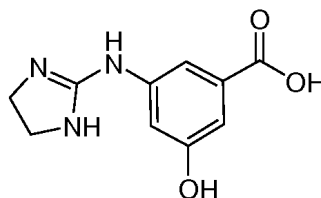
¹H NMR: WH00398-037-1A 400 MHz CH₃OD

20 δ 7,94-7,87 (m, 2H), 7,51-7,43 (m, 2H), 4,12-4,08 (m, 2H), 3,72-3,67 (m, 2H), 1,61 (s, 9H).

Ejemplo E

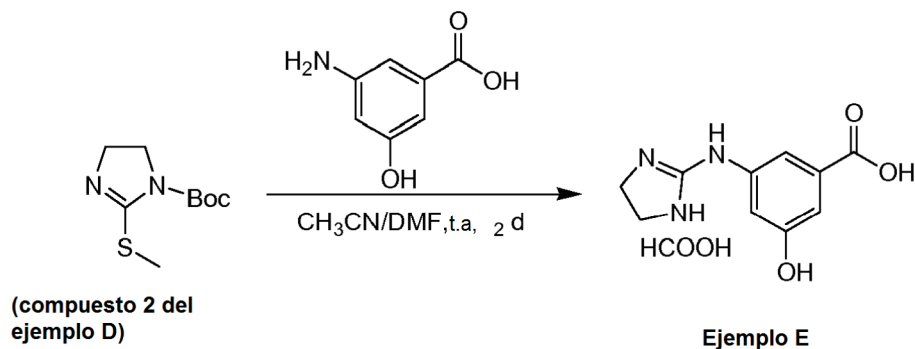
Preparación de ácido 3-[(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino]-5-hidroxi benzoico

25



Se preparó ácido 3-[(4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino]-5-hidroxi benzoico de acuerdo con el siguiente procedimiento:

30



35 Se agitó una solución del compuesto 2 del Ejemplo D (15,5 g, 0,072 mol) y ácido 3-amino-5-hidroxi benzoico (10 g, 0,065 mol) en CH₃CN/DMF (50 ml/20 ml) a temperatura ambiente durante 2 d. El sólido formado se filtró y se secó. El sólido luego se purificó mediante prep-HPLC para proporcionar el Ejemplo E (2,1 g, 10 %), obtenido como un sólido blanco.

La LC/MS (M+H = 222) es coherente para el producto deseado.

$^1\text{H NMR}$: A000018723 WH00292-035-SLU-DMF-1J DMSO- d_6 400 MHz

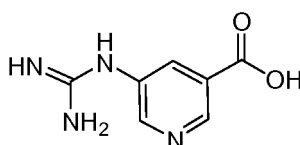
δ 13,089 (s, 1H), 10,726 (s, 1H), 10,251 (s, 1H), 8,540 (s, 1H), 7,248-7,227 (m, 2H), 7,687-6,876 (m, 1H), 3,677 (s, 4H).

5

Ejemplo F

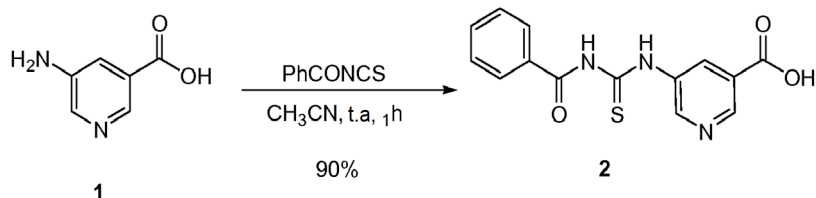
Preparación de ácido 5-guanidino nicotínico

10



Se preparó ácido 5-guanidino nicotínico de acuerdo con el siguiente procedimiento:

Etapa 1



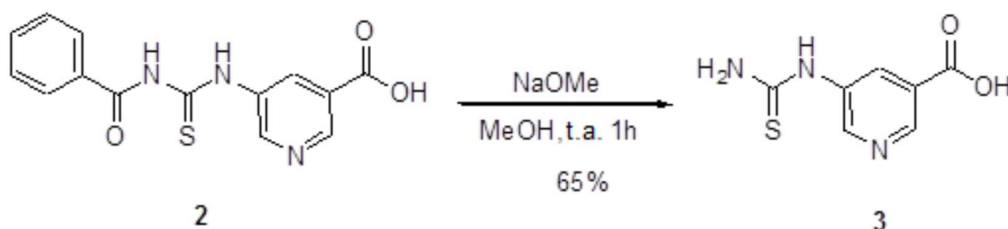
20 Una mezcla del compuesto 1 (40 g, 0,3 mol) y benzoylisotiocianato (95 g, 0,58 mol) en CH_3CN (2,0 L) se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. La TLC no mostró restos de material de partida. El precipitado se filtró y lavó con CH_3CN , se secó para proporcionar el Compuesto 2 (80 g, 90 %) como un sólido amarillo claro.

Información de la TLC: (DCM/MeOH=10/1)

Material: $R_f = 0,1$

25 Producto: $R_f = 0,2$

Etapa 2



30

En una solución agitada del compuesto 2 (80 g, 0,27 mol) en CH_3OH anhidro (500 ml) se agregó Na OMe (28,5 g, 0,53 mol) lentamente a temperatura ambiente. En 20 minutos se produjo una solución transparente y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h. Se retiró el solvente y el residuo se trituroó con t-BuOMe para dejar un polvo amarillo claro. El polvo se diluyó con H_2O y se acidificó hasta un pH=2-3. El sólido amarillo formado se filtró y se secó para proporcionar el Compuesto 3 (33,7 g, 65 %).

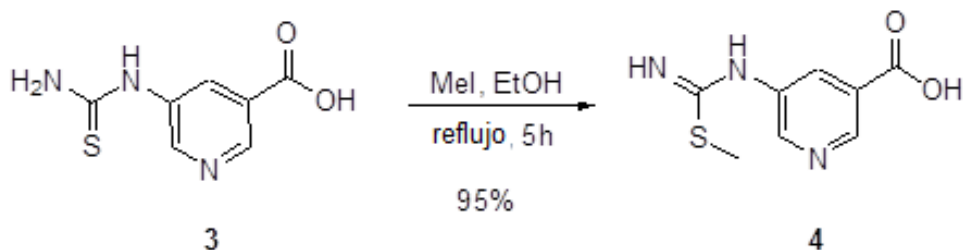
35 **Información de la TLC:** (DCM/ CH_3OH =20/1 + CH_3COOH)

Material: $R_f = 0,5$

Producto: $R_f = 0,3$

40

Etapa 3



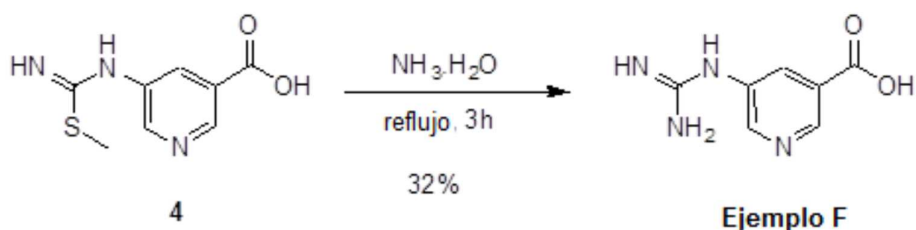
5 En una solución agitada del compuesto 3 (33,7 g, 0,17 mol) en DMF (200 ml) se agregó CH_3I (24,3 g, 0,17 mol) lentamente a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a TA durante 1 h. La TLC no mostró restos de material de partida. El solvente se retiró y se obtuvo el compuesto 4 (34,3 g, 95 %) como un aceite amarillo.

Información de la TLC: (DCM/ CH_3OH = 20/1 + CH_3COOH)

Material: $R_f = 0,3$

10 Producto: $R_f = 0,2$

Etapa 4



15 Se calentó una mezcla del compuesto 4 (18,8 g, 0,089 mol) en NH_4OH (100 ml) hasta reflujo y se agitó durante 5 h. El sólido formado se filtró y se secó. Se obtuvo el ejemplo F (5,14 g, 32 %) como un sólido blanco.

La LC/MS ($M+H = 181$) es coherente para el producto deseado.

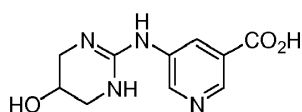
$^1\text{H NMR}$: A000017761 WH00398-043-1 DMSO- d_6 400 MHz

20 δ 12,602 (s, 1H), 8,851 (s, 1H), 8,597 (s, 1H), 8,322 (s, 3H), 7,978 (s, 1H).

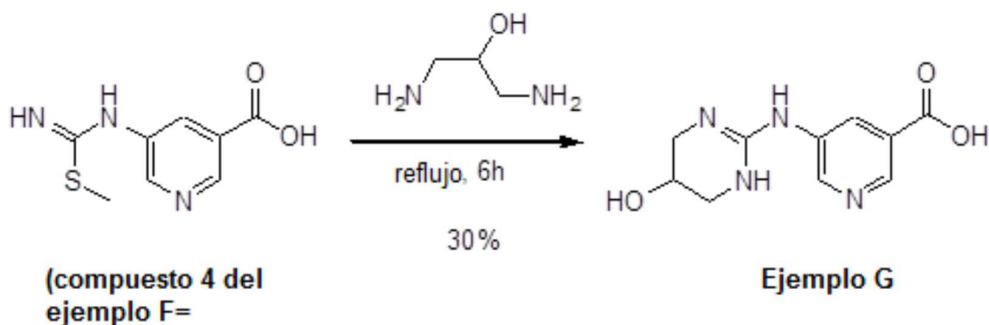
Ejemplo G

Preparación de ácido 5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino) nicotínico

25



30 Se preparó ácido 5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino) nicotínico de acuerdo con el siguiente procedimiento:



Se calentó una mezcla del compuesto 4 del ejemplo F (15,5 g, 0,074 mol) y el hidroxí diamino propano (20 g, 0,22 mol) en DMF (100 ml) hasta reflujo y se agitó durante 5 h. El sólido formado se filtró y se secó. Se obtuvo el ejemplo G (5,2 g, 30 %) como un sólido blanco.

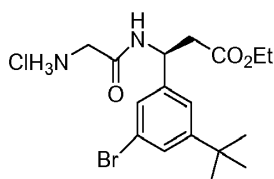
La LC/MS (M+H = 237) es coherente para el producto deseado.

¹H NMR: B000004008 wh00398-050-1C DMSO-*d*₆ 400 MHz

δ 13,053 (s, 1H), 9,881 (s, 2H), 8,783 (s, 1H), 8,630 (s, 1H), 7,897 (s, 1H), 5,492 (s, 1H), 4,112 (s, 1H), 3,410 (s, 2H), 3,228-3,190 (m, 2H).

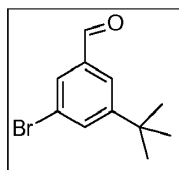
Ejemplo H

Preparación de sal de clorhidrato de éster etílico del ácido (S)-3-(2-amino-acetilamino)-3-(3-bromo-5-terc-butil-fenil)-propiónico



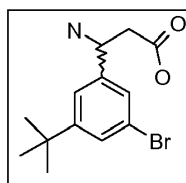
Se preparó sal de clorhidrato de éster etílico del ácido (S)-3-(2-amino-acetilamino)-3-(3-bromo-5-terc-butil-fenil)-propiónico de acuerdo con el siguiente procedimiento:

Etapa 1: Preparación de 3-bromo-5-terc-butil-benzaldehído

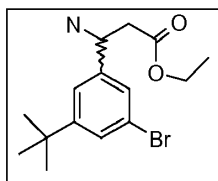


Se disolvió 1, 3-dibromo-5-terc-butylbenzene (50 g, 0,17 mol) en éter anhidro (200 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta -78 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó una solución 2,46 M de *n*-BuLi en hexanos (171,2 ml, 0,171 mol) por goteo a la solución precedente y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 30 minutos después de la adición total de *n*-BuLi. Luego de 30 minutos de agitación a -78 °C, la mezcla de reacción se calentó hasta -30 °C. Se agregó DMF (16 ml, 0,2 mol) a la mezcla de reacción anterior por goteo, manteniendo la mezcla de reacción por debajo de -20 °C. Luego de la adición de DMF, la mezcla de reacción se calentó lentamente hasta 0 °C (30 minutos) y luego se continuó la agitación durante la noche para obtener una solución amarilla-naranja. La mezcla de reacción se vertió en 400 ml de HCl acuoso al 10 % enfriado y la mezcla se agitó durante 15 minutos. La capa de éter se separó, se lavó con agua (2 x 250 ml), se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el producto como un líquido viscoso amarillo pálido. El producto bruto se disolvió en diclorometano (250 ml) y se pasó a través de un lecho corto de gel de sílice (250 g). La evaporación del solvente al vacío proporcionó el producto como un líquido viscoso amarillo pálido (41,2 g).

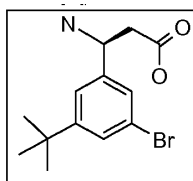
Etapa 2: Preparación de ácido 3-amino-3-(3-bromo-5-terc-butil-fenil)-propiónico



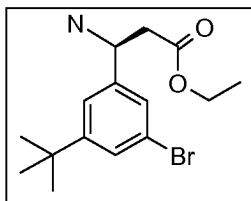
Se calentó una suspensión de 3-bromo-5-terc-butylbenzaldehyde (41,5 g, 0,17 mol), ácido malónico (21,5 g, 0,20 mol) y acetato de amonio (26,6 g, 0,34 mol) en isopropanol (350 ml) a reflujo en nitrógeno durante 14 h para proporcionar un sólido incoloro espeso. El sólido se filtró en caliente, se lavó con isopropanol caliente (2 x 100 ml) y se secó al vacío para proporcionar el producto racémico deseado como un sólido incoloro (37,8 g).

Etapa 3: Preparación de sal de clorhidrato de éster etílico del ácido 3-amino-3-(3-bromo-5-*terc*-butilfenil)-propiónico

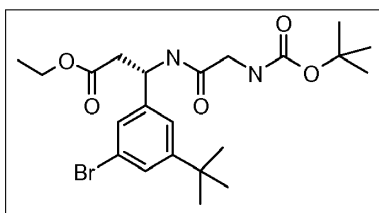
5 Se agregó etanol absoluto (300 ml, saturado con gas de HCl anhidro) a ácido 3-amino-3-(3-bromo-5-*terc*-butilfenil)-propiónico (35 g, 0,12 mol) y la mezcla de reacción se calentó hasta reflujo durante 1,5 h para proporcionar una solución amarilla pálida. El solvente se retiró al vacío para dar el sólido incoloro. El sólido se lavó con éter dietílico y hexanos (2 x 100 ml). Luego de retirar la capa de solvente mediante decantación, el residuo se secó al vacío para proporcionar la sal de clorhidrato de amino éster racémica como un sólido color crema (30 g).

Etapa 4: Preparación de ácido (S)-3-amino-3-(3-bromo-5-*terc*-butilfenil)-propiónico

15 Se alcalinizó una suspensión de clorhidrato de 3-amino-3-(3-bromo-5-*terc*-butilfenil)-propionato de etilo (125 g, 0,38 mol) en agua (500 ml) con NaOH 2,5 N (pH ~ 12) mediante adición por goteo para proporcionar un residuo oleoso color crema. El pH de la capa acuosa se ajustó hasta pH = 8,2 mediante la adición de 50 mM de solución de KH₂PO₄. Se agregó amano lipasa PS (75 g) a la mezcla de reacción anterior y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se filtró la mezcla de reacción y el sólido se lavó con acetato de etilo para proporcionar un sólido incoloro del ácido (S) resuelto (37 g).

Etapa 5: Preparación de éster etílico del ácido (S)-3-amino-3-(3-bromo-5-*terc*-butilfenil)-propiónico

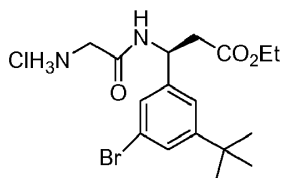
25 Se agregó etanol absoluto (500 ml, saturado con gas de HCl anhidro) a ácido (S)-3-amino-3-(3-bromo-5-*terc*-butilfenil)-propiónico (37 g, 0,12 mol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h para proporcionar una solución incolora. El solvente se retiró al vacío para dar un sólido espumoso amarillo pastel. El sólido se lavó con éter dietílico/hexanos y se secó para proporcionar un sólido espumoso amarillo (41 g).

Etapa 6: Preparación de éster etílico del ácido (S)-3-(3-bromo-5-*terc*-butilfenil)-3-(2-*terc*-butoxicarbonilamino-acetilamino)-propiónico

35 A una suspensión de EDCI.HCl (50 g, 0,25 mol) y HOBT (67,5 g, 0,5 mol) en DMF anhidro (100 ml) se le agregaron Boc-Gly (32,8 gm, 0,18 mol) y éster de amino (41 g, 0,12 mol) a 0 °C en nitrógeno y la mezcla de reacción se agitó durante 16 a TA. La reacción se controló mediante TLC y finalización de la reacción, la mezcla se inactivó con hielo y se extrajo con acetato de etilo (3 x 250 ml). La capa orgánica se lavó de forma sucesiva con agua y salmuera. La

capa orgánica se secó en sulfato de sodio anhidro y se concentró al vacío para proporcionar el producto bruto. El producto bruto luego se purificó mediante cromatografía ultrarrápida usando alúmina básica (eludida con 50 % de acetato de etilo en hexanos) para proporcionar el producto puro (28 g, 46 %) como un líquido pegajoso de color anaranjado pálido.

5 **Etap 7: Preparación de sal de clorhidrato de éster etílico del ácido (S)-3-(2-amino-acetilamino)-3-(3-bromo-5-terc-butil-fenil)-propiónico**



10 A una solución enfriada con hielo de Boc-éster (28 g, 0,25 mmol) en dioxano anhidro (100 ml) se le pasó gas de HCl anhidro durante 30 minutos. Luego, la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h. La reacción se controló mediante TLC y luego de la finalización de la mezcla de reacción, se concentró al vacío para proporcionar el producto puro (24 g, 98,6 %) como un sólido blancuzco.

15 **Ejemplo I**

Preparación de sal de clorhidrato de éster etílico del ácido (S)-3-(2-amino-acetilamino)-3-(3-ciano-5-terc-butil-fenil)-propiónico



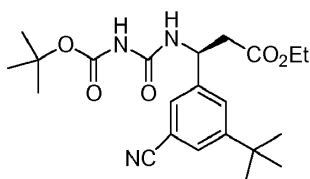
25 Se preparó sal de clorhidrato de éster etílico del ácido (S)-3-(2-amino-acetilamino)-3-(3-ciano-5-terc-butil-fenil)-propiónico de acuerdo con el siguiente procedimiento:

Etap 1: Preparación de éster etílico del ácido (S)-3-(3-bromo-5-terc-butil-fenil)-3-(2-terc-butoxicarbonilamino-acetilamino)-propiónico



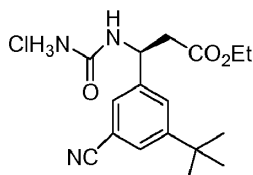
30 A una solución del producto del ejemplo H (2 gm, 5,204 mmol) en 1,4-dioxano (20 ml) se le agregó una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (2,5 ml) y se agitó durante 5 min a TA. Luego, se agregó boc-anhídrido (1,36 ml, 6,245 mmol) a 0 °C y la mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró, se disolvió en EtOAc (60 ml) y se lavó con agua (60 ml), se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el bruto que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (100-200 de malla) con elución con EtOAc al 10 % para proporcionar el compuesto deseado (1,7 g) como un líquido incoloro.

40 **Etap 2: Preparación de éster etílico del ácido (S)-3-(3-ciano-5-terc-butil-fenil)-3-(2-terc-butoxicarbonilamino-acetilamino)-propiónico**



5 El producto de la etapa 1 (250 mg, 0,515 mmol) y Zn (6,7 mg, 0,103 mmol) se tomaron en DMF (5 ml) y la suspensión resultante se desgasificó con argón durante 10 min. Se le agregaron Zn(CN)₂ (60,4 mg, 0,515 mmol) seguido por Pd(OAc)₂ (11,56 mg, 0,052 mmol) y di-ter-butil-fosfino-1,1-binaftilo (20,52 mg, 0,052 mmol) y se desgasificó más con argón durante 15 min. Luego de 3 h de agitación a 110 °C, la masa de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se le agregó solución de NH₄OH 2N (20 ml). La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (50 ml x 2). La capa orgánica combinada se secó en Na₂SO₄, se evaporó hasta sequedad y se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para proporcionar el compuesto deseado (100 mg).

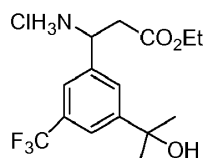
10 **Etapa 3: Preparación de sal de clorhidrato de éster etílico del ácido (S)-3-(2-amino-acetilamino)-3-(3-terc-butil-5-ciano-fenil)-propiónico**



15 El producto de la etapa 2 (100 mg, 0,232 mmol) se trató con HCl-Dioxano 4N (2 ml) a 0 °C durante 2 h. Se concentró la mezcla de reacción y el residuo se trituró con pentano (2 x 5 ml) para proporcionar el compuesto deseado como una sal de HCl (150 mg) como un sólido pegajoso blanquecino.

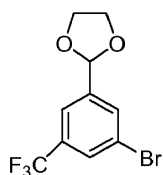
Ejemplo J

20 **Preparación de sal de clorhidrato de éster etílico del ácido 3-amino-3-[3-(1-hidroxi-1-metil-etil)-5-trifluorometil-fenil]-propiónico**



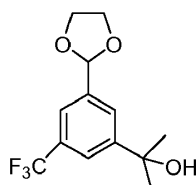
25 La sal de clorhidrato de éster etílico del ácido 3-amino-3-[3-(1-hidroxi-1-metil-etil)-5-trifluorometil-fenil]-propiónico se preparó de acuerdo con el siguiente procedimiento:

Etapa 1: Preparación de 2-(3-bromo-5-trifluorometil-fenil)-[1,3]dioxolano



30 Una mezcla de 3-bromo-5-trifluorometil benzaldehído (10 gm, 39,523 mmol), etilenglicol (6,63 ml, 118,568 mmol) y PTSA.H₂O (150 mg, 0,79 mmol) en tolueno anhidro (60 ml) se calentó hasta reflujo en condiciones de Dean-stark durante 6 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (100 ml) y se lavó con agua (150 ml) y solución de salmuera (150 ml). La capa orgánica se secó en Na₂SO₄, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar 11 g brutos como un líquido incoloro que se purificó mediante cromatografía en columna (malla de gel de sílice 100-200), se eluyó con 5 % de EtOAc en hexanos para proporcionar el compuesto deseado (10 g) como un líquido incoloro.

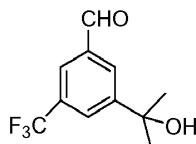
40 **Etapa 2: Preparación de 2-(3-trifluorometil-5-[1,3]dioxolan-2-il-fenil)-propan-2-ol**



45 A una solución del compuesto de la etapa 1 (5 gm, 16,831 mmol) en éter dietílico seco (70 ml) se le agregó por goteo n-BuLi (2,17 M, 16,8 ml, 48,81 mmol) a -78 °C para proporcionar una suspensión de color amarillo. La mezcla de

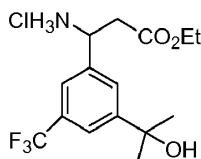
reacción se agitó durante 50 min a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se agregó acetona (3,9 ml, 67,324 mmol) por goteo a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se continuó la agitación durante 1 h. Luego de haberse completado la reacción, la mezcla se inactivó con una solución saturada de NH_4Cl (100 ml). La mezcla de reacción se diluyó con éter dietílico (50 ml) y la capa orgánica se separó, se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró para proporcionar un líquido amarillo pálido bruto (7 gm). El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (100-200 de malla), con elución con 15 % de EtOAc en hexanos, las fracciones recolectadas se concentraron a presión reducida para proporcionar el compuesto deseado (4 gm) como un líquido incoloro.

Etapa 3: Preparación de 3-(1-hidroxi-1-metil-etil)-5-trifluorometil-benzaldehído



A una solución del compuesto de la etapa 2 (1 g, 3,62 mmol) en acetona (10 ml) se le agregó PTSA. H_2O (275 mg, 1,448 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ para proporcionar una solución roja anaranjada durante 4 h. Luego de haberse completado la reacción, la mezcla se concentró, se diluyó con EtOAc (30 ml) y se lavó con solución acuosa saturada de NaHCO_3 saturado (30 ml). La capa orgánica se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar 900 mg de compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice (100-200 de malla) eluyendo con 10 % de EtOAc en hexanos para proporcionar el compuesto deseado (450 mg) como un sólido pegajoso amarillo pálido.

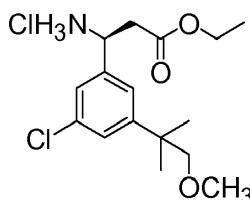
Etapa 4: Preparación de sal de clorhidrato de éster etílico del ácido 3-amino-3-[3-(1-hidroxi-1-metil-etil)-5-trifluorometil-fenil]propiónico



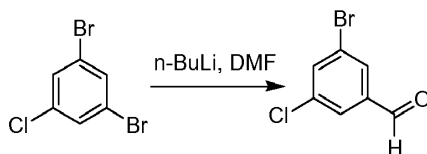
Se calentó una mezcla del compuesto de la etapa 3 (2,2 g, 11,891 mmol), malonato de monoetilo (3,1 ml, 26,278 mmol) y formiato de amonio (3,9 g, 61,95 mmol) en etanol (20 ml) a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 4 h. Luego de haberse completado la reacción, la mezcla se disolvió en DCM (75 ml) y se filtró, el filtrado se concentró a presión reducida para obtener el bruto (2,5 g) como un líquido amarillo pálido. El bruto obtenido se trató con HCl-dioxano 4N (10 ml) durante 10 min a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. La mezcla resultante se concentró y trituró con 50 % de Et_2O /pentano, la sal bruta obtenida de esta forma se disolvió en agua (50 ml) y se lavó con Et_2O (20 ml \times 2), la parte acuosa se alcalinizó con NaHCO_3 sólido y se extrajo con EtOAc (50 ml \times 2). La parte orgánica combinada se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó para proporcionar éster de amino libre (970 mg) como un líquido incoloro. Este compuesto se trató adicionalmente con HCl-dioxano 4N (5 ml) a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 min. La mezcla resultante se evaporó, se trituró con 50 % de Et_2O /pentano y se secó al vacío para proporcionar el compuesto deseado como una mezcla racémica (950 mg) como un sólido pegajoso.

Ejemplo K

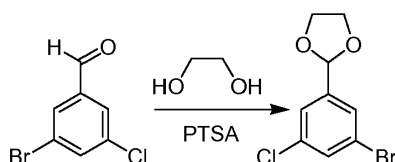
Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1-metoxi-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etil



Se preparó clorhidrato de (S)-etil-3-amino-3-(3-cloro-5-(1-metoxi-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoato de acuerdo con el siguiente procedimiento:

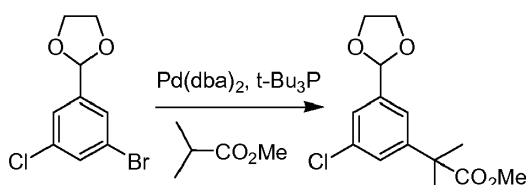
Etapa 1

5 Se disolvió 3,5-di-bromo-clorobenceno (27 g, 100 mmol) en éter isopropílico anhidro (300,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó una solución 2,6 M de n-BuLi en hexanos (40 ml, 100 mmol) por goteo a la solución precedente y la mezcla de reacción se agitó a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 30 min después de la adición total de n-BuLi. Luego de 30 min de agitación a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, se agregó DMF (7,5 g, 100 mmol) a la mezcla de reacción precedente por goteo, manteniendo la mezcla de reacción por debajo de $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. A la mezcla de reacción se le agregaron 80 ml de NH_4Cl y la mezcla de reacción se agitó durante 15 min. La capa de éter se separó, se lavó con agua (2 x 250 ml), se secó en NaSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado (16 g, 67 %).

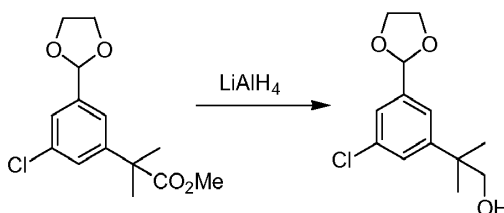
Etapa 2

20 Se disolvió una mezcla del producto de la etapa 1 (10 g, 46 mmol) y etano-1,2-diol (8,5 g, 137 mmol), PTSA (0,18 g, 0,92 mmol) en tolueno anhidro (200,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. Luego, se sometió a reflujo, se controló mediante TLC y la TLC mostró la finalización de la reacción. Se agregó una solución saturada de NaHCO_3 (100 ml), luego se separó la capa de tolueno, se secó en NaSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el producto deseado (14 g, cuant.) como un aceite amarillo.

25

Etapa 3

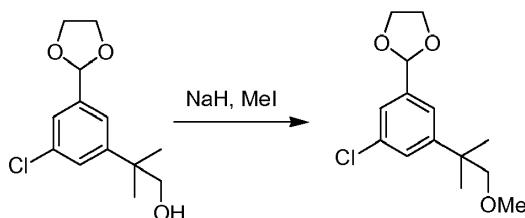
30 A una solución de dicitclohexilamina (8 ml, 15 mmol) en tolueno a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ en argón se le agregó por goteo una solución 2,5 N de nBuLi en hexanos (6 ml, 15 mmol). Luego de 15 min a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, se agregó isobutirato de metilo (2,1 g, 13 mmol) por goteo a la mezcla de reacción, que se dejó calentar hasta $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se agitó durante 5 min a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. Luego, se agregaron el producto de la etapa 2 (3 g, 11 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,20 g, 0,22 mmol) y $\text{P}(\text{tBu})_3$ (0,083 g, 0,22 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con HCl 1 N en Et_2O para precipitar la dicitclohexilamina como sal de HCl. Se filtró la mezcla de reacción y se concentró. El compuesto deseado se obtuvo luego de la purificación mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado (2,3 g, 70 %).

Etapa 4

45 A una solución de LiAlH_4 (0,4 g, 8,8 mmol) en THF (10 ml) se le agregó por goteo una solución del producto de la etapa 3 (2,3 g, 8 mmol) disuelta en THF (30 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$. La mezcla

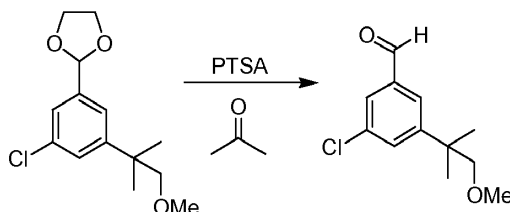
de reacción se inactivó con tartrato de sodio y potasio acuoso saturado y se filtró a través de un lecho de Celite. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El producto bruto deseado (2,1 g, bruto) se utilizó como estaba en la siguiente reacción.

5 Etapa 5



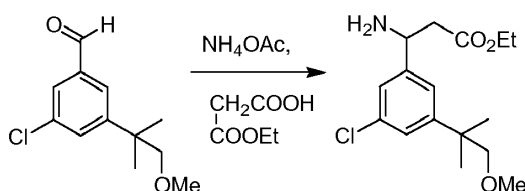
10 A una solución del producto bruto de la etapa 4 (2,1 g, 8 mmol) en THF (20 ml) a 25 °C en argón se le agregó NaH (0,64 g, 16 mmol). Luego de 10 min de agitación a 25 °C, se agregó MeI (2,5 g, 16 mmol) y la solución se agitó a 80 °C durante 1 h. Se agregaron 20 ml de H_2O y la mezcla se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera, se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El producto bruto deseado (2,2 g, bruto) se utilizó como estaba en la siguiente reacción.

15 Etapa 6



20 Se disolvió el producto de la etapa 5 (2,2 g, 8 mmol) y PTS (0,3 g, 1,6 mmol) en acetona anhidra (100,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. Luego, se agitó a TA, se controló mediante TLC y la TLC mostró la finalización de la reacción. Se agregó una solución saturada de NaHCO_3 (10 ml), se realizó extracción con EtOAc (100 ml x 2), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para dar el producto bruto deseado. (1,7 g, bruto). Los productos brutos se utilizaron como estaban en la siguiente reacción.

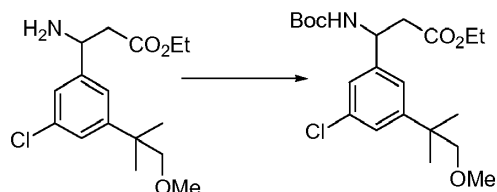
25 Etapa 7



30 El producto bruto de la etapa 6 (2,2 g, 8 mmol), malonato de monoetilo (5,2 g, 40 mmol) y acetato de amonio (5,6 g, 80 mmol) en etanol anhidro (50,0 ml) se calentó a reflujo durante 7 h para proporcionar una solución amarilla pálida. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo. El residuo se separó entre una solución acuosa saturada de NaHCO_3 (100 ml) y acetato de etilo (100 ml) y se retiró la capa orgánica, se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado (0,4 g, 15 %) como un racemato.

35 $^1\text{H NMR}$: WH00420-070-01 400 Hz CDCl_3
 δ 7,20-7,30 (m, 3 H), 4,35-4,40(m, 1H), 4,23-4,30 (q, 2 H), 3,37 (s, 1H), 3,31 (s, 1H), 2,26-264 (m, 2H), 1,30 (s, 6H), 1,25-1,27 (t, 3H)

40

Etapa 8

5 A una solución del producto de la etapa 7 (0,2 g, 0,59 mol) se le agregaron 2,6-dimetilpiridina (62,7 mg, 0,59 mmol) y Boc_2O (0,2 g, 0,59 mol) en DCM (10 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 h. A la mezcla de reacción se le agregó HCl 1M (15 ml), la capa acuosa se extrajo con DCM (10 ml x 3), la capa orgánica se lavó con salmuera, luego se secó en Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado protegido con BOC (0,25 g, 96 %) como un sólido amarillo.

10

Etapa 9

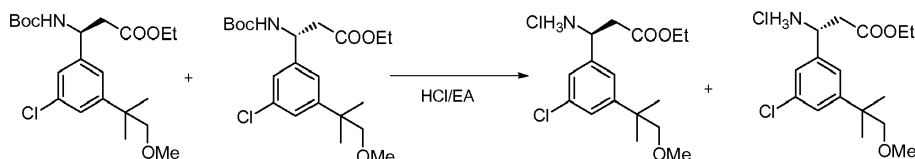
El producto protegido con BOC racémico de la etapa 8 se separó mediante SFC para proporcionar los enantiómeros BOC (S) y (R) individuales.

15

Etapa 10

Las etapas 1 a 9 se repitieron para proporcionar cantidades adicionales de cada uno de los enantiómeros BOC deseados, luego:

20



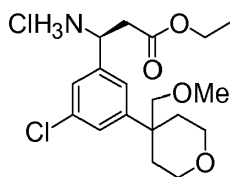
25

A una solución de cada enantiómero BOC separado anterior (1,7 g cada uno), en acetato de etilo, se le agregó HCl/EA (10 ml). Luego de 1 h, la TLC mostró que las reacciones se habían completado. Los solventes se evaporaron al vacío para proporcionar 1 gramo de cada uno de los enantiómeros deseados. El enantiómero (S) deseado se identificó de forma analítica mediante resolución enzimática (S)-selectiva con PS Amano Lipasa (hidrólisis selectiva del enantiómero (S)).

30

Ejemplo L

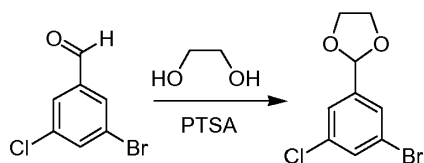
Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(4-(metoximetil)tetrahydro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de (S)-etilo



35

Se preparó clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(4-metoximetil)tetrahydro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de (S)-etilo de acuerdo con el siguiente procedimiento:

40

Etapa 1

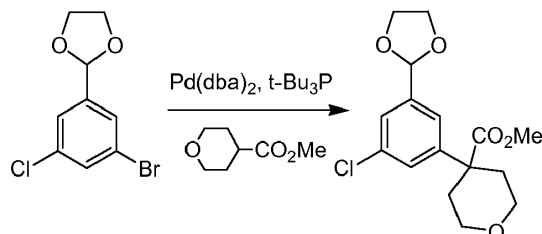
45

Se disolvió una mezcla de 3-bromo-5-clorobenzaldehído (10 g, 46 mmol) y etano-1,2-diol (8,5 g, 137 mmol), PTS (0,18 g, 0,92 mmol) en tolueno anhidro (200,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. Luego, se sometió a reflujo, se controló mediante TLC y la TLC mostró la finalización de la reacción. Se agregó una solución saturada de NaHCO_3

(100 ml). La capa de tolueno se separó, se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el producto deseado (14 g, cuant.) como un aceite amarillo.

Etapa 2

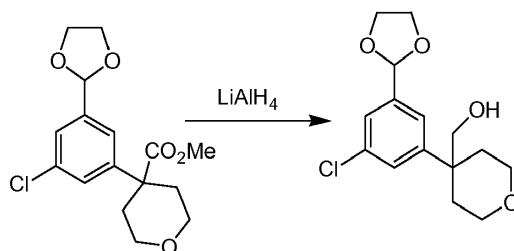
5



A una solución de dicitohexilamina (8 ml, 15 mmol) en tolueno a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ en argón se le agregó por goteo una solución de $n\text{-BuLi}$ 2,5 N en hexanos (6 ml, 15 mmol). Luego de 15 min a $0\text{ }^\circ\text{C}$, se agregó tetrahidro-2H-piran-4-carboxilato de metilo (1,8 g, 13 mmol) por goteo a la mezcla de reacción, que se dejó calentar hasta $25\text{ }^\circ\text{C}$ y se agitó durante 5 min a $25\text{ }^\circ\text{C}$. Luego, se agregaron el producto de la etapa 1 (3 g, 11 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,20 g, 0,22 mmol) y $\text{P}(\text{t-Bu})_3$ (0,083 g, 0,22 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con HCl 1 N en Et_2O para precipitar la dicitohexilamina como sal de HCl . Se filtró la mezcla de reacción y se concentró. El compuesto deseado se obtuvo luego de la purificación mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado (2,3 g, 70 %).

15

Etapa 3

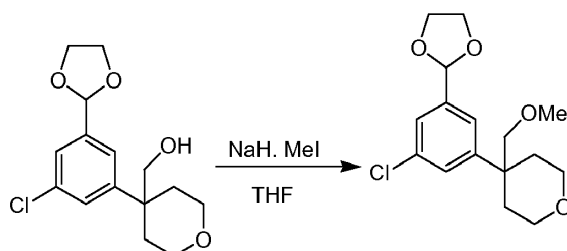


20

A una solución de LiAlH_4 (0,4 g, 8,8 mmol) en THF (5 ml) se le agregó por goteo una solución del producto de la etapa 3 (2,6 g, 8 mmol) disuelta en THF (20 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a $25\text{ }^\circ\text{C}$. La mezcla de reacción se inactivó con tartrato de sodio y potasio acuoso saturado y se filtró a través de un lecho de Celite. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El producto bruto deseado (3 g, bruto) se utilizó como estaba en la siguiente reacción.

25

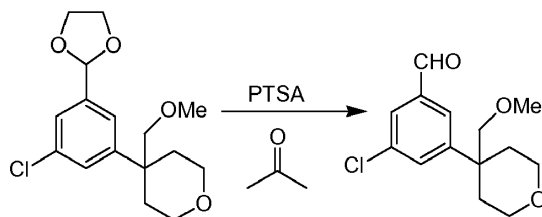
Etapa 4



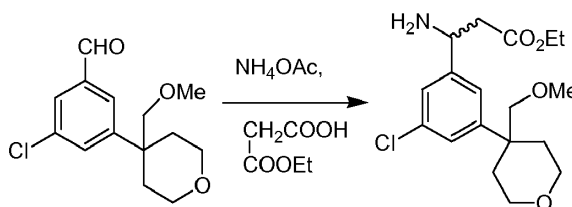
30

A una solución del producto bruto de la etapa 3 (19 g, 63 mmol) en THF (10 ml) a $25\text{ }^\circ\text{C}$ en argón se le agregó NaH . Luego de 10 min de agitación a $25\text{ }^\circ\text{C}$, se agregó MeI y la solución se agitó a $80\text{ }^\circ\text{C}$ durante 1 h. La mezcla de reacción se extrajo con EtOAc . Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera, se secó en Na_2SO_4 , se filtró y se concentró. El producto bruto deseado (20 g, bruto) se utilizó como estaba en la siguiente reacción.

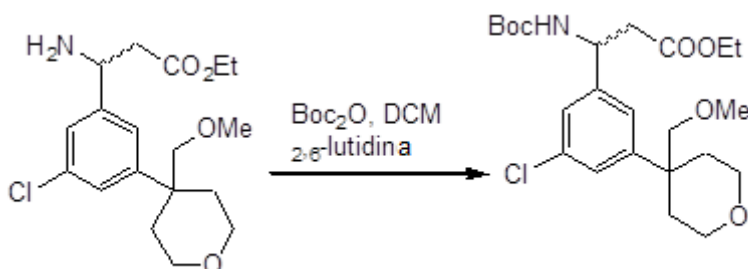
35

Etapa 5

- 5 Se disolvió el producto bruto de la etapa 4 (20 g, 63 mmol) y PTS (2,3 g, 12 mmol) en acetona anhidra (200,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno y se agitó a TA durante varias horas. La TLC mostró que se había completado la reacción. Se agregó una solución saturada de NaHCO_3 (50 ml), la mezcla se extrajo con EtOAc (200 ml x 2), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para obtener el producto bruto deseado (17 g, cuant.).

Etapa 6

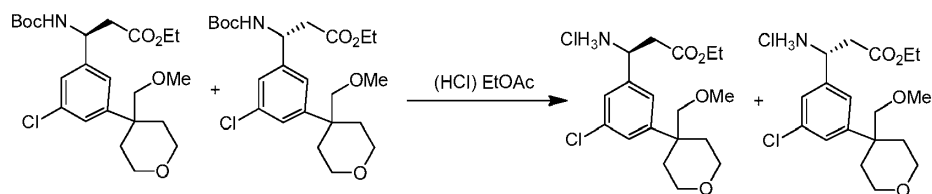
- 15 El producto de la etapa 5 (17 g, 63 mmol), malonato de monoetilo (16 g, 126 mmol) y acetato de amonio (24 g, 315 mmol) en etanol anhidro (50,0 ml) se calentó a reflujo durante 7 h para proporcionar una solución amarilla pálida. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo. El residuo se separó entre una solución saturada acuosa de NaHCO_3 (100 ml) y acetato de etilo (100 ml). Se retiró la capa orgánica, se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado (3,5 g, 17 %) como un racemato.
- 20

Etapa 7

- 25 A una solución del producto de racemato de la etapa 6 (3,5 g, 10 mmol) en DCM (10 ml) se le agregaron 2,6-dimetilpiridina (0,7 g, 10 mmol) y Boc_2O (1,95 g, 10 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 h. A la mezcla de reacción se le agregó HCl 1M (15 ml), la capa acuosa se extrajo con DCM (10 ml x 3), la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó en Na_2SO_4 y se concentró. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto racémico protegido con BOC deseado (4,3 g, 96 %) como un sólido amarillo.
- 30

Etapa 8

- 35 El producto protegido con BOC racémico de la etapa 7 se separó mediante SFC para proporcionar los enantiómeros BOC (S) y (R) individuales (~1 gramo de cada enantiómero).

Etapa 9

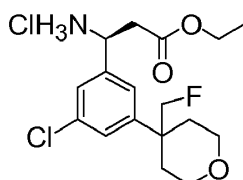
5 A una solución de 1 g de cada enantiómero protegido con BOC en acetato de etilo de la etapa 8 se le agregó HCl/EA (10 ml). Luego de 1 h, la TLC mostró que la reacción se había completado. Los solventes se evaporaron al vacío para proporcionar ~800 mg de cada uno de los enantiómeros deseados. El enantiómero (S) deseado se identificó de forma analítica mediante resolución enzimática (S)-selectiva con PS Amano Lipasa (hidrólisis selectiva del enantiómero (S)).

10

Ejemplo M

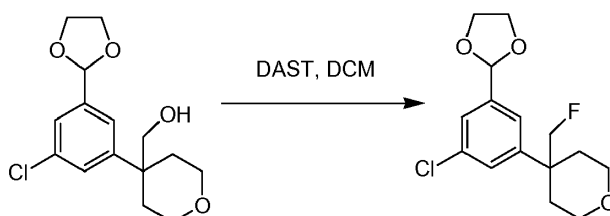
Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(4-(fluorometil)tetrahydro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de (S)-etilo

15



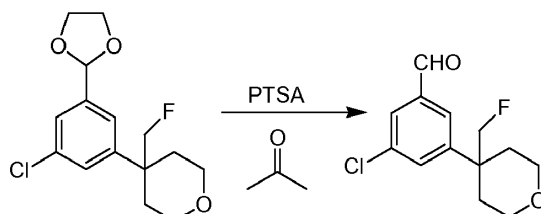
Se preparó clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(4-(fluorometil)tetrahydro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de (S)-etilo de acuerdo con el siguiente procedimiento:

20

Etapa 1

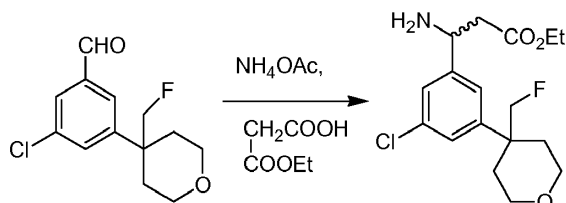
25 A una solución del producto del Ejemplo L, etapa 3 (15 g, mmol) en DCM (300 ml) a -60 °C en argón se le agregó DAST (24 g, 150 mmol). Luego de 1 hora de agitación a -60 °C, se agregó agua y la solución se agitó a 20 °C durante 1 h. La mezcla de reacción se extrajo con DCM. Las capas orgánicas se lavaron con agua y salmuera, se secó en Na₂SO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto deseado (12 g, bruto) se utilizó como estaba en la siguiente reacción.

