

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 657 701**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/444 (2006.01)

A61K 31/4375 (2006.01)

A61P 27/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **14.10.2010 PCT/EP2010/065439**

87 Fecha y número de publicación internacional: **21.04.2011 WO11045383**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.10.2010 E 10776598 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.12.2017 EP 2488513**

54 Título: **Compuestos de 2,6-diaminopiridina adecuados para tratar enfermedades asociadas con proteínas amiloides o para tratar enfermedades oculares**

30 Prioridad:

15.10.2009 EP 09173184

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

06.03.2018

73 Titular/es:

**AC IMMUNE S.A. (100.0%)
EPFL-PSE Building B
1015 Lausanne, CH**

72 Inventor/es:

**KROTH, HEIKO;
FROESTL, WOLFGANG;
PFEIFER, ANDREA y
MUHS, ANDREAS**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

Observaciones:

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

ES 2 657 701 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de 2,6-diaminopiridina adecuados para tratar enfermedades asociadas con proteínas amiloides o para tratar enfermedades oculares

Compendio de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevos compuestos que pueden emplearse en el tratamiento de un grupo de trastornos y anomalías asociados con la proteína amiloide, en particular, trastornos oculares tales como glaucoma o degeneración macular asociada a la edad (DMAE), y de enfermedades o afecciones asociadas con las proteínas de tipo amiloide. La presente invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y al uso de estos compuestos para la preparación de medicamentos para el tratamiento de
10 enfermedades o afecciones asociadas con las proteínas amiloides o de tipo amiloide. También se describe un método de tratamiento de enfermedades o afecciones asociadas con las proteínas amiloides o de tipo amiloide.

Los compuestos de la presente invención también se pueden usar en el tratamiento o la prevención de enfermedades oculares asociadas con anomalías/cambios patológicos en los tejidos del sistema visual, en particular, asociadas con anomalías/cambios patológicos relacionados con el beta-amiloide en los tejidos del sistema
15 visual, tales como la degradación neuronal. Dichas anomalías patológicas pueden ocurrir, por ejemplo, en diferentes tejidos del ojo, tales como la corteza visual, que conducen a déficits visuales corticales; la cámara anterior y el nervio óptico, que conducen al glaucoma; el cristalino, que conducen a la catarata debido a la deposición de beta-amiloide; el vítreo, que conducen a amiloidosis ocular; la retina, que conducen a la degeneración retiniana primaria y la degeneración macular, por ejemplo, la degeneración macular relacionada con la edad; el nervio óptico, que conducen a drusas del nervio óptico, neuropatía óptica y neuritis óptica; y la córnea, que conducen a la distrofia reticular.
20

Campo técnico

Muchas enfermedades del envejecimiento se basan o se relacionan con las proteínas amiloides o las proteínas de tipo amiloide, y se caracterizan, en parte, por la acumulación de depósitos extracelulares de material amiloide o de tipo amiloide, que contribuye a la patogénesis, así como a la progresión de la enfermedad.
25

Esas enfermedades neurodegenerativas incluyen tanto trastornos del sistema nervioso central como trastornos del sistema nervioso periférico, en particular, trastornos oculares.

Dichos trastornos incluyen, pero no se limitan a, trastornos neurológicos tales como la enfermedad de Alzheimer (EA), enfermedades o afecciones caracterizadas por una pérdida de la capacidad de la memoria cognitiva, tales como, por ejemplo, deterioro cognitivo leve (DCL), demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis (de tipo holandés); el complejo Guam Parkinson-Demencia. Otros trastornos que se basan en o están asociados con las proteínas amiloides son la parálisis supranuclear progresiva, la esclerosis múltiple; la enfermedad de Creutzfeldt Jacob, la enfermedad de Parkinson, demencia relacionada con el VIH, ELA (esclerosis lateral amiotrófica), miositis por cuerpos de inclusión (IBM), diabetes de inicio en adultos; amiloidosis cardíaca senil; tumores endocrinos y otras enfermedades, incluyendo las enfermedades oculares asociadas con el amiloide que se dirigen a diferentes tejidos del ojo, tales como la corteza visual, incluyendo los déficits visuales corticales; la cámara anterior y el nervio óptico, incluyendo el glaucoma; el cristalino, incluyendo las cataratas debidas a la deposición de beta-amiloide; el vítreo, incluyendo las amiloidosis oculares; la retina, incluyendo las degeneraciones retinianas primarias y la degeneración macular, en particular, la degeneración macular relacionada con la edad; el nervio óptico, incluyendo las drusas del nervio óptico, la neuropatía óptica y la neuritis óptica; y la córnea, incluyendo la distrofia reticular.
30
35
40

El beta-amiloide (A β) es el principal constituyente de las placas seniles en la enfermedad de Alzheimer (EA). Esas placas son causadas por el procesamiento anormal de la proteína precursora del amiloide (APP), y han estado implicadas en la neuropatía de la EA. Recientemente, el A β también se ha visto implicado en el desarrollo de trastornos oculares tales como el glaucoma, a través de la apoptosis de las células ganglionares de la retina (RGC).
45

El vínculo entre el glaucoma y EA se demostró en varios estudios con pacientes de EA que también mostraban pérdida de RGC asociada con cambios glaucomatosos típicos, tales como la neuropatía óptica y el deterioro de la función visual.

El glaucoma es un grupo de enfermedades del nervio óptico que implican la pérdida de células ganglionares de la retina (RGC) en un patrón característico de neuropatía óptica. El glaucoma a menudo, pero no siempre, viene acompañado de un aumento de la presión ocular, que puede ser el resultado del bloqueo de la circulación del fluido acuoso o su drenaje.
50

Aunque la presión intraocular elevada es un factor de riesgo significativo para desarrollar glaucoma, no se puede definir un umbral de presión intraocular que sea determinante para causar glaucoma.

55 El daño también puede estar causado por el suministro deficiente de sangre a las fibras vitales del nervio óptico, una debilidad en la estructura del nervio y/o un problema en la salud de las propias fibras nerviosas.

El glaucoma no tratado conduce al daño permanente del nervio óptico y a la pérdida resultante del campo visual, que puede progresar a la ceguera.

Las RGC son las células nerviosas que transmiten señales visuales del ojo al cerebro. La caspasa-3 y la caspasa-8, dos enzimas principales en el proceso apoptótico, se activan en el proceso que conduce a la apoptosis de las RGC. La caspasa-3 escinde la proteína precursora amiloide (APP) para producir fragmentos neurotóxicos, incluyendo el amiloide β . Sin el efecto protector de la APP, la acumulación de amiloide β en la capa de células ganglionares de la retina produce la muerte de las CGR y la pérdida irreversible de la visión.

Los diferentes tipos de glaucomas se clasifican como glaucomas de ángulo abierto, si la afección es crónica, o glaucomas de ángulo cerrado, si el glaucoma agudo se produce repentinamente. En general, el glaucoma afecta a ambos ojos, pero la enfermedad puede progresar más rápidamente en un ojo que en el otro.

El glaucoma crónico de ángulo abierto (GCAA), también conocido como glaucoma primario de ángulo abierto (GPAA), es el tipo más común de glaucoma. El GCAA está causado por un bloqueo microscópico en la red trabecular, que disminuye el drenaje del flujo de salida acuoso en el canal de Schlemm y aumenta la presión intraocular (PIO). El GPAA normalmente afecta a ambos ojos y está enormemente asociado con la edad y con un historial familiar positivo. Su frecuencia aumenta en las personas mayores, ya que el mecanismo de drenaje ocular puede obstruirse gradualmente con el envejecimiento. El aumento de la presión intraocular en sujetos afectados por glaucoma crónico de ángulo abierto no viene acompañado de ningún síntoma hasta que se siente la pérdida en la zona visual central.

El glaucoma agudo de ángulo cerrado (GAAC) o glaucoma de ángulo cerrado es un tipo de glaucoma relativamente raro que se caracteriza por un aumento repentino de la presión intraocular de 35 a 80 mm Hg, lo que produce dolor intenso y pérdida irreversible de la visión. El aumento repentino de presión se debe al cierre del ángulo de filtración y al bloqueo de los canales de drenaje. Las personas con ángulos estrechos tienen un mayor riesgo de padecer un cierre repentino del ángulo. En general, el GAAC ocurre monocularmente, pero el riesgo existe en ambos ojos. La edad, las cataratas y la pseudoexfoliación también son factores de riesgo, ya que están asociados con la ampliación del cristalino y el apiñamiento o el estrechamiento del ángulo. Un ataque repentino de glaucoma puede estar asociado con dolor grave en los ojos y dolor de cabeza, ojos inflamados, náuseas, vómitos y visión borrosa.

El glaucoma de mecanismo mixto o combinado es una mezcla o combinación de glaucoma de ángulo abierto y cerrado. Afecta a pacientes con GAC agudo cuyo ángulo se abre tras una iridotomía con láser, pero que siguen necesitando medicamentos para el control de la PIO, así como a pacientes con GPAA o glaucoma pseudoexfoliativo que desarrollan gradualmente una reducción del ángulo.

El glaucoma de tensión normal (GTN), también conocido como glaucoma de baja tensión (GBT), se caracteriza por un daño progresivo del nervio óptico y una pérdida de visión periférica similar a la observada en otros tipos de glaucoma; sin embargo, la presión intraocular es el intervalo normal o incluso por debajo del normal.

El glaucoma congénito (infantil) es un tipo heredado relativamente raro de glaucoma de ángulo abierto. El desarrollo insuficiente de la superficie de drenaje produce un aumento de la presión en el ojo que puede conducir a la pérdida de visión debido al daño del nervio óptico y al aumento del ojo. El diagnóstico precoz y el tratamiento son fundamentales para preservar la visión en bebés y niños afectados por la enfermedad.

El glaucoma secundario puede deberse a una lesión ocular, inflamación en el iris del ojo (iritis), diabetes, cataratas o uso de esteroides en individuos susceptibles a esteroides. El glaucoma secundario también puede estar asociado con el desprendimiento de retina o la obstrucción o el bloqueo de la vena retiniana.

El glaucoma pigmentario se caracteriza por el desprendimiento de gránulos de pigmento del iris. Los gránulos causan el bloqueo del sistema de drenaje del ojo, lo que lleva a una presión intraocular elevada y al daño del nervio óptico.

El glaucoma exfoliativo (pseudoexfoliación) se caracteriza por depósitos de material escamoso en la cápsula anterior y en el ángulo del ojo. La acumulación del material escamoso bloquea el sistema de drenaje y aumenta la presión ocular.

El diagnóstico del glaucoma se puede realizar usando varias pruebas. La tonometría determina la presión en el ojo al medir el tono o la firmeza de su superficie. Para esta prueba, se dispone de varios tipos de tonómetros, el más común es el tonómetro de aplanación. La paquimetría determina el espesor de la córnea que, a su vez, mide la presión intraocular. La gonioscopia permite examinar el ángulo de filtración y la superficie de drenaje del ojo. La gonioscopia también puede determinar si los vasos sanguíneos anómalos pueden estar bloqueando el drenaje del líquido acuoso fuera del ojo. La oftalmoscopia permite el examen del nervio óptico y puede detectar la caída de la capa de fibras nerviosas o cambios en el disco óptico, o la indentación (ahuecamiento) de esta estructura, que puede deberse al aumento de la presión intraocular o la pérdida axonal. La gonioscopia también es útil para evaluar el daño en el nervio por una deficiencia del flujo sanguíneo o un aumento de la presión intraocular. Las pruebas de campo visual cartografían subjetivamente el campo de visión, lo que puede detectar signos de daño glaucomatoso en el nervio óptico. Esto se representa mediante patrones específicos de pérdida del campo visual. La tomografía de

coherencia ocular, una medida objetiva de la pérdida de la capa de fibras nerviosas, se lleva a cabo observando el espesor de la capa de fibras del nervio óptico (alterada en el glaucoma) mediante un diferencial en la transmisión de la luz a través del tejido axonal dañado.

5 La degeneración macular es una enfermedad ocular común que causa el deterioro de la mácula, que es la zona central de la retina (el tejido fino como el papel de la parte posterior del ojo, donde las células sensibles a la luz envían señales visuales al cerebro). La mácula procesa la visión aguda, clara, "recta hacia adelante". El daño en la mácula provoca el desarrollo de puntos ciegos y visión borrosa o distorsionada. La degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) es una causa importante de discapacidad visual en Estados Unidos y, para las personas mayores de 65 años, es la principal causa de ceguera legal entre los caucásicos. Aproximadamente 1,8 millones de estadounidenses mayores de 40 años tienen DMAE avanzada, y otros 7,3 millones de personas con DMAE intermedia tienen un riesgo sustancial de pérdida de visión. El gobierno estima que para 2020 habrá 2,9 millones de personas con DMAE avanzada. Las víctimas de DMAE se suelen sorprender y frustrar al descubrir lo poco que se sabe acerca de las causas y del tratamiento de esta afección de ceguera.

15 Hay dos formas de degeneración macular: la degeneración macular seca y la degeneración macular húmeda. La forma seca, en la que las células de la mácula comienzan a descomponerse lentamente, se diagnostica en el 85 por ciento de los casos de degeneración macular. Normalmente, ambos ojos se ven afectados por la DMAE seca, aunque un ojo puede perder la visión mientras que el otro ojo no se ve afectado. Las drusas, que son depósitos amarillos formados debajo de la retina, son signos tempranos comunes de la DMAE seca. El riesgo de desarrollar DMAE seca avanzada o DMAE húmeda aumenta a medida que aumenta el número o el tamaño de las drusas. Es posible que la DMAE seca avance y cause pérdida de visión sin convertirse en la forma húmeda de la enfermedad; sin embargo, también es posible que la DMAE seca en etapa temprana cambie repentinamente a la forma húmeda.

20 La forma húmeda, aunque solo representa el 15 por ciento de los casos, da lugar al 90 por ciento de la ceguera y se considera una DMAE avanzada (no hay una etapa temprana o intermedia de DMAE húmeda). La DMAE húmeda siempre está precedida de la forma seca de la enfermedad. A medida que la forma seca empeora, algunas personas comienzan a tener vasos sanguíneos anómalos que crecen detrás de la mácula. Estos vasos son muy frágiles, y emitirán líquido y sangre (de ahí la degeneración macular "húmeda"), causando un daño rápido en la mácula.

25 La forma seca de DMAE al principio suele causar una visión ligeramente borrosa. El centro de visión en particular puede volverse borroso, y esta región crece a medida que la enfermedad progresa. No se notan síntomas si solo se ve afectado un ojo. En la DMAE húmeda, las líneas rectas pueden parecer onduladas, y se puede producir rápidamente la pérdida de la visión central.

30 El diagnóstico de degeneración macular normalmente implica un examen del ojo dilatado, una prueba de agudeza visual y una visión de la parte posterior del ojo con un procedimiento denominado fundoscopia para ayudar a diagnosticar la DMAE y, si se sospecha DMAE húmeda, también se puede realizar una angiografía con fluoresceína. Si la DMAE seca alcanza las etapas avanzadas, no existe un tratamiento actual para prevenir la pérdida de la visión. Sin embargo, una fórmula específica de altas dosis de antioxidantes y cinc puede retrasar o evitar que la DMAE intermedia progrese a la etapa avanzada. Macugen[®] (inyección de pegaptanib sódico), la fotocoagulación con láser y la terapia fotodinámica pueden controlar el crecimiento anómalo de los vasos sanguíneos y el sangrado de la mácula, lo que es útil para algunas personas que tienen DMAE húmeda; sin embargo, la visión que ya está perdida no será restablecida por estas técnicas. Si la visión ya se ha perdido, existen ayudas para la baja visión que pueden ayudar a mejorar la calidad de vida.

35 Uno de los primeros signos de la degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) es la acumulación de depósitos extracelulares conocidos como drusas entre la lámina basal del epitelio pigmentado de la retina (EPR) y la membrana de Bruch (MB). Estudios recientes realizados por Anderson *et al.*, han confirmado que las drusas contienen beta-amiloide. (*Experimental Eye Research* 78 (2004) 243-256).

40 Los priones causan enfermedades neurodegenerativas tales como la tembladera en las ovejas, la encefalopatía espongiiforme bovina en el ganado y la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob en los seres humanos. El único componente conocido de la partícula es la isoforma de la tembladera de la proteína PrPSc. Aunque los priones se multiplican, no hay evidencia de que contengan ácido nucleico. PrPSc se deriva de la proteína celular PrPC, no infecciosa, mediante un proceso posterior a la traducción durante el que PrPC sufre un profundo cambio de configuración.

45 La proteína de la tembladera PrPSc tiene un papel fundamental en la degeneración neuronal, y durante el desarrollo de la enfermedad se somete a una transición de tres etapas de la siguiente manera: PrPC (isoforma celular normal de la proteína) - PrPSc: forma infecciosa (isoforma de la tembladera de la proteína) - proteína PrP27-30.

50 Dicha cascada de acontecimientos ocurre durante el desarrollo de la enfermedad de Creutzfeldt-Jacob (CJD), Kuru, síndrome de Gerstmann-Straussler-Scheinker (GSS), insomnio familiar fetal en el varón, tembladera en ovejas y cabras, encefalopatía en el visón y encefalopatía espongiiforme bovina en el ganado.

55 La proteína celular no tóxica (PrPC) es una sialoglicoproteína de peso molecular 33.000 a 35.000 que se expresa predominantemente en las neuronas. En las enfermedades mencionadas anteriormente, PrPC se convierte en una

forma modificada (PrPSc), que se distingue de su homólogo normal por su resistencia relativa a la digestión por proteasas. PrPSc se acumula en el sistema nervioso central de los animales e individuos afectados, y su núcleo resistente a la proteasa se agrega extracelularmente.

5 La amiloidosis no es una entidad patológica única, sino un grupo diverso de procesos patológicos progresivos caracterizados por depósitos de tejido extracelular de una proteína cérea similar al almidón denominada amiloide, que se acumula en uno o más órganos o sistemas corporales. A medida que los depósitos de amiloide se acumulan, comienzan a interferir con la función normal del órgano o sistema corporal. Hay al menos 15 tipos diferentes de amiloidosis. Las principales formas son amiloidosis primaria sin antecedente conocido, amiloidosis secundaria después de alguna otra afección y amiloidosis hereditaria.

10 La amiloidosis secundaria se produce en personas que tienen una infección crónica o enfermedad inflamatoria, tal como tuberculosis, una infección bacteriana denominada fiebre mediterránea familiar, infecciones óseas (osteomielitis), artritis reumatoide, inflamación del intestino delgado (ileítis granulomatosa), enfermedad de Hodgkin y lepra.

15 Las drusas del nervio óptico son concreciones globulares de proteínas y sales de calcio que se cree que representan secreciones a través de estructuras vasculares alteradas congénitamente que afectan a la capa de fibras nerviosas axonales. Estas acumulaciones se producen en la capa de fibras nerviosas peripapilares y se siente que dañan la capa de fibras nerviosas bien directamente por compresión o indirectamente por las interrupciones del suministro vascular a la capa de fibras nerviosas. Por lo general, se vuelven visibles tras la primera década de la vida en las personas afectadas. Ocurren con mayor frecuencia en ambos ojos, pero también pueden afectar a un ojo y pueden causar una pérdida leve de visión periférica durante muchos años.

20 La neuropatía óptica es una enfermedad caracterizada por daño en el nervio óptico causado por desmielinización, bloqueo del suministro de sangre, deficiencias nutricionales o toxinas. Las neuropatías ópticas desmielinizantes (véase más adelante, neuritis óptica) normalmente están causadas por un proceso desmielinizante subyacente tal como la esclerosis múltiple. El bloqueo del suministro sanguíneo, conocido como neuropatía óptica isquémica, puede provocar la muerte o la disfunción de las células del nervio óptico. En general, la neuropatía óptica isquémica no arterítica se da en personas de mediana edad. Los factores de riesgo incluyen presión arterial alta, diabetes y aterosclerosis. La neuropatía óptica isquémica arterial suele producirse en personas mayores tras la inflamación de las arterias (arteritis), en particular, la arteria temporal (arteritis temporal). La pérdida de la visión puede ser rápida o desarrollarse gradualmente durante de 2 a 7 días, y el daño puede ser en uno o en ambos ojos. En las personas con neuropatía óptica causada por la exposición a una toxina o a una deficiencia nutricional, ambos ojos se suelen ver afectados.

25 Aproximadamente el 40 % de las personas con neuropatía óptica isquémica no arterítica experimenta una mejoría espontánea con el tiempo. La neuropatía óptica isquémica no arterítica se trata mediante el control de la presión arterial, la diabetes y los niveles de colesterol. La neuropatía óptica isquémica arterial se trata con altas dosis de corticosteroides para prevenir la pérdida de visión en el segundo ojo.

30 La neuritis óptica se asocia con la pérdida de visión leve o grave en uno o ambos ojos, y puede estar causada por un proceso desmielinizante sistémico (véase arriba), infección vírica, vacunación, meningitis, sífilis, esclerosis múltiple e inflamación intraocular (uveítis). El movimiento de los ojos puede ser doloroso y la visión puede deteriorarse con episodios repetitivos. El diagnóstico implica el examen de las reacciones de las pupilas y la determinación de si el disco óptico está inflamado. La resonancia magnética (MRI) puede mostrar evidencia de esclerosis múltiple o, en raras ocasiones, un tumor que ejerce presión sobre el nervio óptico, en cuyo caso la visión mejora una vez que se alivia la presión del tumor. La mayoría de los casos de neuritis óptica mejoran durante unos meses sin tratamiento. En algunos casos, puede ser necesario el tratamiento con corticosteroides intravenosos.

35 Una catarata es una opacidad que se desarrolla en el cristalino del ojo o en su envoltura. Por lo general, las cataratas causan pérdida progresiva de la visión y pueden causar ceguera si no se tratan. En la catarata de Morgagnian, la corteza de las cataratas se licua progresivamente para formar un líquido blanco lechoso, y puede causar una inflamación grave si la cápsula del cristalino se rompe y se filtra. Si no se trata, la catarata también puede causar glaucoma facomórfico. Las cataratas pueden ser de naturaleza congénita o estar causadas por factores genéticos, edad avanzada, exposición ultravioleta a largo plazo, exposición a la radiación, diabetes, lesiones en los ojos o traumatismo físico.

40 La cirugía extracapsular (AEP) es el tratamiento más eficaz para tratar las cataratas. En la cirugía, se retira el cristalino, pero se deja intacta la mayor parte de la cápsula del cristalino. Normalmente se usa la facoemulsificación, una pequeña incisión en el lado de la córnea, para romper el cristalino antes de la extracción.

45 La amiloidosis ocular es un trastorno hereditario asociado con polineuropatía amiloidótica familiar de tipo I (PAF), y se caracteriza por vasos conjuntivales anómalos, queratoconjuntivitis seca, anomalías pupilares y, en algunos casos, opacidades vítreas y glaucoma secundario. La PAF de tipo I se asocia con mutaciones en la transtiretina (TTR), una proteína plasmática tetramérica (prealbúmina) sintetizada en el hígado, el epitelio pigmentario de la retina y el plexo tectorideo del cerebro. Diferentes mutaciones hacen que la transtiretina se polimerice en una estructura plisada de fibrilla de amiloide, conduciendo a la amiloidosis hereditaria. La mutación más frecuente es TTR-met303, en la que la

metionina reemplaza a la valina en la posición 30 de la transtiretina.

La PAF de tipo IV está asociada con la distrofia corneal reticular (DCR). La distrofia corneal reticular es una amiloidosis corneal heredada, primaria, generalmente bilateral, caracterizada por la presencia de líneas reticulares flexibles con un doble contorno en el estroma corneal. La DCR de tipo I (Biber-Haab-Dimmer) es un trastorno corneal autosómico dominante, bilateralmente simétrico, caracterizado por la presencia de numerosas líneas reticulares finas translúcidas con puntos blancos y una tenue neblina en las capas superficial y media del estroma central. Los síntomas comienzan durante la primera o segunda década de la vida, causando una pérdida progresiva de la visión. La mayoría de los pacientes requieren un trasplante de córnea a los 40 años de edad. La DCR de tipo II se asocia con la amiloidosis sistémica (síndrome de Meretoja), y se caracteriza por la presencia de líneas reticulares gruesas en el limbo, la córnea central y el estroma. La visión no se ve afectada hasta más adelante en la vida. La DCR de tipo III afecta a las personas de mediana edad, y se caracteriza por la presencia de líneas reticulares gruesas que se extiende de limbo a limbo. La DCR de tipo III A se caracteriza por la acumulación de depósitos de amiloide en el estroma y la presencia de cintas de amiloide entre el estroma y la capa de Bowman, la DCR de tipo III A difiere de la DCR de tipo III debido a la presencia de erosiones corneales, la aparición en los blancos y el patrón de herencia autosómica dominante.

No hay cura para el glaucoma. La mayoría de los tratamientos para el glaucoma están diseñados para disminuir y/o controlar la presión intraocular (PIO), que puede dañar el nervio óptico que transmite información visual al cerebro. Las gotas oculares para el glaucoma suelen ser la primera opción frente a la cirugía del glaucoma, y pueden ser muy eficaces para controlar la PIO y prevenir el daño ocular. Las medicaciones para el tratamiento del glaucoma se clasifican por sus compuestos químicos activos, y se pueden enumerar en las siguientes categorías, con los fármacos aprobados en la actualidad entre paréntesis):

- Los bloqueadores beta (Timoptic, Betoptic, Istalol, Timolol) actúan disminuyendo la producción de líquido (acuoso) en el ojo.
- Los inhibidores de la anhidrasa carbónica (Trusopt, Azopt, Diamox, Naptazane, Daranide) disminuyen la tasa de producción de humor acuoso.
- Los agonistas alfa-adrenérgicos (Alphagan, Alphagan-P, Iopidine) también disminuyen la tasa de producción de humor acuoso.
- Las prostaglandinas (Xalatan, Lumigan, Travatan Z, Rescula) redirigen el drenaje del humor acuoso a través de una vía diferente en la parte posterior del ojo, lo que reduce la acumulación de presión ocular.
- Los parasimpomiméticos (Carbachol, Pilocarpina) funcionan aumentando la salida de líquido acuoso del ojo, aumentando así el drenaje de los líquidos intraoculares.
- La epinefrina disminuye la tasa de producción de humor acuoso y aumenta la salida de líquido acuoso del ojo.

Además de las medicaciones dirigidas a controlar la PIO, cierto tratamiento del glaucoma en investigación se centran en la protección del nervio óptico. El fármaco para la enfermedad de Alzheimer, la memantina, se está investigando actualmente para la indicación del glaucoma como neuroprotector. Sin embargo, el estudio clínico aleatorizado del antagonista de N-metil-d-aspartato (NMDA) memantina en el glaucoma de ángulo abierto no mostró una eficacia significativa.

Otros tratamientos para el glaucoma son las cirugías con láser, que incluyen la trabeculoplastia, un procedimiento que ayuda al humor acuoso a dejar el ojo de manera más eficiente. Según la Fundación sobre el Glaucoma, casi el 80 % de los pacientes responden lo suficientemente bien al procedimiento para retrasar o evitar una nueva cirugía. Sin embargo, la presión aumenta nuevamente en los ojos de la mitad de todos los pacientes en el transcurso de los dos años posteriores a la cirugía láser, según el Instituto Nacional del Ojo. La cirugía de incisión se realiza si los medicamentos y los tratamientos con láser iniciales no consiguen reducir la presión dentro del ojo. Un tipo de cirugía, una trabeculectomía, crea una abertura en la pared del ojo para que el humor acuoso pueda drenarse. Sin embargo, aproximadamente un tercio de los pacientes de trabeculectomía desarrollan cataratas en el transcurso de cinco años, según la Fundación sobre el Glaucoma. Si la trabeculectomía falla, los procedimientos de incisión adicionales incluyen colocar un tubo de drenaje en el ojo entre la córnea y el iris, y el uso de un tratamiento láser o de congelación para destruir el tejido del ojo que produce humor acuoso. La cirugía puede salvar la visión restante en el paciente, pero no mejora la vista. La visión puede empeorar tras la cirugía.

Las terapias actuales para el tratamiento del glaucoma luchan por desacelerar la progresión de la pérdida del campo visual disminuyendo y controlando la presión intraocular. Como se ha mencionado anteriormente, esto se hace con fármacos para reducir la PIO o mediante trabeculoplastia con láser. Los estudios a largo plazo sobre los efectos de la disminución de la PIO han demostrado ser eficaces para desacelerar la progresión de la enfermedad en algunos pacientes. Desafortunadamente, hay pacientes que siguen perdiendo el campo visual a pesar de tener su PIO reducida o no responden en absoluto a los fármacos que reducen la PIO. Por lo tanto, existe la necesidad de

desarrollar nuevos tratamientos dirigidos a una función diferente de la presión intraocular. Dicho nuevo objetivo es la neuroprotección de las RGC.

La degeneración macular relacionada con la edad (DMAE) es una causa importante de ceguera entre los caucásicos mayores de 65 años. Aunque recientemente se ha avanzado mucho en la investigación de la degeneración macular, no existen tratamientos que rescaten la muerte celular neuronal que se produce en el curso de la enfermedad. Tampoco existen tratamientos definitivos para otras enfermedades oculares asociadas con la degradación neuronal relacionada con el beta-amiloide, tales como los déficits visuales corticales, las drusas del nervio óptico, la neuropatía óptica, la neuritis óptica, la amiloidosis ocular y la distrofia reticular.

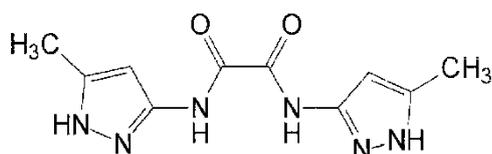
Los depósitos de amiloide normalmente contienen tres componentes. Las fibrillas de proteína amiloide, que representan aproximadamente el 90 % del material amiloide, comprenden uno de varios tipos diferentes de proteínas. Estas proteínas son capaces de plegarse en las denominadas fibrillas de lámina "beta plisadas", una configuración de proteína única que presenta sitios de unión para el rojo Congo generando las propiedades únicas de tinción de la proteína amiloide. Además, los depósitos de amiloide están estrechamente asociados con el componente amiloide P (pentagonal) (AP), una glicoproteína relacionada con el amiloide P (SAP) sérico normal, y con los glicosaminoglicanos sulfatados (GAG), carbohidratos complejos del tejido conjuntivo.

Un desarrollo para el tratamiento de trastornos y anomalías asociados con la proteína amiloide o las afecciones asociadas con proteínas de tipo amiloide tales como la enfermedad de Alzheimer y las enfermedades priónicas ha sido el diseño de moléculas que se unen a la configuración anómala de lámina β de A β y PrP, respectivamente, evitando así la agregación de estas moléculas. La configuración de lámina β de los péptidos se caracteriza porque los enlaces de hidrógeno se forman en un patrón regular entre las cadenas de aminoácidos vecinas. Esta disposición conduce a una estructura tridimensional estable. Los receptores de puentes de H (grupo C=O) y los donantes de puentes de H (grupo NH) se alternan en péptidos de lámina β de origen natural con los átomos que se unirán aproximadamente en una línea. Dentro de cada cadena de aminoácidos, las distancias entre los donantes de puentes de H vecinos y los receptores de puentes de H están dentro de los intervalos específicos. En particular, la distancia entre el donante de puentes de H (grupo NH) y el aceptor de puentes de H (grupo C=O) dentro de un resto de aminoácidos es de 3,5 a 4,0 Å. La distancia entre el aceptor de puentes de H (grupo C=O) de un resto de aminoácido y el donante de puentes de H (grupo NH) del siguiente resto de aminoácido que participa en el enlace entre cadenas es de 2,6 a 2,9 Å. En otras palabras, las distancias entre donantes de puentes de H y receptores de puentes de H vecinos dentro de una cadena de aminoácidos se alternan entre los siguientes intervalos:

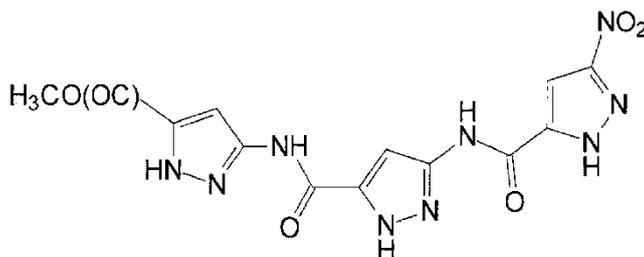
Donante de puentes de H (aminoácido 1) – aceptor de puentes de H (aminoácido 1) = de 3,5 a 4,0 Å;
 Aceptor de puentes de H (aminoácido 1) – donante de puentes de H 2 (aminoácido 2) = de 2,6 a 2,9 Å.

Los ligandos que están diseñados para unirse a láminas β tienen idealmente un orden de donantes de puentes de H y aceptores de puentes de H que es complementario al orden de los donantes de puentes de H y aceptores de puentes de H en las cadenas de aminoácidos de la lámina β .

En el documento WO 03/095429 y Rzepecki *et al.*, *Synthesis* (2003) 12, 1815-1826 se describen moléculas sintéticas que se dice que se unen a la configuración β de A β o PrP, evitando de ese modo su agregación. Con este fin, se sintetizaron ciertas moléculas que contienen dos o más fracciones de aminopirazol enlazadas mediante enlazadores que contienen grupos carbonilo, por ejemplo, "AmpOx" y "Trímero".



"AmpOx"



"Trímero"

Se dice que algunas de las moléculas descritas en el documento WO 03/095429 tienen un efecto inhibitorio sobre la formación de agregados de A β en dos ensayos biofísicos. Según Rzepecki *et al.*, *Synthesis* (2003) 12, 1815-1826, una de las moléculas descritas en la presente memoria fue capaz de reducir la agregación de una PrP^c

recombinante en solución. Las propiedades fisicoquímicas, sin embargo, no se investigaron en estos estudios.

El documento WO 2008/061795 describe ciertos compuestos heterocíclicos que son adecuados para tratar enfermedades asociadas con proteínas amiloides o de tipo amiloide.

5 Las propiedades fisicoquímicas desempeñan un papel clave en la penetración de la barrera hematoencefálica mediante neuroterapéuticos. Se han revisado los factores relevantes para el éxito de los fármacos del SNC (H. Pajouhesh y G. R. Lenz, NeuroRx[®]: *J. Am. Soc. Exp. Neurother.* (2005) Vol. 2, 541). Estos incluyen el coeficiente de partición entre agua y n-octanol (LogP), es decir, básicamente la lipofilia del compuesto. Algunos de los compuestos descritos en el documento WO 03/095429 y Rzepecki *et al.*, *Synthesis* (2003) 12, 1815-1826 tienen un LogP calculado desfavorable y, por lo tanto, no se espera que atraviesen la barrera hematoencefálica. En particular, "AmpOx" tiene un LogP calculado inferior a cero.

10 Otros compuestos descritos en los documentos anteriores tienen propiedades que los hacen inadecuados para la administración a un paciente debido a sus efectos secundarios nocivos. Por ejemplo, "Trímero" es mutagénico, carcinógeno y metabólicamente inestable.

Compendio de la invención

15 Era un objeto de la presente invención proporcionar compuestos que se pudieran emplear en el tratamiento de enfermedades o afecciones asociadas con las proteínas amiloides o de tipo amiloide, incluyendo la amiloidosis, pero, en particular, enfermedades oculares, tales como el glaucoma. Los compuestos deberían poder atravesar la barrera hematoencefálica. Además, deberían ser farmacéuticamente aceptables, en particular, no deberían tener propiedades mutagénicas ni carcinogénicas, ni ser metabólicamente inestables. Los compuestos deben tener una hidrosolubilidad razonablemente alta, manteniendo a la vez su actividad biológica.

20 Un objeto adicional de la invención es proporcionar mejores opciones de tratamiento para los sujetos afectados por enfermedades oculares asociadas con anomalías/cambios patológicos en los tejidos del sistema visual, en particular, asociadas con anomalías/cambios patológicos relacionados con el beta-amiloide en los tejidos del sistema visual, tales como la degradación neuronal. Dichas anomalías patológicas pueden ocurrir, por ejemplo, en diferentes tejidos del ojo, tales como la corteza visual, que conducen a déficits visuales corticales; la cámara anterior y el nervio óptico, que conducen al glaucoma; el cristalino, que conducen a la catarata debido a la deposición de beta-amiloide; el vítreo, que conducen a amiloidosis ocular; la retina, que conducen a la degeneración retiniana primaria y la degeneración macular, por ejemplo, la degeneración macular relacionada con la edad; el nervio óptico, que conducen a drusas del nervio óptico, neuropatía óptica y neuritis óptica; y la córnea, que conducen a la distrofia reticular.

25 Los presentes inventores han descubierto sorprendentemente que estos objetos se pueden lograr mediante los compuestos de la fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 1. Por consiguiente, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 1.

30 En un aspecto adicional, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 1.

35 En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de los compuestos de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 1 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección ocular seleccionada del grupo que consiste en glaucoma, degradación neuronal, déficits visuales corticales, cataratas debidas a la deposición de beta-amiloide, amiloidosis ocular, degeneración retiniana primaria, degeneración macular, drusas de nervio óptico, neuropatía óptica, neuritis óptica y distrofia reticular.

40 En otro aspecto más, la presente invención se refiere al compuesto de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección ocular seleccionada del grupo que consiste en glaucoma, degradación neuronal, déficits visuales corticales, cataratas debidas a la deposición de beta-amiloide, amiloidosis ocular, degeneración retiniana primaria, degeneración macular, drusas de nervio óptico, neuropatía óptica, neuritis óptica y distrofia reticular.

45 De acuerdo con la invención, preferiblemente, la enfermedad es glaucoma, más preferiblemente, la enfermedad se selecciona del grupo que consiste en glaucoma de ángulo abierto crónico (idiopático), glaucoma de bloque pupilar, glaucoma de desarrollo, glaucoma asociado con otros trastornos oculares, glaucoma asociado con presión venosa episcleral elevada, glaucoma asociado con inflamación y traumatismo, glaucoma posterior a cirugía intraocular, glaucoma de alta presión, glaucoma de presión normal, glaucoma de ángulo cerrado agudo, glaucoma de ángulo cerrado subagudo, glaucoma de ángulo cerrado crónico, glaucoma de mecanismo combinado, glaucoma congénito (infantil), aniridia de glaucoma juvenil, glaucoma asociado con trastornos del endotelio corneal, glaucoma asociado con trastornos del iris y del cuerpo ciliar, glaucoma asociado con trastornos del cristalino, glaucoma asociado con trastornos de la retina, coroides y vítreo, glaucoma asociado con desprendimiento de retina y anomalías vitreoretinianas, glaucoma neovascular, glaucoma pigmentario, síndrome de exfoliación, glaucoma de ángulo abierto inducido por el cristalino, glaucoma asociado con intumescencia y dislocación del cristalino, glaucoma asociado con queratitis, epiescleritis y escleritis, glaucoma de bloque ciliar (maligno), glaucoma en afaquia y

pseudofagia, proliferación epitelial, fibrosa y endotelial, glaucoma asociado con cirugía corneal y glaucoma asociado con cirugía vitreoretiniana.