30

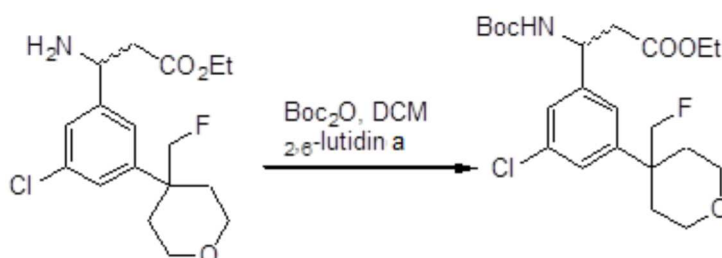
Etapa 2

35 Se disolvió el producto de la etapa 1 (12 g, 40 mmol) y PTS (2,3 g, 12 mmol) en acetona anhidra (120,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno y se agitó a TA durante varias horas. La TLC mostró que se había completado la reacción. Se agregó una solución saturada de NaHCO₃, 50 ml y la mezcla se extrajo con EtOAc (200 ml x 2), se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para obtener el producto bruto deseado (2,3 g, 18,7 % de rendimiento).

40

Etapa 3

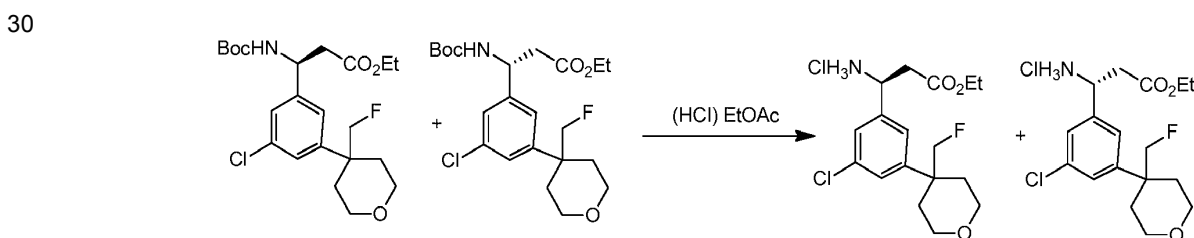
- 5 El producto de la etapa 2 (2,3 g, 8,9 mmol), malonato de monoetilo (5,2 g, 40 mmol) y acetato de amonio (5,6 g, 80 mmol) en etanol anhidro (50,0 ml) se calentó a reflujo durante 7 h para proporcionar una solución amarilla pálida. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo. El residuo se separó entre una solución saturada acuosa de NaHCO₃ (100 ml) y acetato de etilo (100 ml). Se retiró la capa orgánica, se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado (0,7 g).

Etapa 4

- 15 Se agitó una solución del producto de la etapa 3 (0,7 g, 2 mol), 2,6-dimetilpiridina (0,3 g, 3 mmol) y Boc₂O (0,65 g, 3 mol) en DCM (10 ml) a temperatura ambiente durante 10 h. A la mezcla de reacción se le agregó HCl 1M (15 ml), la capa acuosa se extrajo con DCM (10 ml x 3), la capa orgánica se lavó con salmuera, se secó en Na₂SO₄ y se concentró. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto racémico protegido con BOC deseado (0,3 g, 33 %) como un sólido amarillo.

Etapa 5

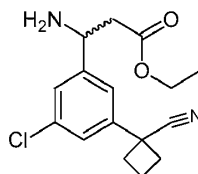
- 25 El producto protegido con BOC racémico de la etapa 4 se separó mediante SFC para proporcionar los enantiómeros BOC (S) y (R) individuales (~110 mg de cada enantiómero).

Etapa 6

- 35 A una solución de 110 mg de cada enantiómero protegido con BOC en acetato de etilo de la etapa 5 se le agregó HCl/acetato de etilo (10 ml). Luego de 1 h, la TLC mostró que la reacción se había completado. Los solventes se evaporaron al vacío para proporcionar ~75 mg de cada uno de los enantiómeros deseados (76 %). El enantiómero (S) deseado se identificó de forma analítica mediante resolución enzimática (S)-selectiva con PS Amano Lipasa (hidrólisis selectiva del enantiómero (S)).

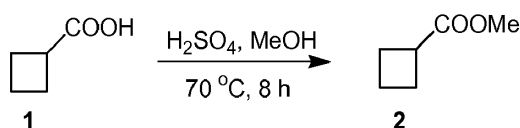
Ejemplo N

Preparación de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoato de rac-etilo



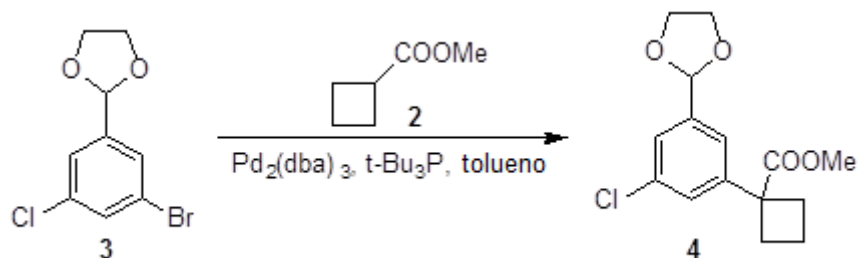
5

Se preparó 3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoato de rac-etilo de acuerdo con el siguiente procedimiento:

10 **Etapa 1**

15 A una solución del Compuesto 1 (100 g, 1 mol) en MeOH (300 ml) a 20 °C se le agregó H₂SO₄ (6 ml) concentrado por goteo. La mezcla se agitó a 70 °C durante 8 h. La mezcla se concentró al vacío a 30 °C, luego se le agregó agua, se extrajo con DCM y se concentró al vacío a 30 °C para obtener un aceite. El aceite se destiló para obtener el producto del compuesto 2 (48 g, 42 %).

Etapa 2

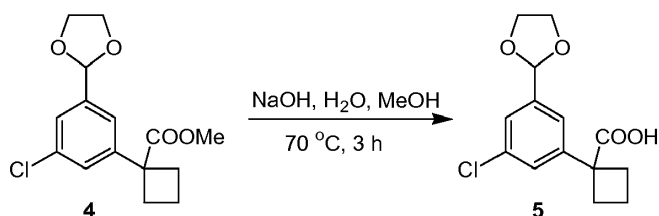


20

25 A una solución de dicalohexilamina (8 ml, 15 mmol) en tolueno a -20°C en argón se añade, gota a gota, una solución 2,5 N de n-BuLi 2,5 N en hexanos (6 ml, 15 mmol). Luego de 15 min a 0 °C, se agregó el compuesto 2 (1,5 g, 13 mmol) por goteo a la mezcla de reacción, que se dejó calentar hasta 25 °C y se agitó durante 15 min a 25 °C. Luego, se agregaron el compuesto 3 (ver Ejemplo K, etapa 2) (3 g, 11 mmol), Pd₂(dba)₃ (0,20 g, 0,22 mmol) y P(t-Bu)₃ (0,083 g, 0,22 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con HCl 1 N en Et₂O para precipitar la dicalohexilamina como sal de HCl. Se filtró la mezcla de reacción y se concentró. El compuesto del título se obtuvo luego de la purificación mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto del compuesto 4 (2 g, 53 %).

30

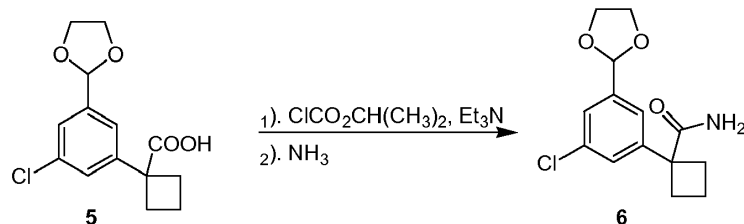
Etapa 3



35 A una solución del compuesto 4 (2 g, 6 mmol) en MeOH (20 ml) se le agregó NaOH acuoso (1 N, 30 ml), la mezcla se agitó a 80 °C durante 3 h. La solución se concentró. Luego se agregaron acetato de etilo y H₂O, se separó la fase acuosa. Se agregó HCl 1N para ajustar el pH a 2-4. Se agregó acetato de etilo. Se separó la fase orgánica, se secó y se concentró para proporcionar el producto del compuesto 5 (1,2 g, 70 %).

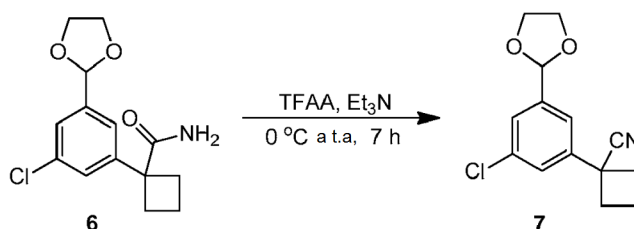
40

Etapa 4



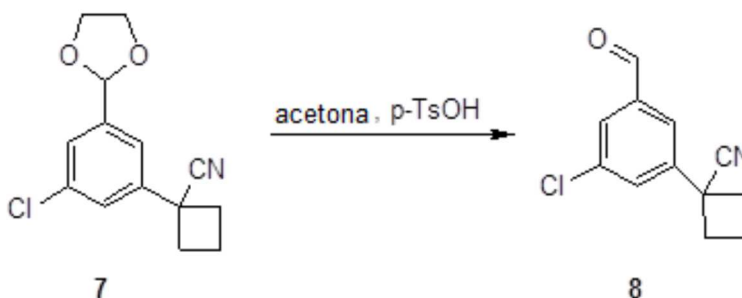
5 El compuesto 5 (1,2 g, 4,2 mmol) y Et_3N (0,76 g, 7,6 mmol) se disolvieron en THF anhidro (20 ml). Se agregó $\text{CICO}_2\text{t-Bu}$ (0,78 g, 5,8 mmol) por goteo a 0°C en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla se agitó a TA durante 2 horas. La TLC mostró que se había completado la reacción. Luego se agregó NH_3/THF (100 ml) y la mezcla se agitó a TA durante 2 horas. La mezcla se concentró para proporcionar el producto del compuesto 6 (1,8 g, cuant.).

10 Etapa 5



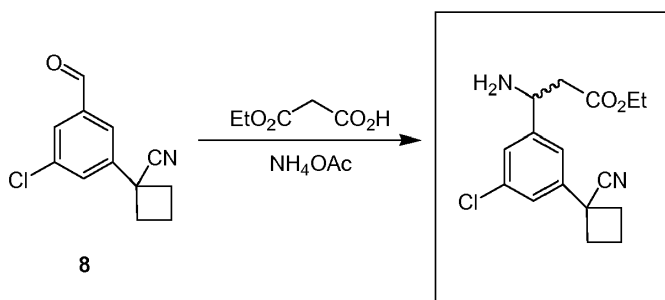
15 El compuesto 6 (1,2 g, 4,2 mmol) y Et_3N (0,76 g, 7,6 mmol) se disolvieron en DCM anhidro (20 ml). Se agregó TFAA (1,6 g, 7,6 mmol) por goteo a 0°C en un matraz seco en nitrógeno. Luego, la mezcla se agitó a TA durante 4 horas. La TLC mostró que se había completado la reacción. La mezcla se lavó con HCl 1N (30 ml x 2), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el compuesto 7 (1,2 g, cuant.).

20 Etapa 6



25 Se disolvieron el compuesto 7 (1,2 g, 4,5 mmol) y PTSA (0,2 g, 1 mmol) en acetona anhidra (20 ml) en un matraz seco en nitrógeno y se agitaron a TA durante 14 horas. La TLC mostró que se había completado la reacción. Se agregó NaHCO_3 saturado (50 ml), la mezcla se extrajo con EtOAc (200 ml x 2), se secó en NaSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para obtener el producto. El compuesto del título se obtuvo luego de la purificación mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto del compuesto 8 (0,6 g, 61 %).

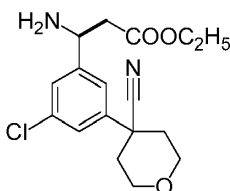
30 Etapa 7



- 5 El compuesto 8 (7 g, 32 mmol), malonato de monoetilo (6,9 g, 52 mmol) y acetato de amonio (10 g, 130 mmol) en etanol anhidro (100,0 ml) se calentaron a 80 °C durante 7 h para proporcionar una solución amarilla pálida. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo. El residuo se separó entre una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (100 ml) y acetato de etilo (100 ml); se retiró la capa orgánica, se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado (2,1 g, 22 %).

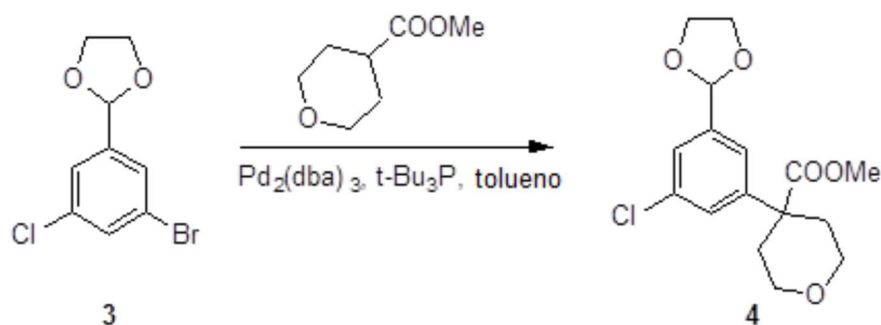
Ejemplo O

10 Preparación de 3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de rac-etilo



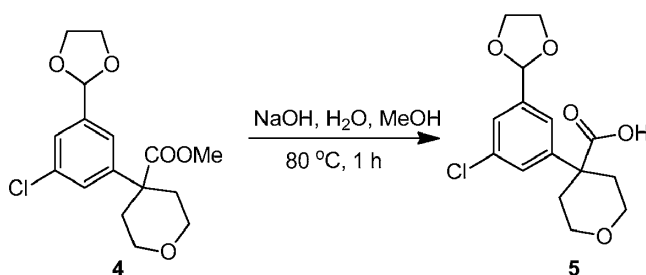
- 15 Se preparó 3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de rac-etilo de acuerdo con el siguiente procedimiento:

Etapa 1



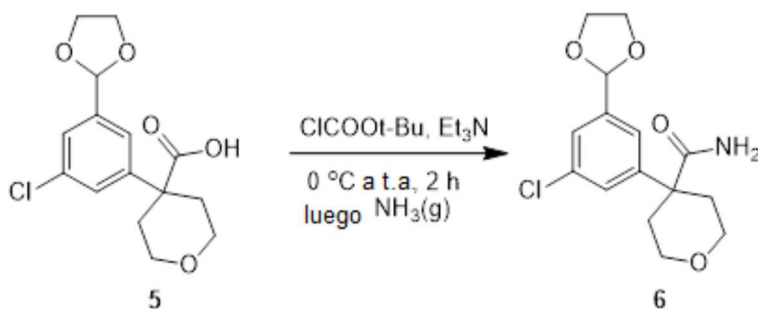
- 20 A una solución de diciclohexilamina (8 ml, 15 mmol) en tolueno a -20 °C en argón se le agregó por goteo una solución de n-BuLi 2,5 N en hexanos (6 ml, 15 mmol). Luego de 15 min a 0 °C, se agregó tetrahidro-2H-piran-4-carboxilato de metilo (1,8 g, 13 mmol) por goteo a la mezcla de reacción, que luego se dejó calentar hasta 25 °C y se agitó durante 5 min a 25 °C. Luego, se agregaron el compuesto 3 (ver Ejemplo K, etapa 2) (3 g, 11 mmol), Pd₂(dba)₃ (0,20 g, 0,22 mmol) y P(t-Bu)₃ (0,083 g, 0,22 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se inactivó con HCl 1N en Et₂O para precipitar la diciclohexilamina como sal de HCl. Se filtró la mezcla de reacción y se concentró. El compuesto deseado se obtuvo luego de la purificación mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el compuesto 4 (2 g, 56 %).

30 Etapa 2



- 35 A una solución del compuesto 4 (2 g, 6 mmol) en MeOH (20 ml) se le agregó NaOH acuoso (1 N, 30 ml). La mezcla se agitó a 80 °C durante 3 h. La solución se concentró. Luego se agregaron acetato de etilo y H₂O, se separó la fase acuosa. Se agregó HCl 1N para ajustar el pH a 2-4. Se agregó acetato de etilo. Se separó la fase orgánica, se secó y se concentró para proporcionar el producto del compuesto 5 (1,2 g, 63 %).

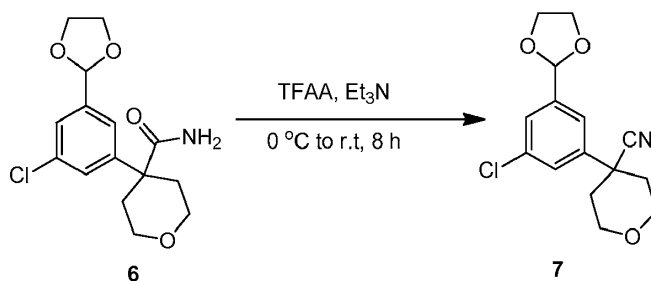
Etapa 3



5 El **compuesto 5** (1,2 g, 3,8 mmol) y Et₃N (0,76g, 7,6 mmol) se disolvieron en THF anhidro (20 ml). Se agregó CICOOt-Bu (0,78 g, 5,8 mmol) por goteo a 0 °C en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla se agitó a TA durante 2 horas. La TLC mostró que se había completado la reacción. Luego se agregó NH₃/THF (100 ml) y la mezcla se agitó a TA durante 2 horas. La mezcla se concentró para proporcionar el producto del compuesto 6 (1,8 g, cuant.).

Etapa 4

10

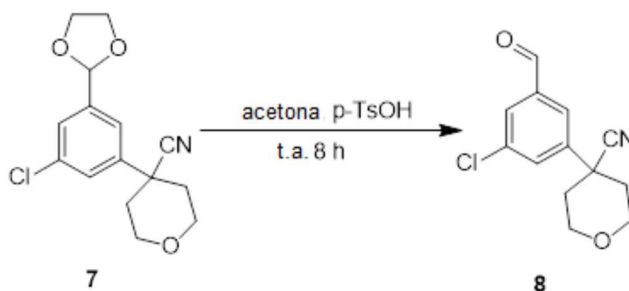


15

El compuesto 6 (1,2 g, 3,8 mmol) y Et₃N (0,76 g, 7,6 mmol) se disolvieron en DCM anhidro (20 ml). Se agregó TFAA (1,6 g, 7,6 mmol) por goteo a 0 °C en un matraz seco en nitrógeno. Luego, la mezcla se agitó a TA durante 4 horas. La TLC mostró que se había completado la reacción. La mezcla se lavó con HCl 1N (30 ml x 2), se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el compuesto 7 (1,2 g, cuant.).

Etapa 5

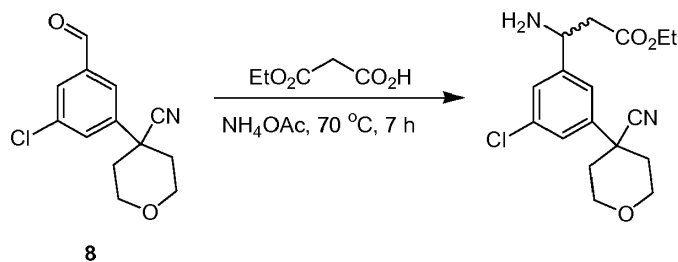
20



25

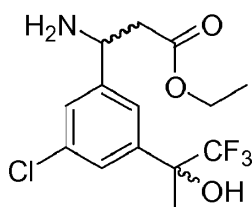
Se disolvieron el **compuesto 7** (1,2 g, 4 mmol) y PTSA (0,2 g, 1 mmol) en acetona anhidra (20 ml) en un matraz seco en nitrógeno y se agitaron a TA durante 14 horas. La TLC mostró que se había completado la reacción. Se agregó NaHCO₃ saturado (50 ml), la mezcla se extrajo con EtOAc (200 ml x 2), se secó en NaSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para obtener el producto. El compuesto del título se obtuvo luego de la purificación mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto del compuesto 8 (0,6 g, 61 %).

Etapa 6



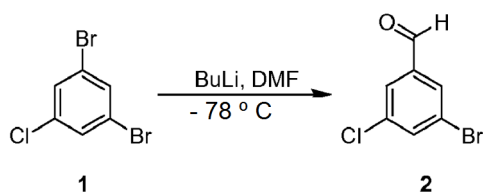
- 5 El **compuesto 8** (7 g, 28 mmol), malonato de monoetilo (6,9 g, 52 mmol) y acetato de amonio (10 g, 130 mmol) en etanol anhidro (100,0 ml) se calentaron a 80 °C durante 7 h para proporcionar una solución amarilla pálida. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo. El residuo se separó entre una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (100 ml) y acetato de etilo (100 ml); se retiró la capa orgánica, se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado (2,1 g, 22 %).

Ejemplo P

Preparación de 3-amino-3-(3-cloro-5-((1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de *rac*-etilo

Se preparó 3-amino-3-(3-cloro-5-((1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de *rac*-etilo de acuerdo con el siguiente procedimiento:

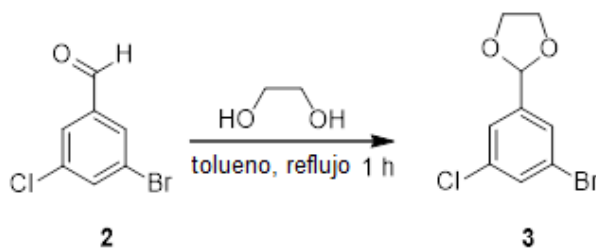
Etapa 1



- 25 Se disolvió el compuesto 1 (90 g, 0,333 mol) en éter isopropílico anhidro (500 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta -78 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó una solución de *n*-BuLi 2,5 M en hexanos (133,3 ml, 0,333 mol) por goteo a la solución precedente y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 30 min después de la adición total de *n*-BuLi. Luego de 30 min de agitación a -78 °C, se agregó DMF anhidro (24,3 g, 0,333 mol) a la mezcla de reacción anterior por goteo, manteniendo la mezcla de reacción por debajo de -60 °C. Luego de haber completado la adición de DMF anhidro, la mezcla de reacción se agitó a -70 °C durante (30 min) y luego la mezcla de reacción se vertió en 400 ml de NH₄Cl acuoso y se agitó durante 15 min. Se separó el éter isopropílico, se secó en MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el compuesto 2 (43 g, 58 %) como un sólido blanco.

35

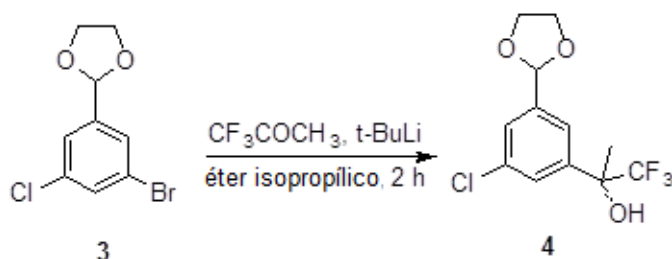
Etapa 2



5 Se disolvieron el **compuesto 2** (10 g, 46 mmol), etano-1,2-diol (8,5 g, 137 mmol) y PTSA (0,18 g, 0,92 mmol) en tolueno anhidro (200,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La reacción se agitó a reflujo hasta que la TLC mostró la finalización de la reacción. Se agregó NaHCO_3 saturado (100 ml), se separó la capa de tolueno, se secó en NaSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el producto del compuesto 3 (14 g, cuant.) como un aceite amarillo.

10

Etapa 3

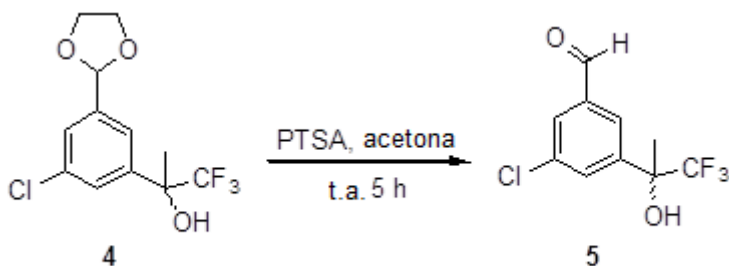


15 Se disolvió el **compuesto 3** (4,3 g, 16,2 mmol) en éter isopropílico anhidro (50,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta -78°C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó una solución de n-BuLi 1,3 M en hexanos (12,5 ml, 16,2 mmol) por goteo a la solución precedente y la mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 30 min después de la adición total de n-BuLi. Luego de 30 min de agitación a -78°C , la mezcla de reacción se calentó hasta -30°C , se agregó 1,1,1-trifluoro acetona (2,2 g, 20,0 mmol) a la mezcla de reacción precedente por goteo, manteniendo la mezcla de reacción por debajo de -30°C . Luego de haberse completado la adición, la mezcla de reacción se calentó lentamente hasta -30°C (30 min) y luego se agitó a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió en 40 ml de NH_4Cl acuoso y se agitó durante 15 min. Se separó el éter isopropílico, se secó en MgSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el compuesto 4 (4,0 g, bruto) como un líquido viscoso amarillo pálido.

20

25

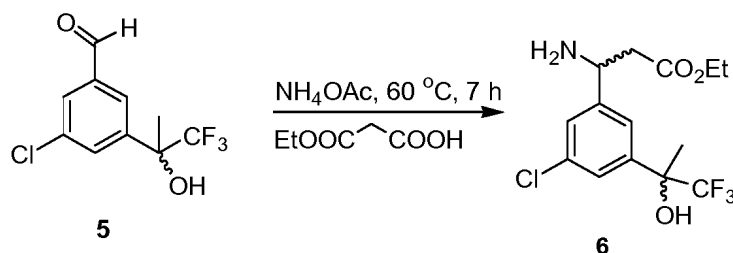
Etapa 4



30 Se disolvieron el **compuesto 4** (4,0 g, 14 mmol) y PTSA (0,5 g, 2,8 mmol) en acetona anhidra (100,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La reacción se agitó a TA hasta que la TLC mostró la finalización de la reacción. Se agregó NaHCO_3 saturado (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 2), se secó en NaSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para obtener el producto del **compuesto 5** (3,2 g, bruto).

35

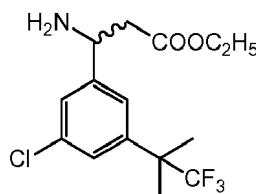
Etapa 5



- 5 Se calentó una solución del **compuesto 5** (22 g, 0,087 mol), malonato de monoetilo (35,1 g, 0,266 mmol) y acetato de amonio (33,5 g, 0,435 mol) en EtOH (50 ml) a 70 °C en nitrógeno. La TLC mostró que se había completado la reacción. Se agregó NaHCO₃ saturado (100 ml), se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 2) y se secó en NaSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto del compuesto 6 (3,7 g, 12,5 %).

10

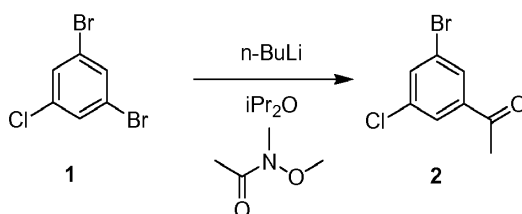
Ejemplo Q

Preparación de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil) propanoato de *rac*-etilo

15

Se preparó 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil) propanoato de *rac*-etilode acuerdo con el siguiente procedimiento:

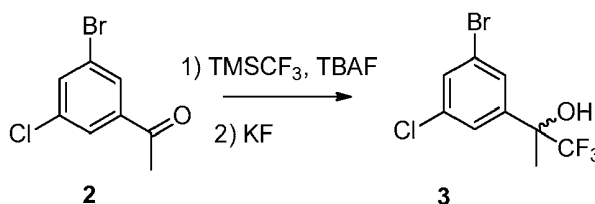
Etapa 1



- 25 El **compuesto 1** (30 g, 100 mmol) se disolvió en *i*-Pr₂O anhidro (300,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta -78 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó una solución de *n*-BuLi 2,5 M en hexanos (40 ml, 100 mmol) por goteo a la solución precedente y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 30 min después de la adición total de *n*-BuLi. Se agregó *N*-metoxi-*N*-metilacetamida (12 g, 120,0 mmol) a la mezcla de reacción anterior, manteniendo la mezcla de reacción por debajo de -78 °C. Luego de haber completado la adición de *N*-metoxi-*N*-metilacetamida, la mezcla de reacción se calentó lentamente hasta temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se vertió en 40 ml de NH₄Cl acuoso y se agitó durante 15 min. Se separó la fase orgánica, se secó en MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el compuesto 2 (25 g, bruto) como un líquido viscoso amarillo.

30

Etapa 2

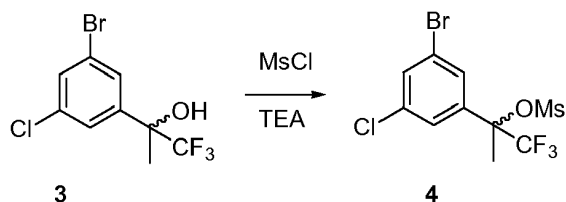


35

A una mezcla del compuesto 2 (25 g, 100 mmol) y TMSCF₃ (14,2 g, 100 mmol) en THF (200 ml) se le agregó TBAF (0,25 g, 1 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. La solución se concentró. Luego, se agregaron

MeOH (200 ml) y KF (10 g). La mezcla se agitó a TA durante 3 h y la mezcla se concentró. Se agregaron acetato de etilo y H₂O. Se separó la fase orgánica, se secó y se concentró para proporcionar el producto del **compuesto 3** (25 g, bruto)

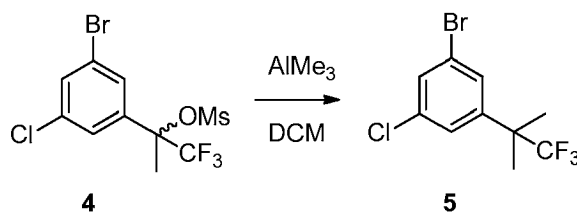
5 Etapa 3



10 Se disolvió una mezcla del **compuesto 3** (50 g, 0,167 mol) y TEA (50 g, 0,5 mol) en DCM (500,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta -0 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó MsCl (22,8 g, 0,2 mol) por goteo a la solución precedente y la mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 3 h luego de completar la reacción. La mezcla de reacción se extrajo con DCM y se lavó con agua. Se separó la fase orgánica, se secó en MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el **compuesto 4** (64 g, bruto) como un líquido.

15

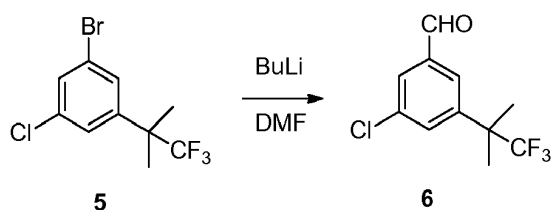
Etapa 4



20 Se disolvió el **compuesto 4** (30 g, 0,079 mol) en DCM anhidro (300,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta -78 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó una solución 2,0 M de AlMe₃ en tolueno (80 ml, 0,16 mmol) por goteo a la solución precedente y la mezcla de reacción se agitó a 25 °C durante 8 h. La mezcla de reacción se vertió en 1 L de NH₄Cl acuoso y la mezcla de reacción se agitó durante 15 min. La fase orgánica se separó, se secó en MgSO₄ anhidro y se purificó en una columna de gel de sílice para obtener el **compuesto 5** (20 g, bruto) como un líquido.

25

Etapa 5

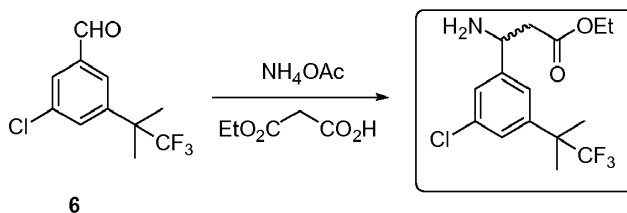


30

35 El **compuesto 5** (10 g, 30 mmol) se disolvió en i-Pr₂O anhidro (100,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta -78 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó una solución de n-BuLi 2,5 M en hexanos (24 ml, 60 mmol) por goteo a la solución precedente y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 30 min después de la adición total de n-BuLi. Se agregó DMF (2,8 g, 36 mmol) a la mezcla de reacción precedente, manteniendo la mezcla de reacción por debajo de -78 °C. Luego de haberse completado la adición de DMF, la mezcla de reacción se calentó lentamente hasta temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se vertió en 40 ml de NH₄Cl acuoso y se agitó durante 15 min. La fase orgánica se separó, se secó en MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el **compuesto 6** (10 g, bruto) como un líquido.

40

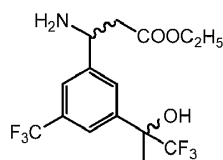
Etapa 6



- 5 El compuesto 6 (8 g, 32 mmol), malonato de monoetilo (9,2 g, 70 mmol) y acetato de amonio (14 g, 181 mmol) en etanol anhidro (200,0 ml) se calentó a 80 °C durante 7 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo. El residuo se separó entre una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (100 ml) y acetato de etilo (100 ml); se retiró la capa orgánica, se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado (1,4 g, 13 %).

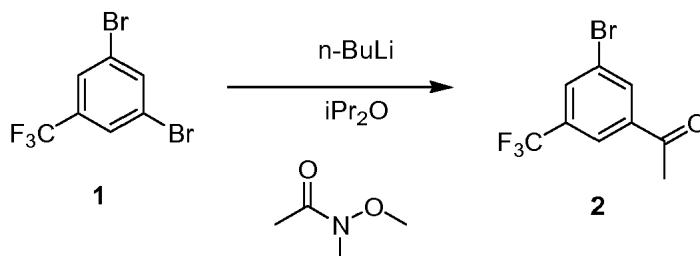
Ejemplo R

- 15 **Preparación de 3-amino-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil) propanoato de rac-etilo**



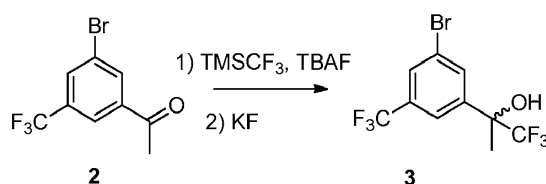
- 20 Se preparó 3-amino-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de *rac*-etilo de acuerdo con el siguiente procedimiento:

Etapa 1



- 25 El **compuesto 1** (30 g, 100 mmol) se disolvió en *i*-Pr₂O anhidro (300,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta -78 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó una solución de *n*-BuLi 2,5 M en hexanos (40 ml, 100 mmol) por goteo a la solución precedente y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 30 min después de la adición total de *n*-BuLi. Se agregó *N*-metoxi-*N*-metilacetamida (12 g, 120,0 mmol) a la mezcla de reacción anterior, manteniendo la mezcla de reacción por debajo de -78 °C. Luego de completarse la adición de *N*-metoxi-*N*-metilacetamida, la mezcla de reacción se calentó lentamente hasta temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se vertió en 40 ml de NH₄Cl acuoso y se agitó durante 15 min. Se separó la fase orgánica, se secó en MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el **compuesto 2** (25 g, bruto) como un líquido viscoso amarillo pálido.

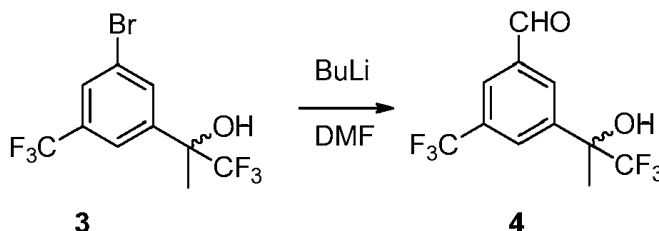
Etapa 2



40

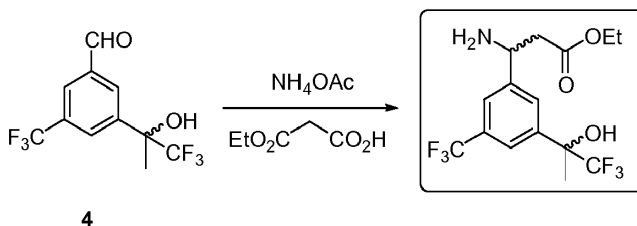
A una mezcla del **compuesto 2** (25 g, 94 mmol) y TMSCF_3 (14,2 g, 100 mmol) en THF (200 ml) se le agregó TBAF (0,25 g, 1 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h y la solución se concentró. Luego, se agregaron MeOH (200 ml) y KF (10 g) y la mezcla se agitó a TA durante 3 h. La mezcla se concentró. Se agregaron acetato de etilo y H_2O . Se separó la fase orgánica, se secó y se concentró para proporcionar el producto del **compuesto 3** (25 g, bruto).

Etapa 3



El **compuesto 3** (10 g, 30 mmol) se disolvió en $i\text{-Pr}_2\text{O}$ anhidro (100,0 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta -78 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó una solución de $n\text{-BuLi}$ 2,5 M en hexanos (24 ml, 60 mmol) por goteo a la solución precedente y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 30 min después de la adición total de $n\text{-BuLi}$. Se agregó DMF (2,8 g, 36 mmol) a la mezcla de reacción precedente, manteniendo la mezcla de reacción por debajo de -78 °C. Luego de haberse completado la adición de DMF, la mezcla de reacción se calentó lentamente hasta temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción se vertió en 40 ml de NH_4Cl acuoso y la mezcla de reacción se agitó durante 15 min. La fase orgánica se separó, se secó en MgSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el **compuesto 4** (10 g, bruto) como un líquido.

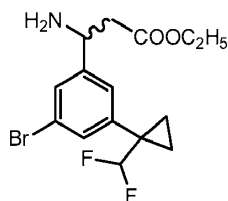
Etapa 4



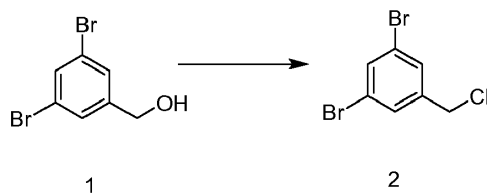
El **compuesto 4** (10 g, 35 mmol), malonato de monoetilo (9,2 g, 70 mmol) y acetato de amonio (14 g, 181 mmol) en etanol anhidro (200,0 ml) se calentó a 80 °C durante 7 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo. El residuo se separó entre una solución acuosa saturada de NaHCO_3 (100 ml) y acetato de etilo (100 ml); se retiró la capa orgánica, se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó al vacío. El producto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice para proporcionar el producto deseado (2,8 g, 21 %).

Ejemplo S

Preparación de 3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil) propanoato de *rac*-etilo



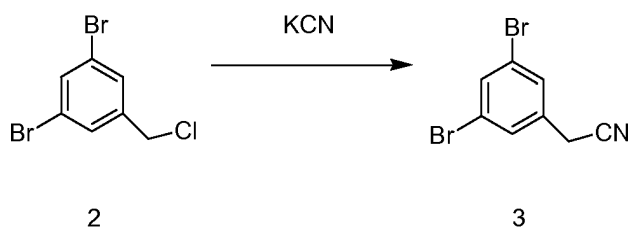
Se preparó 3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil) propanoato de *rac*-etilo de acuerdo con el siguiente procedimiento:

Etapa 1

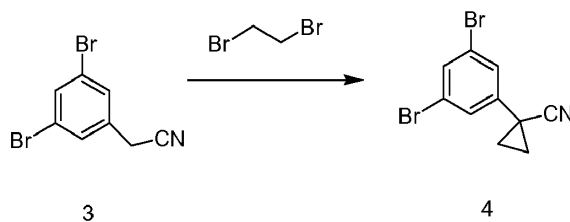
5 Se disolvió el alcohol 1,3-dibromo-bencílico (**1**) (20 g, 75,2 mmol) en DCM anhidro (200 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó DIPEA (25,8 ml, 150,4 mmol) por goteo a la solución precedente; luego de 10 minutos de agitación a 0 °C se agregó cloruro de mesilo (8,7 ml, 112,8 mmol) por goteo a la mezcla de reacción precedente. Por último, la mezcla de reacción se dejó agitar a TA durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con DCM, se lavó con agua (100 ml) seguido por
 10 solución de NaHCO₃ y salmuera, se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y evaporó hasta sequedad para proporcionar 21 gm del producto bruto (**2**) como un líquido pardo que se llevó a la siguiente etapa tal como estaba.

Etapa 2

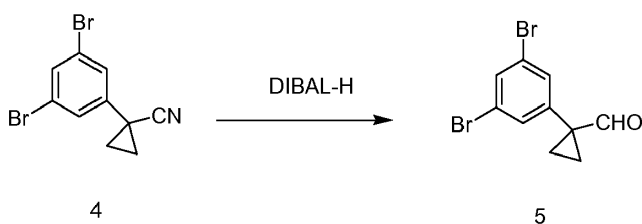
15



20 Se agitó una suspensión de 1,3-dibromo-5-clorometil-benceno (**2**) (21,0 g, 73,9 mmol), KCN (24,1 g, 369,7 mmol) y 18-corona-6 (1,95 g, 7,40 mmol) en acetonitrilo (250 ml) durante la noche a ta. Se concentró la mezcla de reacción a presión reducida. El residuo resultante se tomó en agua y se extrajo con DCM (3 X 150 ml), la capa orgánica se secó en sulfato de sodio concentrado a presión reducida para proporcionar 25 gm del **3** bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna [gel de sílice (100-200) y 0,5 % de acetato de etilo/hexanos como eluyente] para obtener
 25 14,5 gm del compuesto **3** como un sólido blanquecino.

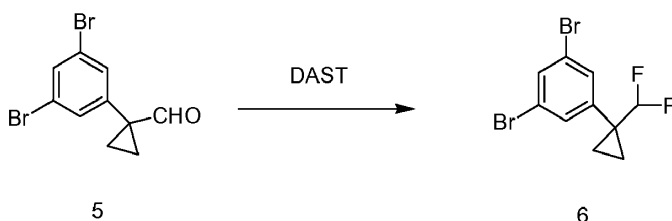
Etapa 3

30 Una solución agitada de cloruro de trietil bencil amonio (TEBAC) (0,35 gm, 1,55 mmol) en 50 % de NaOH (50 ml) se agregó a una solución de (3,5-dibromo-fenil)-acetoniitrilo (**3**) (8,5 gm, 30,9 mmol), 1,2-dibromoetano (7,9 ml, 91,5 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 5 h a ta. La mezcla de reacción se vertió en agua helada y se extrajo con acetato de etilo (3 x 75 ml). La capa orgánica se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida para proporcionar 10 gm de producto bruto. La cromatografía en columna [sílice (100-200 de malla) y 0,5 %
 35 de acetato de etilo/HA como eluyente] produjeron 6 gm del compuesto **4** como un sólido blanquecino.

Etapa 4

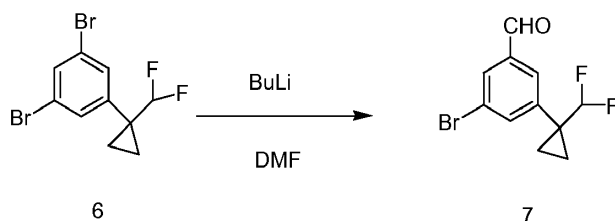
A una solución agitada de 1-(3,5-dibromo-fenil)-ciclopropanocarbonitrilo (4) (6,8 gm, 22,6 mmol) en DCM (250 ml) se le agregó DiBAL-H (16,9 ml, 25,9 mmol, 25 % en tolueno) a -78 °C. La mezcla resultante se agitó durante 1 h a -78 °C. La mezcla de reacción se inactivó con HCl 2N y se extrajo con DCM (3 x 200 ml). La capa orgánica se lavó con solución saturada de NaHCO₃, seguido por salmuera, se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida para proporcionar 5,6 gm del compuesto 5 bruto como un sólido blanquecino.

Etapa 5



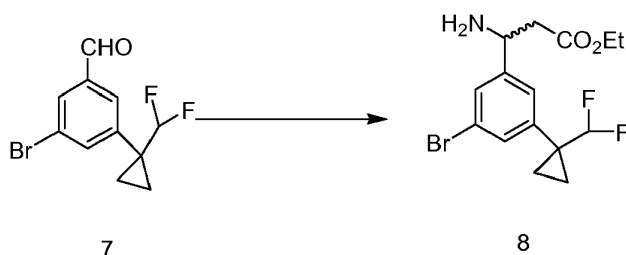
A una solución agitada de 1-(3,5-dibromo-fenil)-ciclopropanocarbaldehído (5) (5,6 gm, 18,4 mmol) en DCM (80 ml), se le agregó DAST (9,7 ml, 73,7 mmol) lentamente a 0 °C. La mezcla resultante se agitó durante 2 h a ta. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (150 ml) y se lavó con agua. La capa orgánica se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida para proporcionar 5,8 gm de producto bruto, que se purificó mediante cromatografía en columna [gel de sílice (100-200 de malla) y 0,5 % de acetato de etilo/hexanos como eluyente] para proporcionar 4,5 gm del compuesto 6 como un sólido blanco.