5 Se describe el uso de un compuesto de fórmula general (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones asociadas con las proteínas amiloides o de tipo amiloide, incluyendo la amiloidosis.

También se describe en la presente memoria un método de tratamiento de enfermedades o afecciones asociadas con las proteínas amiloides o de tipo amiloide, que comprende administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula general (I).

En una realización descrita, la enfermedad o afección es una enfermedad o afección ocular.

10 En la presente memoria, se describe el uso de un compuesto de fórmula general (I) para la preparación de un medicamento para tratar o aliviar los efectos de enfermedades oculares asociadas con anomalías/cambios patológicos en los tejidos del sistema visual.

15 También se describe en la presente memoria un método para tratar o aliviar los efectos de enfermedades oculares asociadas con anomalías/cambios patológicos en los tejidos del sistema visual, que comprende administrar a un sujeto que necesita dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula general (I).

20 Las enfermedades oculares asociadas con anomalías/cambios patológicos en los tejidos del sistema visual son, en particular, asociadas con anomalías/cambios patológicos relacionados con el beta-amiloide en los tejidos del sistema visual, tales como, por ejemplo, la degradación neuronal. Dichas anomalías patológicas pueden ocurrir, por ejemplo, en diferentes tejidos del ojo, tales como la corteza visual, que conducen a déficits visuales corticales; la cámara anterior y el nervio óptico, que conducen al glaucoma; el cristalino, que conducen a la catarata debido a la deposición de beta-amiloide; el vítreo, que conducen a amiloidosis ocular; la retina, que conducen a la degeneración retiniana primaria y la degeneración macular, por ejemplo, la degeneración macular relacionada con la edad; el nervio óptico, que conducen a drusas del nervio óptico, neuropatía óptica y neuritis óptica; y la córnea, que conducen a la distrofia reticular.

25 En una realización preferida de la invención, la enfermedad o afección ocular se selecciona del grupo que consiste en glaucoma, degradación neuronal, déficits visuales corticales, cataratas debidas a la deposición de beta-amiloide, amiloidosis ocular, degeneración retiniana primaria, degeneración macular, por ejemplo, degeneración macular relacionada con la edad, drusas de nervio óptico, neuropatía óptica, neuritis óptica y distrofia reticular.

30 En un aspecto adicional, la invención se refiere a una mezcla (tal como una composición farmacéutica) que comprende un compuesto según la presente invención y, opcionalmente, al menos un compuesto biológicamente activo adicional y/o un vehículo farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente y/o un excipiente. La sustancia biológicamente activa adicional puede ser un compuesto conocido usado en la medicación de enfermedades y trastornos que están causados por o asociados con las proteínas amiloides o de tipo amiloide.

35 En una realización, el compuesto biológicamente activo adicional se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en bloqueadores beta, inhibidores de anhidrasa carbónica, agonistas alfa- o beta-adrenérgicos, prostaglandinas, parasinfomiméticos, inhibidores de colinesterasa, síntesis de acetilcolina, potenciadores de almacenamiento o liberación, agonistas del receptor postsináptico de acetilcolina, antagonistas del receptor de glutamato de N-metil-D-aspartato, compuestos usados en el tratamiento de la amiloidosis, compuestos contra el estrés oxidativo, compuestos antiapoptóticos, quelantes de metales, inhibidores de la reparación del ADN tales como pirenzepina y metabolitos, ácido 3-amino-1-propanosulfónico (3APS), 1,3-propanodisulfonato (1,3PDS), activadores de α -secretasa, inhibidores de β - y γ -secretasa, neurotransmisores, interruptores de la lámina β , atrayentes de componentes celulares de eliminación/agotamiento del beta-amiloide, inhibidores de beta-amiloide N-terminal truncado incluyendo beta-amiloide piroglutadato 3-42, moléculas antiinflamatorias o inhibidores de colinesterasa (ChEI) tales como tacrina, rivastigmina, donepezil y/o galantamina, agonistas de M1, otros fármacos incluyendo cualquier fármaco modificador de amiloide y suplementos nutritivos, anticuerpos, vacunas.

45 En otra realización preferida, el compuesto biológicamente activo adicional se selecciona del grupo que consiste en timoptic, betoptic, istalol, timolol, trusopt, azopt, diamox, naptazane, daranide, alphagan, alphagan-p, iopidine, xalatan, lumigan, travatan Z, rescula, carbachol, pilocarpina, epinefrina y memantina.

50 En una realización preferida adicional, el compuesto biológicamente activo adicional es un anticuerpo, preferiblemente un anticuerpo monoclonal, incluyendo cualquier anticuerpo funcionalmente equivalente o partes funcionales del mismo. Preferiblemente, el anticuerpo, más preferiblemente, el anticuerpo monoclonal, puede incluir cualquier anticuerpo funcionalmente equivalente o partes funcionales del mismo, y ser un anticuerpo que se una al amiloide β . Preferiblemente, el anticuerpo, más preferiblemente el anticuerpo monoclonal, que puede incluir cualquier anticuerpo funcionalmente equivalente o partes funcionales del mismo, es un anticuerpo cuyo anticuerpo, tras la incubación junto con péptidos amiloides monoméricos y/o amiloides poliméricos solubles, por ejemplo, con péptidos monoméricos β -amiloides tales como péptidos monoméricos A β 1-39; 1-40, 1-41 o 1-42, y/o un péptido β -amiloide soluble polimérico que comprende una pluralidad de las unidades monoméricas A β , pero, en especial, con

5 un péptido amiloide soluble monomérico A β ₁₋₄₂ y/o polimérico A β que comprende una pluralidad de unidades monoméricas A β ₁₋₄₂, inhibe la agregación de los monómeros A β en fibrillas o filamentos poliméricos de alto peso molecular y, además, tras la incubación junto con fibrillas o filamentos amiloides poliméricos de alto peso molecular formados por la agregación de péptidos monoméricos amiloides, en particular, péptidos monoméricos β -amiloides
 10 tales como, por ejemplo, péptidos monoméricos A β 1-39; 1-40, 1-41 o 1-42, pero en especial los péptidos monoméricos A β ₁₋₄₂, es capaz de desagregar fibrillas o filamentos poliméricos previamente formados. En una realización, el anticuerpo puede ser un anticuerpo quimérico o una parte funcional del mismo, o un anticuerpo humanizado o una parte funcional del mismo. En otra realización, el anticuerpo puede ser un anticuerpo monoclonal seleccionado del grupo de anticuerpos que tienen las propiedades características de un anticuerpo producido por la
 15 estirpe celular de hibridoma:

a) FP 12H3, depositada el 1 de diciembre de 2005 y el 9 de diciembre de 2005, respectivamente como DSM ACC2752;

b) FP 12H3-C2, depositada el 1 de diciembre de 2005 y el 9 de diciembre de 2005, respectivamente como DSM ACC2750;

15 c) FP 12H3-G2, depositada el 1 de diciembre de 2005 y el 9 de diciembre de 2005, respectivamente como DSM ACC2751;

d) ET 7E3, depositada el 8 de diciembre de 2005 como DSM ACC2755; y

e) EJ 7H3, depositada el 8 de diciembre de 2005 como DSM ACC2756.

20 En una realización adicional, el anticuerpo puede ser un anticuerpo humanizado que presenta una cadena ligera y una cadena pesada como se representa en SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 4 de la solicitud internacional n.º PCT/US2007/073504.

En otra realización más, el anticuerpo puede ser un anticuerpo humanizado que presenta una región variable de cadena ligera y una región variable de cadena pesada como se representa en SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 3 de la solicitud internacional n.º PCT/US2007/073504.

25 En una realización adicional, el compuesto biológicamente activo adicional puede ser un fragmento de péptido antigénico A β que consiste en un tramo simple o repetitivo de una pluralidad de restos de aminoácidos contiguos de la parte N-terminal del péptido A β , en particular, un tramo de entre 13 y 15 restos de aminoácidos contiguos. El fragmento de péptido antigénico A β puede ser un antígeno peptídico A β ₁₋₁₅ tal como un antígeno peptídico A β ₁₋₁₅ palmitoilado modificado por restos de palmitoilo unidos covalentemente, en particular, entre 2 y 4, más
 30 concretamente, 4 residuos en cada extremo del péptido reconstituido en un liposoma.

La sustancia o el compuesto biológicamente activo adicional puede ejercer su efecto biológico mediante el mismo mecanismo o un mecanismo similar al del compuesto según la invención o mediante un mecanismo de acción no relacionado o mediante una multiplicidad de mecanismos de acción relacionados y/o no relacionados.

35 En todas las realizaciones de la invención, el compuesto de la invención y/o el compuesto biológicamente activo adicional se emplean preferiblemente en una cantidad terapéuticamente eficaz.

También se describe un método de recogida de datos para el diagnóstico de una enfermedad o afección asociada con el amiloide en una muestra o un paciente que comprende:

(a) poner en contacto una muestra o una parte o zona específica del cuerpo que se sospecha que contiene una proteína amiloide con un compuesto según la presente invención;

40 (b) dejar que el compuesto se una a la proteína amiloide;

(c) detectar el compuesto unido a la proteína; y

(d) opcionalmente, correlacionar la presencia o ausencia de unión del compuesto con la proteína amiloide con la presencia o ausencia de proteína amiloide en la muestra, o parte o zona específica del cuerpo.

45 Se describe un método de determinación de la extensión de la carga de placa amiloidogénica en un tejido y/o un fluido corporal que comprende:

(a) proporcionar una muestra representativa del tejido y/o fluido corporal bajo investigación;

(b) ensayar la muestra para detectar la presencia de proteína amiloide con un compuesto según la presente invención;

(c) determinar la cantidad de compuesto unido a la proteína amiloide; y

50 (d) calcular la carga de placa en el tejido y/o fluido corporal.

En una realización preferida, la determinación en la etapa (c) se realiza de manera que la presencia o ausencia del compuesto que se une con la proteína amiloide se correlaciona con la presencia o ausencia de proteína amiloide.

5 Un aspecto adicional se refiere a un método de recogida de datos para determinar una predisposición a una enfermedad o afección asociada con el amiloide en un paciente que comprende detectar la unión específica de un compuesto según la presente invención a una proteína amiloide en una muestra o *in situ* que comprende las etapas de:

(a) poner la muestra, o una parte o zona específica del cuerpo que se sospecha que contiene la proteína amiloide en contacto con un compuesto según la presente invención, compuesto que se une específicamente a la proteína amiloide;

10 (b) dejar que el compuesto se una a la proteína amiloide para formar un complejo de compuesto/proteína;

(c) detectar la formación del complejo de compuesto/proteína;

(d) opcionalmente, correlacionar la presencia o ausencia del complejo de compuesto/proteína con la presencia o ausencia de proteína amiloide en la muestra, o parte o zona específica del cuerpo; y

15 (e) opcionalmente, comparar la cantidad del complejo de compuesto/proteína con un valor de control normal.

También se describe un método de recogida de datos para controlar una enfermedad residual mínima en un paciente después del tratamiento con un anticuerpo o una composición de vacuna, en donde el método comprende:

20 (a) poner una muestra, o una parte o zona específica del cuerpo que se sospecha que contiene una proteína amiloide en contacto con un compuesto según la presente invención, compuesto que se une específicamente a la proteína amiloide;

(b) dejar que el compuesto se una a la proteína amiloide para formar un complejo de compuesto/proteína;

(c) detectar la formación del complejo de compuesto/proteína;

(d) opcionalmente, correlacionar la presencia o ausencia del complejo de compuesto/proteína con la presencia o ausencia de proteína amiloide en la muestra, o parte o zona específica del cuerpo; y

25 (e) opcionalmente, comparar la cantidad del complejo de compuesto/proteína con un valor de control normal.

También se describe un método de recogida de datos para predecir la capacidad de respuesta de un paciente que está siendo tratado con un anticuerpo o una composición de vacuna que comprende:

30 (a) poner una muestra, o una parte o zona específica del cuerpo que se sospecha que contiene una proteína amiloide en contacto con un compuesto según la presente invención, compuesto que se une específicamente a la proteína amiloide;

(b) dejar que el compuesto se una a la proteína amiloide para formar un complejo de compuesto/proteína;

(c) detectar la formación del complejo de compuesto/proteína;

35 (d) opcionalmente, correlacionar la presencia o ausencia del complejo de compuesto/proteína con la presencia o ausencia de proteína amiloide en la muestra, o parte o zona específica del cuerpo; y

(e) opcionalmente, comparar la cantidad del complejo de compuesto/proteína con un valor de control normal.

40 Un aspecto adicional de la presente invención es un kit de ensayo para la detección y el diagnóstico de una enfermedad o afección asociada con el amiloide que comprende un compuesto según la presente invención. Preferiblemente, el kit de ensayo comprende un recipiente que contiene uno o más compuestos según la presente invención e instrucciones de uso del compuesto con el fin de unirse a una proteína amiloide para formar un complejo de compuesto/proteína y detectar la formación del complejo de compuesto/proteína de modo que esa presencia o ausencia del complejo de compuesto/proteína se correlaciona con la presencia o ausencia de la proteína amiloide:

Definiciones

45 En el sentido de la presente solicitud, se aplican las siguientes definiciones:

"Alquilo" se refiere a una fracción orgánica saturada que consiste en átomos de carbono e hidrógeno. Los ejemplos de grupos alquilo adecuados tienen de 1 a 6 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 4 átomos de carbono, e incluyen metilo, etilo, propilo y butilo.

"Alquilen" se refiere a un grupo alquilo divalente. Los comentarios anteriores sobre "alquilo" se aplican análogamente a dicha realización.

5 "Cicloalquilo" se refiere a una fracción orgánica cíclica que consiste en átomos de carbono e hidrógeno. Los ejemplos de grupos alquilo adecuados tienen de 5 a 10 átomos de carbono, preferiblemente 5 o 6 átomos de carbono, e incluyen ciclopentilo y ciclohexilo.

"Heterocicloalquilo" se refiere a un grupo cicloalquilo como se definió anteriormente en el que uno de los átomos de carbono ha sido reemplazado por un heteroátomo que, por ejemplo, se selecciona de N, O o S, o fracción que contiene un heteroátomo (por ejemplo, N, O y/o S). Los ejemplos de posibles grupos heterocicloalquilo incluyen pirrolidina, tetrahidrofurano, piperidina, etc.

10 "Alquenilo" se refiere a una fracción orgánica que consiste en átomos de carbono e hidrógeno que incluye al menos un doble enlace. Los ejemplos de grupos alquenilo adecuados tienen de 2 a 6 átomos de carbono, preferiblemente de 2 a 4 átomos de carbono, e incluyen propenilo y butenilo.

15 "Alquinilo" se refiere a una fracción orgánica que consiste en átomos de carbono e hidrógeno que incluye al menos un triple enlace. Los ejemplos de grupos alquinilo adecuados tienen de 2 a 6 átomos de carbono, preferiblemente de 2 a 4 átomos de carbono, e incluyen propinilo y butinilo.

"Ariilo" se refiere a una fracción orgánica aromática que consiste en átomos de carbono e hidrógeno que preferiblemente tiene de 5 a 10 átomos de carbono, más preferiblemente 5 o 6 átomos de carbono. Un ejemplo es un anillo de fenilo.

20 "Heteroarilo" se refiere a un grupo arilo como se definió anteriormente en el que uno de los átomos de carbono ha sido reemplazado por un heteroátomo que, por ejemplo, se selecciona de N, O o S, o fracción que contiene un heteroátomo (por ejemplo, N, O y/o S). Los ejemplos de posibles grupos heteroarilo incluyen piridina, etc.

"Alcoxi" se refiere al grupo -O-alquilo.

"Aminoalquilen" se refiere al grupo -alquilen-NR¹⁴R¹⁵.

25 Si un grupo se define como "opcionalmente sustituido" puede tener uno o más sustituyentes seleccionados de Hal, Alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆.

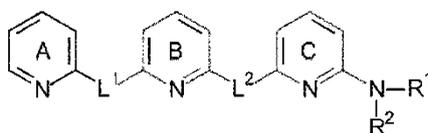
"Hal" se refiere a F, Cl, Br e I. Los Hal preferidos son F y Cl, más preferiblemente F.

30 Los compuestos de la presente invención que tienen uno o más átomos de carbono ópticamente activos pueden existir como racematos y mezclas racémicas, mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales, mezclas enantioméricas y enantiómeros, tautómeros, atropisómeros y rotámeros individuales. Todas las formas isoméricas están incluidas en la presente invención. Los compuestos descritos en la presente invención que contienen dobles enlaces olefínicos incluyen isómeros geométricos E y Z. También se incluyen en la presente invención todas las formas de sal, polimorfos, hidratos y solvatos.

Las definiciones preferidas dadas en el apartado de "Definiciones" se aplican a todas las realizaciones descritas a continuación a menos que se indique lo contrario.

35 Descripción detallada de la invención

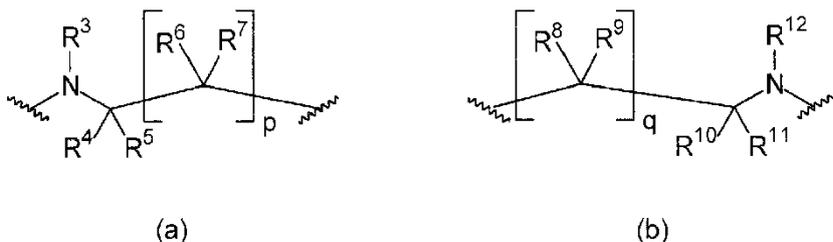
La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula general (I) de acuerdo con la reivindicación 1. En general, se describen compuestos de fórmula general (I):



40 Los anillos de piridina A, B y C están independientemente no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes que se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: alquilen C₁₋₆-C(=NR¹³)-NHR¹⁴, alquilen C₁₋₆-C(O)-NH-CN, alquilen C₁₋₆-C(O)-NR¹⁶-alquilen C₁₋₆-NR¹⁴R¹⁵, alquilen C₁₋₆-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, alquilen C₁₋₆-C(O)-OR¹³, alquilen C₁₋₆-NR¹⁶-C(=NR¹³)-NR¹⁴R¹⁵, alquilen C₁₋₆-NR¹⁶-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, alquilen C₁₋₆-NR¹⁶-C(O)-OR¹⁴, alquilen C₁₋₆-NR¹⁶-C(O)-R¹⁴, alquilen C₁₋₆-NR¹⁴R¹⁵, alquilen C₁₋₆-NR¹⁶-SO₂-NR¹⁴R¹⁵, alquilen C₁₋₆-NR¹⁶-SO₂R¹⁴, C(=NR¹³)-NHR¹⁴, C(O)-NH-CN, C(O)-NR¹⁶-alquilen C₁₋₆-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-NR¹⁶-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-OH, C(O)-OR¹³, C(O)-R¹³, CHal₃, CN, Hal, NO₂, NR¹³-C(=NR¹³)-NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-C(O)-OR¹⁴, NR¹⁶-C(O)-R¹⁴, NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-SO₂-NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-SO₂R¹⁴, O-alquilen C₁₋₆-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, O-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, O-C(O)-R¹³, OR¹³, S(O)_t-alquilen C₁₋₆-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, S(O)_t-C(O)-OR¹³, S(O)_tR¹³, SO₂-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₅₋₁₀, cicloalquil C₅₋₁₀-alquilen C₁₋₆, heterocicloalquilo de 5 a 10 miembros, haloalquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, heterocicloalquil-alquilen

C₁₋₆ de 6 a 10 miembros, alqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆, arilo C₅₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, aril C₅₋₁₀-alqueno C₁₋₆, heteroaril-alqueno C₁₋₆, alcoxi C₁₋₆-alqueno C₁₋₆ y aminoalqueno en donde el grupo alqueno tiene de 1 a 6 átomos de carbono, en donde alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalqueno, heterocicloalqueno, heterocicloalquilalqueno, alqueno, alquino, arilo, heteroarilo, arilalqueno, heteroarilalqueno, alcoxilalqueno y aminoalqueno pueden estar opcionalmente sustituidos. En una realización preferida, los anillos de piridina A, B y C están independientemente no sustituidos o sustituidos con uno o dos sustituyentes. En una realización preferida, los sustituyentes se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: alquilo C₁₋₆, haloalquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, Hal u OR¹³, más preferiblemente, se seleccionan independientemente del grupo que consiste en: alquilo C₁₋₆ u OH. Lo más preferiblemente, los anillos de piridina A, B y C no están sustituidos.