Etapa 6



A una solución agitada de 1,3-dibromo-5-(1-difluorometil-ciclopropil)-benceno (6) (6 gm, 18,4 mmol) en THF (90 ml) se le agregó n-BuLi (8,4 ml, 18,4 mmol) por goteo a -78 °C. La mezcla resultante se agitó durante 10 min a -78 °C y se inactivó con DMF (2,1 ml, 27,6 mmol) a -78 °C y se agitó durante 10 min. Se agregó NH₄Cl saturado a la mezcla de reacción y se extrajo con acetato de etilo (3 x 70 ml). La capa orgánica se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida para proporcionar 6,2 gm de producto bruto como un sólido pardo pálido. La cromatografía en columna [gel de sílice (100-200) y 0,2 % de acetato de etilo/HA como eluyente] produjeron 3,8 gm del compuesto 7 como un sólido blanco.

Etapa 7

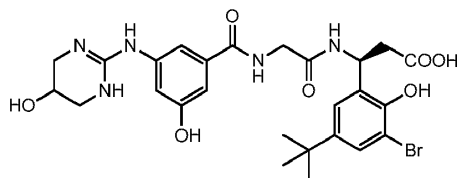


A una solución agitada de (7) (3,8 gm, 13,8 mmol) en EtOH (35 ml) se le agregó ácido malónico (2,9 gm, 27,6 mmol), HCOONH₄ (1,8 gm, 27,6 mmol) y se calentó hasta reflujo durante 6 h. La reacción se enfrió hasta TA y se concentró a presión reducida para proporcionar 4,3 gm de intermedio bruto. Se calentaron a reflujo 4,3 g del intermedio bruto anterior en HCl etanólico (40 ml) durante 1 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo resultante se disolvió en agua y se neutralizó con solución saturada de NaHCO₃, se extrajo con acetato de etilo (4 x 75 ml), la capa orgánica se secó en sulfato de sodio y se concentró a presión reducida para proporcionar 4,5 gm de producto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna [sílice (100-200 de malla) y 0,5 % de MeOH en DCM como eluyente] para proporcionar 1,3 gm del compuesto 8 deseado como un líquido pardo pálido.

Ejemplo 1

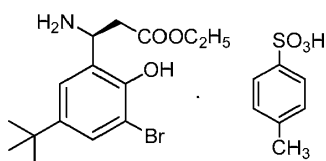
Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

5

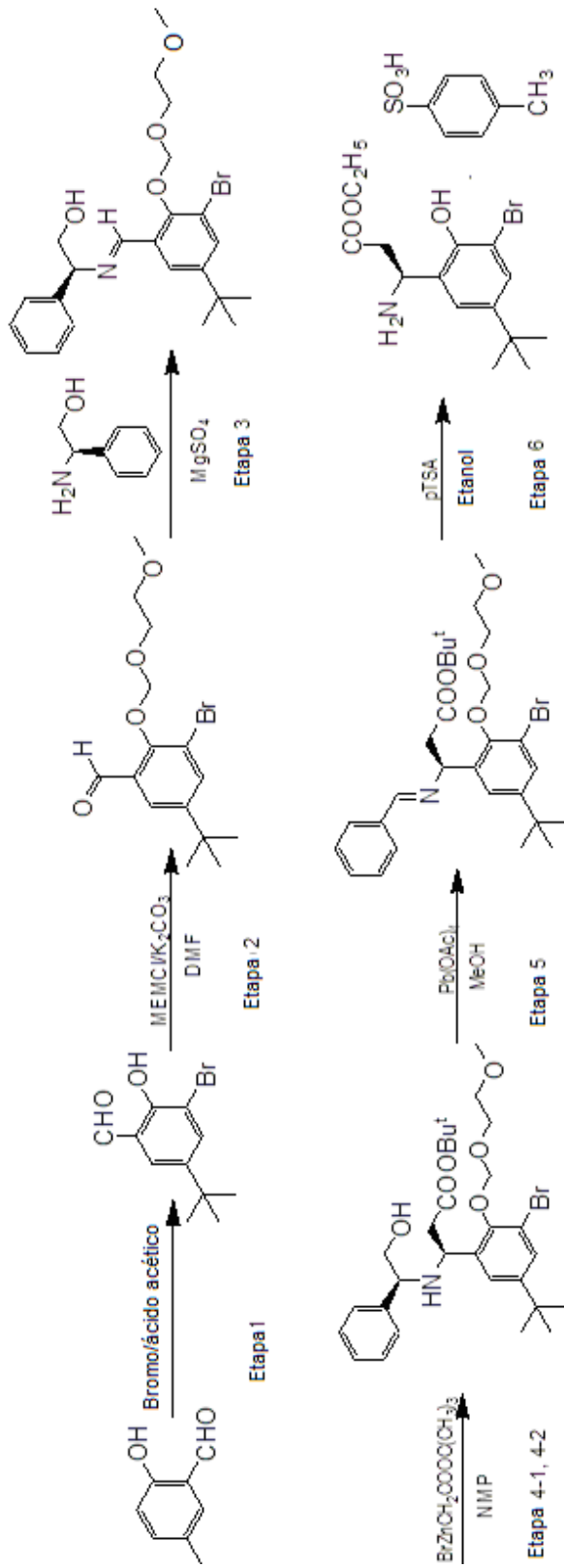


Preparación de ácido (S)-etil 3-amino-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)propionato. *p*-tolueno-4-sulfónico:

10

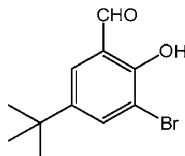


15 El siguiente esquema describe una síntesis del β -amino ácido: sal de 3-amino-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)propionato-*p*TSA de (S)-etilo que se utilizó para sintetizar el compuesto anterior (Ejemplo 1):



Etapa 1**Preparación de 3-bromo-5-*tert*-butilsalicilaldehído:**

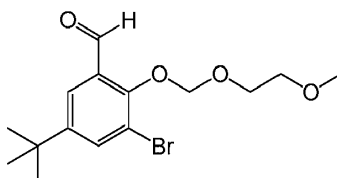
5



10 A una solución agitada de 5-*tert*-butilsalicilaldehído (3,03 g, 16,97 mmol) en ácido acético (3,5 ml) se le agregó una solución de bromo (0,90 ml, 17,56 mmol) en ácido acético (8,5 ml) por goteo en menos de 15 min. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h a 50 °C y se controló mediante TLC (EA/heptano: 1:4) y análisis de HPLC analítica. El análisis de HPLC analítica de la mezcla de reacción luego de 2,5 h mostró el producto deseado en ~68 % y el material de partida sin reaccionar en ~32 %. Se agregó un segundo lote de bromo (0,15 ml) en ácido acético (3 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante otras 15 h. El análisis de HPLC analítico de la mezcla de reacción luego de agitación durante toda la noche mostró el producto deseado en ~96 % y el material de partida aún en ~4 %. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (50 ml) y la capa orgánica se lavó con solución de bisulfito de sodio al 39 % (1 x 10 ml), agua, NaHCO₃ saturado y salmuera. La capa orgánica se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el producto bruto deseado como un sólido cristalino amarillo pálido (4,6150 g). La purificación del producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice en columna de gel de sílice y la elución con 0-5 % de acetato de etilo en *n*-heptano proporcionó el producto deseado como un sólido cristalino amarillo pálido (4,07 g, 93 % de rendimiento). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1,33 (s, 9H, *t*-Bu-), 7,49 (s, 1H, H-4), 7,81 (d, 1H, H-6), 9,85 (s, 1H, -CHO), 11,41 (s, 1H, -OH). La ¹H NMR del producto aislado fue idéntica a la de una muestra del producto previamente indicada (Girsch *et al.*, 2008), el análisis de LC-MS del producto en modo negativo mostró la masa del producto deseado: *m/z* 255 (79BrM⁺-H) y *m/z* 257 (81BrM⁺-H). El análisis de GC-MS del producto en modo CI (metano) mostró la masa del producto deseado: *m/z* 256 (79BrM⁺) y *m/z* 258 (81BrM⁺).

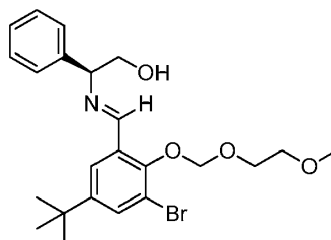
Etapa 2**Preparación de 3-bromo-5-*tert*-butil-2-[(2-metoxietoxi)metoxi] benzaldehído:**

30



35 Una mezcla de 3-bromo-5-*tert*-butil-2-hidroxibenzaldehído (3,99 g, 15,51 mmol) y carbonato de potasio anhidro (2,36 g, 17,10 mmol) en DMF anhidro (20,0 ml) se agitó en nitrógeno en un baño de agua (20 °C) para proporcionar una suspensión amarilla-anaranjada. Luego de agitar durante 20 min, se agregó cloruro de 2-metoxietoximetilo (2,00 ml, 17,66 mmol, grado técnico) por goteo (30 min) a la suspensión precedente mientras que se mantenía una temperatura interna de 20 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 h para proporcionar una suspensión naranja-amarillenta. La mezcla de reacción se vertió en agua helada (150 ml) y se agitó a temperatura ambiente para proporcionar un líquido oleoso amarillo, no se observó formación de sólidos. Luego de 30 min de agitación, la mezcla de reacción se extrajo con diclorometano (2 x 100 ml). Se retiró la capa orgánica, se lavó con agua (1 x 50 ml) y se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un producto muy puro como un líquido viscoso anaranjado (5,40 g). ¹H NMR (400 MHz; CDCl₃): □ 1,29 (s, 9H, (CH₃)₃C-), 3,33 (s, 3H, CH₃-O-), 3,53 (m, 2H, -CH₂-CH₂-O-), 3,98 (m, 2H, -CH₂-CH₂-O-), 5,25 (s, 2H, -O-CH₂-O-), 7,79 (s, 2H, H-4 y H-6), 10,28 (s, 1H, -CHO). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

45

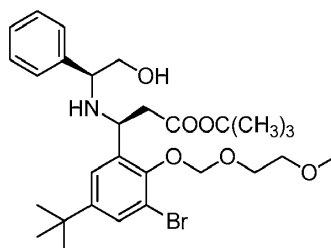
Etapa 3**Preparación de (S,E)-2-((3-bromo-5-(*tert*-butil)-2-((2-metoxietoxi) metoxi)encilideno)amino)-2-feniletanol:**

5

Se agregó (S)-(+)-2-fenilglicinol (2,14 g, 15,63 mmol) a una solución de 3-bromo-5-(*tert*-butil)-2-[(2-metoxietoxi)metoxi]benzaldehído (5,38 g, 15,58 mmol) en THF anhidro (25,0 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente para proporcionar una solución anaranjada. Luego de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, se agregó sulfato de magnesio anhidro (4,00 g) y la mezcla de reacción se agitó durante otras 2 h para proporcionar una solución anaranjada. Luego de agitar durante 2 h adicionales a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró en un filtro sinterizado y el bloque se lavó con THF (1 x 15 ml). El filtrado y los lavados se evaporaron al vacío para proporcionar un líquido amarillo viscoso con la imina deseada (7,83 g). El análisis de LC-MS del producto bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 464 (M⁺H) y m/z 486 (M⁺Na). ¹H NMR (400 MHz; CDCl₃): El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

10

15

Etapa 4**20 Preparación de 3-(3-bromo-5-(*tert*-butil)-2-((2-metoxietoxi)metoxi)fenil)-3-((S)-2-hidroxi-1-feniletil)amino)propanoato de (S)-*tert*-butilo:****25 Etapa 4.1****Preparación de bromuro de *tert*-butoxicarbonilmetilcinc (reactivo de Reformatsky):**

30

35

40

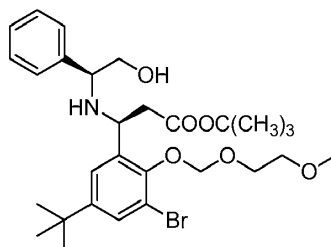
45

Se colocaron metal de cinc (3,84 g, 58,80 mmol) y THF anhidro (30 ml) en un matraz de 150 ml equipado con un condensador en atmósfera de nitrógeno. Con agitación magnética, se agregó 1,2-dibromoetano (152 μL , 1,76 mmol) y la suspensión de cinc en THF se calentó hasta reflujo (65-70 °C) durante 1 h a esta temperatura. La mezcla de reacción se enfrió hasta 50 °C antes de cargar el bromoacetato de *tert*-butilo (9,0 ml, 60, 95 mmol) por goteo mediante una jeringa en la siguiente secuencia: 2,0 ml, 2,0 ml y 2,0 ml. La mezcla de reacción se calentó con agitación en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó hasta 58 °C y en pocos minutos de calentamiento a 58 °C (15-20 min), se observó exotermia, la mezcla de reacción comenzó a hacer ebullición y el cinc comenzó a desaparecer. La mezcla de reacción se cargó con el resto de bromoacetato de *tert*-butilo (3,00 ml) luego de lo cual se permitió la disminución de la exotermia y comenzó a precipitarse un sólido incoloro, lo cual aumentó con el tiempo. La mezcla de reacción se calentó durante 1 h adicional a 60 °C con agitación para proporcionar una solución verde-amarillenta pálida. Luego de 1 h, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y luego a 0 °C para proporcionar un precipitado incoloro. La mezcla de reacción se almacenó en un congelador (-20 °C) durante la noche en una atmósfera de nitrógeno. Se observó un sólido cristalino incoloro a blanco con agua madre verde-amarillenta pálida. Se retiró el solvente mediante una cánula de punta doble para proporcionar un sólido blanco sucio aún con residuos de THF (2-3 ml). El precipitado sólido se trituró con THF anhidro (10 ml) y se retiró el lavado de THF mediante una cánula para proporcionar un bloque color crema. El bromuro de *tert*-butoxicarbonilmetilcinc bruto se utilizó tal como estaba en la siguiente etapa.

Etapa 4.2

Preparación de 3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)-2-((2-metoxietoxi)metoxi)fenil)-3-((*S*)-2-hidroxi-1-feniletil)amino)propanoato de (*S*)-*terc*-butilo

5

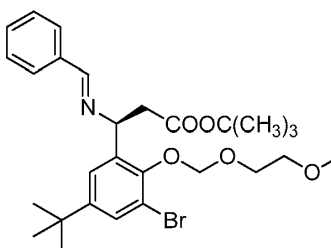


Reactivo de Reformatsky sólido: El $\text{BrZnCH}_2\text{COOC}(\text{CH}_3)_3 \cdot \text{THF}$ de la etapa n.º 4-1 se disolvió en 1-metil-2-pirrolidinona anhidra (NMP) (12,0 ml) a -10 - 15 °C (baño de hielo/sal) en nitrógeno para proporcionar una solución amarilla pálida. Se disolvió la imina bruta de la etapa n.º 3 (7,82 g, 16,84 mmol) en NMP anhidro (15,0 ml) en una atmósfera de nitrógeno por separado. La solución de la imina en NMP (12,0 ml) se agregó lentamente a una solución del reactivo de Reformatsky en NMP a -15 °C en 30 min en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó agitar primero a -10 °C durante 2 h y luego a -5 °C durante 1 h adicional. La mezcla de reacción se enfrió hasta -10 °C (baño de hielo/sal). Se agregó lentamente una mezcla de HCl conc. (1,0 ml) en 100 ml de una solución saturada de cloruro de amonio a la mezcla de reacción fría precedente en 10 min y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C (baño de hielo) para proporcionar una solución amarilla-anaranjada. Luego de agitar la mezcla de reacción durante 15 min a 0 °C, esta se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó MTBE (80 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La agitación se detuvo y las capas se separaron. Se extrajo la capa acuosa con MTBE (20 ml). Las dos capas orgánicas se combinaron y se lavaron de forma sucesiva con una solución saturada de NH_4Cl (25 ml), agua (25 ml) y solución saturada de cloruro de sodio (25 ml). La capa orgánica se secó con MgSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso anaranjado (9,82 g). El análisis de LC-MS del líquido mostró la masa del producto deseado: m/z 580 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$) y m/z 582 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): El espectro de $^1\text{H NMR}$ de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto. El residuo bruto se utilizó tal como estaba para la siguiente etapa.

Etapa 5

Preparación de 3-(bencilidenoamino)-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)-2-((2-metoxietoxi)metoxi)fenil)propanoato de (*S,E*)-*terc*-butilo

30



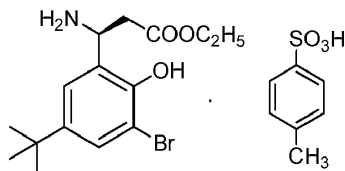
Se agregó tetraacetato de plomo (7,48 g, 16,88 mmol) en una porción a una solución del éster bruto de la etapa n.º 4 (9,80 g, 16,88 mmol) en metanol anhidro (100 ml) a 0 °C (baño de hielo). La solución pasó de amarillo-anaranjado a anaranjado-rojizo antes de volver a amarillo-anaranjado. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 3 h para proporcionar una solución anaranjada. Luego de agitar durante 1/2 h adicional, se agregó una solución de NaOH al 15 % en agua (15 ml) a la mezcla de reacción mientras que se mantenía la temperatura por debajo de 5 °C. La mayor parte del metanol se retiró a presión reducida en un evaporador giratorio (~135 ml) para proporcionar un residuo color anaranjado pastel espeso. Se agregó una parte adicional de solución acuosa de NaOH al 15 % (80 ml) y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con agua (1 x 100 ml) y una solución saturada de NaCl (1 x 50 ml). Se retiró la capa orgánica, se secó en MgSO_4 anhidro y se filtró en Celite. El filtrado se evaporó al vacío para proporcionar un líquido anaranjado viscoso con el producto deseado (9,050 g). El producto bruto anterior se utilizó tal como estaba para la reacción con ácido *p*-toluenosulfónico.

45

Etapa 6

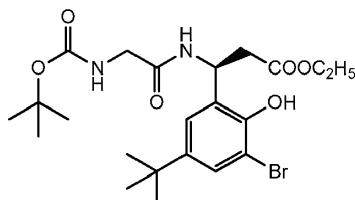
Preparación de ácido *p*-tolueno-4-sulfónico de 3-amino-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)propionato de (S)-etilo:

5



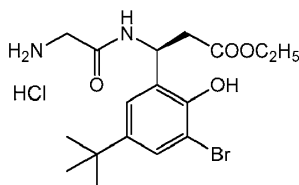
Se agregó monohidrato de ácido *p*-toluenosulfónico a una solución del éster bruto de la etapa n.º 5 (9,05 g, 16,50 mmol) en etanol absoluto (25,0 ml). La mezcla de reacción se calentó en condiciones de reflujo en una atmósfera de nitrógeno para proporcionar una solución roja anaranjada-parda. Se interrumpió el calentamiento luego de 7 h y la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso pardo-anaranjado oscuro. El producto bruto se disolvió en THF (20,0 ml) y se diluyó lentamente con heptano (50,0 ml) para proporcionar un residuo gomoso anaranjado sucio-pardo. Esta mezcla se almacenó en un congelador (-20 °C) durante la noche. Se precipitó un sólido gomoso de color crema sucio en un agua madre de heptano anaranjada-amarillenta. Se retiró la capa de heptano mediante decantación y el residuo se trituró con heptano (10 ml). La capa de heptano se retiró y combinó con la capa de heptano decantada. Comenzó a depositarse un precipitado incoloro en la capa de heptano combinada y la cantidad del sólido aumentó considerablemente luego de reposo a temperatura ambiente durante 30 min. El sólido precipitado se filtró, se lavó con heptano y se secó al vacío para proporcionar un sólido blanco (6,24 g). El análisis de LC-MS del producto bruto anterior mostró la masa del producto deseado: m/z 344 ($^{79}\text{Br}M+H$) y m/z 346 ($^{81}\text{Br}M+H$), calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{BrNO}_3$: 344,24, calculado para sal de *p*-TSA $\text{C}_{15}\text{H}_{22}\text{BrNO}_3 \cdot \text{C}_7\text{H}_8\text{O}_3\text{S}$: 516,44. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,13 (t, $J = 7,10$ Hz, 3H, CH_3CH_2-), 1,36 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{C}-$), 2,30 (s, 3H, 4- CH_3 -(*p*TSA)), 2,95 (ABq, $J_{AB} = 16,42$ y 7,42 Hz y $J_{AB} = 16,42$ y 6,72 Hz, 2H, - CH_2 - COOC_2H_5), 4,05 (q, $J = 7,10$ Hz, 2H, CH_3CH_2-), 5,01 (apptq/m, $J = 6,20$ Hz, 1H, -NH- $\text{CH}-\text{CH}_2$ - $\text{COO}-$), 7,12 (d, $J = 8,40$ Hz, 2H, *p*TSA-H-3 y H-5), 7,30 (d, $J = 2,44$ Hz, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,48 (d, $J = 6,00$ Hz, 2H, *p*TSA H-2 y H-6), 8,26 (brs, 2H, - NH_2), 9,02 (brs, 1H, -OH). El espectro de ^1H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

30

Preparación de 3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)acetamido)propanoato de (S)-etilo

A una solución de una mezcla de la sal de 3-amino-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)propanoato-*p*-TSA de (S)-etilo (2,71 g, 5,26 mmol) y éster de *N*-*t*-Boc-glicina hidroxisuccinimida (1,45 g, 5,30 mmol) en DMF anhidro (25 ml) se le agregó trietilamina (900 μL , 6,46 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso anaranjado. El residuo se separó entre acetato de etilo (50 ml), agua (50 ml) y una solución saturada de NaHCO_3 (50 ml). Se retiró la capa de acetato de etilo, se lavó con agua (1 x 50 ml), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso color crema (2,383 g). El producto bruto se utilizó como estaba para la desprotección del grupo *t*-Boc.

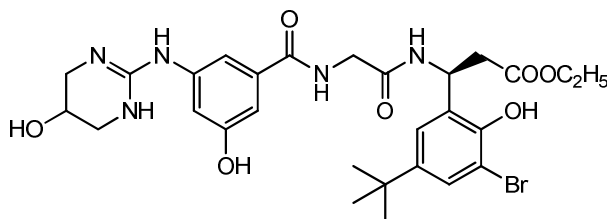
45

Preparación de sal de clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)propanoato de (S)-etilo

Se agregó HCl 4M en 1,4-dioxano (7,0 ml) a una solución de una muestra bruta de (S)-etil-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)acetamido)propanoato (2,38 g, 4,75 mmol) en 1,4-dioxano (6,0 ml) a

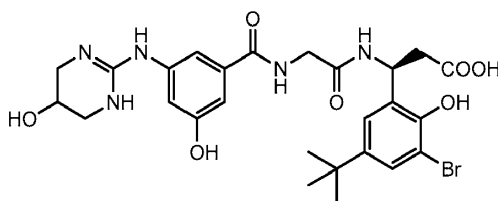
0 °C (baño de hielo) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min y luego a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción luego se calentó a 50 °C durante 2,5 h en una atmósfera de nitrógeno para proporcionar una suspensión anaranjada-amarillenta. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso anaranjado-amarillo sucio. Se le agregó acetonitrilo (25 ml) al sólido, se agitó durante 5 min para proporcionar una suspensión de color crema-amarillo y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso amarillo sucio. El sólido espumoso se volvió a disolver en acetonitrilo (25 ml) para proporcionar una suspensión amarilla sucia y se filtró para retirar un sólido insoluble incoloro. El filtrado se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso anaranjado-amarillento. El líquido se trituró con una mezcla de acetato de etilo/heptano para proporcionar un precipitado de color crema sucio, el solvente se retiró al vacío para proporcionar un sólido de color crema sucio (2,00 g). El análisis de LC/MS del producto anterior mostró la masa del producto deseado: m/z 401 (⁷⁹BrM+H) y m/z 403 (⁸¹BrM+H), calculado para C₁₇H₂₅BrN₂O₄: 401,29. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,12 (t, J = 7,11 Hz, 3H, CH₃-CH₂-), 1,23 (s, 9H, (CH₃)₃C-), 2,76 (ABq, J = 15,50 y 9,20 Hz y J = 15,50 y 5,56 Hz, 2H, -CH₂-COOC₂H₅), 3,57 (brs, 2H, NH₂-CH₂-C=O), 4,03 (q, J = 7,07 Hz, CH₃-CH₂-), 5,56 (brm, 1H, -NH₂-CH-), 7,25 (d, J = 2,30 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 2,30 Hz, 1H), 7,96 (brs, 2H, NH₂-), 8,87 (d, J = 8,46 Hz, 1H), 9,15 (brs, 1H, -OH). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Preparación de 3-(3-bromo-5-(terc-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo.



A una mezcla de sal de HCl de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-bromo-5-(terc-butil)-2-hidroxifenil) propanoato de (S)-etilo (1,12 g, 0,995 mmol), ácido 3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzoico (Ejemplo A) (0,60 g, 2,41 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (74,0 mg, 0,48 mmol) en DMF anhidro (7,0 ml) y DCM (7,0 ml) se le agregó N,N'-diisopropilcarbodiimida (445 µL, 2,86 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó en un evaporador giratorio para proporcionar un residuo gomoso incoloro. El residuo se disolvió en acetonitrilo (25 ml), se agitó durante 5 min y se filtró para retirar la urea precipitada (~300 mg). La evaporación del filtrado al vacío proporcionó un residuo gomoso/viscoso casi incoloro (1,39 g). El análisis de LC/MS del producto bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 635 (⁷⁹BrM+H) y m/z 637 (⁸¹BrM+H), calculado para C₂₈H₃₆BrN₅O₇: 634,519. El producto bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación con hidróxido de litio.

Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(terc-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

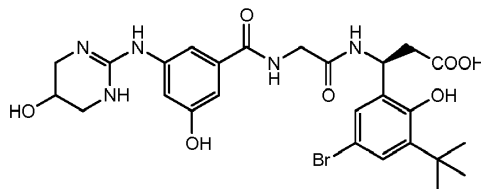


A una suspensión de 3-(3-bromo-5-(terc-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido) propanoato de (3S)-etilo (1,389 g, 2,19 mmol) en una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (10,0 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (0,735 g, 17,51 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h para proporcionar una solución amarilla pálida. Se evaporó el acetonitrilo en un evaporador giratorio para proporcionar un residuo acuoso amarillo pálido. El residuo se extrajo con diclorometano (2 x 25 ml) para retirar HOBt y DIPU. La capa acuosa se neutralizó con TFA (3,0 ml en 5,0 ml de CH₃CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso pálido. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa en un sistema Biotage SP1 usando un gradiente de 10-40 % de CH₃CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar un sólido vítreo incoloro. El producto purificado se disolvió en agua con algunas gotas de acetonitrilo y se liofilizó para proporcionar un polvo incoloro (778,0 mg). El análisis de LC/MS del producto purificado mostró la masa del producto deseado: m/z 606 (⁷⁹BrM+H) y m/z 608 (⁸¹BrM+H), calculado para C₂₆H₃₂BrN₅O₇: 606,466. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,25 (s, 9H, (CH₃)₃C-), 2,70 (ABq, J_{AB} = 16,00 y 8,73 Hz y J_{AB} = 15,95 y 5,45 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,17 (d, J = 12,0 Hz, 2H), 3,3 5 (d, J = 11,0 Hz, 2H), 3,89 (d, J = 6,0 Hz, 2H), 4,09 (m, 1H), 5,45 (brm, 1H, -NH-CH₂-COOH), 6,75 (brt/m, J = 2,02 Hz, 1H), 7,13 (dt, 2H), 7,26 (d, J = 2,30 Hz, 1H), 7,34 (d, J = 2,32 Hz, 1H), 8,60 (d, J = 8,26 Hz, 1H), 8,64 (t, J = 5,85 Hz, 1H), 9,31 (s, 1H), 9,60 (s, 1H), 10,02 (brs, 1H), 12,27 (brs, 1H, -COOH). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue

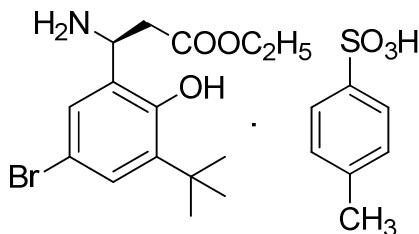
coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 2

- 5 **Preparación de ácido (3S)-3-(5-bromo-3-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico**

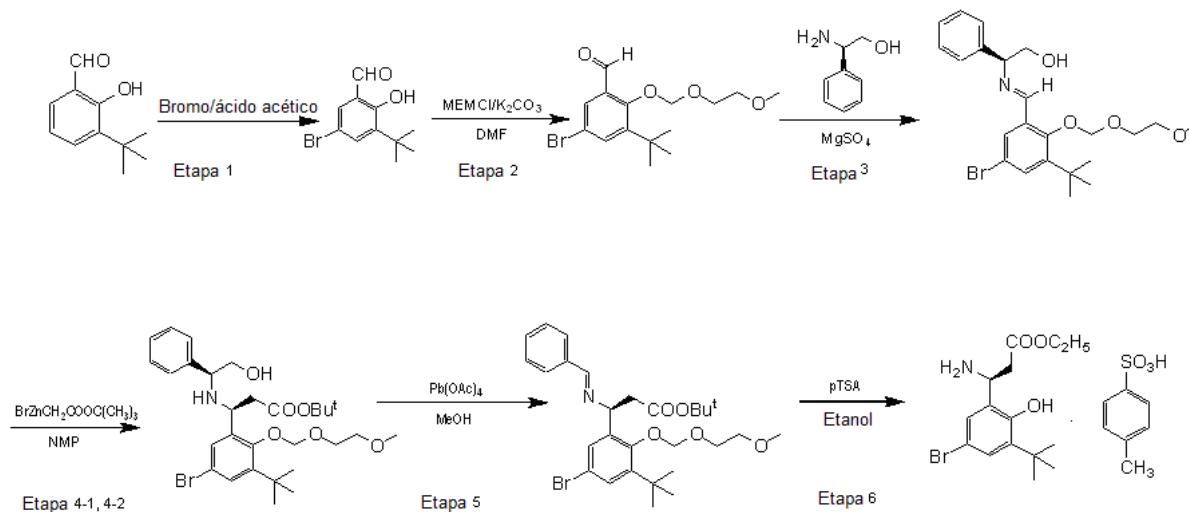


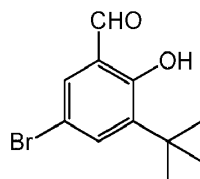
- 10 **Preparación de ácido p-tolueno-4-sulfónico de 3-amino-3-(5-bromo-3-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)propionato de (S)-etilo:**



- 15 El siguiente esquema describe una síntesis del β-amino ácido: Se utiliza sal de 3-amino-3-(5-bromo-3-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)propionato-pTSA de (S)-etilo para sintetizar el compuesto anterior (Ejemplo 2).

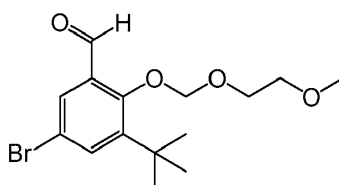
- 20 **Preparación de ácido (S)-etil 3-amino-3-(5-bromo-3-(*terc*-butil)-2-hidroxifenil)propionato-p-tolueno-4-sulfónico**



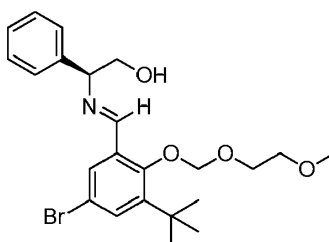
Etapa 1**Preparación de 5-bromo-3-*terc*-butilsalicilaldehído:**

5

A una solución agitada de 3-*terc*-butilsalicilaldehído (5,13 g, 28,8 mmol) en ácido acético (15 ml) se le agregó una solución de bromo (1,65 ml, 32,25 mmol) en ácido acético (7,0 ml) por goteo en menos de 20 min. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El análisis de HPLC analítica luego de 3 h mostró el producto deseado en ~72 % y el material de partida sin reaccionar en ~28 %. Se agregó un segundo lote de bromo (0,5 ml) en ácido acético (3 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante otras 3 h. El análisis de HPLC analítico de la mezcla de reacción luego de 3 h (6 h en total) mostró el producto deseado en ~85 % y el material de partida aún en ~15 %. Luego de 6 h de agitación, la mezcla de reacción se diluyó con diclorometano (50 ml) y la capa orgánica se lavó con solución de bisulfito de sodio al 39 % (1 x 10 ml), agua, NaHCO₃ saturado y salmuera. La capa orgánica se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el producto deseado como un sólido cristalino amarillo pálido (7,2421 g). La purificación mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice en columna de gel de sílice y la elución con 0-5 % de acetato de etilo en n-heptano proporcionó el producto deseado como un sólido cristalino amarillo pálido (4,792 g, 64 % de rendimiento). El análisis de LC-MS del producto en modo negativo mostró la masa del producto deseado: m/z 255 (⁷⁹BrM⁻-H) y m/z 257 (⁸¹BrM⁻-H). El análisis de GC-MS del producto en modo CI (metano) mostró la masa del producto deseado: m/z 256 (⁷⁹BrM⁺) y m/z 258 (⁸¹BrM⁺), calculado para C¹¹H₁₃BrO₂: 257,124. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1,39 (s, 9H, t-Bu-), 7,50 (s, 1H, H-4), 7,56 (s, 1H, H-6), 9,79 (s, 1H, -CHO), 11,70 (s, 1H, -OH). La ¹H NMR del producto aislado fue idéntica a la de la muestra previamente indicada del producto (Girsch *et al.*, 2007).

Etapa 2**Preparación de 5-bromo-3-*terc*-butil-2-[(2-metoxietoxi)metoxi] benzaldehído:**

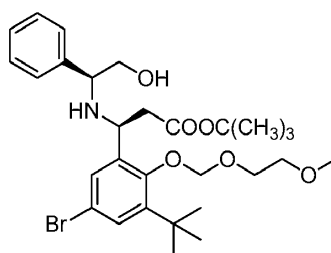
Una mezcla de 5-bromo-5-(*terc*-butil)-2-hidroxibenzaldehído (4,74 g, 18,42 mmol) y carbonato de potasio anhidro (2,83 g, 20,45 mmol) en DMF anhidro (20,0 ml) se agitó en nitrógeno en un baño de agua (20 °C) para proporcionar una suspensión amarilla-anaranjada. Luego de agitar durante 20 min, se agregó cloruro de 2-metoxietoximetilo (2,40 ml, 21,19 mmol, grado técnico) por goteo (20 min) a la suspensión precedente mientras que se mantenía una temperatura interna de 20 °C. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h para proporcionar una suspensión color amarillo canario. La mezcla de reacción se vertió en agua helada (150 ml) y se agitó a temperatura ambiente para proporcionar un líquido oleoso amarillo, no se observó formación de sólidos. Luego de 30 min de agitación, la mezcla de reacción se extrajo con diclorometano (2 x 75 ml). Se retiró la capa orgánica, se lavó con agua (1 x 50 ml) y se secó en sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo pálido (6,7832 g). No fue necesaria la purificación y el producto bruto (pureza > 97 %) se utilizó directamente en la siguiente etapa n.º 3.

Etapa 3**Preparación de (S,E)-2-((5-bromo-3-(*terc*-butil)-2-[(2-metoxietoxi) metoxi]bencilideno)amino)-2-feniletanol:**

Se agregó (S)-(+)-2-fenilglicinol (2,71 g, 19,73 mmol) a una solución de 5-bromo-3-(*tert*-butil-2-[(2-metoxietoxi)metoxi]benzaldehído (6,78 g, 19,64 mmol) en THF anhidro (25,0 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente para proporcionar una solución anaranjada. Luego de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, se agregó sulfato de magnesio anhidro (5,00 g) y la mezcla de reacción se agitó durante otras 2 h para proporcionar una solución anaranjada. El análisis de LC-MS de la mezcla de reacción luego de 2 h mostró la masa del producto deseado: m/z 464 ($^{79}\text{Br}M+H$) y m/z 466 ($^{81}\text{Br}M+H$). La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 1 h adicional y se filtró en un filtro sinterizado y el bloque se lavó con THF (3 x 25 ml). El filtrado y los lavados se evaporaron al vacío para proporcionar un líquido amarillo viscoso con la imina deseada (9,40 g). El espectro de ^1H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto. No fue necesaria la purificación y el producto bruto (pureza > 95 %) se utilizó directamente en la siguiente etapa n.º 4.

Etapa 4

Preparación de 3-(5-bromo-3-(*tert*-butil)-2-[(2-metoxietoxi)metoxi]fenil)-3-((S)-2-hidroxi-1-feniletil)amino)propanoato de (S)-*tert*-butilo:



Etapa 4.1

Preparación de bromuro de *tert*-butoxicarbonilmetilcinc (reactivo de Reformatsky):

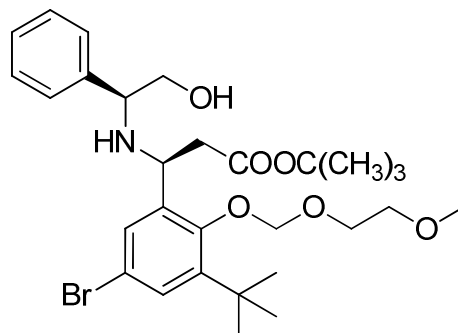


Se colocaron metal de cinc (3,44 g, 52,60 mmol) y THF anhidro (30 ml) en un matraz de 150 ml equipado con un condensador en atmósfera de nitrógeno. Con agitación magnética, se agregó 1,2-dibromoetano (150 μL , 1,76 mmol) y la suspensión de cinc en THF se calentó hasta reflujo (65-70 °C) durante 1 h a esta temperatura. La mezcla de reacción se enfrió hasta 50 °C antes de cargar el bromoacetato de *tert*-butilo (7,80 ml, 52,80 mmol) por goteo mediante una jeringa en la siguiente secuencia: 2,0 ml y 2,0 ml. La mezcla de reacción se calentó con agitación en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó hasta 58 °C y en pocos minutos de calentamiento a 58 °C (15-20 min), se observó exotermia, la mezcla de reacción comenzó a hacer ebullición y el cinc comenzó a desaparecer. La mezcla de reacción se cargó con el resto de bromoacetato de *tert*-butilo (3,80 ml) luego de lo cual se permitió la disminución de la exotermia y comenzó a precipitarse un sólido incoloro, lo cual aumentó con el tiempo. La mezcla de reacción se calentó durante 1 h adicional a 60 °C con agitación para proporcionar una solución amarilla-verdosa pálida. Luego de 1 h, la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y luego a 0 °C para proporcionar un precipitado incoloro. La mezcla de reacción se almacenó en un congelador (-20 °C) durante la noche en una atmósfera de nitrógeno. Se observó un sólido cristalino incoloro a blanco con agua madre amarilla-verdosa pálida. Se retiró el solvente mediante una cánula de punta doble para proporcionar un sólido incoloro a blanco sucio aún con residuos de THF (2-3 ml). El precipitado sólido se trituró con THF anhidro (10 ml) y se retiró el lavado de THF mediante una cánula para proporcionar un bloque color crema. El bromuro de *tert*-butoxicarbonilmetilcinc bruto se utilizó tal como estaba en la siguiente etapa.

Etapa 4.2

Preparación de 3-(5-bromo-3-(*terc*-butil)-2-((2-metoxietoxi)metoxi)fenil)-3-((S)-2-hidroxi-1-feniletil)amino)propanoato de (S)-*terc*-butilo:

5



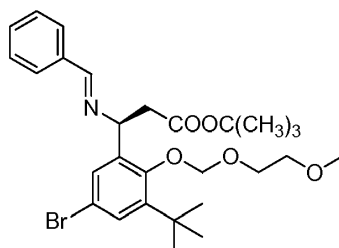
Reactivo de Reformatsky sólido: El $\text{BrZnCH}_2\text{COOC}(\text{CH}_3)_3 \cdot \text{THF}$ (52,0 mmol) de la etapa n.º 4-1 se disolvió en 1-metil-2-pirrolidinona anhidra (NMP) (12,0 ml) a -10 a -15 °C (baño de hielo/sal) en nitrógeno para proporcionar una solución amarilla pálida. Se disolvió la imina bruta de la etapa n.º 3 (9,40 g, 20,24 mmol) en NMP anhidro (15,0 ml) en una atmósfera de nitrógeno por separado. La solución de la imina en NMP se agregó lentamente a una solución del reactivo de Reformatsky en NMP a -15 °C en 30 min en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se dejó agitar primero a -10 °C durante 2 h y luego a -5 °C durante 1 h adicional. La mezcla de reacción se enfrió hasta -10 °C (baño de hielo/sal). Se agregó lentamente una mezcla de HCl conc. (1,0 ml) en 100 ml de una solución saturada de cloruro de amonio a la mezcla de reacción fría precedente en 10 min y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C (baño de hielo) para proporcionar una solución anaranjada-amarillenta. Luego de agitar la mezcla de reacción durante 15 min a 0 °C, la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente. Se agregó MTBE (80 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La agitación se detuvo y las capas se separaron. Se extrajo la capa acuosa con MTBE (20 ml). Las dos capas orgánicas se combinaron y se lavaron de forma sucesiva con una solución saturada de NH_4Cl (25 ml), agua (25 ml) y solución saturada de cloruro de sodio (25 ml). La capa orgánica se secó con MgSO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso anaranjado (6,80 g). El análisis de LC-MS del líquido mostró la masa del producto deseado: m/z 580 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$) y m/z 582 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$), calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{38}\text{BrNO}_5$: 548,509. El producto bruto anterior se utilizó tal como estaba para la siguiente etapa n.º 5.

25

Etapa 5

Preparación de 3-(bencilidenoamino)-3-(5-bromo-5-(*terc*-butil)-2-((2-metoxietoxi)metoxi)fenil)propanoato de (S,E)-*terc*-butilo:

30



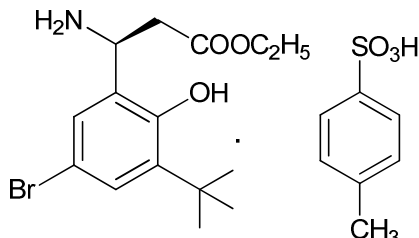
Se agregó tetraacetato de plomo (5,20 g, 11,75 mmol) en una porción a una solución del éster bruto de la etapa n.º 4 (6,80 g, 6,80 mmol) en metanol anhidro (100 ml) a 0 °C (baño de hielo). La solución pasó de amarillo-anaranjado a naranja-rojizo antes de volver a naranja-amarillento. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 3 h para proporcionar una solución anaranjada. Luego de agitar durante 1/2 h adicional, se agregó una solución de NaOH al 15 % en agua (15 ml) a la mezcla de reacción mientras que se mantenía la temperatura por debajo de 5 °C. La mayor parte del metanol se retiró a presión reducida en un evaporador giratorio (~135 ml) para proporcionar un residuo color crema-anaranjado espeso. Se agregó una parte adicional de solución acuosa de NaOH al 15 % (80 ml) y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). La capa orgánica se lavó con agua (1 x 100 ml) y una solución saturada de NaCl (1 x 50 ml). Se retiró la capa orgánica, se secó en MgSO_4 anhidro y se filtró en Celite. El filtrado se evaporó al vacío para proporcionar un líquido anaranjado viscoso con el producto deseado (5,4038 g). El producto bruto anterior se utilizó tal como estaba para la reacción con ácido p-toluenosulfónico en la siguiente etapa n.º 6.

40

Etapa 6

Preparación de ácido *p*-tolueno-4-sulfónico de 3-amino-3-(5-bromo-3-(*tert*-butil)-2-hidroxifenil)propionato de (S)-etilo:

5



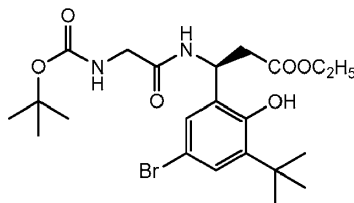
10

15

20

25

Se agregó monohidrato de ácido *p*-toluenosulfónico a una solución del éster bruto de la etapa n.º 5 (5,40 g, 9,84 mmol) en etanol absoluto (25,0 ml). La mezcla de reacción se calentó en condiciones de reflujo en una atmósfera de nitrógeno para proporcionar una solución roja anaranjada-parda. Se interrumpió el calentamiento luego de 7 h y la mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso anaranjado oscuro-pardo. El producto bruto se disolvió en THF (10,0 ml) y se diluyó lentamente con heptano (50,0 ml) para proporcionar una suspensión parda color crema. Esta mezcla se almacenó en un congelador (-20 °C) durante la noche. Se precipitó un sólido gomoso de color crema sucio en un agua madre de heptano amarilla-anaranjada. La capa de heptano se retiró mediante decantación y el residuo se secó al vacío para proporcionar un sólido espumoso de color beige sucio (4,56 g). También se obtuvo una segunda cosecha del producto a partir de las capas de heptano como un sólido incoloro (290,0 mg). El análisis de LC-MS del producto bruto anterior mostró la masa del producto deseado: *m/z* 344 (⁷⁹BrM+H) y *m/z* 346 (⁸¹BrM+H), calculado para C₁₅H₂₂BrNO₃: 344,24, calculado para sal de *p*-TSA C₁₅H₂₂BrNO₃·C₇H₈O₃S: 516,44. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,13 (t, J = 7,10 Hz, 3H, CH₃CH₂-), 1,36 (s, 6H, (CH₃)₂C-), 2,30 (s, 3H, 4-CH₃-(*p*TSA)), 2,95 (ABq, J_{AB} = 16,42 y 7,42 Hz y J_{AB} = 16,42 y 6,72 Hz, 2H, -CH₂-COOC₂H₅), 4,05 (q, J = 7,10 Hz, 2H, CH₃CH₂-), 5,01 (apptq/m, J = 6,20 Hz, 1H, -NH-CH₂-COO-), 7,12 (d, J = 8,40 Hz, 2H, *p*TSA-H-3 & H-5), 7,30 (d, J = 2,44 Hz, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,48 (d, J = 6,00 Hz, 2H, *p*TSA H-2 & H-6), 8,26 (brs, 2H, -NH₂), 9,02 (brs, 1H, -OH). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

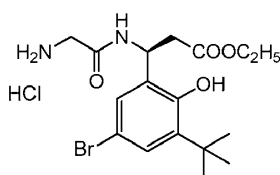
Preparación de ácido (3-(5-bromo-3-(*tert*-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)acetamido)propanoato de (S)-etilo

30

35

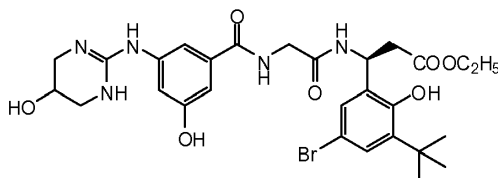
A una solución de una mezcla de la sal de 3-amino-3-(5-bromo-3-(*tert*-butil)-2-hidroxifenil)propanoato-*p*-TSA de (S)-etilo (1,10 g, 2,90 mmol) y éster de *N*-*t*-Boc-glicina hidroxisuccinimida (0,80 g, 2,95 mmol) en DMF anhidro (20 ml) se le agregó trietilamina (485 μL, 3,48 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso anaranjado. El residuo se separó entre acetato de etilo (50 ml), agua (50 ml) y una solución saturada de NaHCO₃ (50 ml). Se retiró la capa de acetato de etilo, se lavó con agua (1 x 50 ml), se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso color crema rosáceo (1,435 g). El producto bruto se utilizó como estaba para la desprotección del grupo *t*-Boc.

40

Preparación de sal de clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(5-bromo-3-(*tert*-butil)-2-hidroxifenil)propanoato de (S)-etilo

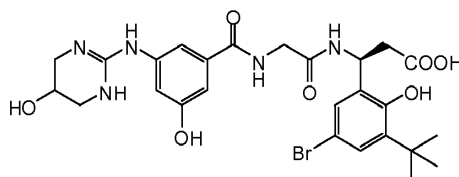
Se agregó HCl 4M en 1,4-dioxano (3,0 ml) a una solución de una muestra bruta de 3-(5-bromo-3-(*tert*-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)acetamido) propanoato de (S)-etilo (0,922 g, 1,84 mmol) en 1,4-dioxano (3,0 ml) a 0 °C (baño de hielo) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 30 min y luego a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla de reacción luego se calentó a 50 °C durante 2,5 h en una atmósfera de nitrógeno para proporcionar una suspensión amarilla-anaranjada. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso amarillo sucio-anaranjado. Se le agregó acetonitrilo (25 ml) al sólido, se agitó durante 5 min para proporcionar una suspensión de color crema-amarillo y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido de color crema sucio (0,935 g). El análisis de LC/MS del producto anterior mostró la masa del producto deseado: m/z 402 ($^{79}\text{Br}M+H$) y m/z 404 ($^{81}\text{Br}M+H$), calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{25}\text{BrN}_2\text{O}_4$: 401,29.

Preparación de 3-(5-bromo-3-(*tert*-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido) propanoato de (3S)-etilo



A una mezcla de sal de 3-(2-aminoacetamido)-3-(5-bromo-3-(*tert*-butil)-2-hidroxifenil) propanoato de (S)-etilo (0,607 g, 0,986 mmol), ácido 3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzoico (Ejemplo A) (0,330 g, 1,313 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (40,2 mg, 0,26 mmol) en DMF anhidro (5,0 ml) y DCM (5,0 ml) se le agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (240 μL , 1,55 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó en un evaporador giratorio para proporcionar un residuo gomoso incoloro. El residuo se disolvió en acetonitrilo (15 ml), se agitó durante 5 min y se filtró para retirar la urea precipitada. La evaporación del filtrado al vacío proporcionó un residuo gomoso/viscoso casi incoloro (0,855 g). El producto bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación con hidróxido de litio en la siguiente etapa.

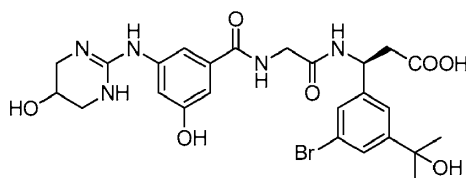
Preparación de ácido (3S)-3-(5-bromo-3-(*tert*-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



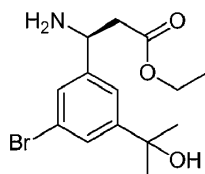
A una suspensión de 3-(5-bromo-3-(*tert*-butil)-2-hidroxifenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido) propanoato de (3S)-etilo (0,758 g, 1,195 mmol) en una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6,0 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (0,401 g, 9,56 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 h para proporcionar una solución amarilla pálida. Se evaporó el acetonitrilo en un evaporador giratorio para proporcionar un residuo acuoso amarillo pálido. El residuo se diluyó con agua (10 ml) y se filtró para retirar la urea precipitada. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1,0 ml en 5,0 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso color crema-amarillo pálido. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa usando un gradiente de 10-40 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar un sólido vítreo incoloro. El producto purificado se disolvió en agua con algunas gotas de acetonitrilo y se liofilizó para proporcionar un polvo incoloro (407,0 mg). El análisis de LC/MS del producto bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 606 ($^{79}\text{Br}M+H$) y m/z 608 ($^{81}\text{Br}M+H$), calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{32}\text{BrN}_5\text{O}_7$: 606,466. El espectro de ^1H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 3

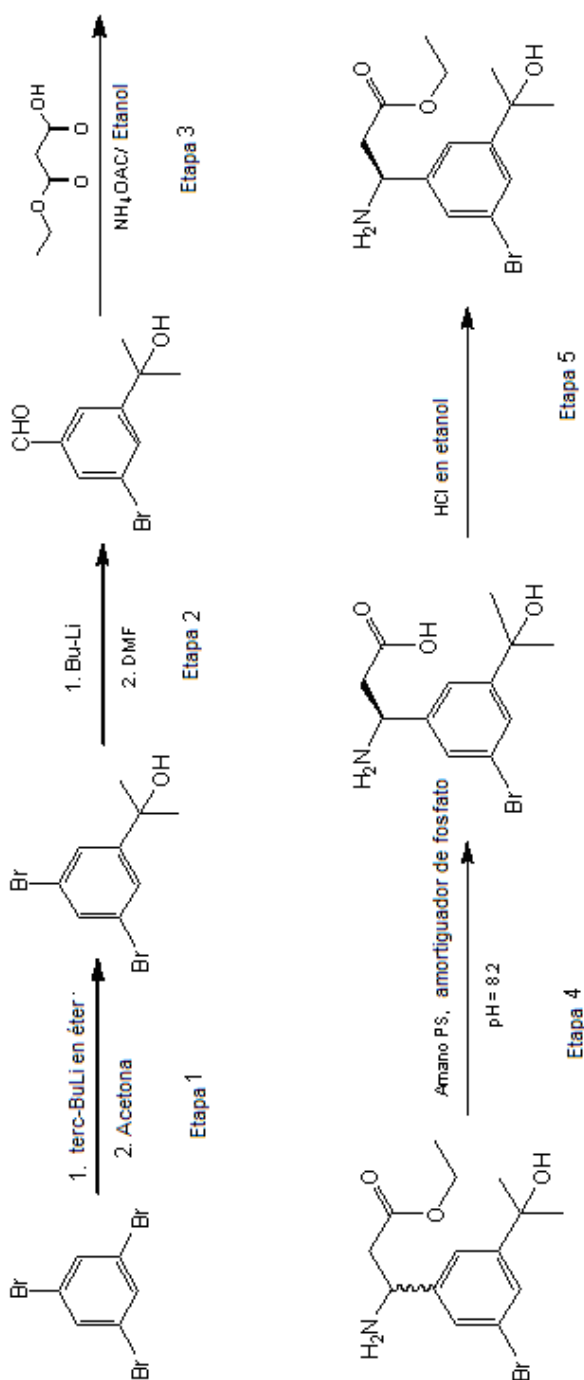
Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

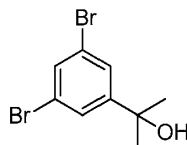


Preparación de 3-amino-3-(3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo



- 5 El siguiente esquema describe una síntesis del β-amino ácido: 3-amino-3-(3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo que se utilizó para sintetizar el compuesto anterior (Ejemplo 3).



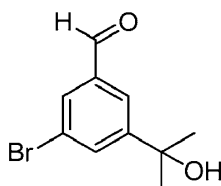
Etapa 1**Preparación de 1,3-dibromo-5-((1-hidroxi-1-metil)etil)-benceno:**

5

A una solución/suspensión de 1,3,5-trobromobenceno (5,03 g, 15,96 mmol) en éter dietílico anhidro (75,0 ml) se le agregó lentamente una solución 1,70 M de *terc*-butillitio en pentano (19,25 ml, 32,70 mmol) a -78 °C (baño de acetona-hielo seco) en 15 min para proporcionar una suspensión/solución púrpura. La mezcla de reacción se calentó hasta -30 °C y se agitó a esa temperatura durante 2 h. Se le agregó acetona seca (1,25 ml, 17,0 mmol) a la solución para proporcionar una solución parda-púrpura y la mezcla de reacción se agitó a -30 °C durante otras 3 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución acuosa saturada de NH₄Cl (35,0 ml) a -30 °C y se calentó hasta temperatura ambiente antes de diluirse con éter dietílico (50 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con agua, se secó en MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso anaranjado oscuro-rojo (4,50 g). El producto bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice en un sistema Biotage SP1 usando una columna de gel de sílice súper ultrarrápida Varian SF-40-120 g y elución con 10-90 % de éter dietílico en n-heptano. La evaporación de la mezcla de fracciones puras al vacío proporcionó el producto deseado como un sólido cristalino de color tostado (2,50 g). El análisis de GC/MS del sólido muestra la masa del producto deseado: m/z 292 (⁷⁹Br,⁷⁹BrM⁺), m/z 294 (⁷⁹Br,⁸¹BrM⁺) y m/z 296 (⁸¹Br,⁸¹BrM⁺), calculado para C₉H₁₀Br₂O: 293,98. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1,53 (s, 6H, (CH₃)₂C-OH), 1,71 (brs, 1H, (CH₃)₂C-OH), 7,52 (d, J = 1,75 Hz, 1H, H-2), 7,54 (d, J = 1,75 Hz, 2H, H-4 y H-6). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

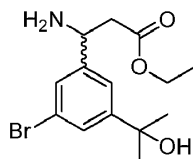
Etapa 2

25

Preparación de 3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)benzaldehído

Se disolvió 2-(3,5-dibromofenil)propan-2-ol (2,50 g, 8,50 mmol) de la etapa n.º 1 en éter dietílico anhidro (20 ml) en un matraz seco en nitrógeno. La mezcla de reacción se enfrió hasta -78 °C (baño de acetona-hielo seco) y se agitó en una atmósfera de nitrógeno. Se agregó una solución de n-butilitio 1,6 M en hexanos (11,0 ml, 17,60 mmol) por goteo a la solución precedente a -78 °C y la mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 30 min después de la adición total de n-BuLi para proporcionar una solución roja-parda. Luego de 30 min de agitación a -78 °C, la mezcla de reacción se calentó hasta -30 °C para proporcionar una suspensión rosa claro. Se agregó DMF (800 µL, 10,33 mmol) a la mezcla de reacción anterior por goteo, manteniendo la mezcla de reacción por debajo de -20 °C (5 min). Luego de haberse completado la adición de DMF, la mezcla de reacción se calentó lentamente hasta 0 °C (baño de hielo) (30 min) para proporcionar una suspensión rosa pálida. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Si bien la mezcla de reacción se realizó en 30 min, la mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche en nitrógeno para proporcionar una suspensión rosa pálida, la mezcla de reacción se vertió en 50 ml de HCl acuoso enfriado al 10 % y la mezcla se agitó durante 15 min. La capa de éter se separó y luego se lavó con agua (1 x 25 ml), se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó en un evaporador giratorio para proporcionar un sólido cristalino anaranjado sucio (2,18 g). La purificación del producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice en columna de gel de sílice y la elución con 5-40 % de acetato de etilo en n-heptano proporcionó el producto deseado como un sólido amarillo sucio (1,054 g). El análisis de GC-MS (modo CI/metano) del producto mostró la masa del producto deseado: m/z 242 (⁷⁹BrM⁺) y m/z 244 (⁸¹BrM⁺), calculado para C₁₀H₁₁BrO₂: 243,097. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1,59 (s, 6H, (CH₃)₂C-OH), 1,81 (brs, 1H, (CH₃)₂C-OH), 7,86 (dd, J = 1,80 y 1,50 Hz, 1H), 7,89 (appt, J = 1,70 Hz, 1H), 7,91 (appt, J = 1,80 Hz, 1H), 9,94 (s, 1H, -CHO). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

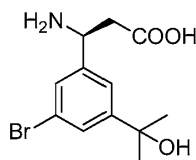
50

Etapa 3**Preparación de 3-amino-3-(3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de etilo:**

5

Una solución de 3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)benzaldehído (1,04 g, 4,28 mmol), malonato de monoetilo (1,25 g, 9,46 mmol) y acetato de amonio (1,72 g, 22,30 mmol) en etanol anhidro (70,0 ml) se calentó a reflujo durante 7 h para proporcionar una solución amarilla pálida. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo. El residuo se separó entre una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (25 ml) y acetato de etilo (25 ml); se retiró la capa orgánica, se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y evaporó al vacío para proporcionar un líquido amarillo viscoso del éster de amino (1,60 g). El análisis de LC-MS del producto bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 330 (⁷⁹BrM⁺) y m/z 332 (⁸¹BrM⁺), calculado para C₁₄H₂₀BrNO₃: 330,21.

15

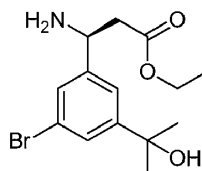
Etapa 4**Preparación de ácido (S)-3-amino-3-(3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoico:**

20

Resolución enzimática de la mezcla racémica. Una suspensión del producto bruto de la etapa n.º 3 (270,0 mg, 0,82 mmol) en 50 mM de solución de KH₂PO₄ (40,0 ml) se agitó a temperatura ambiente y el pH de la capa acuosa se ajustó hasta pH 8,20 mediante la adición de una solución de NaOH 1,0 N. Se agregó amano PS a la suspensión anterior y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se obtuvo una solución ligeramente turbida con unas pocas perlas pequeñas de color amarillo-anaranjado luego de la agitación durante toda la noche. No se obtuvieron sólido o precipitado, el (S)-ácido deseado podría ser soluble en el sistema acuoso precedente. La mezcla de reacción anterior se diluyó con MTBE (15 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min para extraer el (R)-éster. La evaporación de la capa acuosa al vacío proporcionó un sólido color crema con el (S)-ácido, así como sal del amortiguador de fosfato y amano lipasa (735,0 mg). El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del (S)-ácido deseado: m/z 302 (⁷⁹BrM⁺) y m/z 304 (⁸¹BrM⁺), calculado para C₁₂H₁₆BrNO₃: 302,16. El producto bruto anterior se utilizó como estaba para la preparación del (S)-éster.

25

30

Etapa 5**Preparación de 3-amino-3-(3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo:**

35

El residuo bruto que contenía el (S)-ácido, así como sal del amortiguador de fosfato y amano lipasa de la etapa n.º 3 se suspendió en etanol absoluto saturado con gas de HCl seco (10 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h para proporcionar una suspensión amarilla-rosa sucio. La mezcla de reacción se diluyó con acetonitrilo (50 ml), se filtró y evaporó al vacío para proporcionar un residuo oleoso amarillo sucio-pardo. El residuo se trató con una solución acuosa de NaHCO₃ (25 ml) y se extrajo con MTBE (2 x 25 ml). La evaporación del solvente al vacío proporcionó un residuo gomoso amarillo-pardo y el residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-40 % de CH₃CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado luego de la liofilización como un sólido liofilizado incoloro (18,4 mg). El análisis de LC-MS del producto purificado mostró la masa del producto deseado: m/z 330 (⁷⁹BrM+H) y m/z 332 (⁸¹BrM+H). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,10 (t, J = 7,10 Hz, 3H, CH₃CH₂-), 1,42 (s, 6H, (CH₃)₂C-), 3,00 (ABq, J_{AB} = 16,15 y 8,15 Hz y J_{AB} = 16,15 y 6,40 Hz, 2H, -CH₂-COOC₂H₅), 4,03(dq, J = 7,10 y 1,0 Hz, 2H, CH₃CH₂-), 4,65 (appt, J = 7,16 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COO-), 5,30 (s, 1H,

40

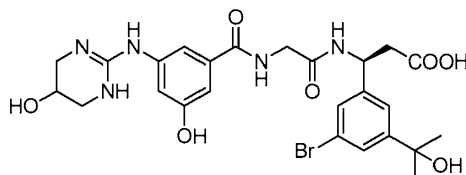
45

50

(CH_3)₂-C-OH), 7,57 (appt, J = 1,60 Hz, 2H), 7,67 (appt, J = 1,60 Hz, 1H), 8,42 (brs, 2H, -NH₂). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Etapa 6

5 **Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico:**

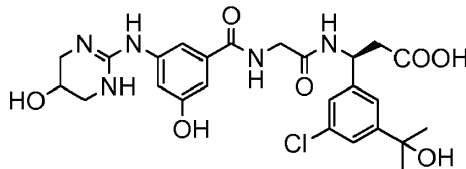


10 Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (20,13 mg, 0,065 mmol), clorhidrato de 3-amino-3-(3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (19,60 mg, 0,059 mmol) se disolvió en DMF (1,0 ml) y diclorometano (1,0 ml) para proporcionar una suspensión color crema. Se le agregó hidrato de 1-hidroxibenzotriazol sólido (2,0 mg, 0,013 mol) a la mezcla de reacción precedente y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (12 μ L) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche en una atmósfera de nitrógeno. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso viscoso amarillo pálido. El residuo se disolvió en acetonitrilo (10 ml), se agitó durante 5 min y se filtró para retirar la urea precipitada. La evaporación del filtrado al vacío proporcionó un residuo gomoso amarillo-anaranjado del producto: 3-(3-bromo-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (30,0 mg).

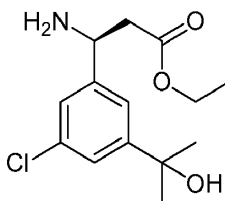
15 A una solución del producto precedente en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (20,0 mg) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. La mezcla se neutralizó con TFA (100 μ L en 1,0 ml CH₃CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un residuo pálido. El producto bruto precedente se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-40 % de CH₃CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado, después de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (22,0 mg). El análisis de LC/MS del producto mostró la masa del producto deseado: m/z 592 (⁷⁹BrM⁺) y m/z 594 (⁸¹BrM⁺), calculado para C₂₅H₃₀BrN₅O₇: 592,43. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,39 (s, 12H, 2 \times (CH₃)₂C-OH), 2,69 (d, J = 7,81 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,15 (d, J = 12,23 Hz, 2H), 3,33 (d, J = 12,06 Hz, 2H), 3,86 (d, J = 5,84 Hz, 2H), 4,07 (appt/m, 1H), 5,17 (brm/q, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,74 (brt/m, 1H), 7,11 (dt, J = 10,4 Hz, 2H), 7,34 (appt/m, 1H), 7,39 (appt/m, 1H), 7,50 (appt/m, 1H), 8,14 (brs, 2H), 8,51 (d, J = 8,20 Hz, 1H), 8,62 (brt, J = 7,35 Hz, 1H), 9,69 (s, 1H), 10,01 (brs, 1H), 12,38 (brs, 1H, -COOH). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 4

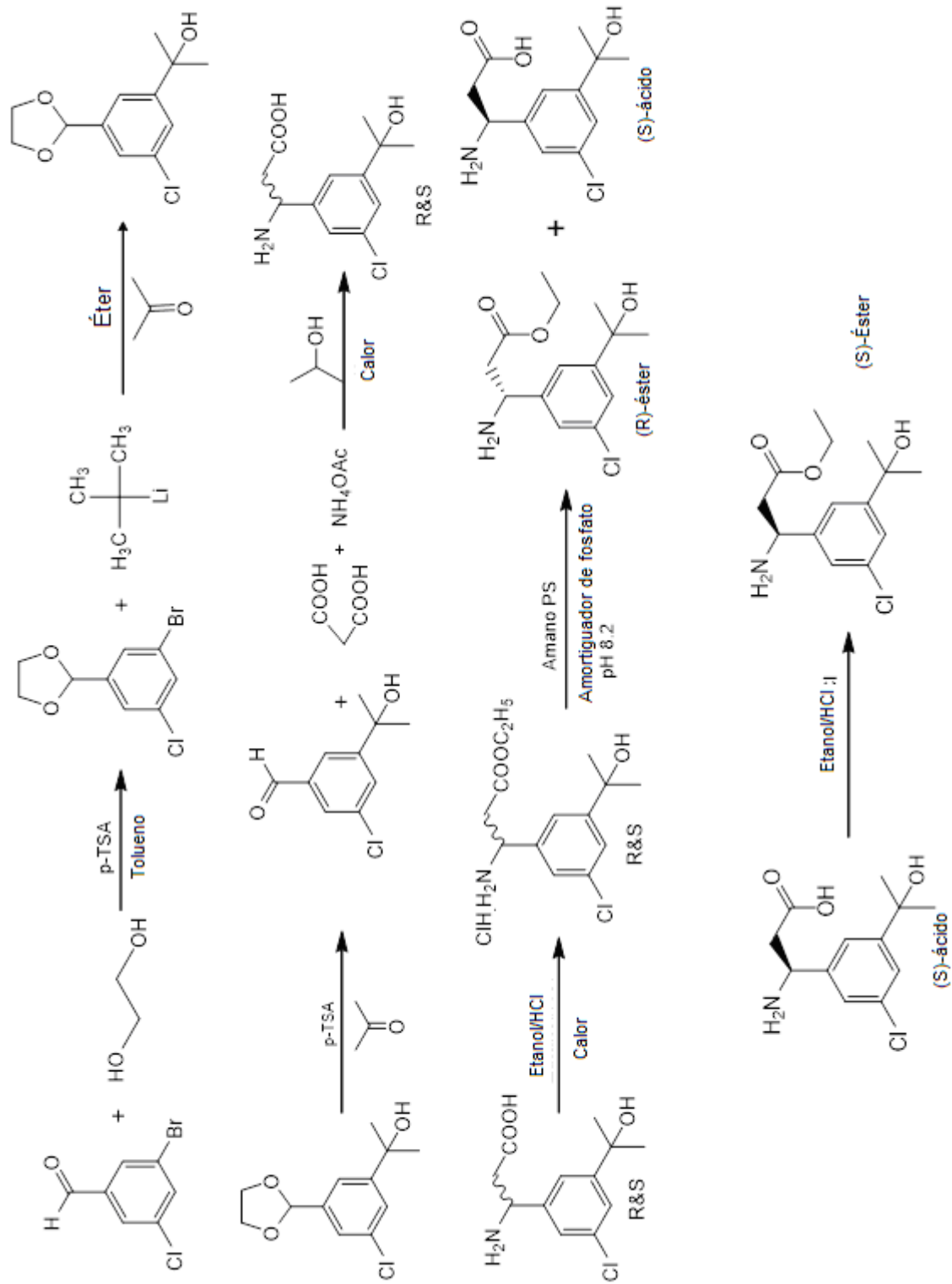
40 **Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico**

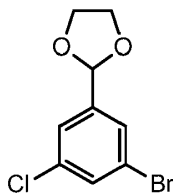


45 **Preparación de 3-amino-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo**



El siguiente esquema describe una síntesis del β -amino ácido 3-amino-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo:



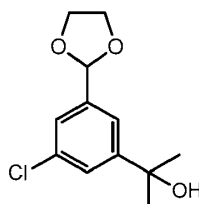
Etapla 1**Preparación de 2-(3-bromo-5-clorofenil)-1,3-dioxolano**

5

Se calentó una mezcla de 3-bromo-5-clorobenzaldehído (5,00 g, 22,80 mmol), etilenglicol (3,82 ml, 68,90 mmol) e hidrato del ácido *p*-toluenosulfónico (88,0 mg, 0,45 mmol) en tolueno anhidro a reflujo en condiciones de Dean-Stark durante 6 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo (50 ml). La capa de acetato de etilo se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (25 ml). Se retiró la capa orgánica, se lavó con agua (1 x 25 ml) y se secó con MgSO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso casi incoloro (6,05 g). El análisis de GC-MS (modo Cl/metano) del líquido mostró la masa del producto deseado: m/z 262 (79BrM+) y m/z 264 (81Br,37ClM+), calculado para C₉H₈BrClO₂: 263,51. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3,98-4,04 (m, 2H, -CH₂-O-), 4,04-4,10 (m, 2H, -CH₂-O-), 5,69 (s, 1H, O-CH-O), 7,39 (m, 1H), 7,47-7,51 (m, 2H). El espectro de ¹H NMR del líquido fue coherente con la estructura sugerida del producto.

10

15

Etapla 2**Preparación de 2-(3-cloro-5-(1,3-dioxolan-2-il)fenil)propan-2-ol**

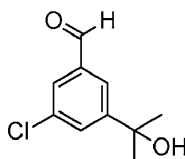
20

A una solución de 2-(3-bromo-5-clorofenil)-1,3-dioxolano (3,34 g, 12,68 mmol) en éter dietílico anhidro (40 ml) en un matraz seco se le agregó lentamente una solución de *tert*-butil litio 1,70 M en pentano (15,0 ml, 25,0 mmol) a -78 °C en nitrógeno para proporcionar una suspensión amarilla-rosácea. La mezcla de reacción se agitó a -78 °C durante 45 min en una atmósfera de nitrógeno. Luego de 45 min, la mezcla de reacción se calentó hasta -30 °C y se agitó a esa temperatura durante 2 h. Se le agregó acetona (2,0 ml, 25,35 mmol) a la solución anterior por goteo y la mezcla de reacción se agitó a -30 °C durante otras 3 h. La mezcla de reacción se inactivó con una solución saturada de NH₄Cl (20 ml) a -30 °C y la mezcla de reacción se calentó hasta temperatura ambiente (30 min) y luego se diluyó con éter dietílico (25,0 ml). La capa de éter se separó y luego se lavó con agua (1 x 25 ml), se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó en el evaporador giratorio para proporcionar un líquido viscoso amarillo pálido (5,45 g de dos procesamientos). El análisis GC-MS (modo EI) del producto mostró la masa del producto deseado: m/z 241 (35ClM+) y m/z 243 (37ClM+), calculado para C₁₂H₁₅BrClO₃: 242,67. El análisis de LC-MS del producto bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 243 (35ClM+H), m/z 245 (37ClM+H), m/z 225 (35ClM+H-H₂O), m/z 227 (37ClM+H-H₂O). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1,54 (s, 6H, (CH₃)₂C-OH), 3,90-4,25 (m, 4H, 2 x -CH₂-O-), 5,75 (s, 1H, O-CH-O), 7,34 (s, 1H), 7,43 (d, 2H). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

25

30

35

Etapla 3**Preparación de 3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)benzaldehído**

40

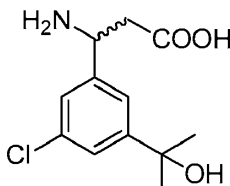
A una solución de 2-(3-cloro-5-(1,3-dioxolan-2-il)fenil)propan-2-ol (5,45 g, 22,46 mmol) en acetona (50 ml) se le agregó hidrato del ácido *p*-toluenosulfónico (0,85 g, 4,47 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h para proporcionar una solución roja-anaranjada. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo pardo-anaranjado. El residuo se separó entre una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (25 ml) y acetato de etilo (50 ml), se retiró la capa orgánica, se lavó con salmuera (1 x 25 ml), se secó en sulfato de

45

sodio anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso rojo-anaranjado (4,75 g). La purificación del producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice en una columna de gel de sílice y elución con 5-40 % de acetato de etilo en n-hexanos proporcionó el producto deseado como un sólido cristalino color crema (2,35 g). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 1,59 (s, 6H, (CH₃)₂C-OH), 1,76 (brs, 1H, (CH₃)₂C-OH), 7,71 (dd, J = 1,80 Hz, 1H), 7,75 (appt, J = 1,80 Hz, 1H), 7,85 (appt/dd, J = 1,40 Hz, 1H), 9,96 (s, 1H, -CHO). El espectro de ¹H NMR del sólido fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Etapa 4

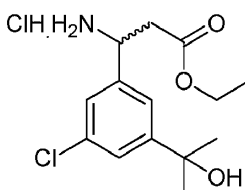
10 Preparación de ácido 3-amino-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propiónico racémico



Se calentó una suspensión de 3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)benzaldehído (2,35 g, 11,83 mmol), ácido malónico (1,50 g, 14,41 mmol) y acetato de amonio (1,85 g, 24,00 mmol) en isopropanol (30,0 ml) a reflujo en una atmósfera de nitrógeno durante 4 h para proporcionar una suspensión incolora en una solución amarilla-anaranjada. Se filtró la mezcla de reacción caliente y el sólido se lavó con isopropanol caliente (2 x 25 ml) y se desechó. El filtrado se evaporó al vacío para proporcionar una mezcla del ácido deseado (40 %) y el subproducto: ácido 3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)acrílico (60 %) como un sólido espumoso color amarillo cremoso. El sólido se volvió a cristalizar varias veces (x 5) a partir del acetato de etilo para proporcionar el producto deseado puro, libre de la impureza del subproducto, como un sólido incoloro (632,8 mg). El análisis de LC-MS del sólido mostró la masa del producto deseado: m/z 258 (35CIM+H), m/z 260 (37CIM+H), m/z 240 (35CIM+H-H₂O) y m/z 242 (37CIM+H-H₂O); calculado para C₁₂H₁₆ClNO₃: 257,71. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,42 (s, 6H, (CH₃)₂C-), 2,30 (dd, J = 8,0 y 6,0 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 4,21 (appt, J = 7,0 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,33 (s, 1H, (CH₃)₂C-OH), 7,31 (appt, J = 1,60 Hz, 1H), 7,38 (appt, J = 1,70 Hz, 1H), 7,42 (d, J = 9,0 Hz, 1H). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Etapa 5

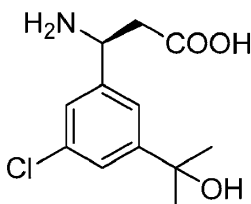
30 Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de etilo racémico



Se agregó etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (5 ml) a ácido 3-amino-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propiónico (632,0 mg, 2,45 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h para proporcionar una solución incolora. El solvente se retiró al vacío para dar un sólido incoloro. El sólido se formó en suspensión con éter dietílico y heptano (2 x 25 ml). Luego de retirar la capa de solvente mediante decantación, el residuo se secó al vacío para proporcionar la sal de clorhidrato de β-amino éster racémica como un sólido espumoso incoloro (746 mg). El análisis de LC-MS del sólido mostró la masa del producto deseado: m/z 286 (35CIM+H), m/z 288 (37CIM+H), m/z 268 (35CIM+H-H₂O) y m/z 270 (37CIM+H-H₂O); calculado para C₁₄H₂₀ClNO₃: 285,77.

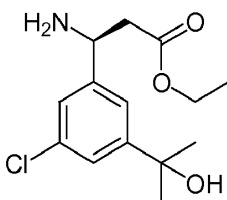
Etapa 6

45 Preparación de ácido (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoico

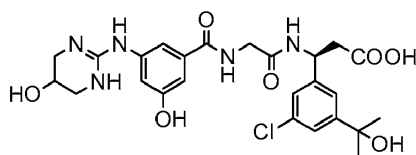
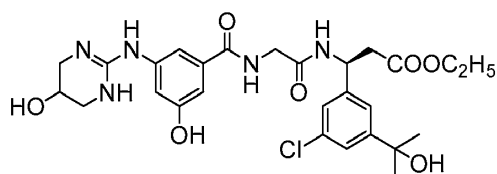


Resolución enzimática de la mezcla racémica:

Una suspensión del producto bruto de la etapa n.º 5 (270,0 mg, 0,82 mmol) en 50 mM de solución de KH_2PO_4 (40,0 ml) se agitó a temperatura ambiente y el pH de la capa acuosa se ajustó hasta pH 8,20 mediante la adición de una solución de NaOH 1,0 N. Se agregó amano PS a la suspensión anterior y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se obtuvo una solución ligeramente turbida con unas pocas perlas de color amarillo-anaranjado luego de la agitación durante toda la noche. No se obtuvieron sólido o precipitado, el (S)-ácido deseado podría ser soluble en el sistema acuoso precedente. La mezcla de reacción anterior se diluyó con MTBE (15 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min para extraer el (R)-éster. La evaporación de la capa acuosa al vacío proporcionó un sólido color crema con el (S)-ácido, así como sal del amortiguador de fosfato y amano lipasa (735,0 mg)). El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del (S)-ácido deseado: m/z 302 (79BrM+) y m/z 304 (81BrM+), calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{BrNO}_3$: 302,16. El producto bruto anterior se utilizó como estaba para la preparación del (S)-éster.

Etapa 7**Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo**

El residuo bruto que contenía el (S)-ácido, así como sal del amortiguador de fosfato y amano lipasa de la etapa n.º 6 se suspendió en etanol absoluto saturado con gas de HCl seco (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h para proporcionar una solución incolora. El análisis de HPLC analítica de la mezcla de reacción mostró el producto deseado, así como una traza del subproducto: 3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)acrilato de etilo. La evaporación del solvente al vacío proporcionó un residuo incoloro que se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-45 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado luego de la liofilización como un sólido espumoso incoloro (170,0 mg) (sal de TFA). El análisis de LC/MS del producto purificado mostró la masa del producto deseado: m/z 286 (35CIM+H), m/z 288 (37CIM+H), m/z 268 (35CIM+H-H₂O) y m/z 270 (37CIM+H-H₂O); calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{ClNO}_3$: 285,77. El producto aislado se agitó en etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (5,0 ml) durante 30 min y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso incoloro (147,40 mg). La sal de HCl se utilizó tal como estaba para la reacción de acoplamiento.

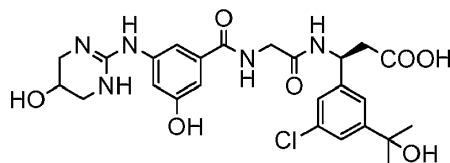
Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico**Etapa 1****Preparación de 3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo**

Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (151,0 mg, 49 mmol) y clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (147,40 mg, 0,46 mmol) se disolvió en DMF (2,0 ml) y diclorometano (2,0 ml) para proporcionar una suspensión incolora. Se le agregó hidrato de 1-hidroxibenzotriazol sólido (14 mg, 0,10 mmol) a la mezcla de reacción precedente y la mezcla de reacción se agitó en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min. Se agregó *N,N'*-

diisopropilcarbodiimida (205 μ L, 1,33 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche en una atmósfera de nitrógeno. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso color crema del producto: 3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 576 (^{35}Cl M+H) y m/z 576 (^{37}Cl M+H). El residuo bruto se utilizó tal cual para la saponificación (etapa n.º 2).

Etapa 2

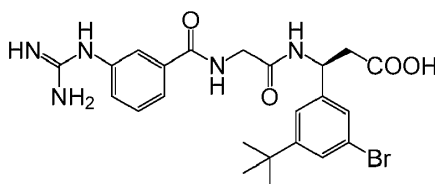
10 **Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico**



15 A una solución del producto bruto (0,46 mmol) de la etapa n.º 1 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (4 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (145 mg, 3,46 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. La mezcla se neutralizó con TFA (250 μ L en 1,0 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un residuo pálido. El producto bruto anterior se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-45 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 4), después de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (160,0 mg). El análisis de LC/MS del producto deseado mostró la masa del producto deseado: m/z 548 (35ClM+H) y m/z 550 (37ClM+H), calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{ClN}_5\text{O}_7$: 547,99. ^1H NMR (400 MHz, DMSO-*d*6): δ 1,40 (s, 6H, (CH₃)₂C-OH), 2,70 (d, J = 7,30 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,16 (d, J = 12,20 Hz, 2H), 3,33 (d, J = 11,75 Hz, 2H), 3,86 (d, J = 5,68 Hz, 2H), 4,08 (appt/m, 1H), 5,18 (q, J = 7,30 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,74 (brt/m, 1H), 7,12 (dt, J = 9,70 Hz, 2H), 7,22 (appt/m, 1H), 7,37 (appt/m, 2H), 8,18 (brs, 2H), 8,55 (d, J = 8,20 Hz, 1H), 8,65 (brt, J = 5,80 Hz, 1H), 9,73 (s, 1H), 10,08 (brs, 1H), 12,30 (brs, 1H, -COOH). El espectro de ^1H NMR del sólido fue coherente con la estructura sugerida del producto.

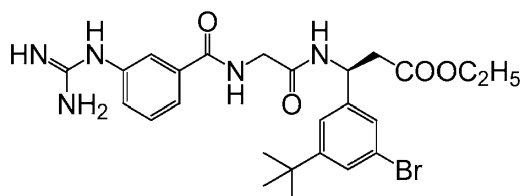
Ejemplo 5

30 **Preparación de ácido (S)-3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(3-guanidinobenzamido)acetamido) propanoico**



35 **Etapa 1**

40 **Preparación de 3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(3-guanidinobenzamido)acetamido) propanoato de (S)-etilo**

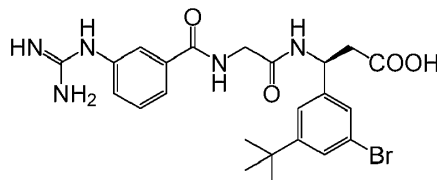


45 Se disolvió una mezcla de ácido 3-guanidinobenzoico (Ejemplo C) (179,5 mg, 1,00 mmol), clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-bromo-5-terc-butil)fenil)propanoato de (S)-etilo (Ejemplo H) (439,5 mg, 1,00 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (31,2 mg, 0,20 mmol) en DMF (4 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión incolora. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (205 μ L, 1,33 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo del producto intermedio: 3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(3-guanidinobenzamido)acetamido) propanoato

de (S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 546 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$), m/z 548 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$); m/z 568 ($^{79}\text{BrM}+\text{Na}$) y m/z 570 ($^{81}\text{BrM}+\text{Na}$); calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{32}\text{BrN}_5\text{O}_4$: 546,46. El residuo bruto se utilizará tal cual para la saponificación (etapa n.º 2).

5 Etapa 2

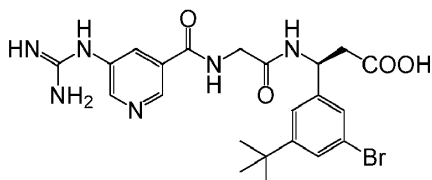
Preparación de ácido (S)-3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(3-guanidinobenzamido)acetamido) propanoico



10 A una suspensión del 3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(3-guanidinobenzamido) acetamido) propanoato de (S)-etilo (1,00 mmol) de la etapa n.º 1 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (245,6 mg, 5,85 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un residuo color crema. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-60 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 5), después de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (510,2 mg). El análisis de LC/MS del producto muestra la masa deseada del producto: m/z 518 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$), m/z 520 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$); m/z 540 ($^{79}\text{BrM}+\text{Na}$) y m/z 542 ($^{81}\text{BrM}+\text{Na}$); calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{BrN}_5\text{O}_4$: 518,40. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,26 (s, 9 H, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -), 2,70 (d, J = 7,30 Hz, 2H, - $\text{CH}_2\text{-COOH}$), 3,90 (d, J = 5,80 Hz, 2H), 5,19 (q, J = 7,53 Hz, 1H, -NH- $\text{CH-CH}_2\text{-COOH}$), 7,34 (br appt, 1H), 7,36 (br appt, 1H), 7,39 (br appt, 1H), 7,49 (brs, 2H), 7,54 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,72 (br appt, 1H), 7,79 (d, J = 7,90 Hz, 1H), 8,54 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 8,79 (br appt, 1H), 9,81 (brs, 1H), 12,33 (brs, 1H, -COOH). El espectro de ^1H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

25 Ejemplo 6

Preparación de ácido (S)-3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(5-guanidinonicotinamido)acetamido) propanoico



30 Etapa 1

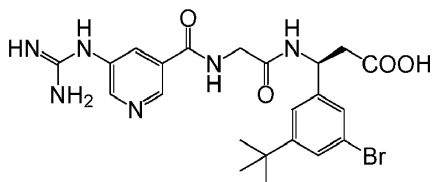
Preparación de 3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(5-guanidinonicotinamido)acetamido) propanoato de (S)-etilo

35 Se disolvió una mezcla de ácido 3-guanidinonicotínico (Ejemplo F) (181,0 mg, 1,00 mmol), clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-bromo-5-terc-butil)fenil)propanoato de (S)-etilo (Ejemplo H) (437,8 mg, 1,00 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (32 mg, 0,21 mmol) en DMF (4 ml) y diclorometano (4 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión incolora. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (205 μL , 1,33 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo cristalino de color amarillo a crema. El residuo se suspendió/disolvió en acetonitrilo para proporcionar un precipitado cristalino incoloro de la urea, se filtró y el filtrado se evaporó al vacío para proporcionar un sólido gomoso amarillo pálido del producto intermedio: 3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(5-guanidinonicotinamido)acetamido) propanoato de (S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 547 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$), m/z 549 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$); m/z 569 ($^{79}\text{BrM}+\text{Na}$) y m/z 571 ($^{81}\text{BrM}+\text{Na}$); calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{BrN}_6\text{O}_4$: 547,44. El residuo bruto se utilizó tal cual

para la saponificación (etapa n.º 2).

Etapa 2

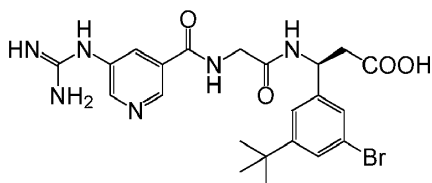
5 Preparación de ácido (S)-3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(5-guanidinonicotinamido)acetamido) propanoico



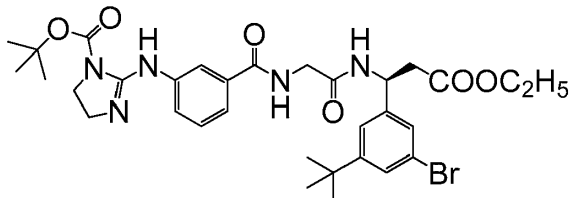
10 A una suspensión del 3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(5-guanidinonicotinamido) acetamido) propanoato de (S)-
 etilo (1,00 mmol) de la etapa n.º 1 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se le agregó
 monohidrato de hidróxido de litio (255 mg, 6,1 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente
 durante la noche. La mezcla de reacción se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de CH₃CN) y la mezcla se evaporó al
 vacío para proporcionar un residuo amarillo pálido. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con
 un gradiente de 10-60 % de CH₃CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 6),
 15 después de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (541,0 mg). El análisis de LC/MS del producto muestra
 la masa deseada del producto: m/z 519 (⁷⁹BrM+H), m/z 521 (⁸¹BrM+H); m/z 541 (⁷⁹BrM+Na) y m/z 543 (⁸¹BrM+Na);
 calculado para C₂₂H₂₇BrN₆O₄: 519,39. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,26 (s, 9 H, (CH₃)₃C-), 2,70 (d, J = 7,20 Hz,
 2H, -CH₂-COOH), 3,93 (d, J = 5,80 Hz, 2H), 5,20 (q, J = 7,00 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 7,34 (br appt, 1H),
 7,36 (br appt, 1H), 7,39 (br appt, 1H), 7,75 (brs, 3H), 7,54 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 8,08 (appt, J = 2,0 Hz, 1H), 8,56 (d, J =
 20 8,3 Hz, 1H), 8,62 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 8,93 (d, J = 1,7 Hz, 1H), 9,03 (brt, J = 5,8 Hz, 1H), 10,09 (brs, 1H), 12,30 (brs,
 1H, -COOH). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 7

25 Preparación de ácido (S)-3-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-(2-(3-((4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



30 **Etapa 1**
 Preparación de 2-(((2-((1-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-etoxi-3-oxopropil) amino)-2-oxoetil)carbamoil)fenil)amino)-4,5-dihidro-1H-imidazol-1-carboxilato de (S)-terc-butilo

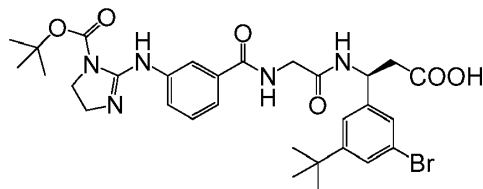


40 Se disolvió una mezcla de ácido 3-((1-terc-butoxicarbonil)-4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)benzoico (Ejemplo D)
 (305,8 mg, 1,00 mmol), clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-bromo-5-terc-butil)fenil)propanoato de (S)-etilo
 (Ejemplo H) (437,8 mg, 1,00 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (32 mg, 0,21 mmol) en DMF (4 ml) y
 diclorometano (4 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para
 proporcionar una suspensión incolora. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (205 uL, 1,33 mmol) y la mezcla de
 reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al
 vacío para proporcionar un residuo gomoso incoloro. El residuo se suspendió/disolvió en acetonitrilo (10 ml) para
 proporcionar un precipitado cristalino incoloro de la urea, se filtró y el filtrado se evaporó al vacío para proporcionar
 un sólido gomoso amarillo pálido del producto intermedio: 2-(((2-((1-(3-bromo-5-(terc-butil)fenil)-3-etoxi-3-
 45 oxopropil) amino)-2-oxoetil)carbamoil)fenil)amino)-4,5-dihidro-1H-imidazol-1-carboxilato de (S)-terc-butilo. El análisis
 de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 672 (⁷⁹BrM+H), m/z 674 (⁸¹BrM+H); m/z 694

($^{79}\text{BrM}+\text{Na}$) y m/z 696 ($^{81}\text{BrM}+\text{Na}$); calculado para $\text{C}_{32}\text{H}_{42}\text{BrN}_5\text{O}_6$: 672,61. El residuo bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación (etapa n.º 2).