10 L¹ y L² se seleccionan independientemente de fracciones que tienen la fórmula (a) o (b)



en donde al menos uno de L¹ o L² tiene la fórmula (b). Esto garantiza que el compuesto que tiene la fórmula general (I) incluye una fracción de 2,6-diaminopiridina.

15 En la fórmula (a), R³ se selecciona del grupo que consiste en C(=NR¹³)-R¹⁴.C(=NR¹³)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-C(=NR¹³)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-OR¹³, R¹³, S(O)_tNR¹⁴R¹⁵ y S(O)_tR¹³. En una realización preferida, R³ es R¹³. En una realización más preferida, R³ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₆. En una realización incluso más preferida, R³ es hidrógeno.

20 R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₆-C(=NR¹³)NHR¹⁴, alquilo C₁₋₆-C(O)-NH-CN, alquilo C₁₋₆-C(O)-NR¹⁶-alquilo C₁₋₆-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-C(O)-NR¹⁶-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-C(O)-OR¹³, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶C(=NR¹³)NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶-C(O)OR¹⁴, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶-C(O)R¹⁴, alquilo C₁₋₆-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶-SO₂-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶-SO₂-R¹⁴, C(=NR¹³)NHR¹⁴, C(O)-NH-CN, C(O)-NR¹⁶-alquilo C₁₋₆-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-NR¹⁶-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-OH, C(O)-OR¹⁶, CHal₃, CN, CO-NR¹⁴R¹⁵, CO-R¹³, Hal, NO₂, NR¹⁶C(=NR¹³)NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-C(O)-OR¹⁴, NR¹⁶-C(O)-R¹⁴, NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-SO₂-NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-SO₂-R¹³, O-alquilo C₁₋₆-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, O-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, OC(O)-R¹³, OR¹³, S(O)_t-alquilo C₁₋₆-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, S(O)_t-alquilo C₁₋₆-C(O)-OR¹³, S(O)_t-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, S(O)_t-C(O)-OR¹³, S(O)_tR¹³, SO₂-NR¹⁴R¹⁵ y SO₂OR¹³. En una realización preferida, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₆. En una realización incluso más preferida, R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ son hidrógeno.

p es 1 o 2. En una realización preferida, p es 1.

30 En la fórmula (b), R¹² se selecciona del grupo que consiste en C(=NR¹³)-R¹⁴.C(=NR¹³)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-C(=NR¹³)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-OR¹³, R¹³, S(O)_tNR¹⁴R¹⁵ y S(O)_tR¹³. En una realización preferida, R¹² es R¹³. En una realización más preferida, R¹² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₆. En una realización incluso más preferida, R¹² es hidrógeno.

35 R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₆-C(=NR¹³)NHR¹⁴, alquilo C₁₋₆-C(O)-NH-CN, alquilo C₁₋₆-C(O)-NR¹⁶-alquilo C₁₋₆-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-C(O)-NR¹⁶-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-C(O)-OR¹³, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶C(=NR¹³)NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶-C(O)OR¹⁴, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶-C(O)R¹⁴, alquilo C₁₋₆-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶-SO₂-NR¹⁴R¹⁵, alquilo C₁₋₆-NR¹⁶-SO₂-R¹⁴, C(=NR¹³)NHR¹⁴, C(O)-NH-CN, C(O)-NR¹⁶-alquilo C₁₋₆-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-NR¹⁶-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-OH, C(O)-OR¹⁶, CHal₃, CN, CO-NR¹⁴R¹⁵, CO-R¹³, Hal, NO₂, NR¹⁶C(=NR¹³)NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-C(O)-OR¹⁴, NR¹⁶-C(O)-R¹⁴, NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-SO₂-NR¹⁴R¹⁵, NR¹⁶-SO₂-R¹³, O-alquilo C₁₋₆-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, O-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, OC(O)-R¹³, OR¹³, S(O)_t-alquilo C₁₋₆-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, S(O)_t-alquilo C₁₋₆-C(O)-OR¹³, S(O)_t-C(O)-NR¹⁴R¹⁵, S(O)_t-C(O)-OR¹³, S(O)_tR¹³, SO₂-NR¹⁴R¹⁵ y SO₂OR¹³. En una realización preferida R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₆. En una realización incluso más preferida, R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ son hidrógeno.

45 q es 0, 1 o 2. En una realización preferida, q es 1, porque estos compuestos tienen mejor solubilidad en comparación con los compuestos en los que q es 2.

t es 1 o 2.

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₅₋₁₀, cicloalquil C₅₋₁₀-alquilo C₁₋₆, heterocicloalquilo de 5 a 10 miembros, haloalquilo que tiene de 1 a 6 átomos de

5 carbono, heterocicloalquil C₅₋₁₀-alquilo C₁₋₆, alquinilo C₂₋₆, arilo C₅₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, aril C₅₋₁₀-alquilo C₁₋₆, heteroaril-alquilo C₁₋₆ de 5 a 10 miembros o aminoalquilo en donde el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono, en donde alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, heterocicloalquilalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo, heteroarilalquilo y aminoalquilo, que pueden estar opcionalmente sustituidos, o R¹ y R², cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, pueden formar un anillo de 3 a 8 miembros que puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos adicionales seleccionados de O, S, o NR³, y en donde el anillo de 3 a 8 miembros puede estar opcionalmente sustituido. En una realización preferida, R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₅₋₁₀ y arilo C₅₋₁₀. En una realización más preferida, R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₆. Lo más preferiblemente, R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₆. Incluso más preferiblemente, R¹ es hidrógeno y R² es metilo.

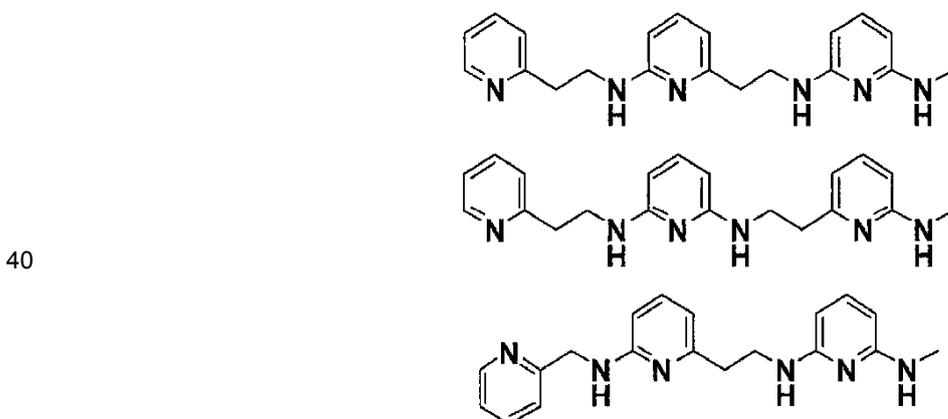
10 R¹⁶ se selecciona independientemente del grupo que consiste en C(=NOR¹³)-R¹⁴, C(=NR¹³)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-C(=NR¹³)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-NR¹⁴R¹⁵, C(O)-OR¹³, R¹³, S(O)NR¹⁴R¹⁵, and S(O)R¹³. En una realización preferida, R¹⁶ es R¹³. En una realización más preferida, R¹⁶ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₆. En una realización incluso más preferida, R¹⁶ es hidrógeno.

15 R¹³ se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₅₋₁₀, cicloalquil C₅₋₁₀-alquilo C₁₋₆, heterocicloalquilo de 5 a 10 miembros, haloalquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, heterocicloalquil-alquilo C₁₋₆ de 5 a 10 miembros, alquinilo C₂₋₆, arilo C₅₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, aril C₅₋₁₀-alquilo C₁₋₆, heteroaril-alquilo C₁₋₆ de 5 a 10 miembros o aminoalquilo, en donde el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono, en donde alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, heterocicloalquilalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo, heteroarilalquilo y aminoalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos. En una realización preferida, R¹³ se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₆ y arilo C₅₋₁₀. En una realización más preferida, R¹³ se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₆ y fenilo, incluso más preferiblemente, de hidrógeno y alquilo C₁₋₆.

20 R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₅₋₁₀, cicloalquil C₅₋₁₀-alquilo C₁₋₆, heterocicloalquilo de 5 a 10 miembros, haloalquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, heterocicloalquil-alquilo C₁₋₆ de 5 a 10 miembros, alquinilo C₂₋₆, arilo C₅₋₁₀, heteroarilo de 5 a 10 miembros, aril C₅₋₁₀-alquilo C₁₋₆, heteroaril-alquilo C₁₋₆ de 5 a 10 miembros o aminoalquilo en donde el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono, en donde alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heterocicloalquilo, haloalquilo, heterocicloalquilalquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo, heteroarilalquilo y aminoalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos. En una realización preferida, R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₆ y arilo C₅₋₁₀. En una realización más preferida, R¹⁴ y R¹⁵ se seleccionan independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₆ y fenilo, incluso más preferiblemente, de hidrógeno y alquilo C₁₋₆.

25 En caso de NR¹⁴R¹⁵, R¹⁴ y R¹⁵, cuando se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, pueden formar un anillo de 3 a 8 miembros que puede contener opcionalmente uno o más heteroátomos adicionales seleccionados de O, S o NR³, y en donde el anillo de 3 a 8 miembros puede estar opcionalmente sustituido. En esta realización, el anillo de 3 a 8 miembros puede ser, por ejemplo, pirrolidina, pirrol, piperidina o piridina.

Los compuestos preferidos de la presente invención son:



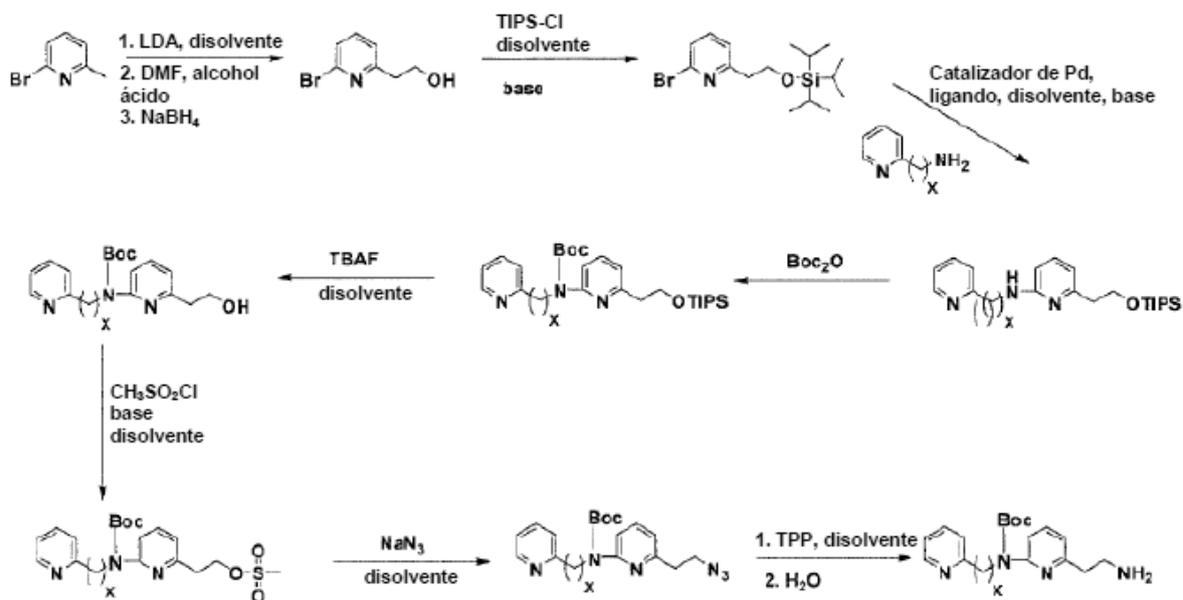
Los compuestos de la presente invención que tienen la fórmula general (I) tienen simultáneamente buena actividad farmacéutica y buena solubilidad. Esto se debe a la presencia de 3 anillos de piridina y la subestructura de 2,6-diaminopiridina.

45 Los compuestos de la presente invención se pueden preparar según métodos convencionales, que son, por ejemplo, similares a los descritos en el documento WO 2008/061795.

Los compuestos de la presente invención se pueden sintetizar mediante los métodos generales mostrados en los Esquemas 1 a 8. Estos métodos se dan como ejemplos ilustrativos y no son limitantes.

Esquema sintético general para la preparación de componentes básicos de amina que contienen dos fracciones piridilo con $x = 1$ o 2 .

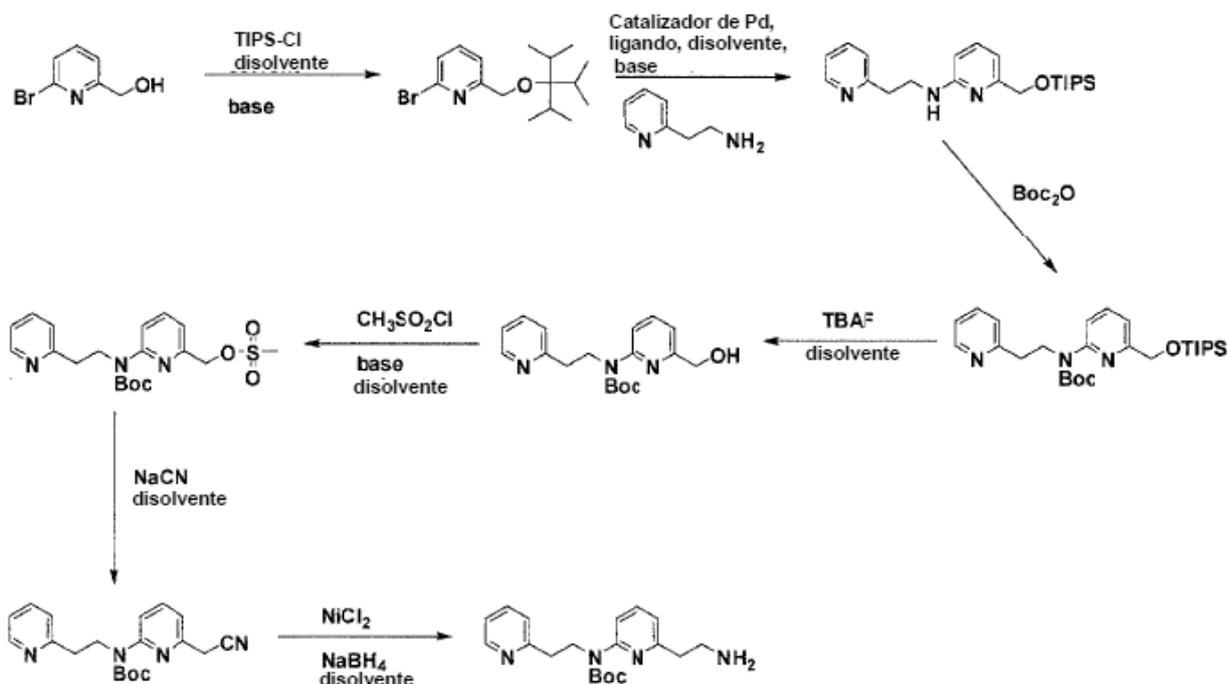
5 Esquema 1



Se trató la 2-bromo-6-metil-piridina disponible en el mercado con diisopropilamina de litio en un disolvente adecuado a -78 °C para generar el anión correspondiente. La reacción del anión a -78 °C con dimetilformamida y el tratamiento de la mezcla de reacción con borohidruro de sodio produjeron el derivado de hidroxilo correspondiente con una cadena lateral alargada de un átomo de carbono tras la purificación. La protección de la fracción hidroxilo con cloruro de triisopropilsililo en un disolvente adecuado y usando una base adecuada proporcionó el alcohol protegido tras la purificación. La reacción del sustituyente bromo del alcohol protegido con una amina apropiada empleando condiciones de aminación de Buchwald (catalizador de Pd, ligando, base y disolvente) proporcionó el producto de acoplamiento tras la purificación. La protección con Boc de la fracción amina se realizó calentando el material de partida con dicarbonato de di-*tert*-butilo y la posterior purificación. Se retiró el grupo protector de sililo mediante fluoruro de tetra-*n*-butilamonio para proporcionar el derivado hidroxilo tras la purificación. Tras la activación de la fracción hidroxilo con cloruro de metilsulfonilo en un disolvente adecuado y usando una base adecuada, se convirtió el derivado de metilsulfonilo intermedio en el correspondiente derivado de azida calentando con azida sódica en un disolvente adecuado. La purificación proporcionó el derivado de azida deseado. Se trató el derivado de azida con trifetilfosfina empleando condiciones de reacción de Staudinger para producir la amina correspondiente. La purificación proporcionó el componente básico de amina deseado.

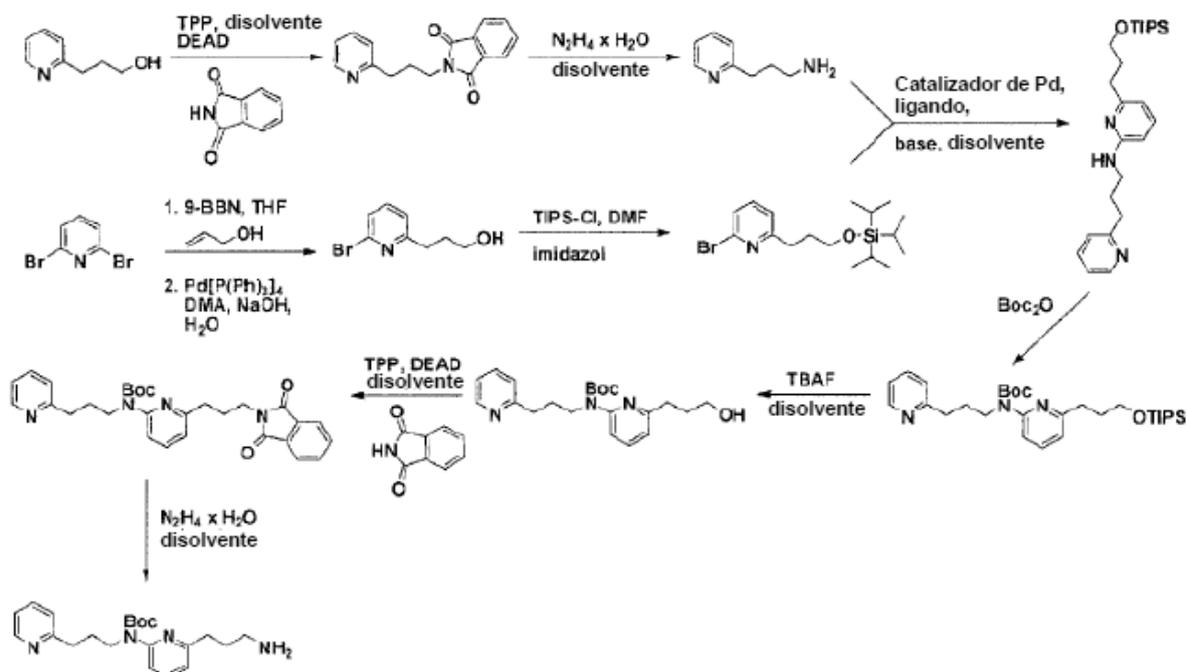
Esquema sintético general para la preparación alternativa de un componente básico de amina que contiene dos piridilo con enlazador de C_2 .

Esquema 2



- La protección de la fracción hidroxilo de (6-bromopiridin-2-il)metanol disponible en el mercado con cloruro de triisopropilsililo en un disolvente adecuado y usando una base adecuada proporcionó el alcohol protegido tras la purificación. La reacción del sustituyente bromo del alcohol protegido con una amina apropiada empleando condiciones de aminación de Buchwald (catalizador de Pd, ligando, base y disolvente) proporcionó el producto de acoplamiento tras la purificación. La protección con Boc de la fracción amina se realizó calentando el material de partida con dicarbonato de di-*terc*-butilo y la posterior purificación. Se retiró el grupo protector de sililo mediante fluoruro de tetra-*n*-butilamonio para proporcionar el derivado hidroxilo tras la purificación. Tras la activación de la fracción hidroxilo con cloruro de metilsulfonilo en un disolvente adecuado y usando una base adecuada, se convirtió el derivado de metilsulfonilo intermedio en el correspondiente derivado de nitrilo calentando con cianuro sódico en un disolvente adecuado. La purificación proporcionó el derivado de nitrilo deseado. El tratamiento del derivado de nitrilo con cloruro de níquel (II) y borohidruro de sodio en un disolvente adecuado seguido de purificación proporcionó el componente básico de amina deseado.
- Esquema sintético general para la preparación de un componente básico de amina que contiene dos fracciones piridilo con enlaces de C_3 .

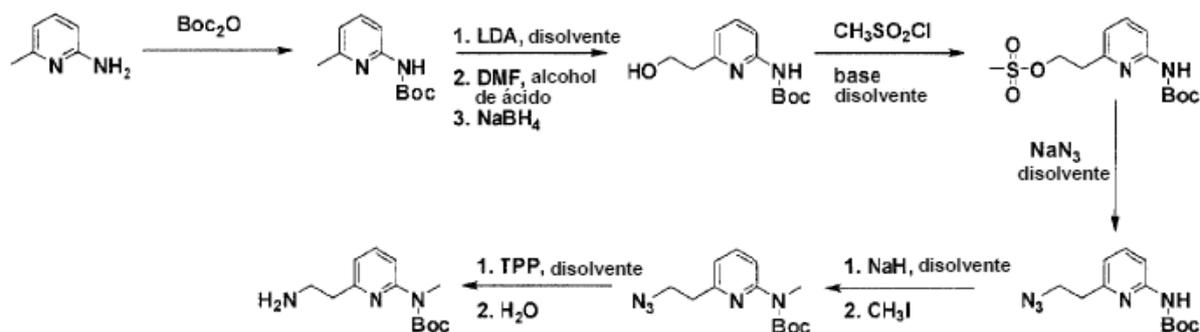
Esquema 3



Se convirtió el 3-(piridin-2-il)propan-1-ol disponible en el mercado en el derivado de amina correspondiente mediante la reacción de Mitsunobu empleando ftalimida seguida del tratamiento del producto intermedio purificado con hidrato de hidrazina en un disolvente adecuado. La purificación proporcionó la amina deseada con un enlazador de C₃. Se dejó reaccionar la 2,6-dibromopiridina disponible en el mercado con el producto de adición de alcohol alílico y 9-BBN en un disolvente adecuado empleando un catalizador de Pd adecuado en una mezcla de disolventes apropiada para proporcionar el producto de alquilación deseado tras la purificación. La protección de la fracción hidroxilo con cloruro de triisopropilsililo en un disolvente adecuado y usando una base adecuada proporcionó el alcohol protegido tras la purificación. La reacción del sustituyente bromo del alcohol protegido con una amina apropiada empleando condiciones de aminación de Buchwald (catalizador de Pd, ligando, base y disolvente) proporcionó el producto de acoplamiento tras la purificación. La protección con Boc de la fracción amina se realizó calentando el material de partida con dicarbonato de di-*terc*-butilo y la posterior purificación. Se retiró el grupo protector de sililo mediante fluoruro de tetra-*n*-butilamonio para proporcionar el derivado hidroxilo tras la purificación. Se convirtió el derivado de hidroxilo en el derivado de amina correspondiente mediante la reacción de Mitsunobu empleando ftalimida seguida del tratamiento del producto intermedio purificado con hidrato de hidrazina en un disolvente adecuado. La purificación proporcionó el componente básico de amina deseado con enlazadores de C₃.

Esquema sintético general para la preparación de un componente básico de amina que contiene una fracción de piridilo.

Esquema 4

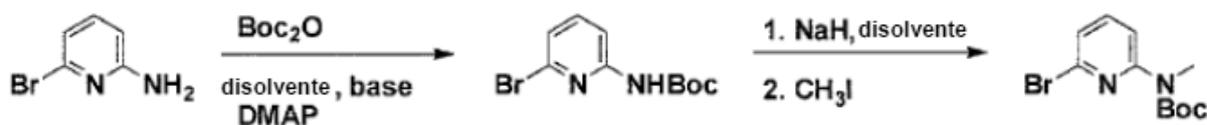


Se calentó la 2-amino-6-metil-piridina disponible en el mercado con dicarbonato de di-*terc*-butilo para proporcionar el derivado protegido con mono-Boc tras la purificación. Se trató el derivado de Boc con diisopropilamina de litio en un disolvente adecuado a -78 °C para generar el anión correspondiente. La reacción del anión a -78 °C con

dimetilformamida y el tratamiento de la mezcla de reacción con borohidruro de sodio produjeron el derivado de hidroxilo correspondiente con una cadena lateral alargada de un átomo de carbono tras la purificación. Tras la activación de la fracción hidroxilo con cloruro de metilsulfonilo en un disolvente adecuado y usando una base adecuada, se convirtió el derivado de metilsulfonilo intermedio en el correspondiente derivado de azida calentado con azida sódica en un disolvente adecuado. La purificación proporcionó el derivado de azida deseado. Se trató el sustituyente mono-Boc-amino del derivado de azida con hidruro de sodio en un disolvente adecuado seguido de la reacción con yoduro de metilo para proporcionar el derivado de azida N-metilado tras la purificación. Se trató el derivado de azida N-metilado con trifetilfosfina empleando condiciones de reacción de Staudinger para producir la amina correspondiente. La purificación proporcionó el componente básico de amina deseado.

- 5
- 10 Esquema sintético general para la preparación de un componente básico de bromo que contiene una fracción piridilo.

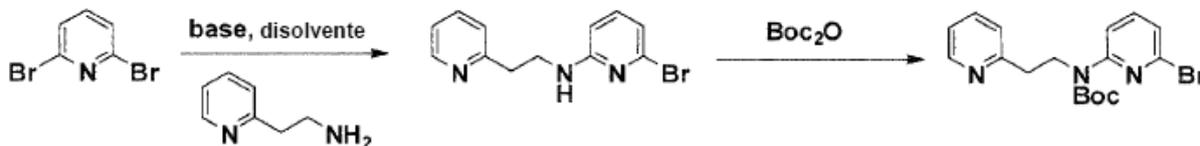
Esquema 5



- 15 Se trató la 2-amino-6-bromo-piridina disponible en el mercado con dicarbonato de di-*tert*-butilo, una base adecuada y 4-dimetilaminopiridina en un disolvente apropiado para proporcionar el derivado de mono-Boc tras la purificación. El tratamiento del derivado de mono-Boc con hidruro de sodio en un disolvente adecuado seguido de la reacción con yoduro de metilo proporcionó el componente básico de bromo deseado tras la purificación.

Esquema sintético general para la preparación de un componente básico de bromo que contiene dos fracciones piridilo.

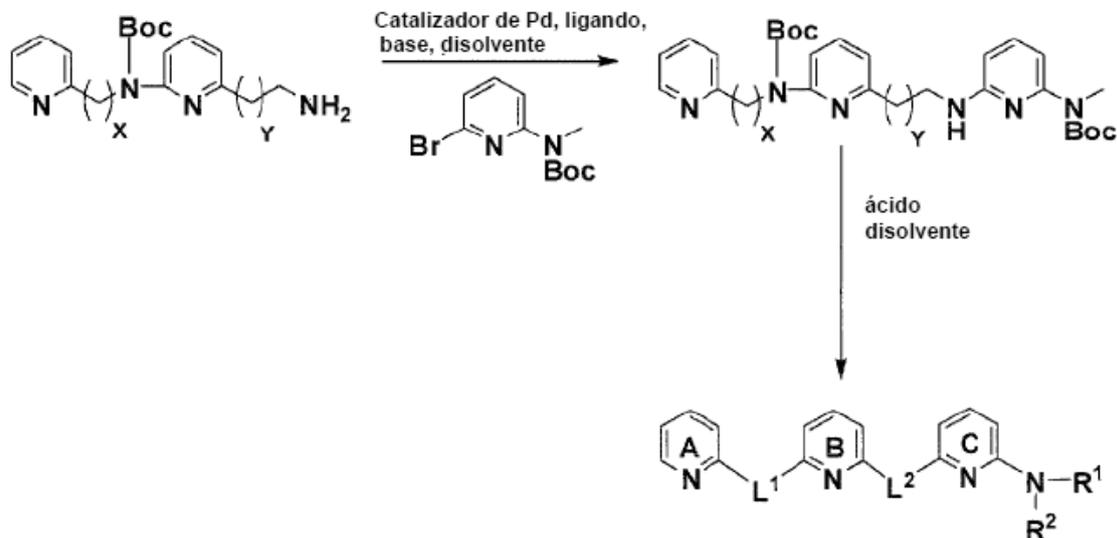
20 **Esquema 6**



- 25 Se calentó la 2,6-dibromopiridina disponible en el mercado con una amina apropiada y una base adecuada en un disolvente adecuado para proporcionar el producto de monoaminación tras la purificación. El calentamiento del producto de aminación con dicarbonato de di-*tert*-butilo proporcionó el componente básico de bromo deseado tras la purificación.

Esquema sintético general para la preparación de componentes x = 1, 2 o 3 e y = 1 o 2.

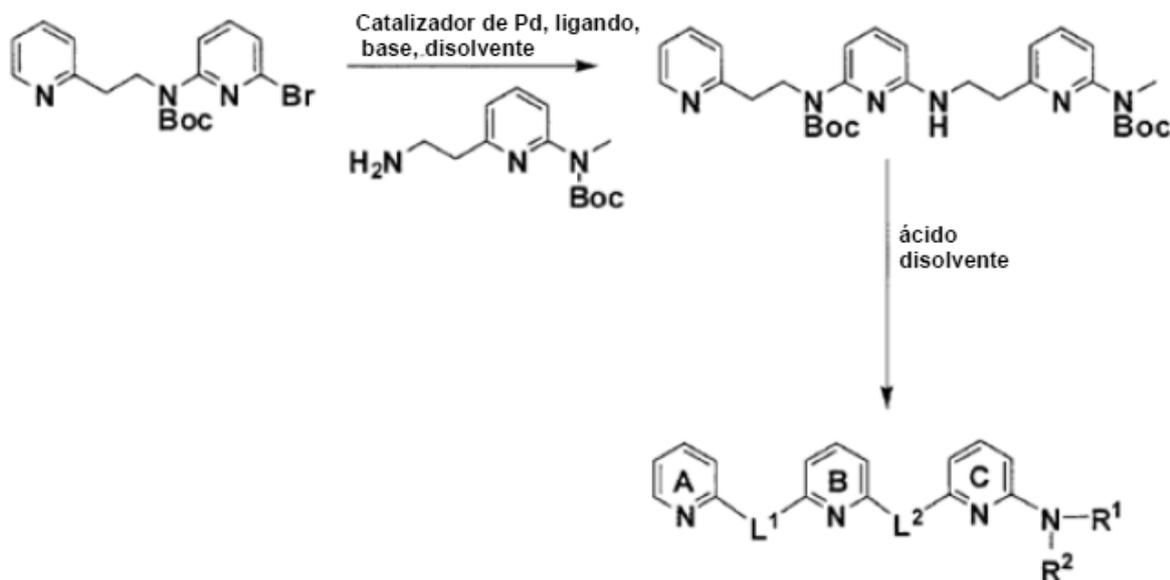
Esquema 7



5 Usando el componente básico de amina y bromo apropiado anterior en una reacción de aminación catalizada por Pd empleando condiciones de Buchwald (catalizador de Pd, ligando, base, disolvente), se obtuvo el producto de aminación deseado después de la purificación. La escisión de los grupos protectores de Boc con ácido en un disolvente adecuado proporcionó el compuesto final deseado después de la liofilización.

Esquema sintético general para la preparación de los componentes de la presente invención.

Esquema 8



10 Usando el componente básico de amina y bromo apropiado anterior en una reacción de aminación catalizada por Pd empleando condiciones de Buchwald (catalizador de Pd, ligando, base, disolvente), se obtuvo el producto de aminación deseado después de la purificación. La escisión de los grupos protectores de Boc con ácido en un disolvente adecuado proporcionó el compuesto final deseado después de la liofilización.

15 Si bien es posible que los compuestos de la presente invención se administren solos, es preferible formularlos en una composición farmacéutica según la práctica farmacéutica convencional. Por lo tanto, la invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) en mezcla con un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Los excipientes farmacéuticamente aceptables son bien conocidos en la técnica farmacéutica, y se describen, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences. 15ª Ed., Mack Publishing Co., Nueva Jersey (1991). El excipiente farmacéutico puede seleccionarse con respecto a la vía de administración deseada y a la práctica farmacológica convencional. El excipiente debe ser aceptable en el sentido de no ser nocivo para el destinatario del mismo.

Los excipientes farmacéuticamente útiles que pueden usarse en la formulación de la composición farmacéutica de la presente invención pueden comprender, por ejemplo, portadores, vehículos, diluyentes, disolventes tales como alcoholes monohídricos tales como etanol, isopropanol y alcoholes polihídricos tales como glicoles y aceites comestibles tales como aceite de soja, aceite de coco, aceite de oliva, aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón, ésteres oleosos tales como oleato de etilo, miristato de isopropilo, aglutinantes, adyuvantes, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes, disgregantes, deslizantes, agentes lubricantes, agentes tamponantes, emulsionantes, agentes humectantes, agentes de suspensión, agentes edulcorantes, colorantes, aromatizantes, agentes de recubrimiento, conservantes, antioxidantes, agentes de procesamiento, modificadores y potenciadores de la administración de fármacos tales como fosfato de calcio, estearato de magnesio, talco, monosacáridos, disacáridos, almidón, gelatina, celulosa, metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, dextrosa, hidroxipropil-β-ciclodextrina, polivinilpirrolidona, ceras de bajo punto de fusión y resinas de intercambio iónico.

Las vías para la administración (suministro) de los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a, una o más de: vía oral (por ejemplo, en forma de un comprimido, una cápsula o como una solución ingerible), tópica, mucosal (por ejemplo, en forma de un pulverizado nasal o aerosol para inhalación), nasal, parenteral (por ejemplo, mediante una forma inyectable), gastrointestinal, intraespinal, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intrauterina, intraocular, intradérmica, intracraneal, intratraqueal, intravaginal, intracerebroventricular, intracerebral, subcutánea, oftálmica (incluso intravítrea o intracameral), transdérmica, rectal, bucal, epidural y sublingual.

En la administración oftálmica, los compuestos se pueden administrar, por ejemplo, en forma de gotas para los ojos.

Por ejemplo, los compuestos pueden administrarse por vía oral en forma de comprimidos, cápsulas, óvulos, elixires, soluciones o suspensiones, que pueden contener agentes aromatizantes o colorantes, para aplicaciones de liberación inmediata, retardada, modificada, sostenida, pulsada o controlada.

Los comprimidos pueden contener excipientes tales como celulosa macrocristalina, lactosa, citrato de sodio, carbonato de calcio, fosfato de calcio dibásico y glicina; disgregantes tales como almidón (preferiblemente almidón de maíz, patata o tapioca), glicolato de almidón sódico, croscarmelosa de sodio y ciertos silicatos complejos, y aglutinantes de granulación tales como polivinilpirrolidona, hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), sacarosa, gelatina y goma arábiga. Además, se pueden incluir agentes lubricantes tales como estearato de magnesio, ácido esteárico, behenato de glicerilo y talco. Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden emplearse como cargas en cápsulas de gelatina. Los excipientes preferidos en este sentido incluyen lactosa, almidón, una celulosa, azúcar de leche o polietilenglicoles de alto peso molecular. Para las suspensiones acuosas y/o elixires, el agente se puede combinar con diversos agentes edulcorantes o aromatizantes, materia colorante o tintes, con agentes emulsionantes y/o de suspensión y con diluyentes tales como agua, etanol, propilenglicol y glicerina, y combinaciones de los mismos.

Si los compuestos de la presente invención se administran por vía parenteral, entonces los ejemplos de dicha administración incluyen uno o más de: administración intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intraesternal, intracraneal, intramuscular o subcutánea de los compuestos; y/o usando técnicas de infusión. Para la administración parenteral, los compuestos se usan mejor en forma de una solución acuosa estéril que puede contener otras sustancias, por ejemplo, suficientes sales o glucosa para hacer que la solución sea isotónica con la sangre. Las soluciones acuosas deberían estar adecuadamente tamponadas (preferiblemente a un pH de 3 a 9), si fuera necesario. La preparación de formulaciones parenterales adecuadas en condiciones estériles se realiza fácilmente mediante técnicas farmacéuticas convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica.

Como se indicó, los compuestos de la presente invención se pueden administrar por vía intranasal o por inhalación, y se administran convenientemente en forma de un inhalador de polvo seco o una presentación de pulverizado en aerosol desde un recipiente presurizado, bomba, pulverizador o nebulizador con el uso de un propulsor adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, un hidrofluoroalcano tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA134AT) o 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano (HFA 227EA), dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. El recipiente presurizado, la bomba, el pulverizado o el nebulizador pueden contener una solución o suspensión del compuesto activo, por ejemplo, usando una mezcla de etanol y el propulsor como disolvente, que puede contener además un lubricante, por ejemplo, trioleato de sorbitano. Las cápsulas y los cartuchos (fabricados, por ejemplo, a partir de gelatina) para su uso en un inhalador o insuflador pueden formularse para contener una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

Como alternativa, los compuestos de la presente invención se pueden administrar en forma de un supositorio o pesario, o se pueden aplicar por vía tópica en forma de gel, hidrogel, loción, solución, crema, pomada o polvo de uso

externo. Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar por vía dérmica o transdérmica, por ejemplo, mediante el uso de un parche cutáneo.