Etapa 2

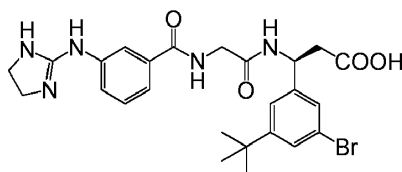
Preparación de ácido (S)-3-(3-bromo-5-(*tert*-butil)fenil)-3-(2-(3-((1-(*tert*-butoxicarbonil)-4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



A una suspensión del 2-((3-((2-((1-(3-bromo-5-(*tert*-butil)fenil)-3-etoxi-3-oxopropil) amino)-2-oxoetil)carbamoil)fenil)amino)-4,5-dihidro-1H-imidazol-1-carboxilato de (*S*)-*tert*-butilo (1,00 mmol) de la etapa n.º 1 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (248 mg, 5,91 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un residuo espumoso de color crema del producto intermedio: ácido (S)-3-(3-bromo-5-(*tert*-butil)fenil)-3-(2-(3-((1-(*tert*-butoxicarbonil)-4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico. El análisis de LC/MS del producto bruto muestra la masa deseada del producto: m/z 644 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$) y m/z 646 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$); calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{BrN}_5\text{O}_6$: 644,56. El residuo bruto se utilizó como estaba para la desprotección del grupo Boc (etapa n.º 3).

Etapa 3

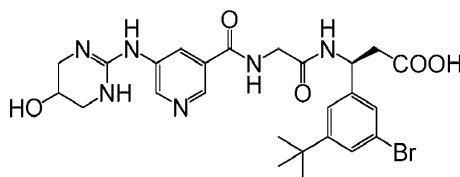
Preparación de ácido (S)-3-(3-bromo-5-(*tert*-butil)fenil)-3-(2-(3-((4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



El ácido (S)-3-(3-bromo-5-(*tert*-butil)fenil)-3-(2-(3-((1-(*tert*-butoxicarbonil)-4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico bruto de la etapa n.º 2 se disolvió en TFA al 20 % en acetonitrilo (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar una solución incolora. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso incoloro. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-70 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 7), después de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (364 mg). El análisis de LC/MS del producto muestra la masa deseada del producto: m/z 544 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$) y m/z 546 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$); calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{BrN}_5\text{O}_4$: 544,44. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,27 (s, 9H, (CH_3) $_3\text{C}$ -), 2,71 (d, J = 7,30 Hz, 2H, $-\text{CH}_2\text{-COOH}$), 3,68 (brs, 3H), 3,92 (d, J = 5,80 Hz, 2H), 5,20 (q, J = 7,5 Hz, 1H, $-\text{NH-CH-CH}_2\text{-COOH}$), 7,36 (brd, J = 9,8 Hz, 2H), 7,41 (brd/m, 2H), 7,55 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 7,73 (brs, 1H), 7,79 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 8,46 (s, 2H, 1H), 8,55 (d, J = 7,30 Hz, 1H), 8,80 (appt, J = 5,80 Hz, 1H), 10,62 (s, 1H), 12,37 (brs, 1H, $-\text{COOH}$). El espectro de ^1H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 8

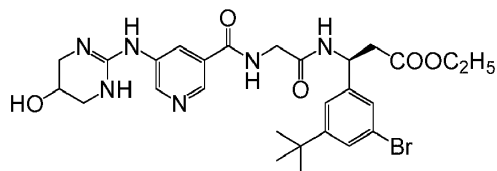
Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(*tert*-butil)fenil)-3-(2-(5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)nicotinamido)acetamido)propanoico



Etapa 1

Preparación de 3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-(5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)nicotinamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo

5

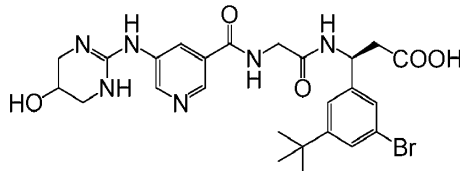


Una mezcla de ácido 5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)nicotínico (Ejemplo G) (236,8 mg, 1,00 mmol), clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-bromo-5-*terc*-butil)fenil) propanoato de (S)-etilo (Ejemplo H) (434,7 mg, 1,00 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (32 mg, 0,21 mmol) se disolvió en DMF (4 ml) y diclorometano (4 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión incolora. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (205 μ L, 1,33 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso/cristalino amarillo. El residuo se suspendió/disolvió en acetonitrilo (10 ml) para proporcionar un precipitado cristalino incoloro de la urea, se filtró y el filtrado se evaporó al vacío para proporcionar un sólido gomoso amarillo del producto intermedio: 3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-(5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)nicotinamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 603 ($^{79}\text{Br}M+H$), m/z 605 ($^{81}\text{Br}M+H$); m/z 625 ($^{79}\text{Br}M+Na$) y m/z 627 ($^{81}\text{Br}M+Na$); calculado para $C_{27}H_{35}BrN_6O_6$: 603,51. El residuo bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación (etapa n.º 2).

Etapa 2

Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-(5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)nicotinamido)acetamido)propanoico

25

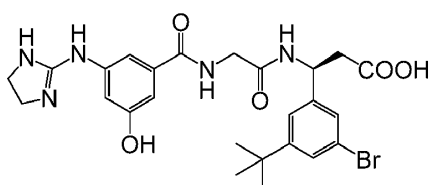


A una suspensión del 3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-(5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)nicotinamido)acetamido) propanoato de (3S)-etilo bruto (1,00 mmol) de la etapa n.º 1 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (247 mg, 5,88 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un residuo amarillo pálido. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-70 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 8), luego de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (611,6 mg). El análisis LC/MS del producto mostró la masa del producto deseado: m/z 575 ($^{79}\text{Br}M+H$), m/z 577 ($^{81}\text{Br}M+H$) y m/z 541 ($^{79}\text{Br}M+Na$); calculado para $C_{25}H_{31}BrN_6O_5$: 575,45. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,26 (s, (CH₃)₃C-), 2,70 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,17 (dt, $J = 12,4$ Hz, 2H), 3,35 (brd, $J = 12,4$ Hz, 2H), 3,93 (d, $J = 5,80$ Hz, 2H), 4,10 (appt/m, 1H), 5,19 (q, $J = 7,5$ Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 7,34 (s/appt, 1H), 7,40 (s/appt, 1H), 8,02 (s/appt, 1H), 8,56 (brs, 2H), 8,90 (d, $J = 1,60$ Hz, 1H), 9,02 (t, $J = 5,8$ Hz, 1H), 9,87 (s, 1H), 12,38 (brs, 1H, -COOH). El espectro de la ^1H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 9

Preparación de (S)-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-(3-((4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)-5-hidroxibenzamido)acetamido)propanoico

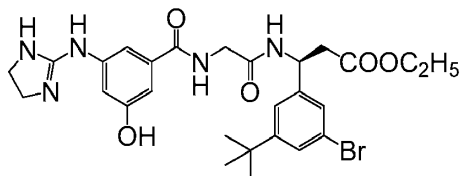
45



Etapa 1

Preparación de 3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-(3-((4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)-5-hidroxi-benzamido)acetamido)propanoato de (S)-etilo

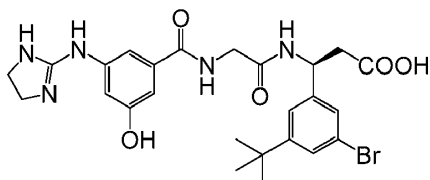
5



Una mezcla de sal ácida de ácido fórmico del ácido 3-((4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)-5-hidroxi-benzoico (Ejemplo E) (268,7 mg, 1,00 mmol), clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-bromo-5-*terc*-butil)fenil) propanoato de (S)-etilo (Ejemplo H) (437,8 mg, 1,00 mmol) e hidrato de 1-hidroxi-benzotriazol (32 mg, 0,21 mmol) se disolvió en DMF (4 ml) y diclorometano (4 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión incolora. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (205 μ L, 1,33 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso amarillo pálido. El residuo se suspendió/disolvió en acetronitrilo (10 ml) para proporcionar un precipitado cristalino incoloro de la urea, se filtró y el filtrado se evaporó al vacío para proporcionar un sólido gomoso amarillo del producto intermedio: 3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-(3-((4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)-5-hidroxi-benzamido)acetamido)propanoato de (S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 588 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$), m/z 590 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$); m/z 610 ($^{79}\text{BrM}+\text{Na}$) y m/z 612 ($^{81}\text{BrM}+\text{Na}$); calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{BrN}_5\text{O}_5$: 588,49. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-70 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado como un sólido espumoso incoloro (300 mg) que se utilizó tal como estaba en la saponificación (etapa n.º 2).

Etapa 2

Preparación de ácido (S)-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-(3-((4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)-5-hidroxi-benzamido)acetamido)propanoico

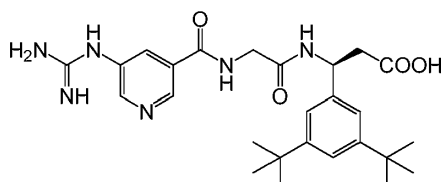


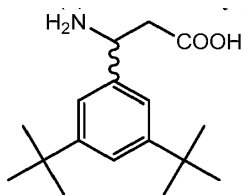
A una suspensión del intermedio 3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-(3-((4,5-dihidro-1H-imidazol-2-il)amino)-5-hidroxi-benzamido)acetamido) propanoato de (S)-etilo purificado (0,51 mmol) de la etapa n.º 1 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetronitrilo/agua (6 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (190 mg, 4,53 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se neutralizó con TFA (1 ml de TFA en 4 ml de CH_3CN) y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo espumoso color crema. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-70 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 9), luego de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (83,0 mg). El análisis LC/MS del producto mostró la masa del producto deseado: m/z 560 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$) y m/z 562 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$); calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{BrN}_5\text{O}_5$: 560,44.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,26 (s, 9H, (CH_3) $_3\text{C}$ -), 2,70 (d, J = 7,40 Hz, 2H, $-\text{CH}_2\text{-COOH}$), 3,66 (s, 4H, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2-$), 3,87 (d, J = 5,92 Hz, 2H), 5,18 (q, J = 5,92 Hz, 1H, $-\text{NH-CH-CH}_2\text{-COOH}$), 6,78 (t, J = 2,08 Hz, 1H), 7,13 (t, J = 1,64 Hz, 1H), 7,16 (t, J = 1,82 Hz, 1H), 7,34 (t, J = 1,48 Hz, 1H), 7,36 (t, J = 1,47 Hz, 1H), 7,40 (t, J = 1,75 Hz, 1H), 8,41 (s, 2H), 8,52 (d, J = 8,25 Hz, 1H), 8,64 (t, J = 5,95 Hz, 1H), 10,07 (brs, 1H), 10,54 (s, 1H), 12,35 (brs, 1H, $-\text{COOH}$). El espectro de la ^1H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 10

Preparación de ácido (S)-3-(3,5-di-*terc*-butilfenil)-3-(2-(5-guanidinonicotinamido)acetamido)propanoico

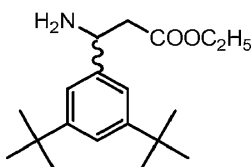


Etapa 1**Preparación de ácido 3-amino-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil)propiónico**

5

Una mezcla de 3,5-di-*tert*-butilbenzaldehído (0,996 g, 4,56 mmol), ácido malónico (0,572 g, 5,50 mmol) y acetato de amonio (0,710 g, 9,21 mmol) en isopropanol (30 ml) se calentó a reflujo en nitrógeno durante 5 h para proporcionar un sólido incoloro. El sólido se filtró y lavó con isopropanol caliente (30 ml). El residuo se secó al vacío para proporcionar el producto racémico deseado como un sólido incoloro (0,340 g).

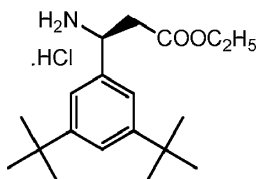
10

Etapa 2**Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil)propionato de etilo**

15

Se agregó etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (100 ml) a ácido 3-amino-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil)propiónico (2,558 g, 9,22 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h para proporcionar una solución incolora. El solvente se retiró al vacío para proporcionar un sólido gomoso incoloro. El sólido se colocó un par de veces en una suspensión con éter dietílico. Luego de que el solvente se retiró mediante decantación, el residuo se secó al vacío para proporcionar la sal de clorhidrato de β-amino éster racémica como un sólido incoloro (2,48 g).

20

Etapa 3**Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil)propionato de (S)-etilo**

30

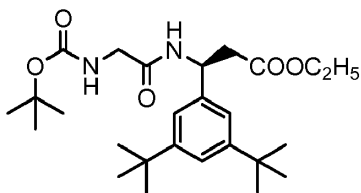
Resolución enzimática de la mezcla racémica:

Una suspensión de clorhidrato de 3-amino-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil)propionato de etilo (1,0 g, 2,92 mmol) en agua (5,0 ml) se alcalinizó con NaOH 2,5N (pH ~12) mediante adición por goteo para proporcionar un residuo oleoso color crema. El pH de la capa acuosa se ajustó hasta un pH de 8,32 mediante la adición de una solución de 50 mM de KH₂PO₄. Se agregó amano lipasa PS (1,20 g) a la mezcla de reacción anterior y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtró luego de 23 h y el sólido se lavó con acetona para proporcionar un sólido incoloro del (S)-ácido resuelto (376,5 mg).

35

Se agregó etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (50 ml) a ácido (S)-3-amino-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil)propiónico (0,916 g, 3,30 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h para proporcionar una solución incolora. El solvente se retiró al vacío para proporcionar un sólido gomoso incoloro. El sólido se colocó un par de veces en una suspensión con éter dietílico. Luego de retirar el solvente mediante decantación, el residuo se secó al vacío para proporcionar la sal de clorhidrato de (S)-β-amino éster racémica como un sólido incoloro (1,19 g).

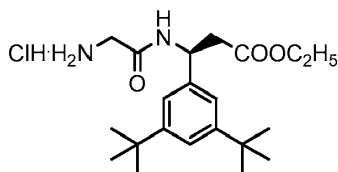
45

Etapa 4**Preparación de 3-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)acetamido)-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil) propanoato de (S)-etilo**

5

A una solución de la mezcla de clorhidrato de 3-amino-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil)propanoato de (S)-etilo (112,0 mg, 0,33 mmol) y Boc-Gly-Osu (95,0 mg, 0,35 mmol) en DMF anhidro se le agregó trietilamina (62 μ L, 0,45 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche para proporcionar una solución incolora. El solvente se evaporó al vacío y el residuo se separó entre acetato de etilo (25 ml), agua (25 ml) y solución saturada de NaHCO_3 (10 ml). La capa orgánica se retiró, se lavó con agua (1 x 10 ml), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso color crema (163,4 mg). El análisis de LC-MS del sólido mostró la masa del producto deseado: m/z 463 (M+H) y m/z 485 (M+Na); calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{42}\text{N}_2\text{O}_5$: 462,62. El producto anterior se utilizó tal como estaba para la desprotección con Boc (etapa n.º 5).

15

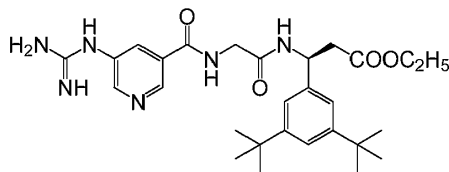
Etapa 5**Preparación de clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil)propanoato de (S)-etilo**

20

A una solución de 3-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)acetamido)-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil) propanoato de (S)-etilo (163,4 mg, 0,35 mmol) en 1,4-dioxano (2 ml) se le agregó una solución de HCl 4,0 M en 1,4-dioxano y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La evaporación del solvente al vacío y la cristalización del residuo de la mezcla de acetato de etilo/hexanos proporcionó un sólido espumoso incoloro (153,0 mg). El análisis de LC-MS del sólido mostró la masa del producto deseado: m/z 363 (M+H) y m/z 725 (2M+H); calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{O}_3$: 362,51.

25

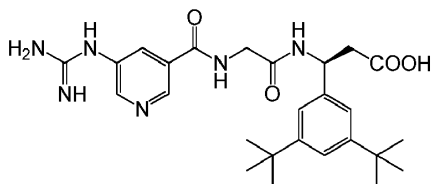
30

Etapa 6**Preparación de 3-(3,5-di-*tert*-butilfenil)-3-(2-(5-guanidinonicotinamido)acetamido)propanoato de (S)-etilo**

Una mezcla de ácido 5-guanidinonicotínico (Ejemplo F) (70,8 mg, 0,39 mmol), clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3,5-di-*tert*-butilfenil) propanoato de (S)-etilo (de la etapa 5) (153,0 mg, 0,38 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (12,2 mg, 0,08 mmol) se disolvió en DMF (3 ml) y diclorometano (3 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 5 min para proporcionar una suspensión color crema. A la suspensión anterior se le agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida pura (80 μ L, 0,52 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso color crema del producto intermedio: 3-(3,5-di-*tert*-butilfenil)-3-(2-(5-guanidinonicotinamido)acetamido)propanoato de (S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 525 (M+H) y m/z 547 (M+Na); calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{N}_6\text{O}_4$: 524,66. El producto bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación (etapa n.º 7).

45

Etapa 7

Preparación de ácido (S)-3-(3,5-di-*terc*-butilfenil)-3-(2-(5-guanidinonicotinamido)acetamido)propanoico

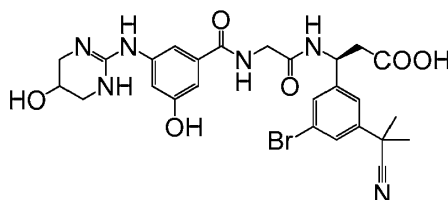
5

A una suspensión de 3-(3,5-di-*terc*-butilfenil)-3-(2-(5-guanidinonicotinamido) acetamido) propanoato de (S)-etilo (0,39 mmol) de la etapa n.º 6 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (83 mg, 1,98 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso-cristalino amarillo pálido. El residuo se disolvió en agua (20 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 25 ml) para retirar la *N,N'*-diisopropilurea, DIPU). La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml de TFA en 3 ml de CH₃CN) y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso color crema. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-80 % de CH₃CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 10), luego de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (122,3 mg). El análisis de LC-MS mostró la masa del producto deseado: m/z 497 (M+H) y m/z 993 (2M+H); calculado para C₂₆H₃₆N₆O₄: 496,60.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,27 (s, 18H, 2× (CH₃)₃C-), 2,68 (d, J = 7,60 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,93 (d, J = 7,40 Hz, 2H), 5,24 (q, J = 7,45 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 7,17 (d, J = 1,67 Hz, 2H), 7,26 (appt, J = 1,75 Hz, 1H), 7,69 (s, 4H), 8,07 (appt, J = 2,20 Hz, 1H), 8,53 (d, J = 8,64 Hz, 1H), 8,61 (d, J = 2,46 Hz, 1H), 8,93 (d, J = 1,80 Hz, 1H), 9,00 (t, J = 5,80 Hz, 1H), 9,96 (s, 1H), 12,26 (brs, 1H, -COOH). El espectro de la ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 11

Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

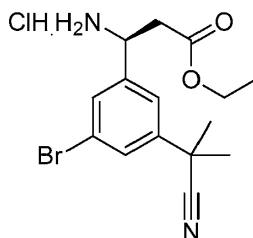


30

Etapa 1

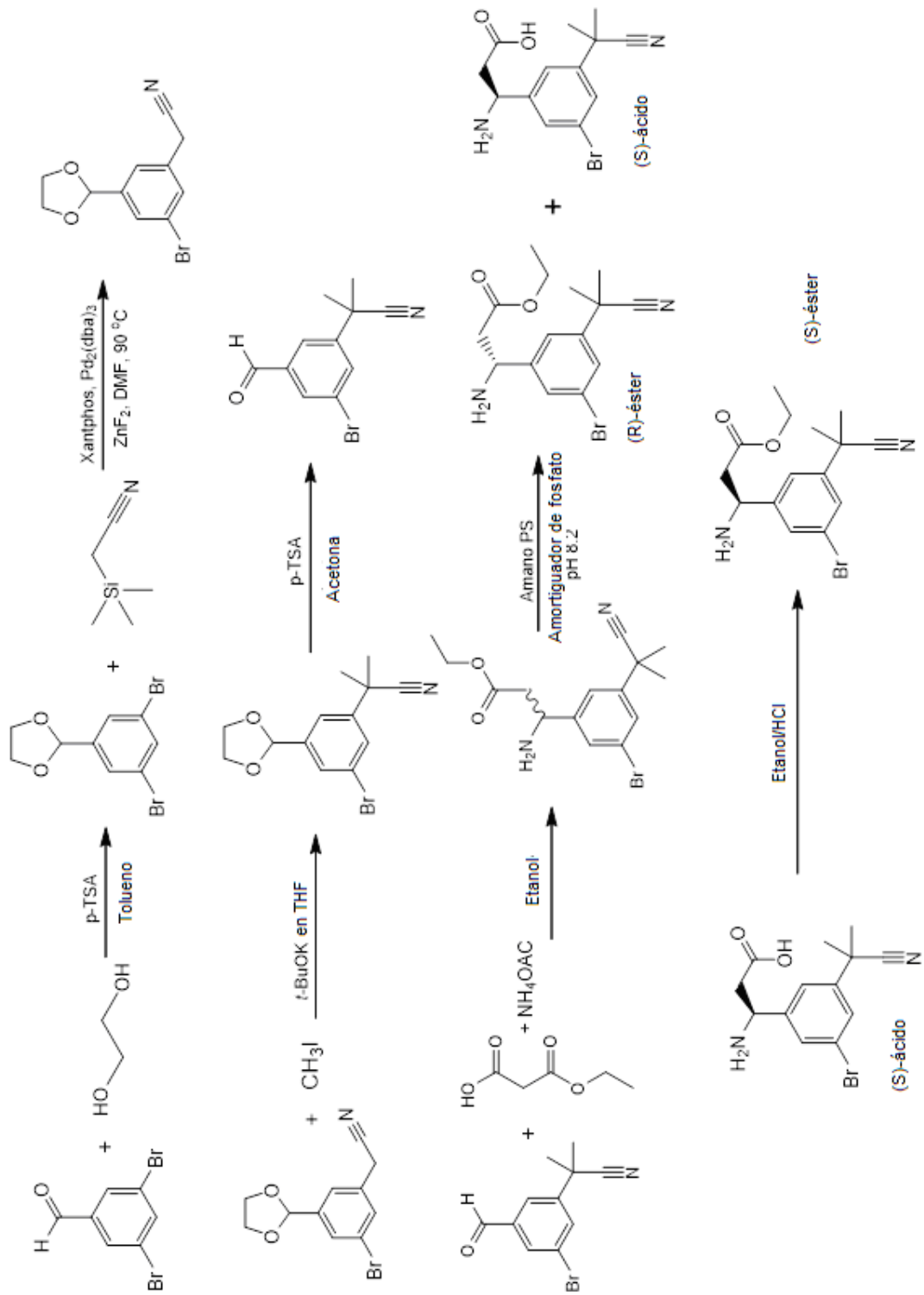
Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo

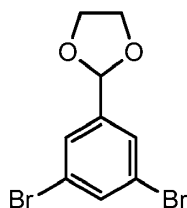
35



El siguiente esquema describe la síntesis de 3-amino-3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)propionato de (S)-etilo que se utilizó en la síntesis del Ejemplo 11:

40



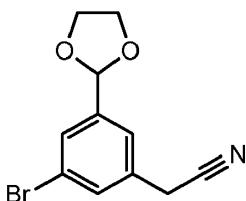
Etapa A:**Preparación de 2-(3,5-dibromofenil)-1,3-dioxolano**

5

Una mezcla de 3,5-dibromobenzaldehído (5,37 g, 20,37 mmol), etilenglicol (3,40 ml, 61,10 mmol) y monohidrato de ácido *p*-toluenosulfónico (78 mg, 0,41 mmol) en tolueno anhidro (30 ml) se calentó a reflujo en condiciones de Dean-Stark durante 5 h. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo (25 ml). La capa de acetato de etilo se lavó con una solución saturada de NaHCO₃ (25 ml). La capa orgánica se retiró, se lavó con agua (1 x 25 ml), se secó con MgSO₄, anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso incoloro (6,27 g). El análisis de GC-MS (Cl/metano) del líquido mostró la masa del producto deseado: m/z 306 (79Br,79BrM⁺), m/z 308 (79Br,81BrM⁺), y m/z 310 (81Br,81BrM⁺); calculado para C₉H₈Br₂O₂: 307,96. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3,97-4,10 (m, 4H, 2× -CH₂-O-), 5,74 (s, 1H, O-CH-O), 7,53 (d, J = 1,80 Hz, 2H), 7,63 (appt, J = 1,80 Hz, 1H). El espectro de la ¹H NMR del líquido fue coherente con la estructura sugerida del producto.

10

15

Etapa B**Preparación de 2-(3-bromo-5-(1,3-dioxolan-2-il)fenil)acetonitrilo**

20

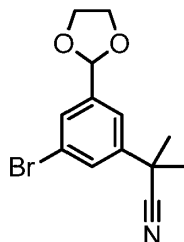
A un frasco con tapa rosca con 2-(3,5-dibromofenil)-1,3-dioxolano (4, g, 12,99 mmol), Xantphos (0,15 g, 0,26 mmol), Pd₂(dba)₃ en DMF anhidro (5,0 ml) se le agregó trimetilsilil acetonitrilo (2,20 ml, 16,07 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó con nitrógeno durante 15 min para proporcionar una suspensión roja-anaranjada. A la mezcla anterior se le agregó ZnF₂ en una atmósfera de nitrógeno y el frasco se cerró con una tapa que tenía un tapón de PTFE/silicona en nitrógeno. La mezcla heterogénea se calentó con agitación a 90 °C en un baño de aceite para proporcionar una suspensión verde aceituna. La mezcla de reacción se dejó agitar a 90 °C durante 22 h para proporcionar una solución/suspensión parda oscura. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se diluyó con éter dietílico (100 ml). La solución resultante se lavó con agua (2 x 75 ml). La capa orgánica se retiró y se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en acetato de etilo (50 ml), se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso rojo-anaranjado (3,65 g). La purificación del producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice en una columna de gel de sílice y la elución con 10-80 % de acetato de etilo en hexanos proporcionó el producto deseado como un líquido viscoso amarillo pálido (1,95 g). El análisis de LC-MS del líquido mostró la masa del producto deseado: m/z 268 (79BrM⁺+H), m/z 270 (81BrM⁺+H), m/z 290 (79BrM⁺+Na) y m/z 292 (81BrM⁺+Na); El análisis de GC-MS (modo EI) también mostró la masa del producto deseado: m/z 266 (79BrM⁺) y m/z 268 (81BrM⁺), calculado para C₁₁H₁₀BrNO₂: 268,11. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 3,72 (s, 2H, -CH₂CN), 3,98-4,05 (m, 2H, -CH₂-O-), 4,06 -4,13 (m, 2H, -CH₂-O-), 5,75 (s, 1H, O-CH-O), 7,36 (s, 1H), 7,47 (s, 1H), 7,58 (s, 1H). El espectro de la ¹H NMR del líquido fue coherente con la estructura sugerida del producto.

25

30

35

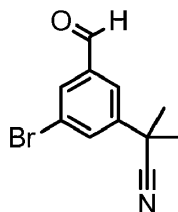
40

Etapas C**Preparación de 2-(3-bromo-5-(1,3-dioxolan-2-il)fenil)-2-metilpropanonitrilo**

5

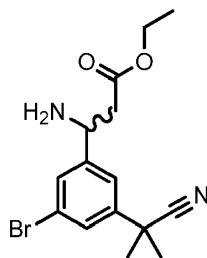
A una solución 1,0 M de *terc*-butóxido de potasio en THF (18 ml, 18 mmol) a $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$ se le agregó una solución de una mezcla de 2-(3-bromo-5-(1,3-dioxolan-2-il)fenil)acetronitrilo (1,92 g, 7,16 mmol) y yodometano (1,40 ml, 22,49 mmol) en THF (10 ml) en una atmósfera de nitrógeno durante un periodo de 50-60 min. El baño de enfriamiento se retiró luego de 1 h y la mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante 2 h para proporcionar una suspensión beige clara. La mezcla de reacción se inactivó con agua (50 ml) para proporcionar una solución parda-anaranjada. Se retiró el THF (~25 ml) al vacío y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 25 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (1 x 50 ml), salmuera (1 x 25 ml) y se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso pardo anaranjado (1,9836 g). El análisis de LC-MS del líquido mostró la masa del producto deseado: m/z 296 (79BrM+H), m/z 298 (81BrM+H); m/z 318 (79BrM+Na) y m/z 320 (81BrM+Na); calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{14}\text{BrNO}_2$: 296,16. El producto bruto se utilizó tal como estaba para la siguiente etapa.

20

Etapas D**Preparación de 2-(3-bromo-5-formilfenil)-2-metilpropanonitrilo**

A una solución de 2-(3-bromo-5-(1,3-dioxolan-2-il)fenil)-2-metilpropanonitrilo (1,9836 g, 6,70 mmol) en acetona (25 ml) se le agregó hidrato de ácido *p*-toluenosulfónico (0,26 g, 1,36 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar una solución roja-anaranjada. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo pardo-anaranjado. El residuo se separó entre una solución acuosa saturada de NaHCO_3 (25 ml) y acetato de etilo (50 ml), la capa orgánica se retiró, se lavó con salmuera (1 x 25 ml), se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso anaranjado (2,08 g). La purificación del producto bruto mediante cromatografía ultrarrápida en gel de sílice en una columna de gel de sílice y la elución con 5-40 % de acetato de etilo en *n*-hexanos proporcionó el producto deseado como un sólido cristalino amarillo pálido (0,89 g). El análisis de LC-MS del sólido mostró la masa del producto deseado: m/z 252 (79BrM+H), m/z 254 (81BrM+H); calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{10}\text{BrNO}$: 252,11.

35

Etapas E**Preparación de 3-amino-3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)propanoato de etilo racémico**

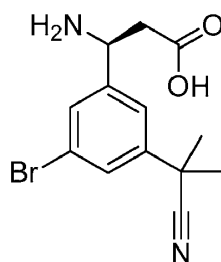
40

Una solución de 2-(3-bromo-5-formilfenil)-2-metilpropanonitrilo (0,884 g, 3,51 mmol), malonato de monoetilo (1,107 g, 8,38 mmol) y acetato de amonio (1,49 g, 19,33 mmol) en etanol anhidro (50 ml) se calentó a reflujo durante 8 h para

proporcionar una solución amarilla pálida. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo. El residuo se separó entre una solución acuosa saturada de NaHCO₃ (25 ml) y acetato de etilo (50 ml), la capa orgánica se retiró, se secó en sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo del aminoéster (1,18 g). El análisis de LC-MS del producto bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 339 (79BrM+H), m/z 341 (81BrM+H); m/z 361 (79BrM+Na) y m/z 363 (81BrM+Na); calculado para C₁₅H₁₉BrN₂O₂: 339,23. La LC-MS también mostró el subproducto: masa del 3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)acrilato de (E)-etilo: m/z 322 (79BrM+H) y m/z 324 (81BrM+H); calculado para C₁₅H₁₆BrNO₂: 322,20. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-50 % de CH₃CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado como un sólido vítreo incoloro. El sólido se disolvió en etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 h y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso/cristalino incoloro (0,4212 g) (sal de HCl).

Etapa F

Preparación de ácido (S)-3-amino-3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)propanoico

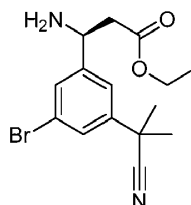


Resolución enzimática de la mezcla racémica:

Una suspensión del producto de la etapa anterior E (421,2 mg, 1,12 mmol) en una solución de 50 mM de KH₂PO₄ (40,0 ml) se agitó a temperatura ambiente y el pH de la capa acuosa se ajustó hasta un pH de 8,20 mediante la adición de una solución de NaOH 1,0 N. Se agregó amano lipasa PS (523 mg, en exceso) a la suspensión anterior y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se obtuvo una solución ligeramente turbida luego de 3 días de agitación. No se obtuvo ningún sólido o precipitado, el (S)-ácido deseado podría ser soluble en el sistema acuoso precedente. La mezcla anterior se diluyó con MTBE (2 x 25 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 min para extraer el (R)-éster. La evaporación de la capa acuosa al vacío proporcionó un sólido color crema con el (S)-ácido, así como sal del amortiguador de fosfato y amano lipasa. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del (S)-ácido deseado: m/z 311 (79BrM+H), m/z 313 (81BrM+H), m/z 333 (79BrM+Na) y m/z 335 (81BrM+Na); calculado para C₁₅H₁₉BrN₂O₂: 311,17. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-40 % de CH₃CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado como un sólido espumoso incoloro (0,253 g) (sal de TFA).

Etapa G

Preparación de 3-amino-3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo

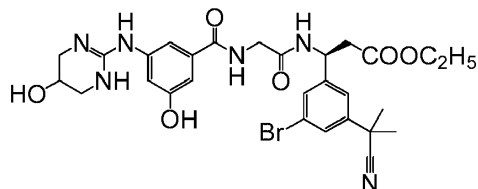


El producto de la etapa F se disolvió en etanol absoluto saturado con gas de HCl seco (5 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 2 h para proporcionar una solución incolora. La evaporación del solvente al vacío proporcionó un líquido viscoso/vítreo incoloro. El residuo se trituró con éter dietílico (10 ml) y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso incoloro (221 mg). (Sal de HCl). El análisis de LC-MS del sólido mostró la masa del producto deseado: m/z 339 (79BrM+H), m/z 341 (81BrM+H); m/z 361 (79BrM+Na) y m/z 363 (81BrM+Na); calculado para C₁₅H₁₉BrN₂O₂: 339,23.

Etapa 2

Preparación de 3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo

5

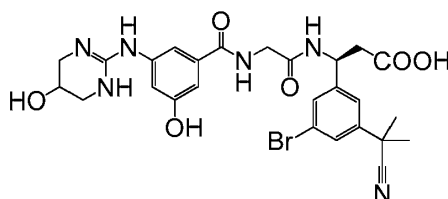


Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (120,8 mg, 0,39 mmol), clorhidrato de 3-amino-3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (de la etapa n.º 1, etapa G) (145 mg, 0,039 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (13 mg, 0,85 mmol) se disolvió en DMF (3,0 ml) y diclorometano (3,0 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión incolora. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (80 μ L, 0,52 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo color crema del producto intermedio: 3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 629 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$) y m/z 631 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$); calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{BrN}_6\text{O}_6$: 629,50. El residuo bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación (etapa n.º 3).

Etapa 3

Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

25



A una suspensión del 3-(3-bromo-5-(2-cianopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (~0,39 mmol) (de la etapa n.º 2) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (84 mg, 2,0 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en agua (25 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 25 ml) para retirar la urea. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un residuo incoloro. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-50 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 11), luego de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (184,0 mg). El análisis LC/MS del producto mostró la masa del producto deseado: m/z 601 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$), m/z 603 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$); m/z 623 ($^{79}\text{BrM}+\text{Na}$) y m/z 625 ($^{81}\text{BrM}+\text{Na}$); calculado para $\text{C}_{26}\text{H}_{29}\text{BrN}_6\text{O}_6$: 601,45.

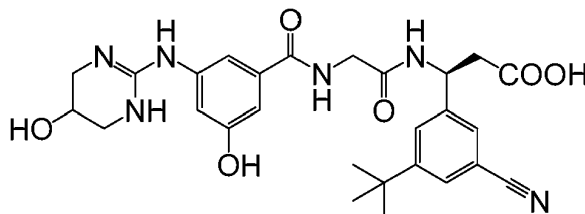
^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,70 (s, 6H, $(\text{CH}_3)_2\text{C}-$), 2,74 (d, $J = 7,20$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 3,17 t(brd, 2H), 3,35 (brdt, 2H), 3,88 (d, $J = 5,70$ Hz, 2H), 4,09 (appt, 1H), 5,21 (q, $J = 7,46$ Hz, 1H, $-\text{NH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 5,44 (brs, 1H), 6,75 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,15 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,54 (s, 1H), 7,58 (s, 1H), 8,09 (brs, 2H), 8,58 (d, $J = 8,10$ Hz, 1H), 8,65 (brt, $J = 5,80$ Hz, 1H), 9,58 (s, 1H), 10,01 (brs, 1H), 12,43 (brs, 1H, $-\text{COOH}$). El espectro de la ^1H NMR del sólido fue coherente con la estructura sugerida del producto.

40

Ejemplo 12

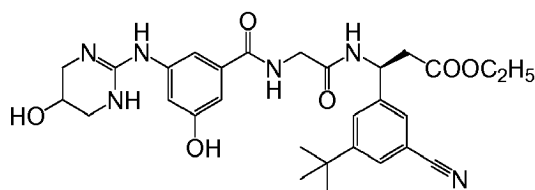
Preparación de ácido (3S)-3-(3-(*tert*-butil)-5-cianofenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

5

**Etapla 1**

Preparación de 3-(3-(*tert*-butil)-5-cianofenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo

10



15

Una mezcla de ácido 3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)aminobenzoico (Ejemplo A) (152,6 mg, 0,61 mmol), clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-(*tert*-butil)-5-cianofenil)propanoato de (S)-etilo (Ejemplo I) (223,5 mg, 0,61 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (19,6 mg, 0,128 mmol) se disolvió en DMF (4 ml) y diclorometano (4 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión incolora. Se agregó *N,N*-diisopropilcarbodiimida (125 μ L, 0,81 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo del producto intermedio: 3-(3-(*tert*-butil)-5-cianofenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 565 (M+H); calculado para $C_{29}H_{36}N_6O_6$: 564,63. El residuo bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación (etapa n.º 2).

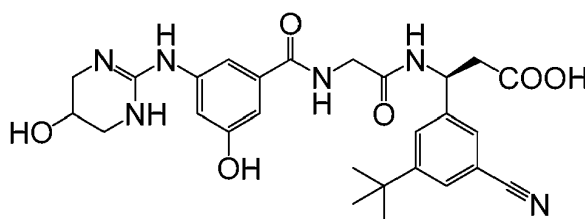
20

25

Etapla 2

Preparación de ácido (3S)-3-(3-(*tert*-butil)-5-cianofenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

30



A una suspensión del 3-(3-(*tert*-butil)-5-cianofenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (~0,61 mmol) de la etapa n.º 1 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (130 mg, 3,1 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El solvente se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en agua (10 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 25 ml) para retirar la urea. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un residuo incoloro. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-60 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 12), luego de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (258,5 mg). El análisis LC/MS del producto mostró la masa del producto deseado: m/z 537 (M+H), calculado para $C_{27}H_{32}N_6O_6$: 536,58 masa del producto: m/z 537 (M+H), calculado para $C_{27}H_{32}N_6O_6$: 536,58.

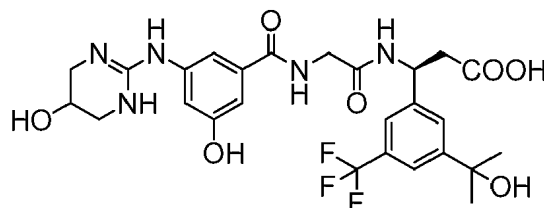
40

45

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,29 (s, 9H, (CH₃)₃C-), 2,74 (d, J = 7,30 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,16 (brd, J = 12,20 Hz, 2H), 3,33 (brd, J = 11,70 Hz, 2H), 3,88 (d, J = 5,80 Hz, 2H), 4,09 (appt/m, 1H), 5,23 (q, J = 7,43 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,75 (brt/m, 1H), 7,11 (appt, 1H), 7,14 (appt, 1H), 7,60 (brs, 1H), 7,72 (brs, 2H), 8,08 (s, 2H), 8,56 (d, J = 8,20 Hz, 1H), 8,64 (t, J = 5,80 Hz, 1H), 9,55 (s, 1H), 10,00 (brs, 1H), 12,38 (brs, 1H, -COOH). El espectro de la ¹H NMR del producto fue coherente con la estructura sugerida del producto.

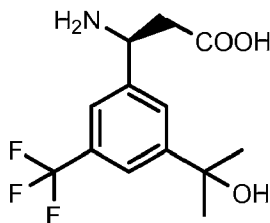
Ejemplo 13

Preparación de ácido (3S)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)-3-(3-(2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoico



Etapa 1

Preparación de ácido (S)-3-amino-3-(3-(2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoico

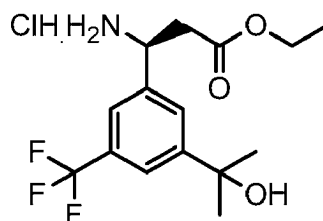


Resolución enzimática del Ejemplo J:

Una suspensión de clorhidrato de 3-amino-3-(3-(2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de etilo racémico (Ejemplo J) (540,4 mg, 1,52 mmol) en agua (2,0 ml) se alcalinizó con solución de NaOH 2,5 N (pH 12) mediante adición por goteo para proporcionar un residuo oleoso rosa sucio. El pH de la fase acuosa se ajustó hasta un pH de 8,20 mediante la adición de una solución de 50 mom de KH₂PO₄ (40,0 ml). Se agregó amano lipasa PS (607,6 mg) a la suspensión precedente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 63 h para proporcionar una suspensión rosa pálida. La mezcla de reacción se diluyó con éter t-butil metílico (MTBE) (50 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Luego de 30 min, la capa orgánica que contenía el (R)-éster se separó. La evaporación de la capa acuosa al vacío proporcionó un sólido gomoso color crema con el (S)-ácido, así como sal del amortiguador de fosfato y amano lipasa. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del (S)-ácido deseado: m/z 292 (M+H), m/z 314 (M+Na) y m/z 274 (M+H-H₂O); calculado para C₁₃H₁₆F₃NO₃: 291,27. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-40 % de CH₃CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado, luego de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (324 mg) (sal de TFA).

Etapa 2

Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-trifluorometil-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propionato de (S)-etilo

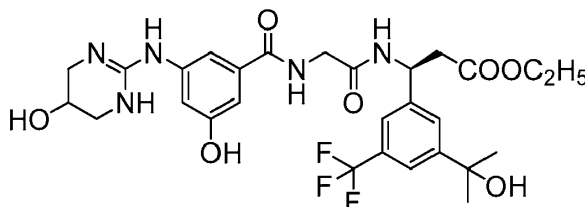


El producto de la etapa n.º 1 (324 mg) se disolvió en etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso incoloro del producto: clorhidrato de 3-amino-3-(3-trifluorometil-5-(2-hidroxiopropan-2-

il)fenil)propionato de (S)-etilo (289 mg). El análisis de LC-MS del sólido mostró la masa del (S)-éster deseado: m/z 320 (M+H) y m/z 342 (M+Na); calculado para C₁₅H₂₀F₃NO₃: 319,22. El sólido se utilizó tal como estaba para la reacción de acoplamiento (etapa n.º 3).

5 Etapa 3

Preparación de 3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino) benzamido)acetamido)-3-(3-(2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de (3S)-etilo



10

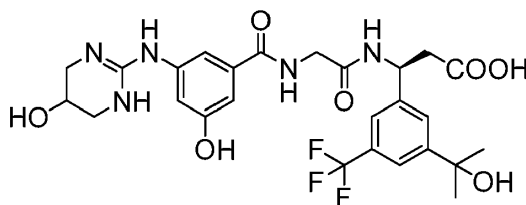
15

20

Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (251 mg, 0,81 mmol), clorhidrato de 3-amino-3-(3-trifluorometil-5-(2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propionato de (S)-etilo (de la etapa n.º 2) (289 mg, 0,81 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (25 mg, 0,16 mmol) se disolvió en DMF (3 ml) y diclorometano (3 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión color crema. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (166 µL, 1,08 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso color crema del producto intermedio: 3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino) benzamido)acetamido)-3-(3-(2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de (3S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 610 (M+H) y m/z 632 (M+Na); calculado para C₂₈H₃₄F₃N₅O₇: 609,59. El residuo bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación (etapa n.º 4).