5 También pueden administrarse por las vías pulmonar o rectal. También pueden administrarse por la vía ocular. Para uso oftálmico, los compuestos se pueden formular como suspensiones micronizadas en solución salina estéril isotónica, ajustada al pH o, preferiblemente, como soluciones en solución salina estéril, ajustada al pH, isotónica opcionalmente en combinación con un conservante tal como cloruro de bencilalconio. Como alternativa, pueden formularse en una pomada tal como vaselina.

10 Para la aplicación tópica en la piel, los compuestos de la presente invención se pueden formular como una pomada adecuada que contiene el compuesto activo suspendido o disuelto en, por ejemplo, una mezcla con uno o más de los siguientes: aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, propilenglicol, cera emulsionante y agua. Como alternativa, se pueden formular como una loción o crema adecuada, suspendida o disuelta en, por ejemplo, una mezcla de uno o más de los siguientes: aceite mineral, monoestearato de sorbitán, un polietilenglicol, parafina líquida, polisorbato 60, cera de cetilésteres, alcohol cetearílico, 2-octildodecanol, alcohol bencílico y agua.

15 Debido a su alta solubilidad, los compuestos de la presente invención son especialmente adecuados para las vías de administración en las que los compuestos se administran en un medio líquido. Los ejemplos son gotas para los ojos y otras soluciones.

20 Por lo general, un médico determinará la dosis real que será más adecuada para cada sujeto. El nivel de dosis específico y la frecuencia de dosificación para cualquier individuo en particular pueden variarse, y dependerán de una variedad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la estabilidad metabólica y la duración de la acción de ese compuesto, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el modo y el momento de la administración, la tasa de excreción, la combinación de fármacos, la gravedad de la afección en particular y el individuo que se somete a la terapia.

25 Una dosis propuesta de los compuestos según la presente invención para la administración a un ser humano (de aproximadamente 70 kg de peso corporal) es de 0,1 mg a 1 g, preferiblemente de 1 mg a 500 mg del principio activo por dosis unitaria. La dosis unitaria puede administrarse, por ejemplo, de 1 a 4 veces al día. La dosis dependerá de la vía de administración. Se apreciará que puede ser necesario realizar variaciones rutinarias de la dosis dependiendo de la edad y del peso del paciente, así como de la gravedad de la afección que se vaya a tratar. La dosis exacta y la vía de administración serán, en última instancia, a discreción del médico o veterinario asistente.

30 Los compuestos de la invención también pueden usarse en combinación con otros agentes terapéuticos. Cuando se usa un compuesto de la invención en combinación con un segundo agente terapéutico activo contra la misma enfermedad, la dosis de cada compuesto puede diferir de la que se obtiene cuando el compuesto se usa solo.

35 Las combinaciones mencionadas anteriormente pueden presentarse convenientemente para su uso en forma de una formulación farmacéutica. Los componentes individuales de dichas combinaciones pueden administrarse bien secuencial o simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas por cualquier vía conveniente. Cuando la administración es secuencial, puede administrarse primero el compuesto de la invención o el segundo agente terapéutico. Cuando la administración es simultánea, la combinación puede administrarse en la misma o en diferente composición farmacéutica. Cuando se combinan en la misma formulación, se apreciará que los dos compuestos deben ser estables y compatibles entre sí y con los otros componentes de la formulación. Cuando se formulan por separado, pueden proporcionarse en cualquier formulación conveniente, convenientemente de la manera que se conoce para dichos compuestos en la técnica.

40 Las composiciones farmacéuticas de la invención se pueden producir de una manera conocida en sí por el experto en la técnica como se describe, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª Ed., Mack Publishing Co. Nueva Jersey (1991).

45 Las enfermedades que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención se pueden asociar con la formación de estructuras proteicas anormales, en particular, estructuras de lámina β anormales. En el contexto de la presente invención, una estructura proteica anormal es una estructura proteica que surge cuando una proteína o un péptido se repliegan de la estructura tridimensional, que, en general, se adopta en individuos sanos, en una estructura tridimensional diferente, que está asociada con una afección patológica. Asimismo, una estructura de lámina β anormal en el contexto de la presente invención es una estructura de lámina β que surge cuando una proteína o un péptido se repliega desde la estructura tridimensional, que, en general, se adopta en individuos sanos, en una estructura de lámina β , que está asociada con una afección patológica.

50 En particular, en una realización, las enfermedades que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención son enfermedades o afecciones asociadas con proteínas amiloides o de tipo amiloide.

55 Este grupo de enfermedades y trastornos incluye enfermedades oculares asociadas con el amiloide que se dirigen a diferentes tejidos del ojo, tales como la corteza visual, incluyendo déficits visuales corticales; la cámara anterior y el nervio óptico, incluyendo el glaucoma; el cristalino, incluyendo las cataratas debidas a la deposición de beta-amiloide; el vítreo, incluyendo las amiloidosis oculares; la retina, incluyendo las degeneraciones retinianas primarias

y la degeneración macular, en particular, la degeneración macular relacionada con la edad; el nervio óptico, incluyendo las drusas del nervio óptico, la neuropatía óptica y la neuritis óptica; y la córnea, incluyendo la distrofia reticular.

5 La capacidad de un compuesto para inhibir la agregación de A β puede, por ejemplo, determinarse usando espectroscopia de correlación de fluorescencia como se describe en Rzepecki *et al.*, *J. Biol. Chem.*, 2004, 279(46), 47497-47505 o usando el ensayo de espetrofluorescencia de tioflavina T.

10 En otra realización, los compuestos de la presente invención también se pueden usar para tratar o aliviar los efectos de enfermedades oculares asociadas con anomalías/cambios patológicos en los tejidos del sistema visual, en particular, asociadas con anomalías/cambios patológicos relacionados con el beta-amiloide en los tejidos del sistema visual, tales como, por ejemplo, la degradación neuronal. Dichas anomalías patológicas pueden ocurrir, por ejemplo, en diferentes tejidos del ojo, tales como la corteza visual, que conducen a déficits visuales corticales; la cámara anterior y el nervio óptico, que conducen al glaucoma; el cristalino, que conducen a la catarata debido a la deposición de beta-amiloide; el vítreo, que conducen a amiloidosis ocular; la retina, que conducen a la degeneración retiniana primaria y la degeneración macular, por ejemplo, la degeneración macular relacionada con la edad; el nervio óptico, que conducen a drusas del nervio óptico, neuropatía óptica y neuritis óptica; y la córnea, que conducen a la distrofia reticular. Los compuestos de la presente invención han demostrado ser particularmente adecuados para tratar o prevenir el glaucoma.

20 Los compuestos según la presente invención también se pueden proporcionar en forma de una mezcla con al menos otro compuesto biológicamente activo y/o un vehículo farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente y/o un excipiente. El compuesto y/o el compuesto biológicamente activo adicional están presentes preferiblemente en una cantidad terapéuticamente eficaz.

25 La naturaleza del compuesto biológicamente activo adicional dependerá del uso previsto de la mezcla. La sustancia o el compuesto biológicamente activo adicional puede ejercer su efecto biológico mediante el mismo mecanismo o un mecanismo similar al del compuesto según la invención o mediante un mecanismo de acción no relacionado o mediante una multiplicidad de mecanismos de acción relacionados y/o no relacionados.

30 En general, el compuesto biológicamente activo adicional puede incluir bloqueadores beta, inhibidores de anhidrasa carbónica, agonistas alfa- o beta-adrenérgicos, prostaglandinas, parasinfomiméticos, inhibidores de colinesterasa, síntesis de acetilcolina, potenciadores de almacenamiento o liberación, agonistas del receptor postsináptico de acetilcolina o antagonistas del receptor de glutamato de N-metil-D-aspartato. En particular, el compuesto biológicamente activo adicional puede seleccionarse del grupo que consiste en un compuesto usado en el tratamiento de la amiloidosis, compuestos contra el estrés oxidativo, compuestos antiapoptóticos, quelantes de metales, inhibidores de la reparación del ADN tales como pirenzepina y metabolitos, ácido 3-amino-1-propanosulfónico (3APS), 1,3-propanodisulfonato (1,3PDS), activadores de α -secretasa, inhibidores de β - y γ -secretasa, neurotransmisores, rompedores de lámina β , atrayentes de componentes celulares de eliminación/agotamiento de beta-amiloide, inhibidores del beta-amiloide truncado N-terminal incluyendo beta-amiloide piroglutadado 3-42, moléculas antiinflamatorias o inhibidores de la colinesterasa (ChEI) tales como tacrina, rivastigmina, donepezilo y/o galantamina, agonistas de M1, otros fármacos incluyendo cualquier fármaco de modificación del amiloide y suplemento nutritivo, un anticuerpo, incluyendo cualquier anticuerpo funcionalmente equivalente o partes funcionales del mismo, un fragmento de péptido antigénico A β que consiste en un tramo único o repetitivo de una pluralidad de restos de aminoácidos contiguos de la parte N-terminal del péptido A β .

40 En una realización más, las mezclas según la invención pueden comprender memantina junto con un compuesto según la presente invención y, opcionalmente, un vehículo farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente y/o un excipiente.

45 En otra realización más de la invención, se proporcionan mezclas que comprenden, como un compuesto biológicamente activo adicional, un agente reductor de la presión intraocular, junto con un compuesto según la invención y, opcionalmente, un vehículo farmacéuticamente aceptable y/o un diluyente y/o un excipiente.

En una realización preferida, el compuesto biológicamente activo adicional es un anticuerpo, incluyendo cualquier anticuerpo funcionalmente equivalente o partes funcionales del mismo. El anticuerpo puede ser, preferiblemente, monoclonal, quimérico o humanizado.

50 En un aspecto adicional de la invención, se proporciona una mezcla que comprende, además del compuesto de la invención, un anticuerpo que incluye partes funcionales del mismo o, más particularmente, un anticuerpo monoclonal que incluye partes funcionales del mismo, que reconoce y se une al amiloide β (A β), en particular, a la configuración nativa de β -amiloide, es decir a oligómeros amiloides y a fibras, pero no a especies amiloides no linealizadas.

55 En particular, dichos anticuerpos son capaces de inhibir, *in vitro* e *in vivo*, la agregación de péptidos monoméricos amiloidogénicos, específicamente péptidos monoméricos β -amiloides tales como, por ejemplo, péptidos monoméricos A β 1-39; 1-40, 1-41, 1-42 o 1-43, pero, en especial, péptidos monoméricos A β ₁₋₄₂, en fibrillas o filamentos de amiloide polimérico de alto peso molecular. Mediante la inhibición de la agregación de péptidos monoméricos amiloidogénicos, estos anticuerpos son capaces de prevenir o ralentizar la formación de placas

amiloides, en particular, la forma amiloide (1-42), que se sabe que se vuelve insoluble por el cambio de la configuración secundaria y que es la parte principal de las placas de amiloide en el cerebro de animales enfermos o seres humanos.

5 En otro aspecto de la invención, la mezcla comprende anticuerpos que, tras la incubación conjunta con fibrillas o filamentos de amiloide polimérico de alto peso molecular formados por la agregación de péptidos monoméricos amiloides, específicamente péptidos monoméricos β -amiloides tales como, por ejemplo, péptidos monoméricos A β 1-39; 1-40, 1-41, 1-42 o 1-43, pero, en especial, los péptidos monoméricos A β ₁₋₄₂, son capaces de desagregar dichas fibrillas o filamentos de amiloide polimérico de alto peso molecular. A través de la desagregación de las
10 fibrillas o de los filamentos poliméricos amiloidogénicos, estos anticuerpos son capaces de prevenir o ralentizar la formación de placas amiloides, lo que conduce a un alivio de los síntomas asociados con la enfermedad y un retraso o una reversión de su progresión.

15 En otro aspecto más de la invención, la mezcla comprende un anticuerpo, pero, en especial, un anticuerpo monoclonal o partes funcionales del mismo, anticuerpo que es bifuncional o biespecífico, porque presenta tanto una propiedad de inhibición de la agregación como una propiedad de desagregación como se definió en la presente memoria anteriormente, en particular, emparejada con un alto grado de sensibilidad conformacional.

En una realización, la mezcla comprende un anticuerpo que reconoce y se une a un epítipo conformacional, en particular, un epítipo conformacional que está presente en la parte N-terminal del péptido β -amiloide, en particular integrado en la siguiente región central de la parte N-terminal del péptido β -amiloide.

Val-	Iis-	Iis-	Gln-	Lys-	Leu-	Val-	Phe-	Phe-	Ala-	Glu-	Asp-
12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23

20 En particular, un epítipo localizado en una región de la proteína β -amiloide entre el resto de aminoácido 12 a 24, en particular, entre los restos 14 a 23, más particularmente entre los restos de aminoácidos 14 y 20, que comprende tres sitios de reconocimiento y unión distintos cuyos restos participan predominantemente en la unión de la proteína β -amiloide y se sitúan en la posición 16, 17, y en la posición 19 y 20, y en la posición 14, respectivamente.

25 En una realización específica, la mezcla de la presente invención comprende, además del compuesto de la invención, un anticuerpo, en particular, un anticuerpo bifuncional, pero en especial, un anticuerpo monoclonal, particularmente un anticuerpo monoclonal bifuncional, que incluye cualquier anticuerpo funcionalmente equivalente o partes funcionales del mismo, cuyo anticuerpo tiene las propiedades características de un anticuerpo producido por una estirpe celular de hibridoma seleccionada del grupo que consiste en FP 12H3, FP 12H3-C2 y FP 12H3-G2 depositados el 1 de diciembre de 2005 y el 9 de diciembre de 2005, respectivamente, como DSM ACC2752, DSM
30 ACC 2750 y DSM ACC2751, respectivamente, ET 7E3, depositado el 8 de diciembre de 2005 como DSM ACC2755, y EJ 7H3 depositado el 8 de diciembre de 2005 como DSM ACC2756.

Más concretamente, la invención se refiere a un anticuerpo, incluyendo cualquier anticuerpo funcionalmente equivalente o partes funcionales del mismo, producido por una estirpe celular de hibridoma seleccionada del grupo que consiste en FP 12H3, FP 12H3-C2 y FP 12H3-G2 depositados el 1 de diciembre de 2005 y el 9 de diciembre de
35 2005, respectivamente, como DSM ACC2752, DSM ACC 2750 y DSM ACC2751, respectivamente, ET 7E3, depositado el 8 de diciembre de 2005 como DSM ACC2755, y EJ 7H3 depositado el 8 de diciembre de 2005 como DSM ACC2756.

Los anticuerpos anteriores se describen en la solicitud internacional publicada WO 2007/068412.

40 En un aspecto adicional, el anticuerpo que está comprendido en la mezcla según la invención es un anticuerpo quimérico o un fragmento del mismo, o un anticuerpo humanizado o un fragmento del mismo. Estos y otros anticuerpos que pueden usarse de forma adecuada dentro de las mezclas según la presente invención se describen, por ejemplo, en la solicitud internacional PCT/US2007/073504 presentada el 13 de julio de 2007.

45 Si el anticuerpo es un anticuerpo humanizado, presenta preferiblemente una cadena ligera y una cadena pesada como se representa en SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 4 de la solicitud internacional n.º PCT/US2007/073504 o presenta una región variable de cadena ligera y una región variable de cadena pesada como se representa en SEQ ID NO: 1 y SEQ ID NO: 3 de la solicitud internacional n.º PCT/US2007/073504. Estas secuencias también se muestran en la lista de secuencias adjunta.

50 En otro aspecto más de la invención, se proporciona una mezcla que comprende, además del compuesto según la invención y como se describió en la presente memoria anteriormente, un fragmento peptídico de la parte N-terminal del péptido A β , en particular, un fragmento del péptido A β que consiste en un tramo sencillo o repetitivo de entre 13 y 15 restos de aminoácidos contiguos de la parte N-terminal del péptido A β , pero, en particular, un fragmento de péptido A β que consiste en restos de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en los restos 11-15, 1-14 y 1-13 de la parte N-terminal del péptido A β , más particularmente del resto 1-15, incluyendo fragmentos funcionalmente equivalentes del mismo, pero, en especial, un fragmento de péptido A β como se mencionó
55 anteriormente en la presente memoria, o incorporado a o reconstituido en una partícula portadora/adyuvante tal

como, por ejemplo, un liposoma. El fragmento peptídico puede estar comprendido en una composición de vacuna. En particular, el antígeno peptídico está modificado por una fracción lipófila o hidrófoba, que facilita la inserción en la bicapa lipídica del vehículo de liposoma/adyuvante inmune, en particular, mediante una fracción lipófila o hidrófoba que funciona como un anclaje para el péptido en la bicapa liposomal y tiene una dimensión que conduce a que el péptido se posicione y se establezca muy cerca de la superficie del liposoma.

En una realización adicional de la invención, la fracción lipófila o hidrófoba es un ácido graso, un triglicérido o un fosfolípido, pero, en especial, un ácido graso, un triglicérido o un fosfolípido. En particular, la fracción hidrófoba es ácido palmítico, y el preparado liposomal puede contener además un adyuvante tal como, por ejemplo, lípido A, alumbre, fosfato de calcio, interleucina 1 y/o microcápsulas de polisacáridos y proteínas, pero en particular un lípido A desintoxicado, tal como monofosforil o difosforil lípido A, o alumbre.

Estas y otras composiciones que se pueden usar adecuadamente en las mezclas de la presente invención se describen, por ejemplo, en la solicitud internacional publicada WO 2007/068411.

El diagnóstico de una enfermedad o afección asociada con el amiloide, o de una predisposición a una enfermedad o afección asociada con el amiloide en un paciente se puede lograr detectando la unión específica de un compuesto de acuerdo con la invención a la proteína amiloide en una muestra o *in situ*, lo que incluye poner en contacto la muestra, o una parte o zona específica del cuerpo que se sospecha que contiene el antígeno amiloide con un compuesto de la invención que se une a la proteína amiloide, permitiendo que el compuesto de la invención se una a la proteína amiloide para formar un complejo de compuesto/proteína, detectando la formación del complejo de compuesto/proteína y correlacionando la presencia o ausencia del complejo de compuesto/proteína con la presencia o ausencia de proteína amiloide en la muestra, o parte o zona específica del cuerpo, comparando opcionalmente la cantidad de dicho complejo de compuesto/proteína con un valor de control normal, en donde un aumento en la cantidad de dicho agregado en comparación con un valor de control normal puede indicar que dicho paciente está padeciendo o está en riesgo de desarrollar una enfermedad o afección asociada con el amiloide.

Se puede realizar el control de la enfermedad residual mínima en un paciente tras el tratamiento con el compuesto o una mezcla de acuerdo con la invención detectando la unión específica de un compuesto de acuerdo con la invención a la proteína amiloide en una muestra o *in situ*, lo que incluye poner en contacto la muestra, o una parte o zona específica del cuerpo que se sospecha que contiene el antígeno amiloide con un compuesto de la invención que se une a la proteína amiloide, permitiendo que el compuesto se una a la proteína amiloide para formar un complejo de compuesto/proteína, detectando la formación del complejo de compuesto/proteína y correlacionando la presencia o ausencia del complejo de compuesto/proteína con la presencia o ausencia de proteína amiloide en la muestra, o parte o zona específica del cuerpo, comparando opcionalmente la cantidad de dicho complejo de compuesto/proteína con un valor de control normal, en donde un aumento en la cantidad de dicho agregado en comparación con un valor de control normal puede indicar que dicho paciente todavía padece una enfermedad residual mínima.

Se puede realizar la predicción de la capacidad de respuesta de un paciente a un tratamiento con un compuesto o una composición, o una mezcla de acuerdo con la invención detectando la unión específica de un compuesto de acuerdo con la invención a la proteína amiloide en una muestra o *in situ*, lo que incluye poner en contacto la muestra, o una parte o zona específica del cuerpo que se sospecha que contiene el antígeno amiloide con un compuesto de la invención que se une a la proteína amiloide, permitiendo que el compuesto se una a la proteína amiloide para formar un complejo de compuesto/proteína, detectando la formación del complejo de compuesto/proteína y correlacionando la presencia o ausencia del complejo de compuesto/proteína con la presencia o ausencia de proteína amiloide en la muestra, o parte o zona específica del cuerpo, comparando opcionalmente la cantidad de dicho complejo de compuesto/proteína antes y después del inicio del tratamiento, en donde una reducción de la cantidad de dicho agregado puede indicar que dicho paciente tiene un alto potencial de ser sensible al tratamiento.

Las muestras biológicas que se pueden usar en el diagnóstico de una enfermedad o afección asociada con el amiloide para diagnosticar una predisposición a una enfermedad o afección asociada con el amiloide o para controlar una enfermedad residual mínima en un paciente o para predecir la capacidad de respuesta de un paciente a un tratamiento con un compuesto o una composición o una mezcla de acuerdo con la invención y como se describió anteriormente en la presente memoria son, por ejemplo, fluidos tales como suero, plasma, saliva, secreciones gástricas, moco, fluido cefalorraquídeo, fluido linfático y similares, o muestras de tejidos o células obtenidas de un organismo tal como el tejido neural, cerebral, cardíaco o vascular. Para determinar la presencia o ausencia de la proteína amiloide en una muestra, se puede usar cualquier inmunoensayo conocido por los expertos habituales en la técnica (véase Harlow y Lane, "Antibodies: A Laboratory Manual" (Cold Spring Harbor Laboratory, Nueva York, 1988, 555 a 612) tal como, por ejemplo, ensayos que utilizan métodos de detección indirectos que usan reactivos secundarios para ensayos de detección, de ELISA e inmunoprecipitación y de aglutinación. Una descripción detallada de estos ensayos se da, por ejemplo, en el documento WO96/13590, concedido a Maertens, y en Stuyver, Zrein *et al.* (1998) y el documento WO96/29605.

Para el diagnóstico *in situ*, el compuesto o la composición o mezcla de acuerdo con la invención y como se describió anteriormente en la presente memoria se puede administrar al organismo para ser diagnosticado mediante métodos

conocidos en la técnica tales como, por ejemplo, por inyección intravenosa, intranasal, intraperitoneal, intracerebral, intraarterial, de manera que puede producirse una unión específica entre el compuesto de acuerdo con la invención y el antígeno amiloide. El complejo de compuesto/proteína puede detectarse a través de un marcador unido al compuesto.

5 Los inmunoensayos usados en aplicaciones de diagnóstico o en aplicaciones para diagnosticar una predisposición a una enfermedad o afección asociada con el amiloide o para controlar una enfermedad residual mínima en un paciente o para predecir la capacidad de respuesta de un paciente a un tratamiento con un compuesto o una composición o una mezcla de acuerdo con la invención, y como se describió anteriormente en la presente memoria, normalmente se basan en antígenos, anticuerpos o reactivos secundarios marcados para la detección. Estas proteínas o reactivos se pueden marcar con compuestos conocidos en general por los expertos en la técnica, que incluyen enzimas, radioisótopos y sustancias fluorescentes, luminiscentes y cromogénicas que incluyen partículas coloreadas, tales como oro coloidal y perlas de látex. Entre ellos, se puede usar el marcaje radiactivo para casi todos los tipos de ensayos y con la mayoría de las variaciones. Los marcadores conjugados con enzimas son particularmente útiles cuando se debe evitar la radiactividad o cuando se necesitan resultados rápidos. Los fluorocromos, aunque requieren equipos costosos para su uso, proporcionan un método de detección muy sensible. Los anticuerpos útiles en estos ensayos incluyen anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales y anticuerpos policlonales purificados por afinidad.

Como alternativa, el compuesto de la invención se puede marcar indirectamente mediante la reacción con sustancias marcadas que tienen afinidad por la inmunoglobulina, tales como proteína A o G o segundos anticuerpos. El anticuerpo puede conjugarse con una segunda sustancia y detectarse con una tercera sustancia marcada que tiene afinidad por la segunda sustancia conjugada con el anticuerpo. Por ejemplo, el anticuerpo puede conjugarse con biotina, y detectarse el conjugado de anticuerpo-biotina usando avidina o estreptavidina marcadas. De forma similar, el anticuerpo puede conjugarse con un hapteno y el conjugado de anticuerpo-hapteno puede detectarse usando anticuerpo anti-hapteno marcado.

20 Los expertos en la técnica conocerán estos y otros marcadores adecuados que se pueden emplear de acuerdo con la presente invención. La unión de estos marcadores a anticuerpos o fragmentos de los mismos se puede lograr usando técnicas convencionales comúnmente conocidas por los expertos en la técnica. Las técnicas típicas están descritas por Kennedy, J. H., *et al.*, 1976 (*Clin. Chim. Acta* 70:1-31), y Schurs, A. H. W. M., *et al.* 1977 (*Clin. Chim. Acta* 81:1-40). Las técnicas de acoplamiento mencionadas en este último son el método de glutaraldehído, el método de peryodato, el método de dimaleimida y otros, estando todos ellos incorporados por referencia en la presente memoria.

Los inmunoensayos actuales utilizan un método de doble anticuerpo para detectar la presencia de un analito, en donde el anticuerpo se marca indirectamente por reactividad con un segundo anticuerpo que se ha marcado con un marcador detectable. El segundo anticuerpo es preferiblemente uno que se usa a anticuerpos del animal del que se deriva el anticuerpo monoclonal. En otras palabras, si el anticuerpo monoclonal es un anticuerpo de ratón, entonces el segundo anticuerpo marcado es un anticuerpo anti-ratón. Para el anticuerpo monoclonal que se usará en el ensayo descrito a continuación, este marcador es preferiblemente una perla recubierta de anticuerpo, en particular, una perla magnética. Para el anticuerpo policlonal que se empleará en el inmunoensayo descrito en la presente memoria, el marcador es preferiblemente una molécula detectable tal como una sustancia radiactiva, fluorescente o electroquimioluminiscente.

También se puede emplear un sistema de doble anticuerpo alternativo, a menudo denominado sistemas de formato rápido, porque están adaptados a determinaciones rápidas de la presencia de un analito, dentro del alcance de la presente invención. El sistema requiere una alta afinidad entre el anticuerpo y el analito. De acuerdo con una realización de la presente invención, la presencia del antígeno amiloide se determina usando un par de anticuerpos, cada uno específico para el antígeno amiloide. Uno de dichos pares de anticuerpos se denomina en la presente memoria "anticuerpo detector" y el otro de dichos pares de anticuerpos se denomina en la presente memoria "anticuerpo de captura". El anticuerpo monoclonal se puede usar como un anticuerpo de captura o un anticuerpo detector. El anticuerpo monoclonal también se puede usar como anticuerpo de captura y detector, juntos en un solo ensayo. Por lo tanto, una realización de la presente invención usa el método de sándwich de doble anticuerpo para detectar el antígeno amiloide en una muestra de fluido biológico. En este método, el analito (antígeno amiloide) se intercala entre el anticuerpo detector y el anticuerpo de captura, inmovilizándose irreversiblemente el anticuerpo de captura sobre un soporte sólido. El anticuerpo detector contendría un marcador detectable, para identificar la presencia del sándwich de anticuerpo-analito y, por lo tanto, la presencia del analito.

Los ejemplos de sustancias en fase sólida incluyen, pero no se limitan a, placas de microtitulación, tubos de ensayo de poliestireno, esferas magnéticas, de plástico o de vidrio y portaobjetos que son bien conocidos en el campo del radioinmunoanálisis y el inmunoensayo enzimático. Los métodos de acoplamiento de anticuerpos a fases sólidas también son bien conocidos por los expertos en la técnica. Más recientemente, se ha empleado una serie de materiales porosos tales como nylon, nitrocelulosa, acetato de celulosa, fibras de vidrio y otros polímeros porosos como soportes sólidos.

60 La carga de placa en el tejido y/o fluido corporal (tal como la capa de células ganglionares de la retina de un animal,

5 en particular, un mamífero, pero, en especial, un ser humano que padece una enfermedad ocular asociada con anomalías/cambios patológicos en los tejidos del sistema visual, en particular, asociada con anomalías/cambios patológicos relacionados con el beta-amiloide en los tejidos del sistema visual) puede calcularse mediante métodos conocidos en la técnica tales como el descrito en Ding, J. -D. *et al.*, "Targeting age-related macular degeneration with Alzheimer's disease based immunotherapies: Anti-amyloid-b antibody attenuates pathologies in an age-related macular degeneration mouse model", *Vision Research* (2007), doi:10.1016/j.visres.2007.07.

10 Un compuesto de acuerdo con la presente invención también se puede incorporar a un kit de ensayo para detectar una proteína amiloide. El kit de ensayo normalmente comprende un recipiente que contiene uno o más compuestos de acuerdo con la presente invención e instrucciones para el uso del compuesto con el fin de unirse a una proteína amiloide para formar un complejo de compuesto/proteína y detectar la formación del complejo de compuesto/proteína, de modo que esa presencia o ausencia del complejo de compuesto/proteína se correlacione con la presencia o ausencia de la proteína amiloide.

15 La expresión "kit de ensayo" se refiere, en general, a cualquier kit de diagnóstico conocido en la técnica. Más específicamente, esta última expresión se refiere a un kit de diagnóstico como se describe en Zrein *et al.*, *Clin. Diagn. Lab. Immunol.* 1998, 5, 45-49.

Ejemplos

La síntesis de los compuestos de la invención que inhiben la agregación de Ab₁₋₄₂ y el ensayo de su actividad biológica se describen en los siguientes ejemplos, que, bajo ningún concepto, pretenden ser limitantes.

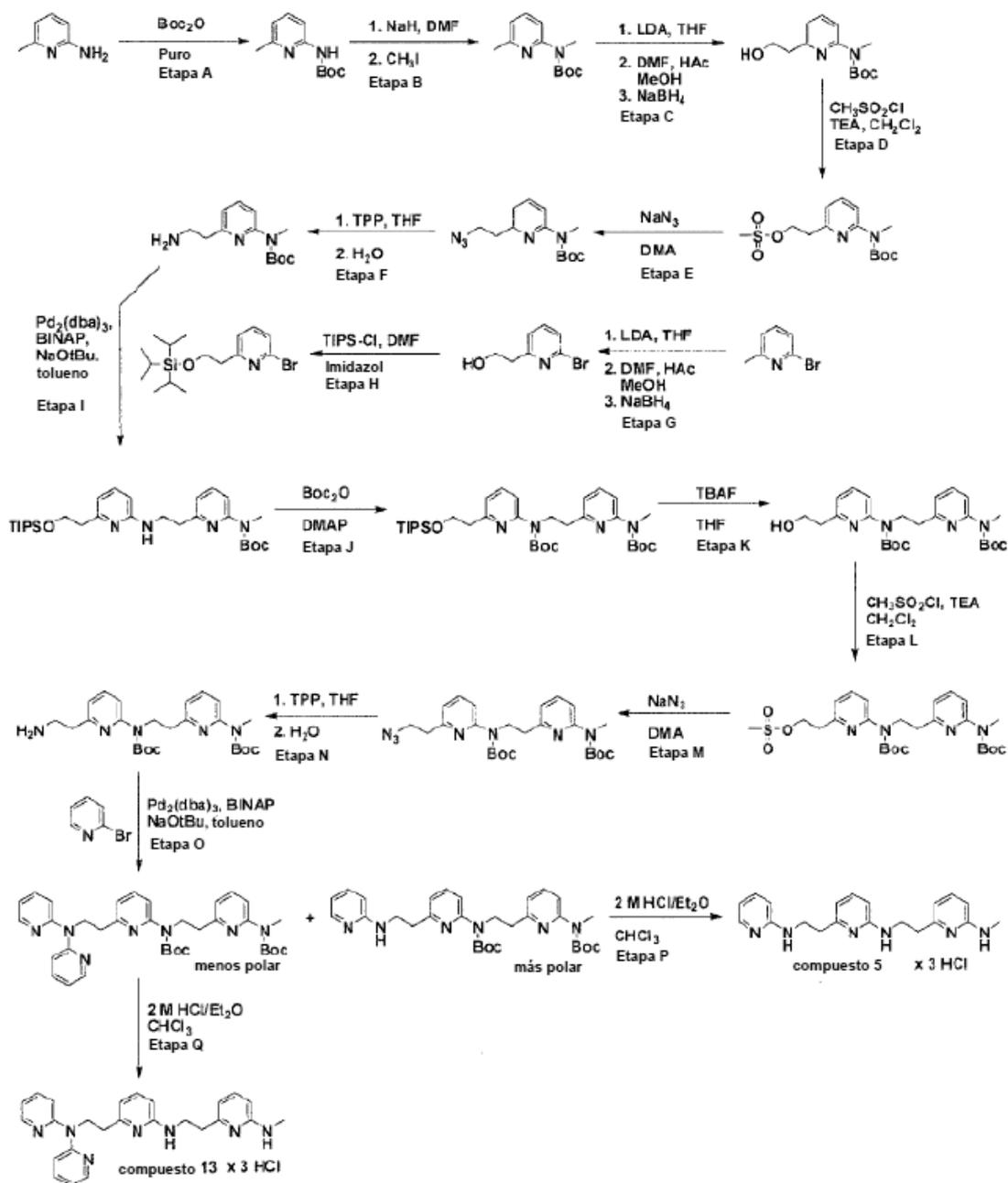
20 La inhibición de la agregación de Ab₁₋₄₂ por los compuestos de la presente invención se puede medir usando cualquier ensayo adecuado conocido en la técnica. Se describe un ensayo convencional *in vitro* para medir la inhibición de la agregación.

Ejemplos de preparación

25 Todos los reactivos y disolventes se obtuvieron de fuentes comerciales y se usaron sin purificación adicional. Los espectros de protones (¹H) se registraron en un espectrómetro de RMN de 400 MHz en disolventes deuterados. Los espectros de masas (MS) se registraron en un espectrómetro Finnigan MAT TSQ -7000. La cromatografía se realizó usando gel de sílice (Fluka: gel de sílice 60, 0,063-0,2 mm) y disolventes adecuados como se indica en ejemplos específicos. La cromatografía en capa fina (TLC) se llevó a cabo en placas de gel de sílice con detección UV. La cromatografía en capa fina preparativa (TLC prep) se realizó con placas de gel de sílice de 0,5 mm o 1 mm (Analtech: Uniplate, F₂₅₄) y los disolventes indicados en los ejemplos específicos.

30 La preparación de los compuestos 9-13 se da para referencia.

Ejemplo de preparación 1 (compuesto 5 y compuesto 13):



Etapa A

5 Se trató 2-amino-6-picolina (10,8 g, 100 mmol) disponible en el mercado con una solución de di-*tert*-butil-dicarbonato (26,2 g, 120 mmol) en diclorometano (100 ml). Se retiró el disolvente al vacío y se calentó el residuo a ~70 °C en un baño de arena durante una noche. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (150 ml) y se lavó la fase orgánica con solución de ácido cítrico al 10 % (70 ml), bicarbonato sódico saturado (70 ml) y salmuera (70 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/éter de petróleo (10/90) para eluir el reactivo en exceso, seguido de acetato de etilo/éter de petróleo (20/80), proporcionando el compuesto deseado en forma de un aceite incoloro, que se vuelve un sólido blanco mediante reposo a temperatura ambiente (19 g, 91 %).

10

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): d = 1,53 (s, 9H), 2,44 (s, 3H), 6,82 (d, 1H), 7,27 (s a, 1H), 7,55 (t, 1H), 7,72 (d, 1H).

Etapa B

Se suspendió hidruro de sodio (0,84 g, 35 mmol) en *N,N'*-dimetilformamida (50 ml) y se enfrió la mezcla hasta 0 °C.

A 0 °C, se añadió una solución del compuesto del título de la Etapa A anterior (6 g, 28,8 mmol) en N,N'-dimetilformamida (20 ml) durante un período de 5 minutos. Una vez completada la adición, se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 15 minutos y luego 60 minutos a temperatura ambiente. Luego, se añadió metilioduro (2,39 ml, 38,5 mmol) en una porción, y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche.

5 Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (150 ml) y solución de ácido cítrico al 10 % (150 ml). Se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 100 ml). Se lavó la fase orgánica combinada con solución de ácido cítrico al 10 % (80 ml), bicarbonato sódico saturado (80 ml) y salmuera (80 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/éter de petróleo (10/90), proporcionando el compuesto deseado

10 en forma de un aceite amarillo pálido (4,75 g, 74 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,53 (s, 9H), 2,48 (s, 3H), 3,38 (s, 3H), 6,87 (d, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,52 (t, 1H).

Etapa C

Se preparó una solución de LDA mediante la adición de una solución 2 M de n-butilitio (12 ml, 24 mmol) a 0 °C a una solución agitada de N,N'-diisopropilamina (4 ml, 28,8 mmol) en tetrahidrofurano (60 ml). Se agitó la mezcla a 0 °C durante 1 h y luego se enfrió hasta -78 °C. A -78 °C, se añadió una solución del compuesto del título de la Etapa B anterior (2,13 g, 9,6 mmol) en tetrahidrofurano (15 ml) durante un período de 5 minutos. Se agitó la mezcla a -78 °C durante 45 minutos y se dejó calentar hasta -50 °C. A continuación, se enfrió la mezcla hasta -78 °C y se añadió N,N'-dimetilformamida (0,76 ml, 10,3 mmol). Tras 15 minutos a -78 °C, se añadieron metanol (8,4 ml) y ácido acético (0,59 ml, 12,8 mmol). Luego se añadió borohidruro de sodio (0,34 g, 9,4 mmol) a -78 °C y se agitó la mezcla

15 durante una noche y se dejó que alcanzara la temperatura ambiente. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (80 ml) y se lavó con una solución de ácido cítrico al 10 % (50 ml) y salmuera (50 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/éter de petróleo (20/80) para eluir el material de partida (0,7 g, recuperación del 35 %), seguido de acetato de etilo/éter de petróleo (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite naranja pálido (1,08 g, 44 %).

20

25

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,56 (s, 9H), 2,98 (t, 2H), 3,37 (s, 3H), 4,05 (t, 2H), 6,88 (d, 1H), 7,53-7,60 (m, 2H).

Etapa D

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa C anterior (1,07 g, 4,27 mmol) en diclorometano (10 ml), y se añadió trietilamina (1,32 ml, 9,4 mmol). Tras la adición de cloruro de metanosulfonilo (0,66 ml, 8,5 mmol), se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Se diluyó la mezcla con diclorometano (50 ml) y se lavó con solución de ácido cítrico al 10 % (20 ml), bicarbonato sódico saturado (20 ml) y salmuera (20 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/éter de petróleo (50/50), proporcionando el compuesto del título en forma de un

30 aceite amarillo pálido (0,93 g, 65 %).

35

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,52 (s, 9H), 2,90 (t, 3H), 3,15 (t, 3H), 3,40 (s, 3H), 4,68 (t, 2H), 6,90 (t, 1H), 7,53-7,60 (m, 2H).