25 Etapa 4

Preparación de ácido (3S)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino) benzamido)acetamido)-3-(3-(2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoico



30

35

40

A una suspensión de 3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino) benzamido) acetamido)-3-(3-(2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de (3S)-etilo (0,70 mmol) de la etapa n.º 3 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (170 mg, 4,05 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso amarillo pálido. El residuo se disolvió en agua (20 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 25 ml) para retirar la *N,N'*-diisopropilurea. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml de TFA en 3 ml de CH₃CN) y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso color crema. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-50 % de CH₃CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 13), luego de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (147 mg). El análisis de LC-MS del sólido mostró la masa del producto deseado: m/z 582 (M+H); calculado para C₂₆H₃₀F₃N₅O₇: 581,54.

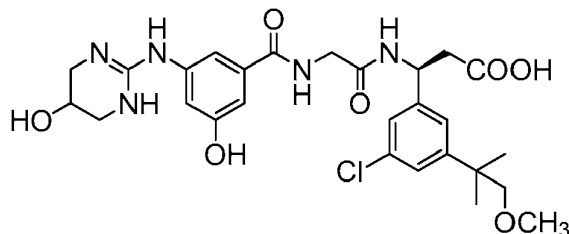
45

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,44 (s, 6H, (CH₃)₂C-OH), 2,75 (d, J = 7,70 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,16 (dt, J = 12,10 y 3,40 Hz, 2H), 3,33 (dd, J = 12,10 y 2,50 Hz, 2H), 3,87 (d, J = 9,60 Hz, 2H), 4,08 (appt, 1H), 5,27 (q, J = 7,50 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,74 (t, J = 2,0 Hz, 1H), 7,12 (dt, J = 12,0 and 1,5 Hz, 2H), 7,52 (s, 1H), 7,69 (brd, J = 8,70 Hz, 2H), 8,10 (brs, 2H), 8,60 (d, J = 8,20 Hz, 1H), 8,63 (brt, J = 8,14 Hz, 1H), 9,62 (s, 1H), 10,03 (brs, 1H), 12,37 (brs, 1H, -COOH). El espectro de la ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

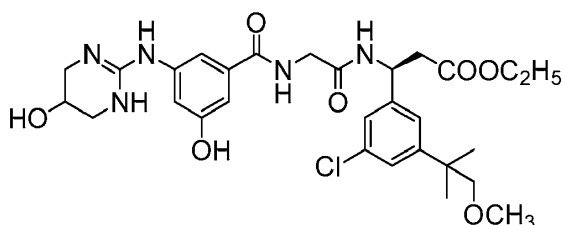
Ejemplo 14

Preparación de ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1-metoxi-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

5

**Etapas 1**

10 **Preparación de 3-(3-cloro-5-(1-metoxi-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo**



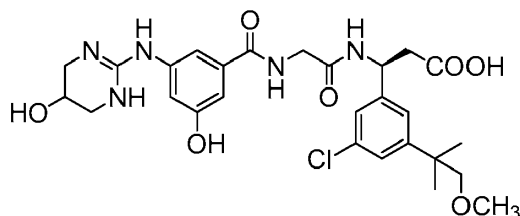
15 Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (343,5 mg, 1,11 mmol), clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1-metoxi-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (Ejemplo K) (385,2 mg, 1,11 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (35 mg, 0,23 mmol) se disolvió en DMF (3 ml) y diclorometano (3 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión color crema. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida pura (180 μ L, 1,16 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso color crema sucio del producto intermedio: 3-(3-cloro-5-(1-metoxi-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 604 ($^{35}\text{Cl}M+H$), m/z 606 ($^{37}\text{Cl}M+H$); m/z 626 ($^{35}\text{Cl}M+Na$) y m/z 628 ($^{37}\text{Cl}M+Na$); calculado para $C_{29}H_{38}ClN_5O_7$: 604,09. El residuo bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación (etapa n.º 2).

20

25

Etapas 2

30 **Preparación de ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1-metoxi-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico**



35 A una suspensión de 3-(3-cloro-5-(1-metoxi-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (1,11 mmol) de la etapa n.º 1 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (8 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (234 mg, 5,58 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 h. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso cristalino amarillo pálido. El residuo se disolvió en agua (20 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 25 ml) para retirar la *N,N'*-diisopropilurea. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml de TFA en 3 ml de CH_3CN) y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo pálido. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-60% de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 14), luego de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (352,0 mg). El análisis de LC-MS del sólido mostró la masa del producto deseado: m/z 576 ($^{35}\text{Cl}M+H$), m/z 578 ($^{37}\text{Cl}M+H$); m/z 598 ($^{35}\text{Cl}M+Na$) y m/z 600 ($^{37}\text{Cl}M+H$); calculado para $C_{27}H_{34}ClN_5O_7$: 576,04.

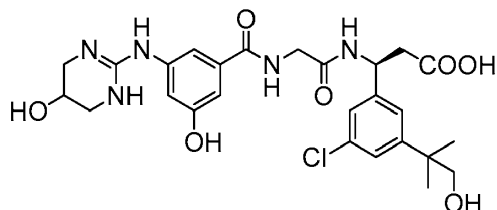
40

45

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,22 (s, 6H, -(CH₃)₂-CH₂-OCH₃), 2,70 (d, J = 7,20 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,14 (appt, J = 3,90 Hz, 1H), 3,17 (appt, J = 3,50 Hz, 1H), 3,21 (s, 3H, -OCH₃), 3,34 (brd, 2H), 3,87 (d, J = 5,80 Hz, 2H), 4,08 (appt, J = 3,0 Hz, 1H), 5,19 (q, J = 7,50 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,74 (t, J = 2,06 Hz, 1H), 7,11 (appt, J = 1,80 Hz, 1H), 7,14 (appt, J = 1,80 Hz, 1H), 7,21 (appt, J = 1,50 Hz, 1H), 7,24 (appt, J = 1,80 Hz, 1H), 7,29 (appt, J = 1,40 Hz, 1H), 8,09 (s, 2H), 8,51 (d, J = 8,38 Hz, 1H), 8,61 (t, J = 5,80 Hz, 1H), 9,58 (s, 1H), 10,00 (brs, 1H), 12,33 (brs, 1H, -COOH). El espectro de la ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 15

Preparación de ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1-hidroxi-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

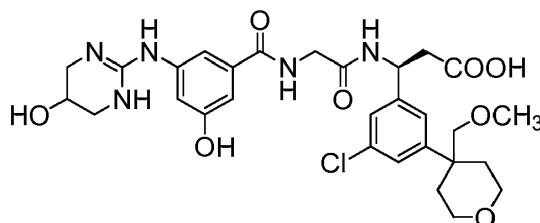


A una solución de sal de TFA de ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1-metoxi-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidina-2-il)amino)benzamido)propanoico (Ejemplo 14) (138,4 mg, 0,20 mmol) en diclorometano anhidro 2,0 ml) se le agregó una solución de 15-corona-5 (267,0 mg, 1,212 mmol) saturada con yoduro de sodio en diclorometano (7,0 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se enfrió hasta -30 °C (hielo seco/CH₃CN) y se agregó una solución de BBr₃ 1,0 M en diclorometano (650 μL, 0,65 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a -30 °C durante 2 h para proporcionar una suspensión anaranjada. Luego de 2 h, la mezcla de reacción se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar una suspensión de color crema-anaranjado. La suspensión se filtró, se lavó con diclorometano (2 x 10 ml) y se secó al vacío para proporcionar un residuo color cremoso-amarillo. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-60 % de CH₃CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 15), luego de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (126,4 mg). El análisis de LC-MS del producto mostró la masa del producto deseado: m/z 562 (35CIM+H), m/z 564 (37CIM+H), m/z 584 (35CIM+Na) y m/z 586 (37CIM+Na); calculado para C₂₆H₃₂ClN₅O₇: 562,01.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ 1,20 (s, 6H, -(CH₃)₂-CH₂-OH), 2,70 (d, J = 7,30 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,16 (appdt, J = 12,15 Hz y J = 3,50 Hz, 2H), 3,33 (brd, J = 12,25 Hz, 2H), 3,87 (d, J = 6,00 Hz, 2H), 4,08 (appt, J = 3,10 Hz, 1H), 5,19 (q, J = 7,64 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 5,42 (brs, 1H), 6,74 (t, J = 2,06 Hz, 1H), 7,11 (appt, J = 1,60 Hz, 1H), 7,13 (appt, J = 1,80 Hz, 1H), 7,20 (appt, J = 1,54 Hz, 1H), 7,25 (appt, J = 1,80 Hz, 1H), 7,28 (appt, J = 1,40 Hz, 1H), 8,10 (s, 2H), 8,51 (d, J = 8,45 Hz, 1H), 8,61 (t, J = 5,90 Hz, 1H), 9,60 (s, 1H), 10,00 (brs, 1H), 12,31 (brs, 1H, -COOH). El espectro de la ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 16

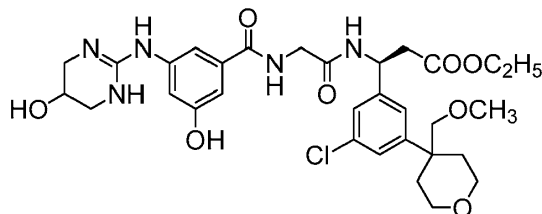
Preparación de ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(4-(metoximetil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



Etapa 1

Preparación de 3-(3-cloro-5-(4-(metoximetil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo

5

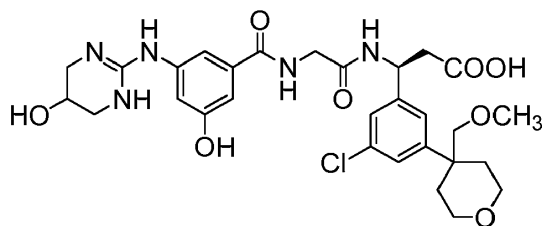


Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (277,0 mg, 0,90 mmol), clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(4-metoximetil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (Ejemplo L) (342,1 mg, 0,87 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (28 mg, 0,18 mmol) se disolvió en DMF (3 ml) y diclorometano (3 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión color crema. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (180 μ L, 1,16 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso color crema-anaranjado del producto intermedio: 3-(3-cloro-5-(4-(metoximetil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto mostró la masa del producto deseado: m/z 646 (^{35}Cl M+H) y m/z 648 (^{37}Cl M+H); calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{40}\text{ClN}_5\text{O}_8$: 646,13. El residuo bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación (etapa n.º 2).

Etapa 2

Preparación de ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(4-(metoximetil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

25



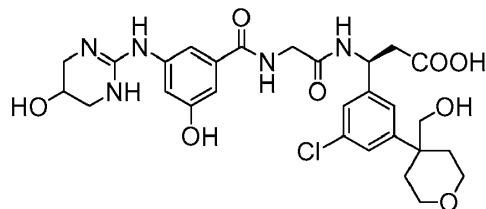
A una suspensión de 3-(3-cloro-5-(4-(metoximetil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (0,87 mmol) de la etapa n.º 1 en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (8 ml) se le agregó monohidrato de hidróxido de litio (184 mg, 4,38 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso-cristalino amarillo sucio. El residuo se disolvió en agua (20 ml) y se extrajo con diclorometano (2 x 25 ml) para retirar la *N,N'*-diisopropilurea. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml de TFA en 3 ml de CH_3CN) y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo-anaranjado. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-60 % de CH_3CN en agua con TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 16), luego de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (343,3 mg). El análisis de LC-MS del sólido mostró la masa del producto deseado: m/z 618 (^{35}Cl M+H) y m/z 620 (^{37}Cl M+H); calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{36}\text{ClN}_5\text{O}_8$: 618,08.

^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,80-1,90 (m, 2H, $-\text{CH}_2-(\text{C}=\text{O})-\text{CH}_2-$), 1,94-2,04 (m, 2H, $-\text{CH}_2-(\text{C}=\text{O})-\text{CH}_2-$), 2,71 (d, $J = 7,20$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 3,12 (s, 3H, $-\text{OCH}_3$), 3,13-3,20 (dt/m, 2H), 3,28-3,42 (dt/m, 4H), 3,62-3,72 (dt/m, 2H), 3,87 (d, $J = 6,00$ Hz, 2H), 4,08 (appt, $J = 3,16$ Hz, 1H), 5,21 (q, $J = 7,50$ Hz, 1H, $-\text{NH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 5,45 (brs, 1H), 6,75 (appt, $J = 2,05$ Hz, 1H), 7,11 (appt, $J = 1,64$ Hz, 1H), 7,14 (appt, $J = 1,80$ Hz, 1H), 7,25 (d, $J = 1,40$ Hz, 2H), 7,29 (appt, 1H), 8,14 (s, 2H), 8,52 (d, $J = 8,30$ Hz, 1H), 8,64 (appt, $J = 5,90$ Hz, 1H), 9,67 (s, 1H), 10,03 (brs, 1H), 12,34 (brs, 1H, $-\text{COOH}$). El espectro de la ^1H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

45

Ejemplo 17

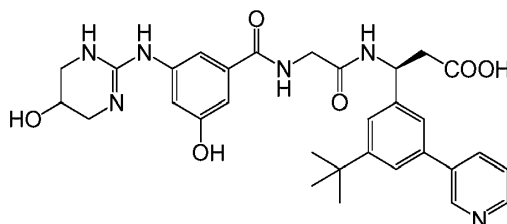
Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(4-(hidroximetil)tetrahydro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



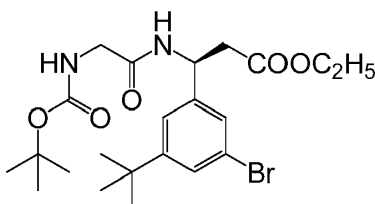
A una solución del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(4-(metoximetil)tetrahydro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico, sal de TFA (Ejemplo 16) (85,5 mg, 0,117 mmol) en diclorometano anhidro (2,0 ml) se agregó una solución de 15-corona-5 (155,0 mg, 0,702 mmol) saturado con yoduro de sodio en diclorometano (6,0 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se enfrió hasta -30 °C (hielo seco/CH₃CN) y se agregó una solución de BBr₃ 1,0 M en diclorometano (350 μL, 0,35 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a -30 °C durante 2 h para proporcionar una suspensión anaranjada. Después de 2 horas, la mezcla de reacción se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche para proporcionar una suspensión de color anaranjado crema. La suspensión se filtró, se lavó con diclorometano (2 × 10 ml) y se secó al vacío para proporcionar un sólido amarillo crema. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-50% de CH₃CN en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 17), después de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (64,5 mg). El análisis de LC/MS del producto muestra la masa deseada del producto: m/z 604 (35CIM+H), m/z 606 (37CIM+H), m/z 626 (35CIM+Na) y m/z 628 (37CIM+Na), Calculado para C₂₈H₃₄ClN₅O₈:604,05.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,75-1,90 (m, 2H, -CH₂-(C=)-CH₂-), 1,90-2,00 (m, 2H, -CH₂-(C=)-CH₂-), 2,70 (d, J = 7,30 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,12-3,20 (dt/m, 4H), 3,25-3,37 (dt/m, 2H), 3,62-3,72 (dt/m, 2H), 3,86 (d, J = 5,80 Hz, 2H), 4,08 (appt, J = 3,30 Hz, 1H), 5,21 (q, J = 7,50 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 5,46 (brs, 1H), 6,75 (appt, J = 1,80 Hz, 1H), 7,11 (appt, J = 1,50 Hz, 1H), 7,14 (appt, J = 1,75 Hz, 1H), 7,23 (s, 2H), 7,26 (s, 1H), 8,10 (brs, 2H), 8,51 (d, J = 8,50 Hz, 1H), 8,62 (appt, J = 5,80 Hz, 1H), 9,59 (s, 1H), 10,00 (brs, 1H), 12,32 (brs, 1H, -COOH). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

Ejemplo 18

Preparación del ácido (3S)-3-(3-(*terc*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

Etapa 1

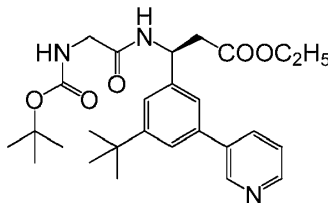
Preparación de 3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino) acetamido)propanoato de (S)-etilo

A una solución de clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)propanoato de (S)-etilo (Ejemplo H) (1,50 g, 3,56 mmol) en diclorometano anhidro (20 ml) se agregó trietilamina (1,0 ml, 7,18 mmol) a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. Después de agitar la mezcla de reacción durante 5 min, se agregó dicarbonato de di-*terc*-butilo y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente

se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso/espumoso incoloro del intermedio: 3-(3-bromo-5-(*tert*-butil)fenil)-3-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)acetamido)propanoato de (S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo muestra la masa deseada del producto: m/z 507 ($^{79}\text{BrM}+\text{Na}$), m/z 509 ($^{81}\text{BrM}+\text{Na}$), m/z 429 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}-t\text{-Bu-}$), m/z 431 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}-t\text{-Bu-}$), m/z 385 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}-t\text{-Boc-}$) y m/z 387 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}-t\text{-Boc-}$); Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{BrN}_2\text{O}_5$: 485,41. Varios intentos de cristalizar el intermedio con acetato de etilo/hexano o heptano proporcionaron un sólido gomoso incoloro (1,769 g). El sólido gomoso se utilizó tal cual para los acoplamientos Suzuki (etapa n.º 2).

Etapa 2

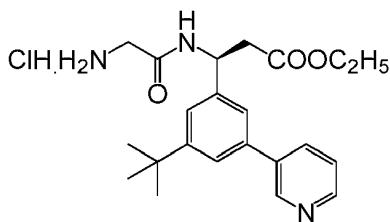
10 **Preparación de 3-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)acetamido)-3-(3-(*tert*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)propanoato de (S)-etilo**



15 A una mezcla agitada de 3-(3-bromo-5-(*tert*-butil)fenil)-3-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)acetamido)propanoato de (S)-etilo (de la etapa n.º 1) (268 mg, 0,55 mmol), ácido piridina-3-borónico (137 mg, 1,12 mmol) y $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (65 mg, 0,056 mmol) en DMF anhidro (2,5 ml), se agregó una solución desgasificada de Cs_2CO_3 (360 mg, 1,11 mmol) en agua (1,5 ml) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se calentó a 80 °C en una atmósfera de nitrógeno durante 2 horas para proporcionar una suspensión gris. La mezcla de reacción se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en agua (25 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 × 25 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso casi incoloro del producto intermedio: 3-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)acetamido)-3-(3-(*tert*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (276 mg). El análisis de LC-MS del residuo muestra la masa deseada del producto: m/z 484 (M+H), m/z 506 (M+Na), m/z 989 (2M+Na); Calculado para $\text{C}_{27}\text{H}_{37}\text{N}_3\text{O}_5$: 483,60. El residuo bruto se utilizó tal cual para la saponificación (etapa n.º 3).

Etapa 3

30 **Preparación de clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-(*tert*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)propanoato de (S)-etilo**



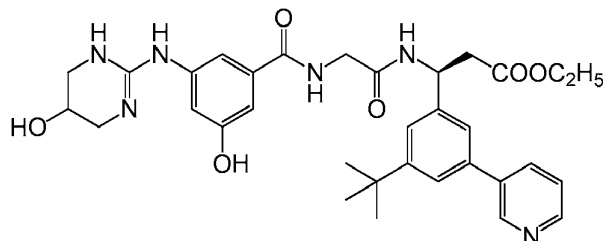
35 A una solución de 3-(2-((*tert*-butoxicarbonil)amino)acetamido)-3-(3-(*tert*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (de la etapa n.º 2) (272 mg, 0,56 mmol) en diclorometano (2,0 ml) se agregó una solución de TFA al 20 % en diclorometano (5,0 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso amarillo pálido. El análisis de LC-MS del sólido muestra la masa deseada del producto: m/z 384 (M+H), m/z 767 (2M+H) y m/z 789 (2M+Na); Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_3$: 383,48. El residuo se trituró con heptano (3 × 10 ml) y las capas de heptano se decantaron para retirar el PPh_3O . El residuo después de las extracciones de heptano se disolvió en etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (10,0 ml), se calentó a reflujo durante 30 min y después de enfriarlo hasta temperatura ambiente, el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un sólido color crema sucio del producto: Clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-(*tert*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (244,2 mg). El sólido se utilizó tal cual para la reacción de acoplamiento (etapa n.º 4).

45

Etapa 4

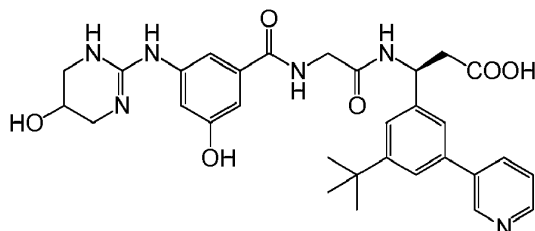
Preparación de 3-(3-(*tert*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo

5



Se disolvió una mezcla del ácido 3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)aminobenzoico (Ejemplo A) (186 mg, 0,74 mmol), clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-(*tert*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (de la etapa n.º 3) (311 mg, 0,74 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (23 mg, 0,15 mmol) en DMF (3 ml) y diclorometano (3 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión incolora. Se agregó *N,N*-diisopropilcarbodiimida (125 μ L, 0,81 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso amarillo crema del producto intermedio: 3-(3-(*tert*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto muestra la masa deseada del producto: m/z 617 (M+H) y m/z 309 (M/2+H); Calculado para $C_{33}H_{40}N_6O_6$: 616,71. El residuo bruto se utilizó tal cual para la saponificación con hidróxido de litio (etapa n.º 5).

20 Etapa 5

Preparación del ácido (3S)-3-(3-(*tert*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

25

A una suspensión de 3-(3-(*tert*-butil)-5-(piridin-3-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa n.º 4) (74 mmol) en una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml), se agregó hidróxido de litio monohidrato (156 mg, 3,72 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en agua (19 ml) y se extrajo con diclorometano (2×25 ml) para retirar la urea. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo anaranjado pálido. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-60 % de CH_3CN en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 18), después de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (198,7 mg). El análisis de LC/MS del producto muestra la masa deseada del producto: m/z 589 (M+H) y m/z 295 (M/2+H); Calculado para $C_{31}H_{36}N_6O_6$: 588,65.

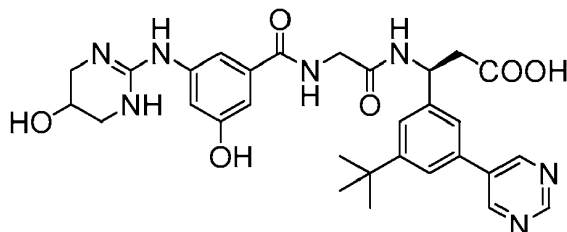
1H NMR (400 MHz, $DMSO-d_6$): δ 1,34 (s, 9H, $(CH_3)_3C-$), 2,77 (d, $J = 7,00$ Hz, 2H, $-CH_2-COOH$), 3,15, 50 (dt, $J = 12,50$ Hz y 3,50 Hz, 2H), 3,33 (d, $J = 12,20$ Hz, 2H), 4,08 (t, $J = 3,50$ Hz, 1H), 5,31 (q, $J = 7,60$ Hz, 1H, $-NH-CH-CH_2-COOH$), 6,75 (t, $J = 2,05$ Hz, 1H), 7,12 (t, $J = 1,62$ Hz, 1H), 7,14 (t, $J = 1,82$ Hz, 1H), 7,45 (t, $J = 1,37$ Hz, 1H), 7,53 (t, $J = 1,45$ Hz, 1H), 7,60 (t, $J = 1,69$ Hz, 1H), 7,69 (dd, $J = 8,05$ Hz y 5,0 Hz, 1H), 8,13 (s, 2H), 8,35 (dt, $J = 8,05$ Hz y $J = 1,8$ Hz, 1H), 8,55 (brd, $J = 8,40$ Hz, 1H), 8,66 (t, $J = 6,10$ Hz, 1H), 8,69 (dd, $J = 5,10$ Hz y $J = 1,4$ Hz, 1H), 9,03 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 9,66 (s, 1H), 10,01 (brs, 1H), 12,36 (brs, 1H, $-COOH$). El espectro de 1H NMR del sólido fue coherente con la estructura sugerida del producto.

45

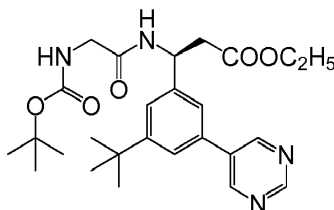
Ejemplo 19

Preparación del ácido (3S)-3-(3-(*terc*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

5

**Etapas 1**

10 Preparación de 3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)acetamido)-3-(3-(*terc*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)propanoato de (S)-etilo

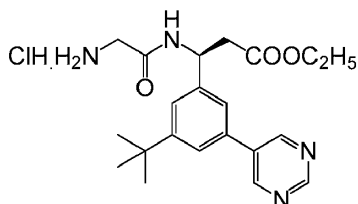


15 A una mezcla agitada de 3-(3-bromo-5-(*terc*-butil)fenil)-3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino) acetamido)propanoato de (S)-etilo (Ejemplo 18, etapa n.º 1) (314 mg, 0,65 mmol), ácido pirimidina-5-borónico (161 mg, 1,30 mmol) y Pd(PPh₃)₄ (81 mg, 0,07 mmol) en DMF anhidro (2,5 ml), se agregó una solución desgasificada de Cs₂CO₃ (424 mg, 1,30 mmol) en agua (1,5 ml) en una atmósfera de nitrógeno y la mezcla de reacción se calentó a 80 °C en una atmósfera de nitrógeno durante 2 horas para proporcionar una suspensión negra parduzca. La mezcla de reacción se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en agua (25 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 × 25 ml). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso amarillo anaranjado del producto intermedio: 3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)acetamido)-3-(3-(*terc*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (273 mg). El análisis de LC-MS del residuo muestra la masa deseada del producto: m/z 992 (2M+Na); m/z 485 (M+H), m/z 507 (M+Na), m/z 429 (M+H-*t*-Bu-) y m/z 385 (M+H-*t*-Boc-); Calculado para C₂₆H₃₆N₄O₅: 484,59. El residuo bruto se utilizará como está para la saponificación (etapa n.º 2).

25

Etapas 2

30 Preparación de clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-(*terc*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)propanoato de (S)-etilo



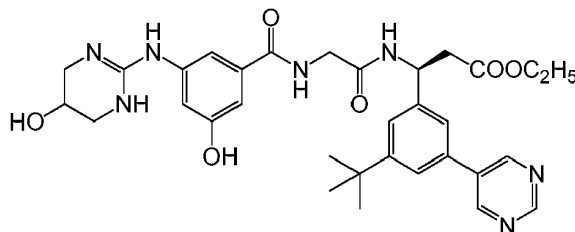
35 A una solución de 3-(2-((*terc*-butoxicarbonil)amino)acetamido)-3-(3-(*terc*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (de la etapa n.º 1) (266 mg, 0,55 mmol) en diclorometano (2,0 ml) se agregó una solución de TFA al 20 % en diclorometano (5,0 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso anaranjado pálido. El análisis de LC-MS del sólido muestra la masa deseada del producto: m/z 385 (M+H), m/z 407 (M+Na), m/z 769 (2M+H) y m/z 791 (2M+Na); Calculado para C₂₁H₂₈N₄O₃: 384,47. El residuo se trituró con heptano (3 × 10 ml) y las capas de heptano se decantaron para retirar el PPh₃O. El residuo después de las tres extracciones de heptano se disolvió en etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (10,0 ml), se calentó a reflujo durante 30 min y después de enfriarlo hasta temperatura ambiente, el solvente se evaporó al vacío para proporcionar un sólido microcristalino amarillo crema del producto: Clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-(*terc*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (176,4 mg). El sólido se utilizó como estaba para la reacción de acoplamiento (etapa n.º 3).

45

Etapa 3

Preparación de 3-(3-(*tert*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo

5

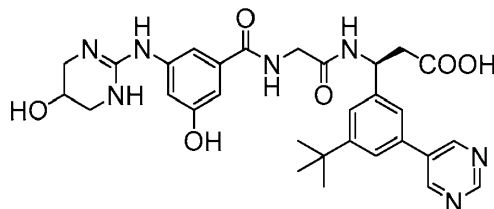


Se disolvió una mezcla del ácido 3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)aminobenzoico (Ejemplo A) (45 mg, 0,18 mmol), clorhidrato de 3-(2-aminoacetamido)-3-(3-(*tert*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (de la etapa n.º 2) (75,4 mg, 0,18 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (6 mg, 0,039 mmol) en DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una solución de color amarillo pálido. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (40 µL, 0,26 mmol) pura y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso amarillo crema del producto intermedio: 3-(3-(*tert*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto muestra la masa deseada del producto: *m/z* 618 (M+H), *m/z* 640 (M+Na) y *m/z* 309 (M/2+H); Calculado para C₃₂H₃₉N₇O₆: 617,70. El residuo bruto se utilizó tal cual para la saponificación con hidróxido de litio (etapa n.º 4).

Etapa 4

Preparación del ácido (3S)-3-(3-(*tert*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

25



A una suspensión de 3-(3-(*tert*-butil)-5-(pirimidin-5-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa n.º 3) (0,18 mmol) en una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml), se agregó hidróxido de litio monohidrato (38 mg, 0,91 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3,5 h. El solvente se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en agua (20 ml) y se extrajo con diclorometano (2 × 25 ml) para retirar la urea. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de CH₃CN) y la mezcla se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo anaranjado pálido. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-60 % de CH₃CN en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 19), después de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (128,4 mg). El análisis de LC/MS del producto muestra la masa deseada del producto: *m/z* 590 (M+H) y *m/z* 295 (M/2+H); Calculado para C₃₀H₃₅N₇O₆: 589,64.

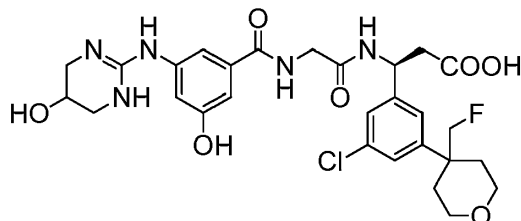
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,34 (s, 9H, (CH₃)₃C-), 2,77 (d, J = 7,50 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,10-3,20 (brdt, 2H), 3,28-3,38 (brdt, 2H), 4,08 (t, J = 3,33 Hz, 1H), 5,31 (q, J = 7,55 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,74 (t, J = 2,05 Hz, 1H), 7,13 (t, J = 1,66 Hz, 1H), 7,14 (t, J = 1,82 Hz, 1H), 7,47 (t, J = 1,45 Hz, 1H), 7,57 (t, J = 1,40 Hz, 1H), 7,64 (t, J = 1,68 Hz, 1H), 8,15 (brs, 2H), 8,54 (d, J = 8,40 Hz, 1H), 8,67 (t, J = 6,05 Hz, 1H), 9,17 (s, 1H), 9,19 (s, 1H), 9,70 (s, 1H), 10,03 (brs, 1H), 12,08 (brs, 1H, -COOH). El espectro de ¹H NMR del sólido fue coherente con la estructura sugerida del producto.

45

Ejemplo 20

Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(4-(fluorometil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

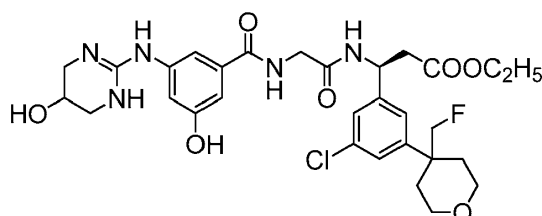
5



Etapa 1

Preparación de 3-(3-cloro-5-(4-(fluorometil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo

10



Se disolvió una mezcla del ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (45,0 mg, 0,146 mmol), clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(4-(fluorometil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (Ejemplo M) (55,5 mg, 0,146 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (5 mg, 0,033 mmol) en DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión color crema. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (35 μ L, 0,226 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso color crema del producto intermedio: 3-(3-cloro-5-(4-(fluorometil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo. El análisis de LC-MS del residuo bruto muestra la masa deseada del producto: m/z 634 ($^{35}\text{Cl}M+H$), m/z 636 ($^{37}\text{Cl}M+H$), m/z 656 ($^{35}\text{Cl}M+Na$) y m/z 658 ($^{37}\text{Cl}M+Na$); Calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{37}\text{ClFN}_5\text{O}_7$: 634,10. El residuo bruto se utilizó tal cual para la saponificación (etapa n.º 2).

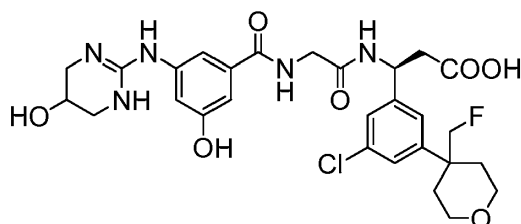
20

25

Etapa 2

Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(4-(fluorometil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

30



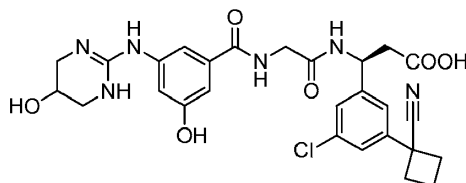
A una suspensión de 3-(3-cloro-5-(4-(fluorometil)tetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa n.º 1) (0,146 mmol) en una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml), se agregó hidróxido de litio monohidrato (32 mg, 0,763 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso cristalino color crema. El residuo se disolvió en agua (20 ml) y se extrajo con diclorometano (2 \times 25 ml) para retirar la *N,N'*-diisopropilurea. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml de TFA en 3 ml de CH_3CN) y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo anaranjado. El producto bruto se purificó mediante HPLC de fase inversa con un gradiente de 10-60 % de CH_3CN en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado (Ejemplo 20), después de la liofilización, como un sólido liofilizado incoloro (50,5 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra la masa deseada del producto: m/z 606 ($^{35}\text{Cl}M+H$) y m/z 608 ($^{37}\text{Cl}M+H$); Calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{33}\text{ClFN}_5\text{O}_7$: 606,04.

45

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,48-1,68 (m, 2H, -CH₂-(C=)-CH₂-), 1,68-1,82 (m, 2H, -CH₂-(C=)-CH₂-), 2,65-2,78 (m, 2H), 2,88-3,02 (m, 2H), 3,16 (dt, J = 12,36 Hz y 3,80 Hz, 2H), 3,34 (brd, J = 12,00 Hz, 2H), 3,42-3,54 (dt/m, 2H), 3,66-3,75 (dt/m, 2H), 3,86 (d, J = 5,90 Hz, 2H), 4,08 (appt, J = 3,30 Hz, 1H), 5,16 (q, J = 7,40 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 5,54 (brs, 1H), 6,75 (t, J = 2,06 Hz, 1H), 7,11 (t, J = 1,65 Hz, 1H), 7,13 (t, J = 1,84 Hz, 1H), 7,15 (d, J = 5,50 Hz, 1H), 7,29 (t, J = 1,66 Hz, 1H), 8,15 (s, 2H), 8,38 (brs, 1H), 8,51 (d, J = 8,15 Hz, 1H), 8,61 (t, J = 5,83 Hz, 1H), 9,69 (s, 1H), 10,03 (brs, 1H), 12,33 (brs, 1H, -COOH). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura sugerida del producto.

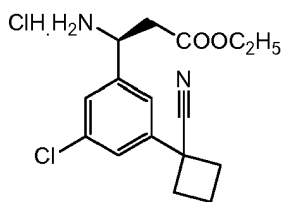
Ejemplo 21

Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



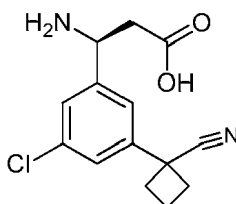
Etapas 1

Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoato de (S)-etilo

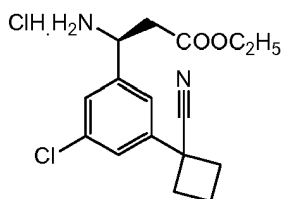


Parte A

Preparación del ácido (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoico mediante hidrólisis catalizada por lipasa enzimática de la mezcla racémica



Se agitó una suspensión de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoato de *rac*-etilo (Ejemplo N) (911,4 mg, 2,971 mmol) en 50 mM de solución de KH₂PO₄ (35 ml). El pH de la fase acuosa se ajustó hasta pH = 8,25 mediante la adición de una solución de NaOH 1N y 50 mM de solución de KH₂PO₄. Se agregó Amano Lipasa PS (981,5 mg) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción después de agitarla durante 5 días se diluyó con MTBE (25 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. Las capas acuosa y de MTBE se separaron; la capa acuosa se extrajo con MTBE (1 × 25 ml). La capa de MTBE combinada se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo pálido (477,3 mg). El análisis de LC-MS del líquido muestra la masa de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoato de (*R*)-etilo: m/z 307 (35ClM+H), m/z 309 (37ClM+H), m/z 329 (35ClM+Na) y m/z 331 (37ClM+Na); Calculado para C₁₆H₁₉ClN₂O₂: 306,79. La capa acuosa después de las extracciones de MTBE se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso incoloro a crema (1,9965 g) que contenía el (S)-COOH, Amano Lipasa-PS y el amortiguador de fosfato. El análisis de LC-MS del residuo bruto muestra el producto deseado: masa del ácido (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoico: m/z 279 (35ClM+H), m/z 281 (37ClM+H), m/z 301 (35ClM+Na) y m/z 303 (37ClM+Na), m/z 557 (35Cl,35Cl₂M+Na), m/z 559 (35Cl,37Cl₂M+Na), y m/z 561 (37Cl,37Cl₂M+Na); Calculado para C₁₄H₁₅ClN₂O₂: 278,73. El residuo bruto se utilizó para la esterificación con el alcohol etílico absoluto saturado con gas de HCl anhidro (etapa B).

Parte B**Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoato de (S)-etilo**

5

A una suspensión del residuo de la Etapa A que antecede que contenía el ácido (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoico (~1,485 mml, residuo bruto), Amano Lipasa-PS y el amortiguador de fosfato en alcohol etílico absoluto (5 ml), se agregó etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (15 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo en nitrógeno durante 2 horas para proporcionar una solución parda clara que contiene una suspensión incolora. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso pardo del producto bruto (1,9965 g). El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g) C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 %. Las fracciones puras se mezclaron y se evaporaron al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo pálido. El residuo se disolvió en alcohol etílico absoluto saturado con gas de HCl anhidro (5 ml), se agitó a temperatura ambiente durante 5 min y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo pálido, se trituró con éter dietílico (5 ml) y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso color crema (345,2 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra la masa de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoato de (S)-etilo: m/z 307 (35CIM+H), m/z 309 (37CIM+H), m/z 329 (35CIM+Na) y m/z 331 (37CIM+Na); Calculado para C₁₆H₁₉ClN₂O₂:306,79

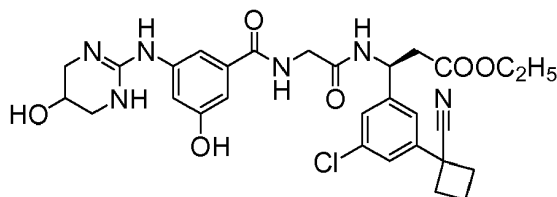
10

15

20

Etapa 2**Preparación de 3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo**

25



Se disolvió una mezcla del ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (314,5 mg, 1,02 mmol), sal de clorhidrato de (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)propanoato)propanoato de etilo (de la etapa 1 que antecede) (345,15 mg, 1,006 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (31,2 mg, 0,204 mmol) en una mezcla de DMF/DCM (1:1) (8 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión color crema. Se agregó *N,N*-diisopropilcarbodiimida (225 μ L, 1,453 mmol) a la suspensión que antecede y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche (19 h). El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso amarillo anaranjado. El análisis de LC-MS del residuo gomoso muestra el producto deseado: masa de 3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo: m/z 597 (35CIM+H), m/z 599 (37CIM+H), m/z 619 (35CIM+Na) y m/z 621 (37CIM+Na); Calculado para C₂₉H₃₃ClN₆O₆: 597,06. El residuo bruto se utilizó tal cual para la saponificación con hidróxido de litio monohidrato (Etapa 3).

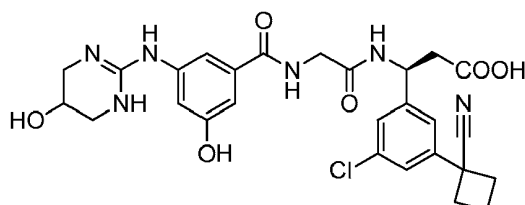
30

35

40

Etapa 3**Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico**

45

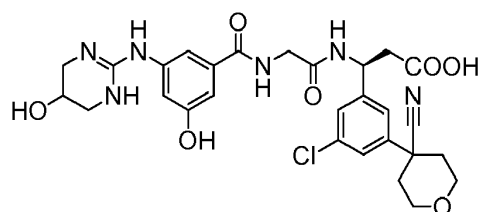


A una suspensión de 3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa 2 que antecede) (1,006 mmol, residuo bruto) en una mezcla de acetonitrilo/agua (1:1) (6 ml), se agregó hidróxido de litio monohidrato (212 mg, 5,052 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche (16 h). El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo anaranjado. El residuo se disolvió en agua (25 ml) y se agitó con diclorometano (50 ml). La capa de DCM se retiró y desechó después de analizarla mediante LC-MS, mostró el DIPU, los productos derivados y las impurezas iniciales solamente. La capa acuosa se acidificó con TFA (1 ml en 3 ml de ACN) y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso pálido. El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g) C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 %. Las fracciones puras se mezclaron y se evaporaron al vacío para proporcionar el producto deseado, después de la liofilización, como un polvo liofilizado incoloro (305 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra el producto deseado: masa del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1-cianociclobutil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico: m/z 569 (35CIM+H) y m/z 571 (37CIM+H); Calculado para C₂₇H₂₉ClN₆O₆: 569,01

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,94-2,06 (m, 1H), 2,20-2,34 (dp, J = 11,3, 8,8 Hz, 1H), 2,55-2,80 (m, 6H), 3,16 (dt, J = 12,3, 3,6 Hz, 2H), 3,28-3,38 (dd/m, 2H), 3,87 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 4,09 (q, J = 3,3 Hz, 1H), 5,21 (q, J = 7,5, 1H), 5,43 (brs, 1H), 6,74 (t, J = 2,1 Hz, 1H), 7,12 (dt, J = 12,0 y 1,5 Hz, 2H), 7,40 (dt, J = 2,1, 1,2 Hz, 3H), 8,12 (brs, 2H), 8,57 (d, J = 8,20 Hz, 1H), 8,65 (brt, J = 8,2 Hz, 1H), 9,64 (s, 1H), 10,02 (brs, 1H), 12,38 (brs, 1H). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura del producto deseado del título.

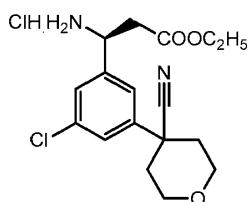
Ejemplo 22

Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahydro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



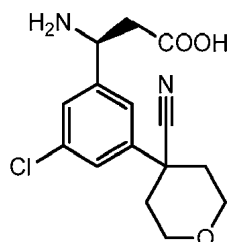
Etapa 1

Preparación de clorhidrato de (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahydro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de etilo



Parte A

Preparación del ácido (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahydro-2H-piran-4-il)fenil)propanoico mediante hidrólisis catalizada por lipasa enzimática de la mezcla racémica



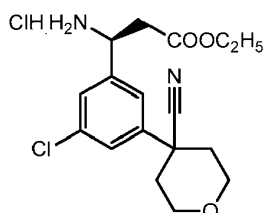
Se agitó una suspensión de 3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahydro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de rac-etilo (Ejemplo O) (943,4 mg, 2,801 mmol) en 50 mM de solución de KH₂PO₄ (35 ml) y el pH de la fase acuosa se ajustó hasta pH 8,32 mediante la adición de una solución de NaOH 1N y 50 mM de solución de KH₂PO₄. Se agregó Amano

Lipasa PS (1,0276 g) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 días. La mezcla de reacción se diluyó con MTBE (25 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. Las capas acuosa y de MTBE se separaron; la capa acuosa se extrajo con MTBE (1 × 25 ml). La capa de MTBE se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo pálido (530,6 mg). El análisis de LC-MS del líquido muestra la masa de 3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de (R)-etilo: m/z 337 (35CIM+H), m/z 339 (37CIM+H), m/z 359 (35CIM+Na) y m/z 361 (37CIM+Na); Calculado para C₁₇H₂₁ClN₂O₃:336,81.

Evaporación de la capa acuosa después de las extracciones de MTBE al vacío para proporcionar un residuo escamoso/gomoso incoloro a crema (1,8270 g) que contiene el (S)-COOH, Amano Lipasa-PS y el amortiguador de fosfato. El análisis de LC-MS del residuo muestra la masa del ácido (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)propanoico: m/z 309 (35CIM+H), m/z 311 (37CIM+H), m/z 331 (35CIM+Na) y m/z 333 (37CIM+Na), m/z 617 (35Cl,35Cl2M+Na), m/z 619 (35Cl,37Cl2M+Na) y m/z 621 (37Cl,37Cl2M+Na). El residuo bruto que antecede se utilizó tal cual para la esterificación para sintetizar: clorhidrato de (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil) propanoato de etilo (Etapa B).

Parte B

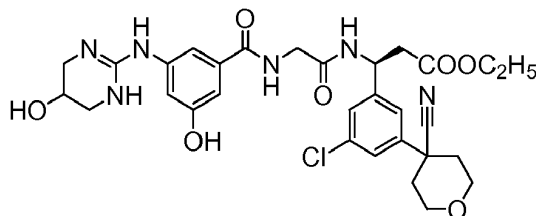
Preparación de clorhidrato de (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato de etilo



A una suspensión del producto bruto de la Etapa A que antecede que contenía el (S)-COOH (1,4 mmol), Amano Lipasa-PS y el amortiguador de fosfato en alcohol etílico absoluto (5 ml), se agregó etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro y la mezcla de reacción se calentó a reflujo en nitrógeno durante 6 horas para proporcionar una solución parda clara que contenía una suspensión incolora. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró para eliminar la suspensión insoluble. El filtrado se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso pardo (2,054 g). El producto bruto que antecede se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g) C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado como un residuo viscoso amarillo pálido. El residuo se disolvió en alcohol etílico absoluto saturado con gas de HCl anhidro (5 ml), se agitó a temperatura ambiente durante 5 min y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo pálido, se trituró con éter dietílico (5 ml) y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso rosa pálido (314,3 mg). El análisis de LC-MS del sólido espumoso muestra el producto deseado: masa de (S)-etil-3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato: m/z 337 (35CIM+H), m/z 339 (37CIM+H), m/z 359 (35CIM+Na) y m/z 361(37CIM+Na); Calculado para C₁₇H₂₁ClN₂O₃: 336,81.

Etapa 2

Preparación de 3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo

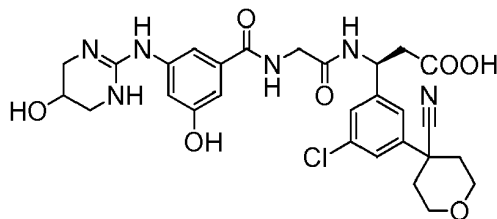


Se disolvió una mezcla del ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (264,7 mg, 0,859 mmol), sal de clorhidrato de (S)-etil-3-amino-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)propanoato (de la etapa 1 que antecede) (314,3 mg, 0,842 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (27,4 mg, 0,179 mmol) en una mezcla de DMF/DCM (1:1) (8 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión color crema. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (175 μL, 1,13 mmol) pura a la suspensión que antecede y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso

amarillo crema pálido. El análisis de LC-MS del residuo bruto muestra el producto deseado: masa de 3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo: m/z 627 (35CIM+H) y m/z 629 (37CIM+H); Calculado para C₃₀H₃₅ClN₆O₇: 627,09. El residuo bruto se utilizó tal cual para la saponificación con hidróxido de litio monohidrato (Etapa 3).

Etapa 3

Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

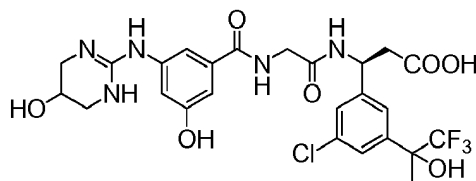


A una suspensión de 3-(3-cloro-5-(4-cianotetrahidro-2H-piran-4-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa 2 que antecede) (0,842 mmol, residuo bruto) en una mezcla de acetonitrilo/agua (1:1) (6 ml), se agregó hidróxido de litio monohidrato (180,0 mg, 4,289 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo anaranjado. El residuo se disolvió en agua (25 ml) y se agitó con diclorometano (50 ml). La capa acuosa se separó y acidificó con TFA (1 ml en 3 ml de ACN) y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso anaranjado pálido. El residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g) C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado, después de la liofilización, como un polvo liofilizado incoloro (305 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra la masa deseada del producto: m/z 599 (35CIM+H) y m/z 601 (37CIM+H); Calculado para C₂₈H₃₁ClN₆O₇: 599,03.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,00-2,18 (m, 4H), 2,70-2,80 (m, 2H), 3,16 (dt, J = 12,3, 3,5 Hz, 2H), 3,33 (brd, J = 12,7 Hz, 2H), 3,57-3,74 (m, 2H), 3,87 (d, J = 5,9 Hz, 2H), 3,96-4,04 (m, 2H), 4,08 (appt, 1H), 5,22 (q, J = 7,5 Hz, 1H), 6,75 (t, J = 2,1 Hz, 1H), 7,12 (dt, J = 12,0 y 1,5 Hz, 2H), 7,43 (t, J = 1,5 Hz, 1H), 7,46-7,53 (m, 2H), 8,11 (d, J = 3,2 Hz, 2H), 8,57 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 8,66 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 9,62 (s, 1H), 10,02 (brs, 1H), 12,39 (brs, 1H). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura del producto deseado del título.

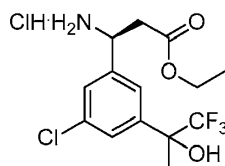
Ejemplo 23

Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



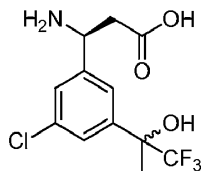
Etapa 1

Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil) propanoato de (S)-etilo



Parte A**Preparación del ácido (3S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoico mediante hidrólisis catalizada por lipasa enzimática de la mezcla racémica**

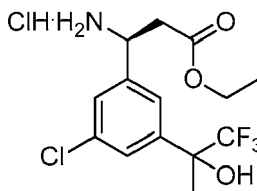
5



Una suspensión de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de *rac*-etilo (Ejemplo P) (1121,5 mg, 3,301 mmol) en 50 mM de solución de KH_2PO_4 (40,0 ml) se agitó a temperatura ambiente y el pH de la capa acuosa se ajustó hasta pH 8,34 mediante la adición de una solución de NaOH 1,0 N. Se agregó amano lipasa (1,20 g) a la suspensión que antecede y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente. Después de agitarla durante 6 días a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se diluyó con MTBE (25 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente para extraer el (R)-éster. Las capas acuosa y de MTBE se separaron y la capa acuosa que contenía una suspensión/precipitado incoloro se extrajo con *terc*-butiléter de metilo (MTBE) (1 × 25 ml). La capa de MTBE combinada se lavó con agua (1 × 25 ml), se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo anaranjado (502,0 mg). El análisis de LC-MS del líquido muestra la masa de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (3R)-etilo: m/z 340 (35CIM+H), m/z 342 (37CIM+H), m/z 362 (35CIM+Na) y m/z 364 (37CIM+Na); Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{ClF}_3\text{NO}_3$: 339,74. La capa acuosa se evaporó al vacío para proporcionar un sólido incoloro a crema (2,2231 g) que contenía el (S)-COOH, Amano Lipasa-PS y el amortiguador de fosfato. El análisis de LC-MS del residuo también muestra el producto deseado: masa del ácido (3S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoico: m/z 312 (35CIM+H), m/z 314 (37CIM+H), m/z 334 (35CIM+Na) y m/z 336 (37CIM+Na); Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{ClF}_3\text{NO}_3$: 311,68. El residuo bruto que antecede se utilizará tal cual para la esterificación con el alcohol de etilo absoluto saturado con gas de HCl anhidro para sintetizar: Clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (3S)-etilo (Etapa B).

Parte B**Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil) propanoato de (S)-etilo**

30



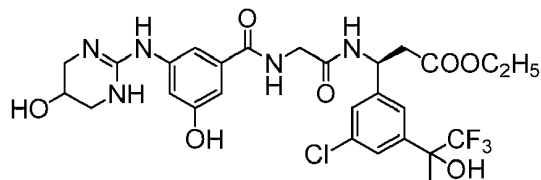
A una suspensión del producto bruto de la Etapa A que antecede que contenía el (S)-ácido, Amano Lipasa y la sal de amortiguador de fosfato en alcohol de etilo absoluto (5 ml), se agregó etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (15 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo en nitrógeno para proporcionar una solución parda que contenía una suspensión incolora a gris. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se filtró para eliminar la suspensión insoluble. El filtrado se evaporó al vacío para proporcionar un líquido gomoso espumoso pardo (2,45 g). El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g) C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 %. Las fracciones puras se mezclaron y se evaporaron al vacío para proporcionar un residuo viscoso espumoso amarillo pálido (771,0 mg). El residuo se disolvió en alcohol de etilo absoluto saturado con gas de HCl anhidro (10 ml), se calentó a reflujo durante 10 min y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo pálido. El residuo se trituró con éter dietílico (10 ml) y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido espumoso color crema (622,0 mg). El análisis de LC-MS del sólido espumoso muestra el producto deseado: masa de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo: m/z 340 (35CIM+H), m/z 342 (37CIM+H), m/z 362 (35CIM+Na) y m/z 364 (37CIM+Na); Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{17}\text{ClF}_3\text{NO}_3$: 339,74.

45

Etapa 2

Preparación de 3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo

5



10

15

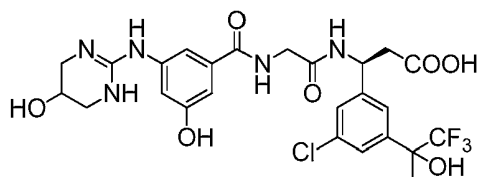
20

Se disolvió una mezcla del ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (328,3 mg, 1,065 mmol), sal de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa 1 que antecede) (364,2 mg, 0,968 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (31,5 mg, 0,206 mmol) en una mezcla de DMF/DCM (1:1) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión color crema. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (210 μ L, 1,356 mmol) a la suspensión que antecede y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche (19 h) en una atmósfera de nitrógeno. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso amarillo crema. El análisis de LC-MS del residuo bruto muestra el producto deseado: masa de 3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo: m/z 630 (35CIM+H) y m/z 632 (37CIM+H); Calculado para $C_{27}H_{31}ClF_3N_5O_7$: 630,01. El residuo bruto se utilizó tal cual para la saponificación con hidróxido de litio monohidrato (Etapa 3).

Etapa 3

Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

25



30

35

40

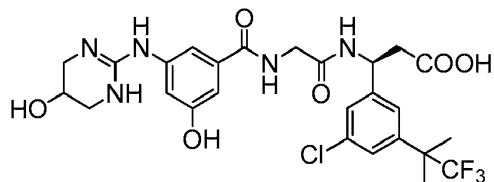
45

A una suspensión de 3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa 2 que antecede) (0,968 mmol, residuo bruto) en una mezcla de acetonitrilo/agua (1:1) (8 ml), se agregó hidróxido de litio monohidrato (203,1 mg, 4,84 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche (15 h). El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo anaranjado. El residuo se disolvió en agua (25 ml) y se agitó con diclorometano (50 ml). La capa de DCM se retiró y desechó después del análisis por LC-MS. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de ACN) y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso pálido. El residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g) C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado, después de la liofilización, como un polvo liofilizado incoloro (439,2 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra el producto deseado: masa del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico: m/z 602 (35CIM+H) y m/z 604 (37CIM+H); Calculado para $C_{25}H_{27}ClF_3N_5O_7$: 601,96. 1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 1,69 (s, 3H), 2,72 (d, J = 7,0 Hz, 2H), 3,16 (d, J = 12,8 Hz, 2H), 3,33 (d, J = 12,7 Hz, 2H), 3,87 (d, J = 5,3 Hz, 2H), 4,08 (s, 1H), 5,21 (appq, 1H), 5,45 (brs, 1H), 6,74 (brs, 1H), 6,79 (brs, 1H), 7,12 (dt/m, 2H), 7,41 (s, 1H), 7,49 (brs, 2H), 8,14 (brs, 2H), 8,58 (dd/m, 1H), 8,63 (brt, 1H), 9,67 (brs, 1H), 10,03 (brs, 1H), 12,40 (brs, 1H). El espectro de 1H NMR de la muestra fue coherente con la estructura del producto deseado del título.

Ejemplo 24

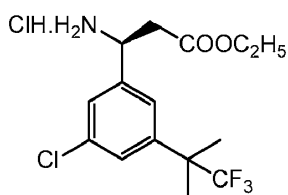
Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

5



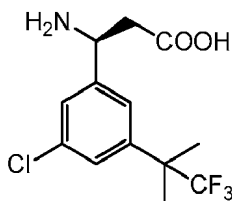
Etapa 1

10 Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo



15 Parte A

Preparación del ácido (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoico mediante hidrólisis catalizada por lipasa enzimática de la mezcla racémica



20

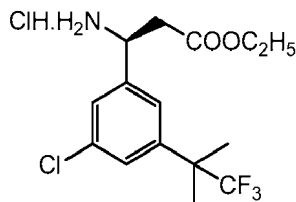
Una suspensión de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoato de *rac*-etilo (Ejemplo Q) (921,7 mg, 2,729 mmol) se agitó en 50 mM de solución de KH_2PO_4 (40 ml). El pH de la fase acuosa se ajustó hasta pH = 8,32 mediante la adición de una solución de NaOH 1N y 50 mM de solución de KH_2PO_4 . Se agregó amano lipasa PS *Burkholderia cepacia* (1,15 g) a la mezcla de reacción anterior y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 7 días, se diluyó con MTBE (25 ml), se agitó a temperatura ambiente durante 15 min y la mezcla se filtró para retirar el sólido precipitado. El sólido se lavó con acetona (2 × 25 ml) y se secó al vacío para proporcionar un polvo blanco (252,8 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra el producto deseado: masa del ácido (3S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoico: m/z 310 (35CIM+H), m/z 312 (37CIM+H), m/z 332 (35CIM+Na) y m/z 334 (37CIM+Na); Calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{ClF}_3\text{NO}_2$: 309,71. Las capas acuosa y de MTBE se separaron; la capa acuosa se extrajo con MTBE (1 × 25 ml). La capa de MTBE combinada se secó en Na_2SO_4 anhidro, se filtró y evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo pálido (465 mg). El análisis de LC-MS del líquido muestra la masa de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoato de (3R)-etilo: m/z 338 (35CIM+H), m/z 340 (37CIM+H), m/z 360 (35CIM+Na) y m/z 362 (37CIM+Na); Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{ClF}_3\text{NO}_2$: 337,77. La capa acuosa después de las extracciones de MTBE se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso incoloro a crema (1,9845 g) que contenía el (S)-COOH, Amano Lipasa-PS y el amortiguador de fosfato. El residuo se trituró con una mezcla de agua y acetonitrilo para proporcionar un precipitado incoloro, se filtró, se lavó con agua y acetonitrilo y se secó al vacío para proporcionar un sólido microcristalino incoloro (146,3 mg, 2° cultivo) del ácido (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoico. El filtrado después de retirar el 2° cultivo se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso incoloro que contenía el (S)-COOH, Amano Lipasa-PS y el amortiguador de fosfato. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g) C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 %. Las fracciones puras se mezclaron y se evaporaron al vacío para proporcionar un sólido cristalino incoloro (46,4 mg, 3° cultivo).

40

Parte B

Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo

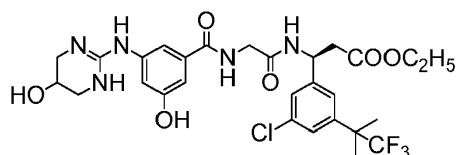
5



Se agregó etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (10 ml) a una suspensión del ácido (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoico (de la etapa A que antecede) (252,8 mg, 0,816 mmol) en alcohol etílico absoluto (5 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 h para proporcionar una solución incolora. El solvente se retiró al vacío para dar un sólido gomoso incoloro. El sólido se introdujo en una suspensión de éter dietílico un par de veces (2 × 5 ml). Luego de decantar el solvente, el residuo se secó al vacío para proporcionar la sal de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo como un sólido espumoso color crema (293,76 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra la masa deseada del producto: m/z 338 (35CIM+H), m/z 340 (37CIM+H), m/z 360 (35CIM+Na) y m/z 362 (37CIM+Na); Calculado para C₁₅H₁₉ClF₃NO₂: 337,77.

Etapa 2

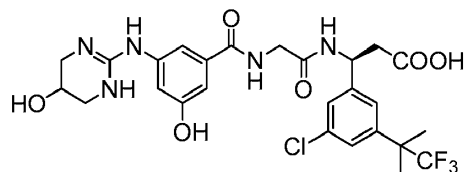
Preparación de 3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo



Se disolvió una mezcla del ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (242 mg, 0,785 mmol), sal de clorhidrato de 3-amino-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)propanoato de (S)-etilo (de la etapa 1 que antecede) (293,76 mg, 0,785 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (24,1 mg, 0,157 mmol) en una mezcla de DMF/DCM (1:1) (8 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión color crema. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (170 µL, 1,098 mmol) a la suspensión que antecede y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante la noche (19 h). El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso viscoso amarillo pálido (917,0 mg). El análisis de LC-MS del residuo bruto muestra el producto deseado: masa de 3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo: m/z 628 (35CIM+H) y m/z 630 (37CIM+H); Calculado para C₂₈H₃₃ClF₃N₅O₆: 628,04. El residuo bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación con hidróxido de litio monohidrato. (Etapa 3).

Etapa 3

Preparación del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



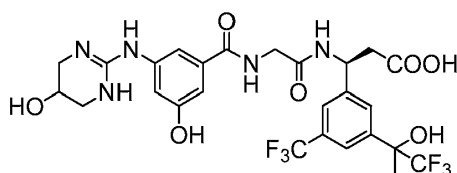
A una suspensión de 3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa 2 que antecede) (0,785 mmol, residuo bruto) en una mezcla de acetonitrilo/agua (1:1) (6 ml), se agregó hidróxido de litio monohidrato (165 mg, 3,932 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo anaranjado y el residuo se disolvió en agua (25 ml) y se agitó con diclorometano (50 ml) durante 15 min. La capa acuosa se separó, se acidificó con TFA (1 ml en 3 ml de ACN) y

se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso pálido. El residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g) C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado, después de la liofilización, como un polvo liofilizado incoloro (277,7 mg). El análisis de LC-MS del residuo muestra el producto deseado: masa del ácido (3S)-3-(3-cloro-5-(1,1,1-trifluoro-2-metilpropan-2-il)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico: m/z 600 (35CIM+H) y m/z 602 (37CIM+H); Calculado para C₂₆H₂₉ClF₃N₅O₆: 599,99.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,55 (s, 6H), 2,72 (dd, *J* = 7,9, 3,4 Hz, 2H), 3,16 (d, *J* = 12,6 Hz, 2H), 3,34 (d, *J* = 12,7 Hz, 2H), 3,86 (appt, 2H), 4,08 (s, 1H), 4,08 (s, 1H), 5,22 (q, *J* = 8,2 Hz, 1H), 5,54 (brs, 1H), 6,75 (brs, 1H), 7,12 (dd, *J* = 11,0, 3,2 Hz, 2H), 7,42 (dd, *J* = 11,0, 3,2 Hz, 2H), 7,47 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 3,9 Hz, 2H), 8,15 (s, 2H), 8,57 (brd, 1H), 8,64 (brm, 1H), 9,68 (s, 1H), 10,03 (s, 1H), 12,38 (brs, 1H, -COOH). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura del producto deseado del título.

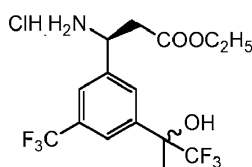
Ejemplo 25

Preparación del ácido (3S)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil) fenil)propanoico



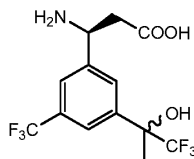
Etapas 1

Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de (3S)-etilo



Parte A

Preparación del ácido (3S)-3-amino-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoico mediante hidrólisis catalizada por lipasa enzimática de la mezcla racémica



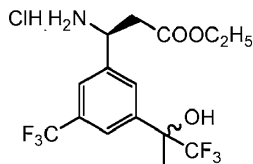
Se agitó una suspensión de 3-amino-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil) fenil)propanoato de *rac*-etilo (Ejemplo R) (1,001 g, 2,682 mmol) en 50 mM de solución de KH₂PO₄ (35 ml) y el pH de la fase acuosa se ajustó hasta pH 8,25 mediante la adición de una solución de NaOH 1N y 50 mM de solución de KH₂PO₄. Se agregó Amano Lipasa PS (1,1522 g) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 6 días para proporcionar una solución ligeramente turbida. La mezcla de reacción se diluyó con MTBE (25 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. Las capas acuosa y de MTBE se separaron y la capa acuosa se extrajo con MTBE (1 × 25 ml). La capa de MTBE combinada se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo pálido (552,2 mg). El análisis de LC-MS del líquido muestra la masa de 3-amino-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de (3R)-etilo: m/z 374 (M+H) y m/z 396 (M+Na); Calculado para C₁₅H₁₇F₆NO₃:373,29.

La evaporación de la capa acuosa al vacío proporcionó un sólido gomoso incoloro a crema (2,2554 g) que contenía el (S)-COOH, así como amano lipasa y sal de amortiguador de fosfato. El análisis de LC-MS del sólido muestra la masa del ácido (3S)-3-amino-3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoico: m/z 346 (M+H) y m/z 368 (M+Na); Calculado para C₁₃H₁₃F₆NO₃:345,24. El sólido bruto se utilizó tal cual para la síntesis del éster amino beta. (Etapas B).

Parte B

Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de (3S)-etilo

5

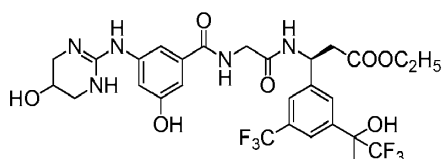


10 A una suspensión del producto bruto de la Etapa A que antecede que contenía el (S)-COOH (1,34 mmol), Amano
Lipasa-PS y el amortiguador de fosfato en alcohol etílico absoluto (5 ml), se agregó etanol absoluto saturado con gas
de HCl anhidro (10 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo en nitrógeno durante 3 horas para proporcionar
una solución parda clara que contenía una suspensión incolora. La mezcla de reacción se enfrió hasta temperatura
ambiente, se filtró y el filtrado se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo-pardo claro (2,4556
g). El producto bruto se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g)
15 C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto
deseado como un líquido viscoso amarillo pálido. El residuo se disolvió en alcohol de etilo absoluto saturado con gas
de HCl anhidro (5 ml), se agitó a temperatura ambiente durante 5 min y se evaporó al vacío para proporcionar un
residuo viscoso amarillo pálido, se trituroó con éter dietílico (5 ml) y se evaporó al vacío para proporcionar un sólido
espumoso rosa crema pálido (483,4 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra el producto deseado: masa de 3-
20 amino-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de (3S)-etilo: m/z 374 (M+H) y m/z
396 (M+Na); Calculado para C₁₅H₁₇F₆NO₃:373,29.

Etapa 2

Preparación de 3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de (3S)-etilo

25

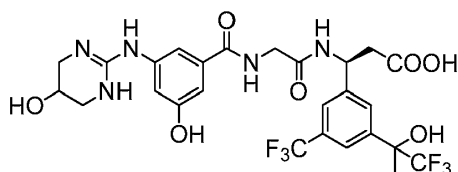


30 Se disolvió una mezcla del ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético
(Ejemplo B) (232,4 mg, 0,754 mmol), sal de clorhidrato de 3-amino-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-
(trifluorometil)fenil)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa 1 que antecede) (290,0 mg, 0,708 mmol) e hidrato de 1-
hidroxibenzotriazol (22,2 mg, 0,145 mmol) en una mezcla de DMF/DCM (1:1) (8 ml) y se agitó a temperatura
ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión color crema. Se agregó
35 *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (150 µL, 0,969 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en una
atmósfera de nitrógeno durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso
amarillo crema del producto intermedio: 3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)
benzamido)acetamido)-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de (3S)-etilo. El
análisis de LC-MS del residuo bruto muestra la masa deseada del producto: m/z 664 (M+H) y m/z 686 (M+Na);
40 Calculado para C₂₈H₃₁F₆N₅O₇: 663,57. El residuo bruto se utilizó tal cual, sin purificación adicional, para la
saponificación con LiOH monohidrato (Etapa 3).

Etapa 3

Preparación del ácido (3S)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)-3-(3-(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoico

45

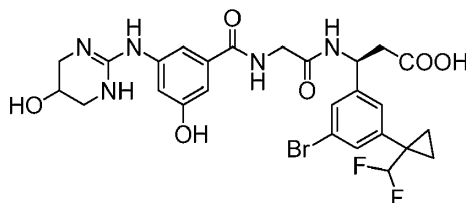


50 A una suspensión de 3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)-3-(3-
(1,1,1-trifluoro-2-hidroxiopropan-2-il)-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa 2 que antecede) (~708
mmol, residuo bruto) en una mezcla de acetonitrilo/agua (1:1) (6 ml), se agregó hidróxido de litio monohidrato (150

mg, 3,575 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo anaranjado. El residuo se disolvió en agua (25 ml) y se agitó con diclorometano (50 ml) para retirar la urea. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de ACN) y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso pálido. El residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g) C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado, después de la liofilización, como un polvo liofilizado incoloro (287,8 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra la masa deseada del producto: m/z 636 (M+H); Calculado para C₂₆H₂₇F₆N₅O₇: 635,51
¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,74 (s, 3H), 2,68-2,85 (m, 2H), 3,15 (dt, J = 12,2, 3,7 Hz, 2H), 3,33 (d, J = 12,6 Hz, 2H), 3,80-3,96 (m, 2H), 4,09 (q, J = 3,5 Hz, 1H), 5,29 (q, J = 7,2 Hz, 1H), 6,74 (t, J = 2,0 Hz, 1H), 6,91 (brs, 1H), 7,10 (brt, 1H), 7,13 (brt, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,71 (t, J = 1,6 Hz, 1H), 7,81 (dd, J = 26,3, 4,6 Hz, 2H), 8,13 (brs, 2H), 8,55-8,75 (m, 2H), 9,65 (s, 1H), 10,02 (brs, 1H), 12,40 (brs, 1H). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura del producto deseado del título.

15 Ejemplo 26

Preparación del ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico

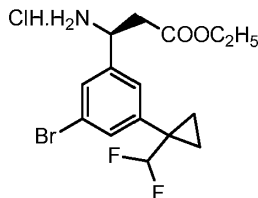


20

Etapa 1

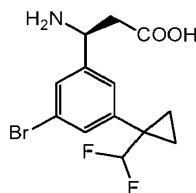
Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)propanoato de (S)-etilo

25



Parte A

30 Preparación del ácido (S)-3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)propanoico mediante hidrólisis catalizado por lipasa enzimática de la mezcla racémica

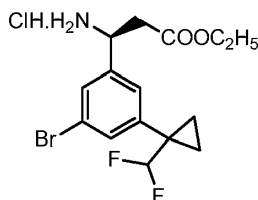


35 Una suspensión de 3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)propanoato de *rac*-etilo (Ejemplo S) (1010,2 mg, 2,789 mmol) se agitó en 50 mM de solución de KH₂PO₄ (40 ml). El pH de la fase acuosa se ajustó hasta pH = 8,32 mediante la adición de una solución de NaOH 1N y 50 mM de solución de KH₂PO₄. Se agregó Amano Lipasa PS de *Burkholderiacepacia* (1,2152 g) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 26 h. La mezcla de reacción se diluyó con MTBE (50 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente y se separaron las capas acuosa y de MTBE. La capa acuosa que contenía una suspensión/precipitado incoloro se extrajo con MTBE
 40 (1 × 25 ml). La capa de MTBE combinada se lavó con agua (1 × 25 ml), se secó en Na₂SO₄ anhidro, se filtró y evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso amarillo anaranjado (567 mg). El análisis de LC-MS del líquido muestra la masa de 3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)propanoato de (*R*)-etilo: m/z 362 (79BrM+H), m/z 364 (81BrM+H), m/z 384 (79BrM+Na) y m/z 386 (81BrM+Na); Calculado para C₁₅H₁₈BrF₂NO₂: 362,21. La capa acuosa después de las extracciones de MTBE se filtró para retirar el (S)-COOH precipitado, el sólido se lavó con una mezcla de agua y acetonitrilo (1:1) y se secó al vacío para proporcionar un polvo incoloro
 45 (225,5 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra la masa del ácido (S)-3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)propanoico: m/z 334 (79BrM+H), m/z 336 (81BrM+H), m/z 356 (79BrM+Na) y m/z 358

(81BrM+Na); Calculado para $C_{13}H_{14}BrF_2NO_2$: 334,16. El sólido que antecede se utilizó tal cual para la esterificación con el alcohol etílico absoluto saturado con gas de HCl anhidro. (Etapa B).

Parte B

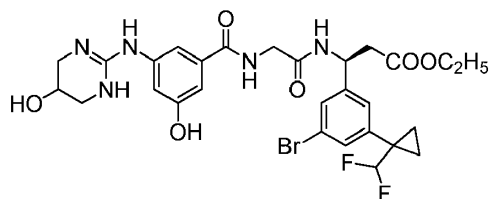
5 Preparación de clorhidrato de 3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)propanoato de (S)-etilo



10 Se agregó etanol absoluto saturado con gas de HCl anhidro (7 ml) a una suspensión del ácido (S)-3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)propanoico (de la etapa A que antecede) (225,5 mg, 0,675 mmol) en alcohol etílico absoluto (3 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo en nitrógeno durante 3 h para proporcionar una solución incolora. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un líquido viscoso incoloro. El residuo se trituró con éter dietílico (10 ml) y el solvente se evaporó al vacío para proporcionar la sal de clorhidrato de 3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)propanoato de (S)-etilo como un sólido espumoso incoloro (253,0 mg). El análisis de LC-MS del sólido muestra la masa deseada del producto: m/z 362 (79BrM+H), m/z 364 (81BrM+H), m/z 384 (79BrM+Na) y m/z 386 (81BrM+Na);; Calculado para $C_{15}H_{18}BrF_2NO_2$: 362,21. El sólido aislado se utilizó tal como está para la siguiente etapa.

20 Etapa 2

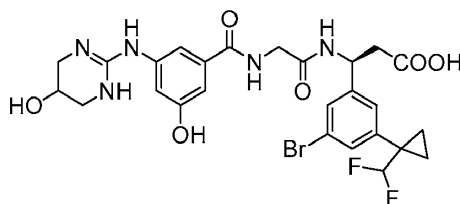
Preparación de 3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo



25 Se disolvió una mezcla del ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (197,22 mg, 0,64 mmol), sal de clorhidrato de 3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)propanoato de (S)-etilo (de la etapa 1 que antecede) (253 mg, 0,635 mmol) e hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (19,44 mg, 0,127 mmol) en una mezcla de DMF/DCM (1:1) (8 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para proporcionar una suspensión color crema. Se agregó *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (142 μ L, 0,917 mmol) a la suspensión que antecede y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche (16 h) en una atmósfera de nitrógeno. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo gomoso amarillo del producto intermedio. El análisis de LC-MS muestra el producto deseado: masa de 3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo: m/z 652 (79BrM+H), m/z 654 (81BrM+H). El residuo bruto se utilizó tal como estaba para la saponificación con hidróxido de litio monohidrato (Etapa 3).

40 Etapa 3

Preparación del ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



45 A una suspensión de 3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)ciclopropil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de (3S)-etilo (de la etapa 2 que antecede) (0,635

mmol, residuo bruto) en una mezcla de acetonitrilo/agua (1:1) (6 ml), se agregó hidróxido de litio monohidrato (135 mg, 3,217 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El solvente se evaporó al vacío para proporcionar un residuo cristalino amarillo pálido. El residuo se disolvió en agua (25 ml) y se agitó con diclorometano (50 ml) para retirar la urea. La capa acuosa se neutralizó con TFA (1 ml en 3 ml de ACN) y se evaporó al vacío para proporcionar un residuo viscoso amarillo pálido. El residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa en una columna Biotage 40+M (100 g) C18HS y un gradiente de 10-60 % de acetonitrilo en agua que contenía TFA al 0,05 % para proporcionar el producto deseado, después de la liofilización, como un polvo liofilizado incoloro (94,0 mg). El análisis de LC-MS del producto muestra la masa deseada del producto: m/z 624 (79BrM+H) y m/z 626 (81BrM+H); Calculado para C₂₆H₂₈BrF₂N₅O₆: 624,43.

¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,00 (d, J = 8,9 Hz, 2H), 1,12 (q, J = 4,2, 3,2 Hz, 2H), 2,70 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 3,15 (d, J = 12,6 Hz, 2H), 3,33 (d, J = 12,8 Hz, 2H), 3,85 (d, J = 5,8 Hz, 2H), 4,08 (appt, 1H), 5,17 (q, J = 7,5 Hz, 1H), 5,45 (brs, 1H), 5,89 (t, J = 56,1 Hz, 1H), 6,74 (t, J = 2,0 Hz, 1H), 7,12 (dt, J = 10,2, 1,6 Hz, 2H), 7,32 (t, J = 1,6 Hz, 1H), 7,44 (dt, J = 16,9, 1,7 Hz, 1H), 8,13 (d, J = 2,4 Hz, 2H), 8,54 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 8,63 (t, J = 5,9 Hz, 1H), 9,65 (s, 1H), 10,03 (brs, 1H), 12,4 (brs, 1H). El espectro de ¹H NMR de la muestra fue coherente con la estructura del producto deseado del título.

Ejemplo 27 – Resultados del ensayo biológico

Se analizó la actividad de los compuestos de la presente invención en los siguientes ensayos: Los resultados se muestran en la Tabla 2.

Ensayo del receptor de fase sólida para determinar la función de α5β1. Se agregó fibronectina humana purificada (R&D Systems, 1918-FN) diluida hasta 2 µg/ml en amortiguador de TBS+ (25 mM de Tris 7,4, 137 mM de NaCl, 2,7 mM de KCl, 1mM de CaCl₂, 1 mM de MgCl₂, 1 mM de MnCl₂) a los pocillos (50 µL/pocillo) de una placa de 96 pocillos de microtitulación transparente de medio pocillo (Greiner 675061) y se incubó durante la noche a 4°C. Se lavaron los pocillos 3 veces con 150 µL de TBS+ y se agregaron 150 µl de amortiguador de bloqueo (TBS+ con albúmina de suero bovino al 1 %, Sigma A7906). La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y luego se lavó 3× con amortiguador de TBS+. Se diluyó integrina humana recombinante α5β1 (R&D Systems, 3230-A5) hasta 0,1 µg/ml en TBS+/albúmina de suero bovino al 0,1 %. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y luego se agregaron 50 µL a los pocillos vacíos de la placa recubierta con fibronectina lavada de acuerdo con una plantilla estándar, cada muestra se repitió tres veces. Después de la incubación durante dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3× con 150 µL de amortiguador de TBS+. A cada pocillo, se agregaron 50 µL de anticuerpo anti-α5 biotinilado (R&D Systems, BAF1864) a 0,5 µg/ml en TBS+/BSA al 0,1 % y la placa se cubrió e incubó durante 1 h a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3× con 150 µL de amortiguador de TBS+, se agregaron 50 µL de peroxidasa de rábano picante conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en amortiguador de TBS+ de bloqueo a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Se lavó la placa 3× con amortiguador de TBS+ seguido por adición de 50 µL de sustrato de TMB (Sigma, T444) a temperatura ambiente a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La reacción se detuvo opcionalmente con 25 µL de solución de detención (Sigma S5689). Se leyeron las placas mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Se construyeron las curvas de concentración-respuesta mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste) y se calcularon los valores de IC₅₀ para cada compuesto.

Ensayo del receptor de fase sólida para determinar la función de αvβ1. Se agregó fibronectina humana purificada (R&D Systems, 1918-FN) diluida hasta 5 µg/ml en amortiguador de TBS+ (25 mM de Tris 7,4, 137 mM de NaCl, 2,7 mM de KCl, 1mM de CaCl₂, 1 mM de MgCl₂, 1 mM de MnCl₂) a los pocillos (50 µL/pocillo) de una placa de 96 pocillos de microtitulación transparente de medio pocillo (Greiner 675061) y se incubó durante la noche a 4°C. Se lavaron los pocillos 3 veces con 150 µL de TBS+ y se agregaron 150 µl de amortiguador de bloqueo (TBS+ con albúmina de suero bovino al 1 %, Sigma A7906). La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y luego se lavó 3× con amortiguador de TBS+. Se diluyó integrina humana recombinante αvβ1 (R&D Systems 6579-AV) hasta 2,0 µg/ml en TBS+/albúmina de suero bovino al 0,1 %. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y luego se agregaron 50 µL a los pocillos vacíos de la placa lavada recubierta con fibronectina de acuerdo con una plantilla estándar, cada muestra se repitió tres veces. Después de la incubación durante dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3× con 150 µL de amortiguador de TBS+. A cada pocillo, se agregaron 50 µL de anticuerpo anti-αv biotinilado (R&D Systems, BAF1219) a 1 µg/ml en TBS+/BSA al 0,1 % y la placa se cubrió e incubó durante 1 h a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3× con 150 µL de amortiguador de TBS+, se agregaron 50 µL de peroxidasa de rábano picante conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en amortiguador de bloqueo de TBS+ a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Se lavó la placa 3× con amortiguador de TBS+ seguido por adición de 50 µL de sustrato de TMB (Sigma, T4444) a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La reacción se detuvo opcionalmente con 25 µL de solución de detención (Sigma S5689). Se leyeron las placas mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Se construyeron las curvas de concentración-respuesta mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste) y se calcularon los valores de IC₅₀ para cada compuesto.

Ensayo del receptor de fase sólida para determinar la función de αvβ3. Se agregó vitronectina humana recombinante (R&D Systems, 2308-VN) diluida hasta 1 µg/ml en amortiguador de TBS+ (25 mM de Tris 7,4, 137 mM

de NaCl, 2,7 mM de KCl, 1mM de CaCl₂, 1 mM de MgCl₂, 1 mM de MnCl₂) a los pocillos (50 µL/pocillo) de una placa de 96 pocillos de microtitulación transparente de medio pocillo (Greiner 675061) y se incubó durante la noche a 4°C. Se lavaron los pocillos 3 veces con 150 µL de TBS+ y se agregaron 150 µl de amortiguador de bloqueo (TBS+ con albúmina de suero bovino al 1 %, Sigma A7906). La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y luego se lavó 3× con amortiguador de TBS+. Se diluyó integrina humana recombinante αvβ3 (R&D -Systems, 3050-AV) hasta 1 µg/ml en TBS+/albúmina de suero bovino al 0,1 %. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y luego se agregaron 50 µL a los pocillos vacíos de la placa lavada recubierta con vitronectina de acuerdo con una plantilla estándar, cada muestra se repitió tres veces. Después de la incubación durante dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3× con 150 µL de amortiguador de TBS+. A cada pocillo, se agregaron 50 µL de anticuerpo anti-αv biotinilado (R&D Systems, BAF1219) a 0,5 µg/ml en TBS+/BSA al 0,1 % y la placa se cubrió e incubó durante 1 h a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3× con 150 µL de amortiguador de TBS+, se agregaron 50 µL de peroxidasa de rábano picante conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en amortiguador de bloqueo TBS+ a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Se lavó la placa 3× con amortiguador de TBS+ seguido por adición de 50 µL de sustrato de TMB (Sigma, T4444) a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La reacción se detuvo opcionalmente con 25 µL de solución de detención (Sigma S5689). Se leyeron las placas mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Se construyeron las curvas de concentración-respuesta mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste) y se calcularon los valores de IC₅₀ para cada compuesto.

Ensayo del receptor de fase sólida para determinar la función de αvβ5. Se agregó vitronectina humana recombinante (R&D Systems, 2308-VN) a 0,25 µg/ml en amortiguador de TBS+ (25 mM de Tris 7,4, 137 mM de NaCl, 2,7 mM de KCl, 1mM de CaCl₂, 1 mM de MgCl₂, 1 mM de MnCl₂) a los pocillos (50 µL/pocillo) de una placa de 96 pocillos de microtitulación transparente de medio pocillo (Greiner 675061) y se incubó durante la noche a 4°C. Se lavaron los pocillos 3 veces con 150 µL de TBS+ y se agregaron 150 µl de amortiguador de bloqueo (TBS+ con albúmina de suero bovino al 1 %, Sigma A7906). La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y luego se lavó 3× con amortiguador de TBS+. Se diluyó integrina humana recombinante αvβ5 (R&D Systems, 2528-AV) hasta 0,1 µg/ml en TBS+/albúmina de suero bovino al 0,1 %. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y luego se agregaron 50 µL a los pocillos vacíos de la placa lavada recubierta con vitronectina de acuerdo con una plantilla estándar, cada muestra se repitió tres veces. Después de la incubación durante dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3× con 150 µL de amortiguador de TBS+. A cada pocillo, se agregaron 50 µL de anticuerpo anti-αv biotinilado (R&D Systems, BAF1219) a 0,5 µg/ml en TBS+/BSA al 0,1 % a 0,5 µg/ml y la placa se cubrió e incubó durante 1 h a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3× con 150 µL de amortiguador de TBS+, se agregaron 50 µL de peroxidasa de rábano picante conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluido en amortiguador de bloqueo TBS+ a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Se lavó la placa 3× con amortiguador de TBS+ seguido por adición de 50 µL de sustrato de TMB (Sigma, T4444) a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La reacción se detuvo opcionalmente con 25 µL de solución de detención (Sigma S5689). Se leyeron las placas mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Se construyeron las curvas de concentración-respuesta mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste) y se calcularon los valores de IC₅₀ para cada compuesto.

Ensayo del receptor de fase sólida para determinar la función de αvβ6. Se agregó LAP humana recombinante (R&D Systems, 246-LP) diluida hasta 0,25 µg/ml en amortiguador de TBS+ (25 mM de Tris 7,4, 137 mM de NaCl, 2,7 mM de KCl, 1 mM de CaCl₂, 1 mM de MgCl₂, 1 mM de MnCl₂) a los pocillos (50 µL/pocillo) de una placa de 96 pocillos de microtitulación transparente de medio pocillo (Greiner 675061) y se incubó durante la noche a 4°C. Se lavaron los pocillos 3 veces con 150 µL de TBS+ y se agregaron 150 µl de amortiguador de bloqueo (TBS+ con albúmina de suero bovino al 1 %, Sigma A7906). La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y luego se lavó 3× con amortiguador de TBS+. Se diluyó integrina humana recombinante αvβ6 (R&D Systems, 3817-AV) hasta 0,1 µg/ml en TBS+/albúmina de suero bovino al 0,1 %. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y luego se agregaron 50 µL a los pocillos vacíos de la placa lavada recubierta con LAP de acuerdo con una plantilla estándar, cada muestra se repitió tres veces. Después de la incubación durante dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3× con 150 µL de amortiguador de TBS+. A cada pocillo, se agregaron 50 µL de anticuerpo anti-αv biotinilado (R&D Systems, BAF1219) a 0,5 µg/ml en TBS+/BSA al 0,1 % y la placa se cubrió e incubó durante 1 h a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3× con 150 µL de amortiguador de TBS+, se agregaron 50 µL de peroxidasa de rábano picante conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en amortiguador de bloqueo TBS+ a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Se lavó la placa 3× con amortiguador de TBS+ seguido por adición de 50 µL de sustrato de TMB (Sigma, T4444) a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La reacción se detuvo opcionalmente con 25 µL de solución de detención (Sigma S5689). Se leyeron las placas mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Se construyeron las curvas de concentración-respuesta mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste) y se calcularon los valores de IC₅₀ para cada compuesto.

Ensayo del receptor de fase sólida para determinar la función de αvβ8. Se agregó proteína LAP humana recombinante (R&D Systems, 246-LP) diluida hasta 0,5 µg/ml en amortiguador de TBS+ (25 mM de Tris 7,4, 137 mM de NaCl, 2,7 mM de KCl, 1mM de CaCl₂, 1 mM de MgCl₂, 1 mM de MnCl₂) a los pocillos (50 µL/pocillo) de una placa de 96 pocillos de microtitulación transparente de medio pocillo (Greiner 675061) y se incubó durante la noche a 4°C. Se lavaron los pocillos 3 veces con 150 µL de TBS+ y se agregaron 150 µl de amortiguador de bloqueo (TBS+ con

albúmina de suero bovino al 1 %, Sigma A7906). La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y luego se lavó 3× con TBS+. Se diluyó integrina humana recombinante $\alpha\beta 8$ (R&D Systems, 4135-AV) hasta 0,1 $\mu\text{g/ml}$ en TBS+/albúmina de suero bovino al 0,1 %. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y luego se agregaron 50 μL a los pocillos vacíos de la placa lavada recubierta con LAP de acuerdo con una plantilla estándar, cada muestra se repitió tres veces. Después de la incubación durante dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3× con 150 μL de TBS+. A cada pocillo, se agregaron 50 μL de anticuerpo anti- αv biotinilado (R&D Systems, BAF1219) a 1 $\mu\text{g/ml}$ en TBS+/BSA al 0,1 % y la placa se cubrió e incubó durante 1 h a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3× con 150 μL de amortiguador de TBS+, se agregaron 50 μL de peroxidasa de rábano picante conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en amortiguador de bloqueo de TBS+ a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Se lavó la placa 3× con TBS+ seguido por adición de 50 μL de sustrato de TMB (Sigma, T4444) a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La reacción se detuvo opcionalmente con 25 μL de solución de detención (Sigma S5689). Se leyeron las placas mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Se construyeron las curvas de concentración-respuesta mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste) y se calcularon los valores de IC_{50} para cada compuesto.

Tabla 2 – Resultados del ensayo biológico

| Ejemplo | $\alpha\beta 1$ SPRA CI50 (nM) | $\alpha\beta 1$ SPRA CIC50 (nM) | $\alpha\beta 3$ SPRA CIC50 (nM) | $\alpha\beta 5$ SPRA CI50 (nM) | $\alpha\beta 6$ SPRA CI50 (nM) | $\alpha\beta 8$ SPRA CI50 (nM) |
|---------|-----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| 1 | 0,5 | 2,1 | 5,1 | 47 | 0,4 | 0,1 |
| 2 | 0,5 | 2,2 | 1,8 | 1,0 | 0,7 | 0,1 |
| 3 | 0,3 | 2,2 | 2,0 | 0,7 | 0,7 | 0,4 |
| 4 | 0,7 | 1,7 | 2,3 | 0,4 | 0,5 | 0,6 |
| 5 | 0,6 | 3,2 | 2,6 | 1,6 | 0,6 | 0,2 |
| 6 | 1,0 | 4,7 | 3,5 | 2,2 | 0,5 | 0,3 |
| 7 | 0,7 | 2,7 | 1,3 | 0,5 | 0,2 | 0,1 |
| 8 | 0,4 | 3,0 | 1,5 | 0,5 | 0,5 | 0,1 |
| 9 | 0,5 | 2,4 | 2,9 | 1,2 | 0,5 | 0,1 |
| 10 | 0,5 | 2,1 | 172 | 71 | 1,2 | 0,2 |
| 11 | 0,3 | 2,8 | 3,4 | 0,7 | 0,5 | 0,2 |
| 12 | 0,3 | 2,0 | 2,8 | 0,2 | 0,4 | 0,2 |
| 13 | 0,9 | 4,0 | 1,8 | 0,3 | 0,6 | 0,6 |
| 14 | 0,2 | 2,4 | 1,7 | 0,3 | 0,4 | 0,3 |
| 15 | 0,4 | 2,9 | 3,3 | 0,4 | 0,4 | 0,3 |
| 16 | 0,5 | 3,3 | 1,7 | 0,6 | 0,5 | 0,4 |
| 17 | 0,4 | 3,0 | 4,0 | 0,5 | 0,5 | 0,4 |
| 18 | 0,4 | 3,4 | 14,5 | 21 | 0,6 | 0,3 |
| 19 | 0,4 | 4,1 | 8,8 | 21 | 0,7 | 0,4 |
| 20 | 2,4 | 4,9 | 3,7 | 0,5 | 1,4 | 0,5 |
| 21 | 0,3 | NA | NA | 0,4 | 0,3 | NA |
| 22 | 0,3 | NA | NA | 0,4 | 0,3 | NA |
| 23 | 0,3 | NA | NA | 0,5 | 0,4 | NA |
| 24 | 0,3 | NA | NA | 0,3 | 0,4 | NA |
| 25 | 0,4 | NA | NA | 1,3 | 0,4 | NA |
| 26 | 0,1 | NA | NA | 0,5 | 0,1 | NA |

NA = No analizado

Referencias

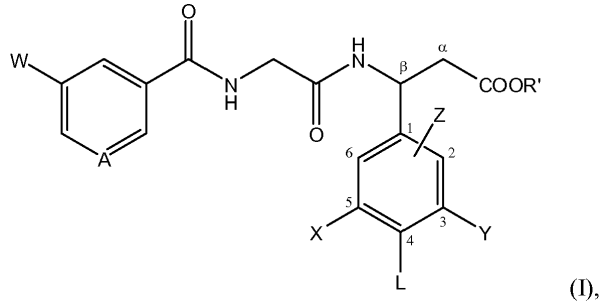
- Patente de Estados Unidos 5.840.961
 Patente de Estados Unidos 6.013.651
 Patente de Estados Unidos 6.028.223
 Patente de Estados Unidos 6.414.180
 Documento WO 2010/104933
 Documento WO 2008/018827
 Documento WO 2012/027322
 Documento WO 2010/010184
 Documento WO 2010/025927
 Adachi *et al.*, *Clin. Cancer Res.*, 6(1):96-101, 2000.
 Asano *et al.*, *J. Immunol.*, 175(11):7708-7718, 2005.
 Avraamides *et al.*, *Nat. Rev. Cancer*, 8(8):604-617, 2008.
 Awasthi *et al.*, *J. Org. Chem.*, 70:5387-5397, 2005.
 Babadzhanova, *et al.*, *Tetrahedron*, 61(7):1813-1819, 2005.
 Bax *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 278(36):34605-34616, 2003.

- Becker *et al.*, *Tetrahedron*, 39:4189-4192, 1983.
 Bhaskar *et al.*, *J. Transl. Med.*, 5:61, 2007.
 Blase *et al.*, *Int. J. Cancer*, 60(6):860-866, 1995.
 5 Clark, *et al.*, *Organic Process Research & Development*, 8:51-61, 2004.
 Clark, *et al.*, *Organic Process Research & Development*, 8:571-575, 2004.
 Collo, *J. Cell Sci.*, 112(Pt 4):569-578, 1999.
 Danen *et al.*, *Histopathology*, 24(3):249-256, 1994.
 Edward, *Curr. Opin. Oncol.*, 7(2):185-191, 1995.
 Engleman *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 99(9):2284-2292, 1997.
 10 Faulconbridge *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 41:2679-2681, 2000.
 Ferrari *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(46):17260-17265, 2006.
 Gao y Brigstock, *Gut*, 55:856-862, 2006.
 Girsch *et al.*, *J. Med. Chem.*, 50:1658-1667, 2007.
 Girsch *et al.*, *J. Med. Chem.*, 51:6752-6760, 2008.
 15 Greene y Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3^o Ed., John Wiley, 1999.
Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use, Stahl y Wermuth (Eds.), Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002.
 Herlt, *et al.*, *Austr. J. Chem.*, 34(6):1319-1324, 1981.
 Horan *et al.*, *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 177(1):56-65, 2008.
 20 Huang, *et al.*, *Synlett*, 15:2518-2520, 2009.
 Jørgensen, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 124(42):12557-12565, 2002.
 Kim *et al.*, *Am. J. Pathol.*, 156(4):1345-1362, 2000.
 Kurahashi *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 133(21):8307-8316, 2011.
 Landis *et al.*, *Organic Process Research & Development*, 6:539-546, 2002.
 25 Li *et al.*, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 50(12):5988-5996, 2009.
 Livant *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 105(11):1537-1545, 2000.
 Lobert *et al.*, *Dev. Cell*, 19(1):148-159, 2010.
March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 2007.
 Melton *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 120(12):4436-4444, 2010.
 30 Millard *et al.*, *Theranostics*, 1:154-88, 2011.
 Mu *et al.*, *Cell Biol.*, 157(3):493-507, 2002.
 Munger *et al.*, *Cell*, 96(3):319-328, 1999.
 Munger *et al.*, *Mol. Biol. Cell*, 9:2627-2638, 1998.
 Nandrot *et al.*, *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 290(4):C1256-1262, 2006.
 35 Nishimura, *Am. J. Pathol.*, 175(4):1362-1370, 2009.
 Nomura *et al.*, *Chemistry - A Europ. J.*, 13(16):4433-4451, 2007.
 Perdihi, *Curr. Med. Chem.*, 17(22):2371-2392, 2010.
 Popov *et al.*, *J. Hepatol.*, 48(3):453-464, 2008.
 Reagan-Shaw *et al.*, *FASEB J.*, 22(3):659-661, 2008
 40 Rico, *Tett. Lett.*, 35:6599-6602, 1994.
 Scotton *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 119(9):2550-2563, 2009.
 Suehiro *et al.*, *J. Biochem.*, 128(4):705-710, 2000.
 Tanaka y Shishido, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 17(22):6079-6085, 2007
 Textbook of Practical Organic Chemistry de Vogel, 5^o Ed., p:1040, 1989.
 45 Wan, *et al.*, *J. Org. Chem.*, 76(17):7048-7055, 2011.
 Wipff *et al.*, *J. Cell Biol.*, 179(6):1311-1323, 2007.
 Wu, *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 127(45):15824-15832, 2005.
 Yang *et al.*, *Development*, 119(4):1093-1105, 1993.
 Yoshimura, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 350:127-147, 2011.
 50 Zahn *et al.*, *Arch. Ophthalmol.*, 127(10):1329-1335, 2009.
 Zahn *et al.*, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 51(2):1028-1035, 2010

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula

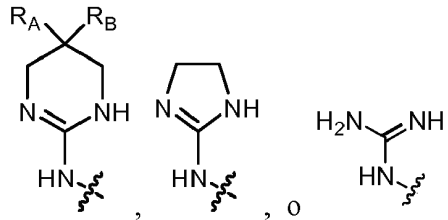
5



en la que:

10

W es



15 en la que:

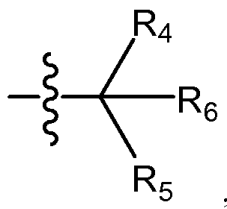
RA es -H o -F; y
RB es -H, -OH o -F, donde si RA es -F, RB es -H o -F;

20 A es C-R" o N, en donde:

R" es -H u -OH;

25 R' es -H;

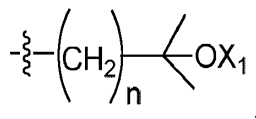
X es:
halo, t-butilo, CF₃, CF₂H o ciano;



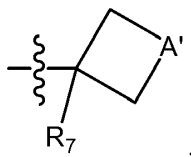
30 en la que

R₄ y R₅ son cada uno independientemente alquil_(C≤8), o alquil_(C≤8) sustituido, donde uno o más átomos de hidrógeno se han sustituido independientemente con OH, -F, -Cl, -Br, -I, -NH₂, -NO₂, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CN, -SH, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -C(O)CH₃, -N(CH₃)₂, -C(O)NH₂, -OC(O)CH₃ or -S(O)₂NH₂ ;

35 R₆ es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CH₂F, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH o alcoxi_(C≤8), con la condición de que cuando R₄ y R₅ son cada uno -CF₃, entonces R₆ sea -OH;

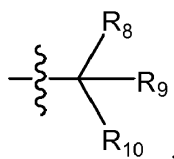


en la que n es 1 o 2 y X₁ es -H; o



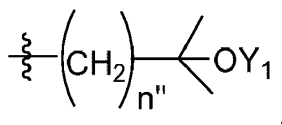
5 en la que:
A' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, alcanodiil_(C≤6) o alcoxiil_(C≤8); y
R₇ es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H o alcoxi_(C≤8);

10 Y es: t-butilo;

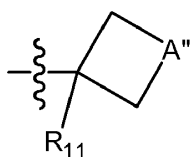


en la que

15 R₈ y R₉ son cada uno independientemente alquil_(C≤8), o alquil_(C≤8) sustituido, donde uno o más átomos de
hidrógeno se han sustituido independientemente con -OH, -F, -Cl, -Br, -I, -NH₂, -NO₂, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CN, -SH,
-OCH₃, -OCH₂CH₃, -C(O)CH₃, -N(CH₃)₂, -C(O)NH₂, -OC(O)CH₃, or -S(O)₂NH₂;
20 R₁₀ es -OH, -CN, -NH₂, -CF₃, -CF₂H, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CH₂OH o alcoxi_(C≤8), con la
condición de que cuando R₈ y R₉ son cada uno -CF₃, entonces R₁₀ sea -OH;



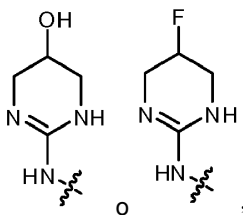
en la que n'' es 1 o 2 e Y₁ es -H; o



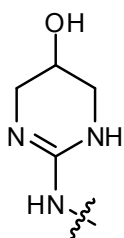
25 en la que:
A'' es un enlace covalente, y forma así un anillo de ciclopropano, alcanodiil_(C≤6) o alcoxiil_(C≤8); y
R₁₁ es -OH, -CN, -NH₂, -CO₂H, -CO₂-alquil_(C≤8), -C(=O)NH₂, -CF₃, -CF₂H o alcoxi_(C≤8);

30 L es hidrógeno; y
Z es hidrógeno o hidroxilo y se encuentra unido al átomo de carbono 2 o 6;

con la condición de que si W es



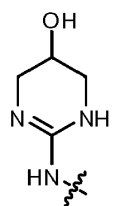
35 entonces X e Y no sean ambos t-butilo; y con la condición adicional de que si W es



A es C-OH, Z es hidrógeno y X es bromo o yodo, entonces Y no sea *t*-butilo; o una sal o un tautómero farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5

2. El compuesto de la reivindicación 1, donde W es:



10 3. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, en el que A es C-OH.

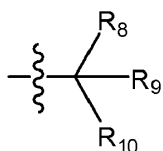
4. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que X es halo.

15 5. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que X es alquilo_(C≤8) o alquilo_(C≤8) sustituido, en donde uno o más átomos de hidrógeno se han sustituido independientemente con -OH, -F, -Cl, -Br, -I, -NH₂, -NO₂, -CO₂H, -CO₂CH₃, -CN, -SH, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -C(O)CH₃, -N(CH₃)₂, -C(O)NH₂, -OC(O)CH₃ o -S(O)₂NH₂.

20 6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que Y es *t*-butilo.

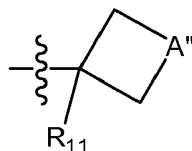
7. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que Y es 2-hidroxi-isopropilo.

8. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que Y es



25

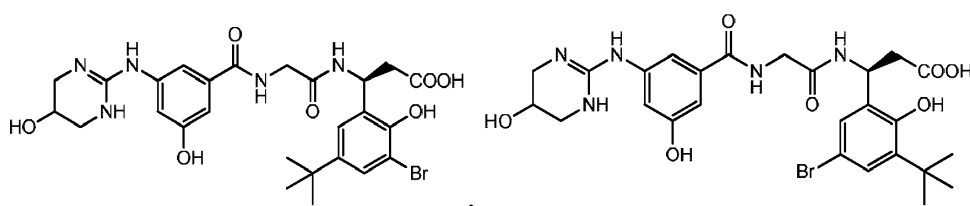
9. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que Y es

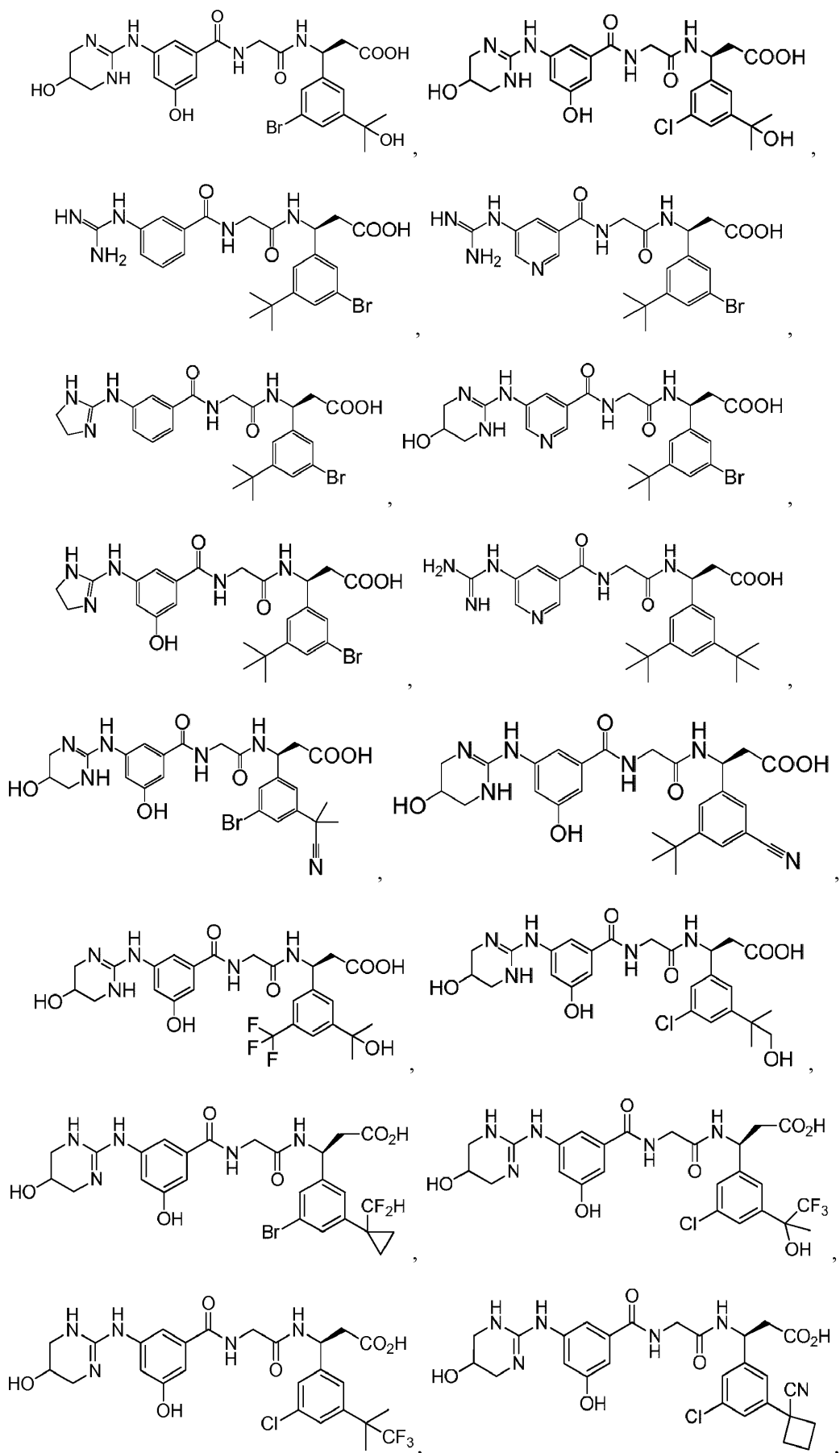


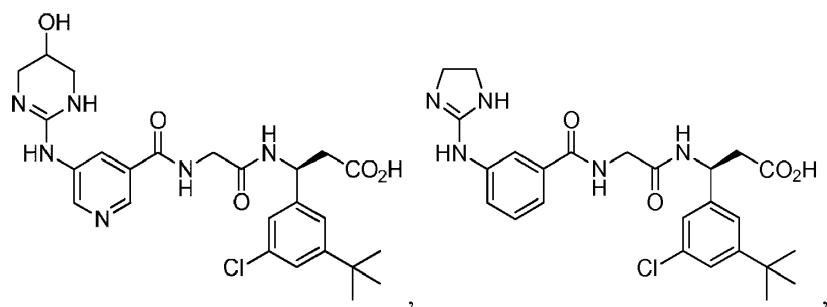
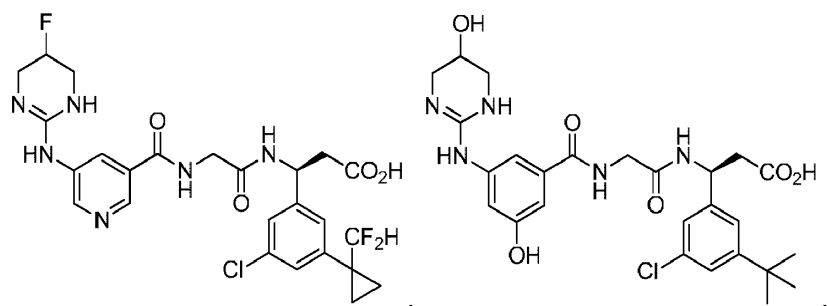
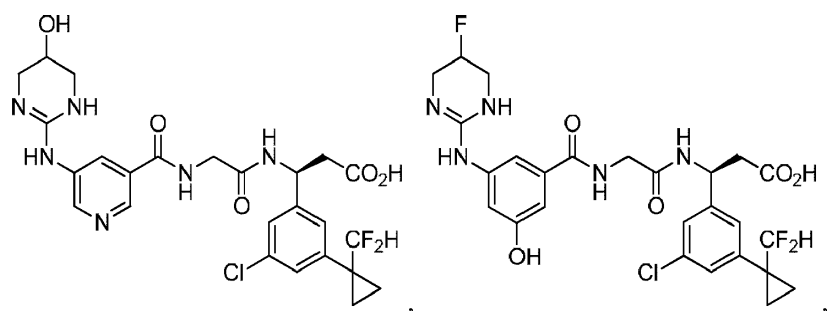
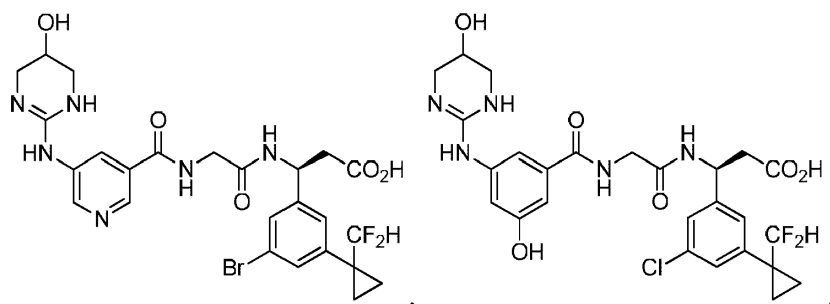
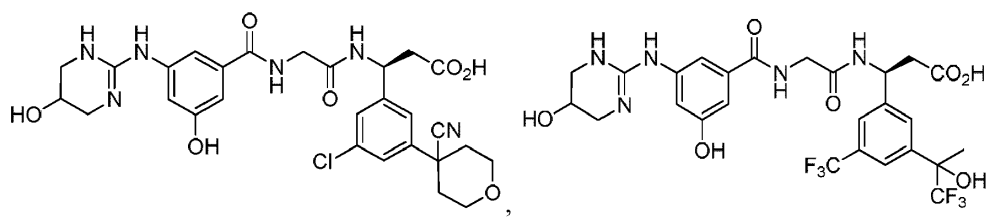
30

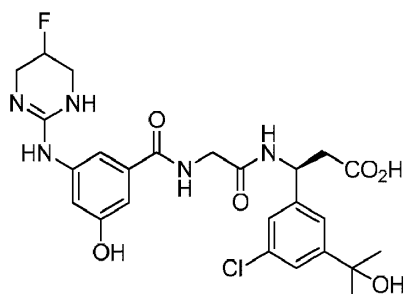
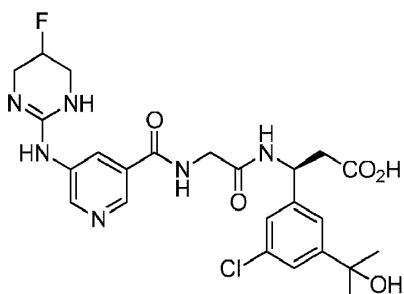
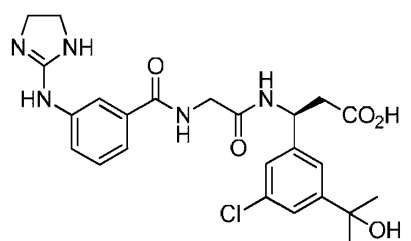
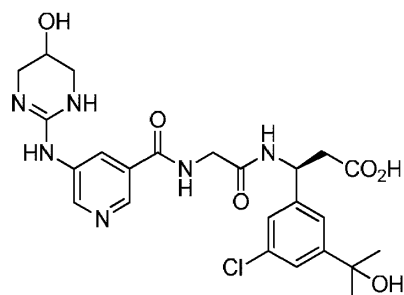
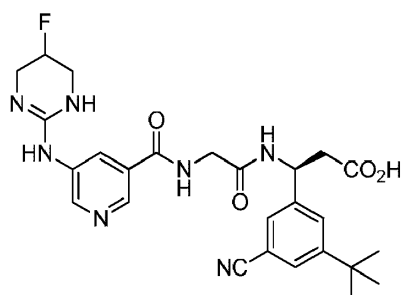
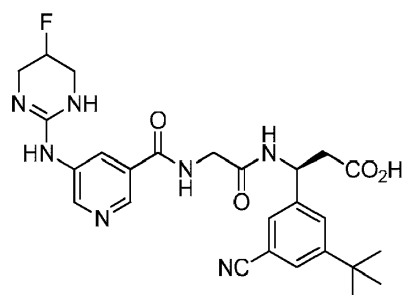
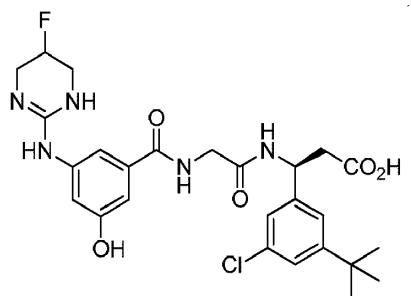
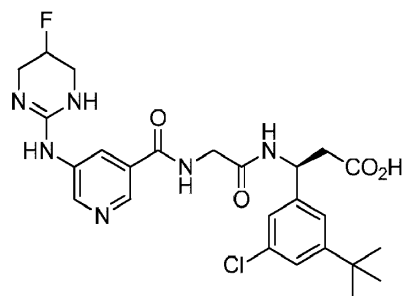
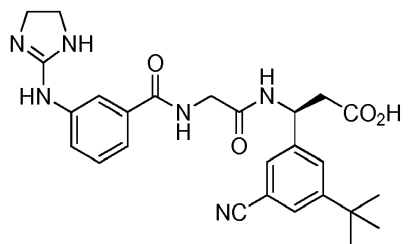
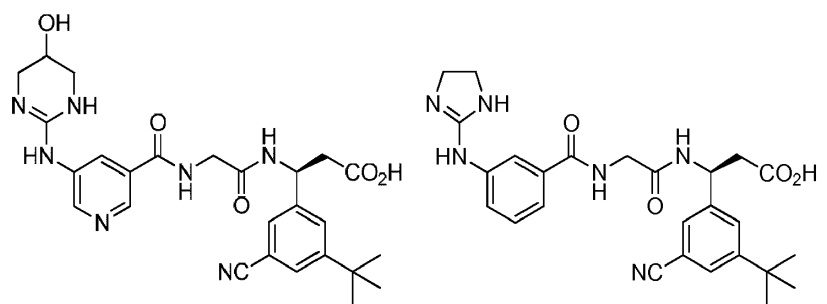
10. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que Z es hidrógeno.

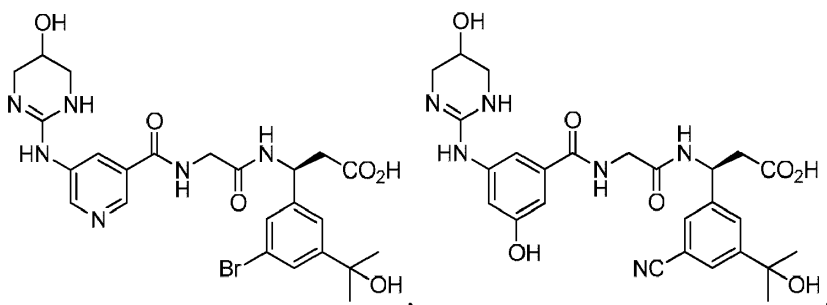
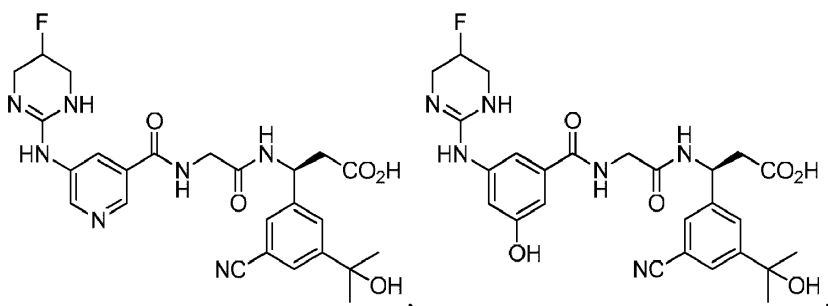
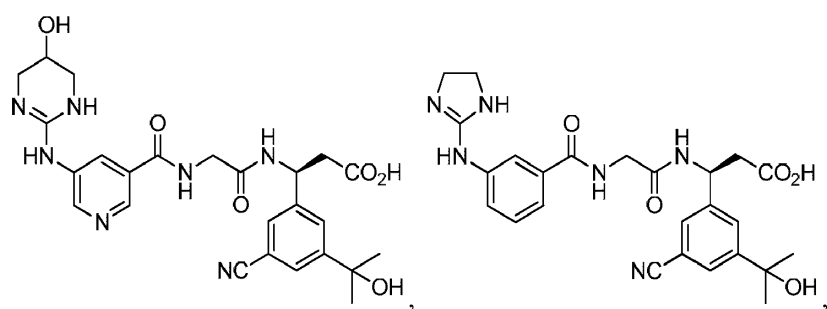
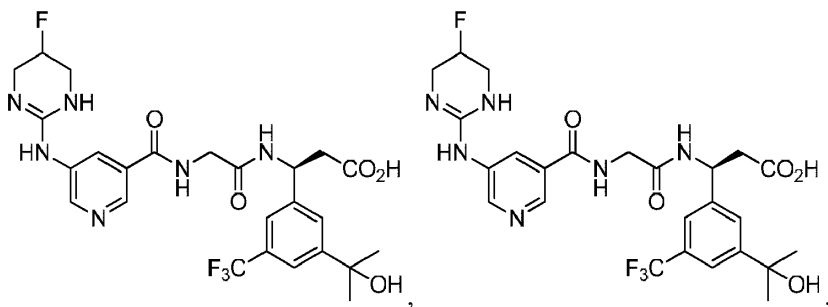
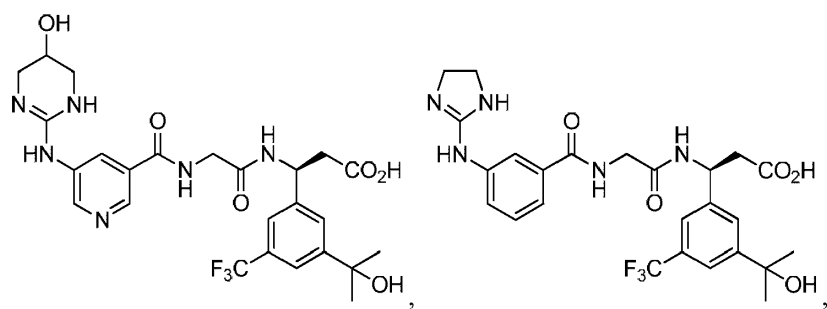
11. El compuesto de la reivindicación 1, que se define adicionalmente como:

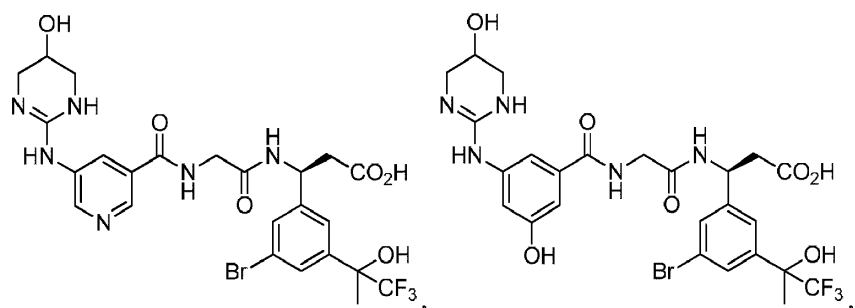
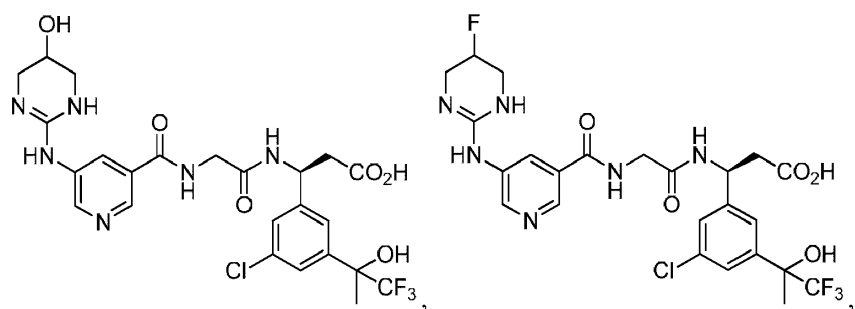
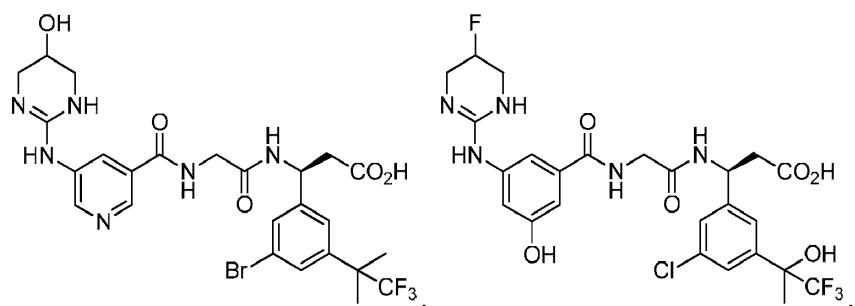
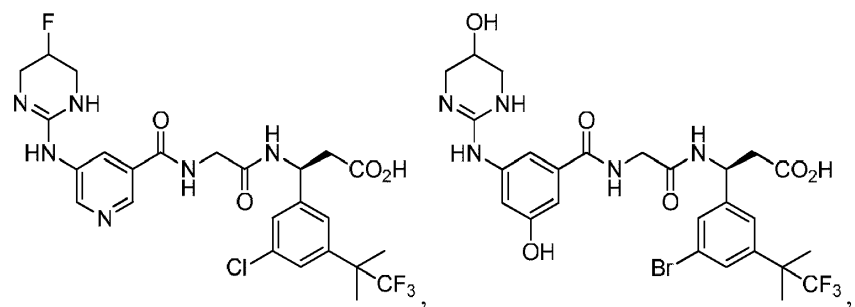
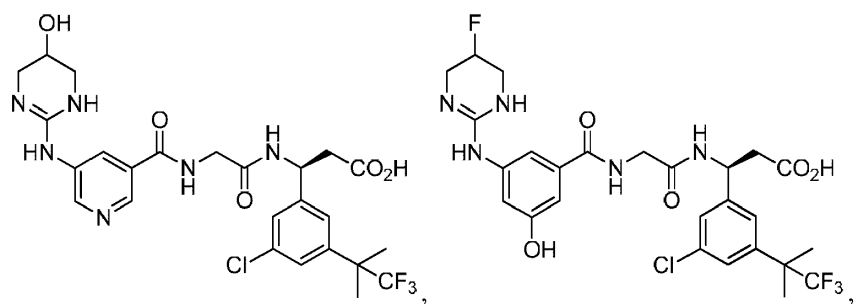


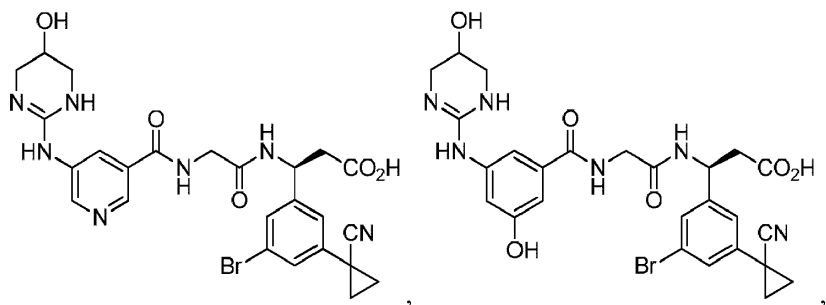
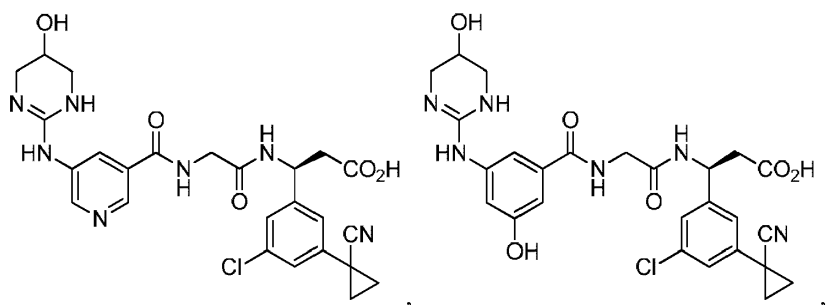
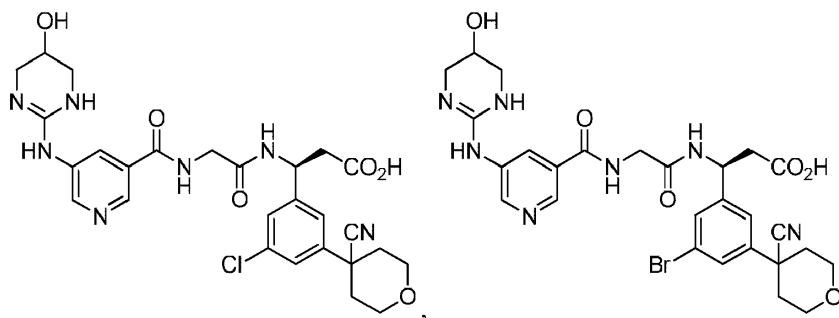
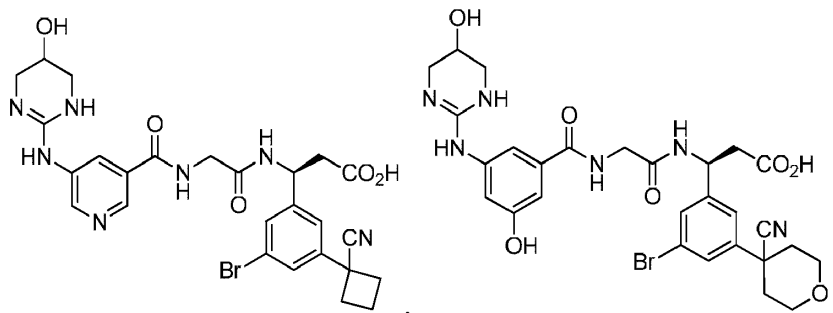
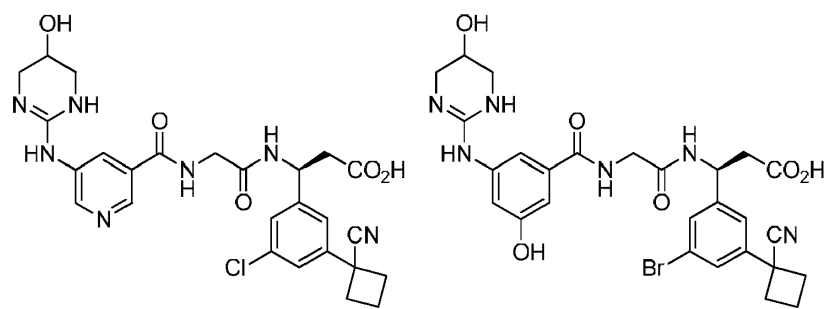


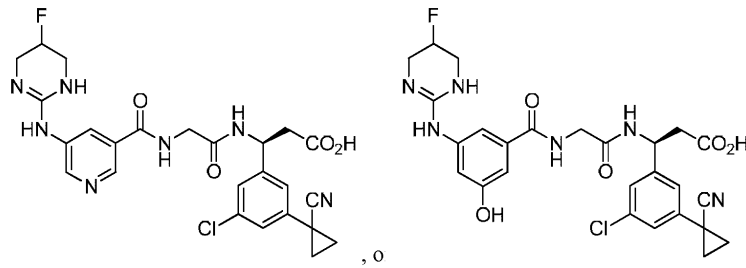
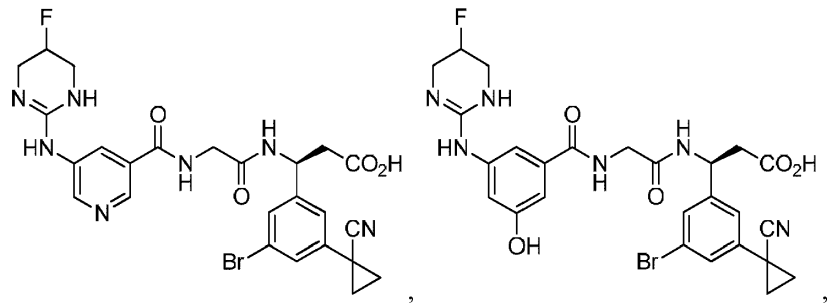






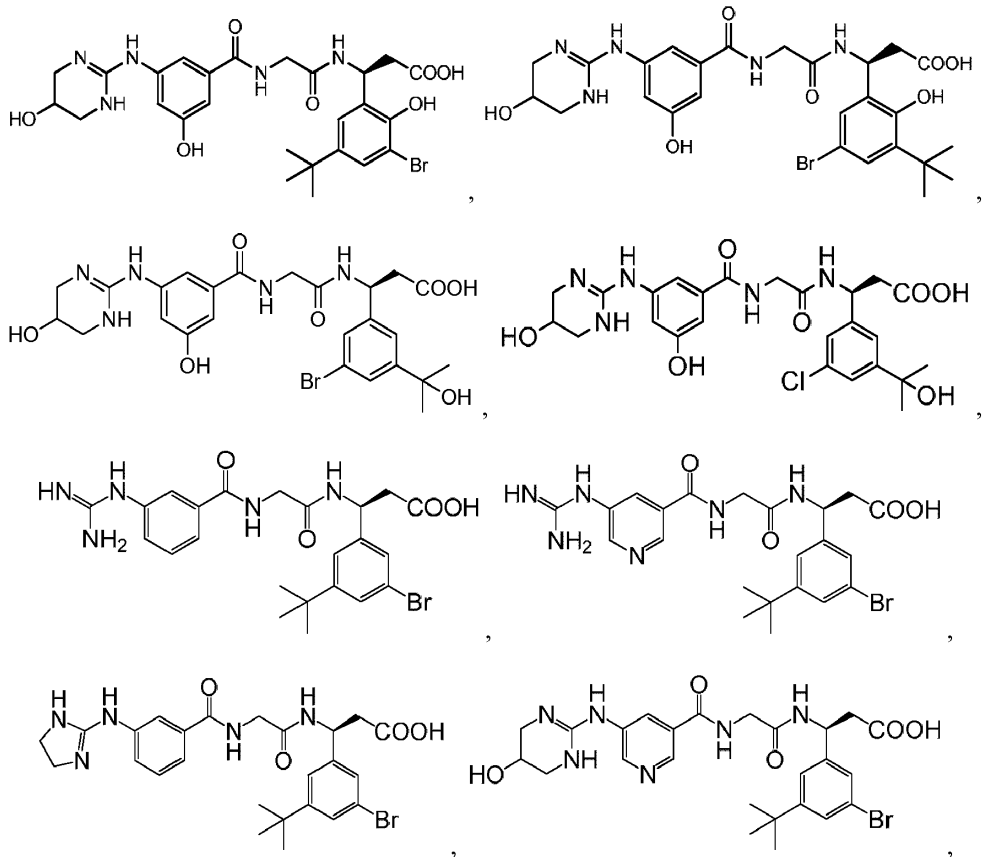


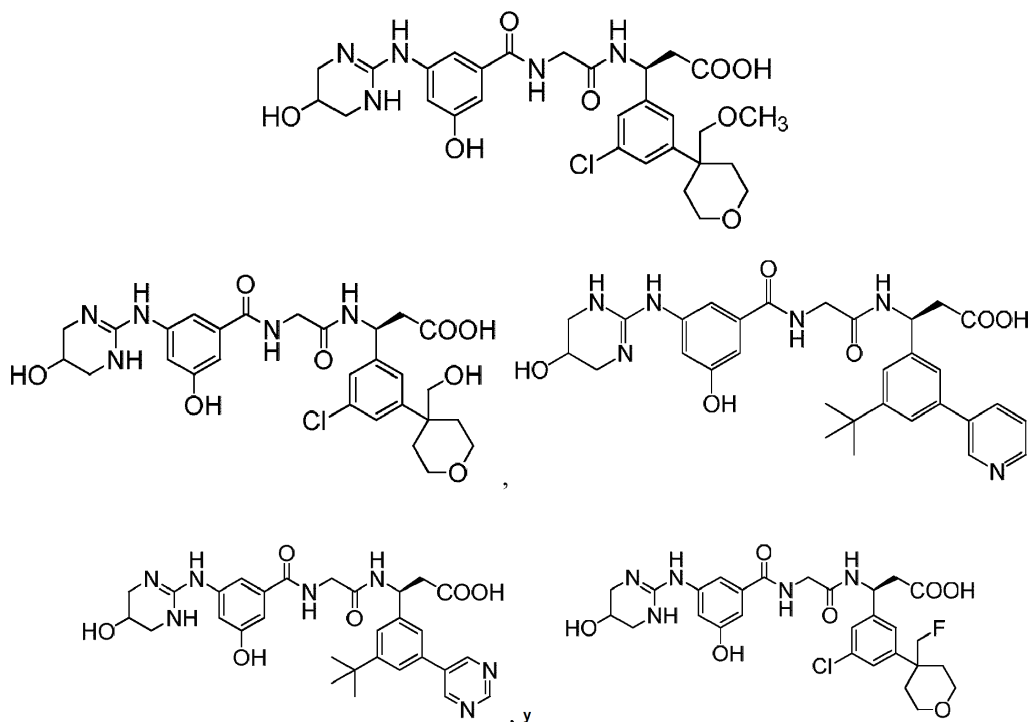




o una sal o un tautómero farmacéuticamente aceptables del mismo.

12. El compuesto de la reivindicación 1, que además se define como:





o una sal o un tautómero farmacéuticamente aceptables del mismo.

14. Una composición farmacéutica que comprende:

- a) el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13; y
- b) un excipiente.

15. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14 para su uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o un trastorno, en donde la enfermedad o el trastorno se seleccionan del grupo que consiste en fibrosis pulmonar, hepática, renal, cardíaca y pancreática, esclerodermia, cicatrización, retinopatía del prematuro, vitreoretinopatía exudativa familiar, vitreoretinopatías proliferativas, degeneración macular, retinopatía diabética, cáncer, osteoporosis, enfermedades autoinmunes, hipercalcemia humoral de neoplasias malignas, enfermedad de Paget, enfermedad periodontal, psoriasis, artritis, reestenosis e infección.