Etapa E

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa D anterior (0,93 g, 2,8 mmol) en N,N'-dimetilacetamida (10 ml), y se añadió azida de sodio (0,91 g, 14 mmol). Se calentó la mezcla en un baño de arena a ~75 °C durante 16 h. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (80 ml) y solución de ácido cítrico al 10 % (30 ml). Se separó la fase orgánica, se lavó con bicarbonato sódico saturado (25 ml) y salmuera (25 ml). Se secó la fase orgánica sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/éter de petróleo (20/80), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,69 g, 89 %).

40

45 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,55 (s, 9H), 3,00 (t, 3H), 3,40 (s, 3H), 3,71 (t, 2H), 6,88-6,92 (m, 1H), 7,53-7,60 (m, 2H).

Etapa F

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa E anterior (0,69 g, 2,5 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml), y se añadió trifetilfosfina (0,79 g, 3 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 18 h y se añadió agua (10 ml). Se prosiguió con la agitación durante 5 h y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (95/5) para eluir los subproductos no polares, seguido de diclorometano/metanol (1/1) que contenía amoníaco 7 M en metanol (10 ml por 500 ml), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,52 g, 82 %).

50

55 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,52 (s, 9H), 1,68 (s, 2H), 2,88 (t, 2H), 3,11 (t, 2H), 3,40 (s, 3H), 6,88 (d, 1H), 7,50 (d, 1H), 7,53 (t, 1H).

Etapa G

Se preparó una solución de LDA mediante la adición una solución 1,6 M de n-butilitio en hexano (51 ml, 81,2 mmol) a 0 °C a una solución agitada de N,N'-diisopropilamina (13,5 ml, 97,4 mmol) en tetrahidrofurano (60 ml). Se agitó la mezcla a 0 °C durante 15 min y luego se añadió a -78 °C a una solución de 2-bromo-6-metil-piridina disponible en el mercado (5 g, 29,1 mmol) en tetrahidrofurano (90 ml). Se agitó la mezcla a -78 °C durante 25 minutos y luego se añadió N,N'-dimetilformamida (7,9 ml, 107 mmol). Tras 30 minutos a -78 °C, se añadieron metanol (80 ml) y ácido acético (6,1 ml, 132 mmol). Luego, se añadió borohidruro de sodio (1,1 g, 28 mmol) a -78 °C y se agitó la mezcla durante una noche y se dejó que alcanzara la temperatura ambiente. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (150 ml) y se lavó con una solución de ácido cítrico al 10 % (80 ml) y salmuera (80 ml). Se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 150 ml). Se secó la fase orgánica combinada sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (5 g, 85 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 3,01 (t, 2H), 3,09 (t, 1H), 4,02 (c, 2H), 7,16 (d, 1H), 7,34 (d, 1H), 7,43 (t, 1H).

15 Etapa H

El compuesto del título de la Etapa G anterior (5 g, 24,75 mmol) se disolvió en N,N'-dimetilformamida (100 ml) y se añadió imidazol (4,84 g, 74,25 mmol). Tras la adición de clorotrisisopropilsilano (7,92 ml, 37,1 mmol), se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. Se diluyó la mezcla de reacción con éter dietílico (300 ml) y se lavó con una solución de ácido cítrico al 10 % (3 x 40 ml) y salmuera (100 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (5/95), proporcionando el compuesto del título en forma de un líquido incoloro (7,36 g, 83 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 0,92-1,13 (m, 21H), 3,00 (t, 2H), 4,08 (c, 2H), 7,22 (d, 1H), 7,33 (d, 1H), 7,45 (t, 1H).

25 Etapa I

Se disolvieron el compuesto del título de la Etapa H anterior (0,21 g, 0,6 mmol) y el compuesto del título de la Etapa F anterior (0,16 g, 0,63 mmol) en tolueno (11 ml) y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,082 g, 0,12 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,16 g, 1,63 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,054 g, 0,06 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~80 a 85 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (60 ml) y agua (20 ml). Se lavó la fase orgánica con bicarbonato sódico saturado (20 ml) y salmuera (20 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo/n-heptano (20/80), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,26 g, 78 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 0,92-1,13 (m, 21H), 1,52 (s, 9H), 2,83 (t, 2H), 3,03 (t, 2H), 3,42 (s, 3H), 3,66 (c, 2H), 4,02 (t, 2H), 4,95 (s a, 1H), 6,26 (d, 1H), 6,49 (d, 1H), 6,88 (dd, 1H), 7,31 (t, 1H), 7,54-7,57 (m, 2H).

Etapa J

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa I anterior (0,26 g, 0,53 mmol) en tetrahidrofurano (1 ml) y se añadió di-*tert*-butil-dicarbonato (0,17 g, 0,84 mmol). Tras la adición de 4-dimetilaminopiridina (0,006 g, 0,05 mmol), se calentó la mezcla en un baño de arena a ~65 °C durante una noche. Se añadió otro baño de di-*tert*-butil-dicarbonato (0,17 g, 0,84 mmol) y 4-dimetilaminopiridina (0,006 g, 0,05 mmol) y se siguió calentando a ~75 °C durante 12 h. A continuación, se retiró el resto del disolvente y, tras la adición de di-*tert*-butil-dicarbonato (0,17 g, 0,84 mmol), se siguió calentando a ~75 °C durante una noche. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando n-heptano para eluir el di-*tert*-butil-dicarbonato en exceso, seguido de acetato de etilo/n-heptano (10/90), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (0,27 g, 80 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 0,92-1,13 (m, 21H), 1,47 (s, 9H), 1,52 (s, 9H), 2,97 (t, 2H), 3,09 (t, 2H), 3,38 (s, 3H), 4,06 (t, 2H), 4,31 (t, 2H), 6,83-6,87 (m, 1H), 6,93 (d, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,47-7,52 (m, 3H).

50 Etapa K

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa J anterior (0,27 g, 0,428 mmol) en acetonitrilo (5 ml) y se añadió una solución 1 M de fluoruro de tetrabutilamonio (2,14 ml, 2,14 mmol) en tetrahidrofurano. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante un fin de semana y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (0,19 g, 92 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,51 (s, 9H), 1,53 (s, 9H), 2,98 (t, 2H), 3,07 (t, 2H), 3,3,5 (s, 3H), 3,78 (s a, 1H), 3,98-4,04 (m, 2H), 4,28 (t, 2H), 6,86-6,88 (m, 2H), 7,39 (d, 1H), 7,45-7,57 (m, 3H).

Etapa L

5 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa K anterior (0,19 g, 0,396 mmol) en diclorometano (2 ml), y se añadió trietilamina (0,12 ml, 0,9 mmol). Tras la adición de cloruro de metanosulfonilo (0,06 ml, 0,8 mmol), se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 h. Se concentró la mezcla y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (50/50), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,2 g, 90 %).

10 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,51 (s, 9H), 1,53 (s, 9H), 2,90 (s, 3H), 3,09 (t, 2H), 3,15 (t, 2H), 3,37 (s, 3H), 4,31 (t, 2H), 4,68 (t, 2H), 6,86 (d, 1H), 6,91 (d, 1H), 7,47-7,59 (m, 4H).

Etapa M

15 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa L anterior (0,2 g, 0,36 mmol) en N,N'-dimetilacetamida (1,3 ml), y se añadió azida de sodio (0,12 g, 1,8 mmol). Se calentó la mezcla a $-75\text{ }^\circ\text{C}$ en un baño de arena durante una noche. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (25 ml) y ácido cítrico al 10 % (10 ml). Se separó la fase orgánica, se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (20/80), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (0,16 g, 92 %).

20 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,51 (s, 9H), 1,53 (s, 9H), 3,01 (t, 2H), 3,10 (t, 2H), 3,37 (s, 3H), 3,73 (t, 2H), 4,32 (t, 2H), 6,84 (dd, 1H), 6,90 (d, 1H), 7,46-7,55 (m, 4H).

Etapa N

25 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa M anterior (0,16 g, 0,33 mmol) en tetrahidrofurano (4 ml), y se añadió trifetilfosfina (0,1 g, 0,39 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 30 h y luego se añadió agua (2 ml). Se prosiguió con la agitación durante 14 h y se retiraron los disolventes al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (95/5) seguido de diclorometano/metanol (1/1, que contenía 10 ml de amoníaco 7 M en metanol por 500 ml), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (0,13 g, 85 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,51 (s, 9H), 1,53 (s, 9H), 2,90 (t, 1H), 3,08 (t, 2H), 3,14 (t, 2H), 3,37 (s, 3H), 4,32 (t, 2H), 6,85-6,89 (m, 2H), 7,39 (d, 1H), 7,44-7,55 (m, 3H).

Etapa O

30 Se disolvieron el compuesto del título de la Etapa N anterior (0,13 g, 0,28 mmol) y 2-bromopiridina (0,043 g, 0,27 mmol) en tolueno (4,8 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,034 g, 0,059 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,082 g, 0,853 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,025 g, 0,027 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a -80 a $85\text{ }^\circ\text{C}$ en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (30 ml) y agua (10 ml). Se lavó la fase orgánica con bicarbonato sódico saturado (10 ml) y salmuera (10 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo/n-heptano (60/40) para eluir la mezcla de productos de reacción. Se separó el producto menos polar del producto más polar mediante placas de TLF preparativa (Analtech, 0,5 mm) usando acetato de etilo/n-heptano (70/30) como una fase móvil, proporcionando los compuestos del título.

menos polar: (0,029 g, aceite amarillo pálido, 16 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,49 (s, 9H), 1,51 (s, 9H), 3,19 (t, 2H), 3,32 (s, 3H), 4,30 (t, 2H), 4,59 (t, 2H), 6,81-6,88 (m, 4H), 7,07-7,09 (m, 2H), 7,34 (d, 1H), 7,43-7,51 (m, 5H), 8,30-8,32 (m, 2H).

45 más polar: (0,035 g, aceite amarillo pálido, 22 %)

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,50 (s, 18H), 3,03 (t, 2H), 3,10 (t, 2H), 3,32 (s, 3H), 3,68-3,74 (m, 2H), 4,32 (t, 2H), 5,00 (s a, 1H), 6,34 (d, 1H), 6,51-6,56 (m, 1H), 6,82-6,89 (m, 2H), 7,31-7,53 (m, 5H), 8,08 (s a, 1H).

Etapa P

50 Se disolvió el producto más polar de la Etapa O anterior (0,035 g, 0,06 mmol) en cloroformo (1,1 ml) y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (1,1 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (2 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 μm . Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio naranja (0,026 g, 90 %).

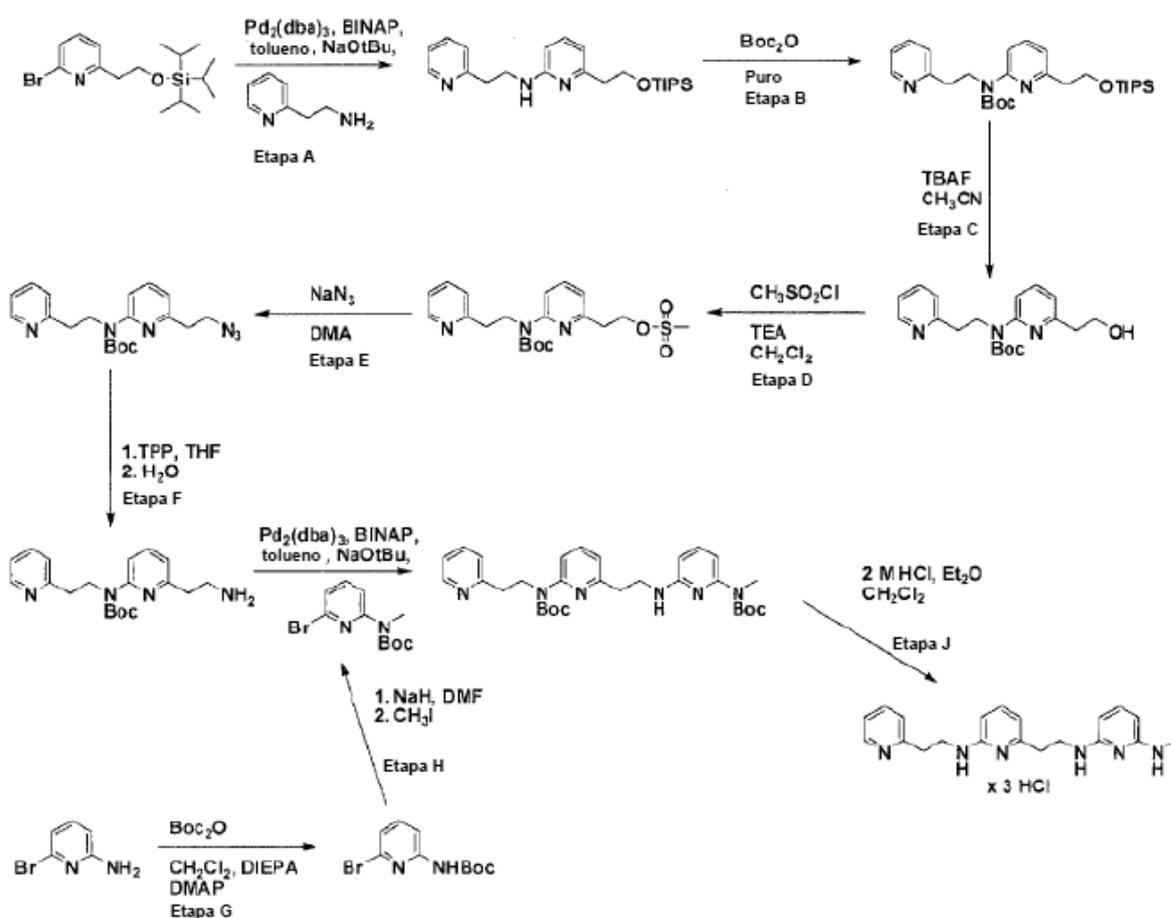
RMN de ^1H (400 MHz, D_2O): δ = 2,92 (s, 3H), 3,03-3,09 (m, 4H), 3,68-3,76 (m, 4H), 6,63 (d, 1H), 6,73 (d, 1H), 6,79-6,87 (m, 3H), 6,92 (d, 1H), 7,68-7,85 (m, 4H) (MS (ESI); m/z = 349,52 (MH^+)).

Etapa Q

5 Se disolvió el producto menos polar de la Etapa O anterior (0,029 g, 0,046 mmol) en cloroformo (0,8 ml) y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (0,8 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (2 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 μm . Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio naranja (0,024 g, 97 %).

10 RMN de ^1H (400 MHz, D_2O): δ = 2,91 (s, 3H), 3,00 (t, 2H), 3,21 (t, 2H), 3,63 (t, 2H), 4,49 (t, 2H), 6,60-6,64 (m, 2H), 6,70 (d, 1H), 6,81 (d, 1H), 7,26 (t, 2H), 7,38 (d, 2H), 7,62 (t, 1H), 7,70 (t, 1H), 7,99-8,04 (m, 2H), 8,13 (d, 2H) MS (ESI); m/z = 426,42 (MH^+).

Ejemplo de preparación 2 (compuesto 1):



Etapa A

15 Se disolvieron el compuesto del título del Ejemplo 1, Etapa H (0,9 g, 2,51 mmol) y 2(2-aminoetil)-piridina disponible en el mercado (0,34 g, 2,78 mmol) en tolueno (45 ml), y se trató con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,33 g, 0,48 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,63 g, 6,6 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0,22 g, 0,024 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~80 a 85 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (150 ml), agua (30 ml) y salmuera (30 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo oscuro. Tres series más proporcionaron un total de 3,4 g (84 %).

25 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 0,98-1,10 (m, 21H), 2,85 (t, 2H), 3,10 (t, 2H), 3,68 (c, 2H), 4,03 (t, 2H), 4,81 (s, 1H), 6,24 (d, 1H), 6,50 (d, 1H), 7,13-7,18 (m, 2H), 7,32 (t, 1H), 7,60 (t, 1H), 8,58 (d, 1H).

Etapa B

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa A anterior (1,7 g, 4,26 mmol) en diclorometano (30 ml) y se añadió di-*tert*-butil-dicarbonato (4,75 g, 21,3 mmol). Se retiró el disolvente y se calentó el residuo oleoso en un baño de arena a ~75 °C durante 18 a 36 h hasta que la TLC indicó el consumo del material de partida. A continuación, se purificó la mezcla mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/*n*-heptano (10/90) para retirar el di-*tert*-butil-dicarbonato en exceso, seguido de acetato de etilo/*n*-heptano (30/70), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido. Dos series proporcionaron un total de 3,6 g (86 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 0,98-1,10 (m, 21H), 1,42 (s, 9H), 2,92 (t, 2H), 3,11 (t, 2H), 4,01 (t, 2H), 4,30 (t, 2H), 6,90 (d, 1H), 7,07-7,10 (m, 1H), 7,12 (d, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,46-7,56 (m, 2H), 8,49 (d, 1H).

10 Etapa C

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa B anterior (3,9 g, 7,81 mmol) en acetonitrilo (100 ml) y se trató con una solución 1 M de fluoruro de tetrabutilamonio (30 ml, 30 mmol) en tetrahidrofurano. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (2,57 g, 95 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,49 (s, 9H), 2,98 (t, 2H), 3,11 (t, 2H), 4,04 (t, 2H), 4,30 (t, 2H), 6,85 (d, 1H), 7,06-7,10 (m, 1H), 7,16 (d, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,48-7,57 (m, 2H), 8,46 (d, 1H).

Etapa D

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa C anterior (2,57 g, 7,49 mmol) en diclorometano (45 ml), y se añadió trietilamina (2,33 ml, 16,9 mmol). Se enfrió la mezcla hasta 0 °C y se añadió cloruro de metanosulfonilo (1,17 ml, 15 mmol). Una vez completada la adición, se agitó la mezcla a 0 °C durante 5 min y luego a temperatura ambiente durante 1 h. Se evaporaron los disolventes y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (3,1 g, 98 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,49 (s, 9H), 2,91 (s, 3H), 3,11-3,17 (m, 4H), 4,30 (t, 2H), 4,66 (t, 2H), 6,89 (d, 1H), 7,08-7,11 (m, 1H), 7,15 (d, 1H), 7,46 (d, 1H), 7,53 (t, 1H), 7,56 (dt, 1H), 8,49 (d, 1H).

Etapa E

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa D anterior (1,57 g, 3,73 mmol) en *N,N'*-dimetilacetamida (17,5 ml), y se añadió azida de sodio (1,22 g, 18,6 mmol). Se calentó la mezcla a ~75 °C en un baño de arena durante una noche. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (150 ml) y agua (40 ml). Se separó la fase orgánica, se lavó con salmuera (40 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/*n*-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro. Dos series proporcionaron un total de 2,4 g, 87 %.

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,43 (s, 9H), 2,97 (t, 2H), 3,12 (t, 2H), 3,69 (t, 2H), 4,31 (t, 2H), 6,87 (d, 1H), 7,07-7,10 (m, 1H), 7,12 (d, 1H), 7,46 (d, 1H), 7,51-7,58 (m, 2H), 8,50 (d, 1H).

35 Etapa F

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa E anterior (2,4 g, 6,52 mmol) en tetrahidrofurano (60 ml), y se añadió trifetilfosfina (2,15 g, 8,17 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 48 h y luego se añadió agua (30 ml). Se prosiguió con la agitación durante 16 h y se retiraron los disolventes al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (95/5) para retirar los subproductos no polares, seguido de diclorometano/metanol (1/1, que contenía 10 ml de amoníaco 7 M en metanol por 500 ml), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (2,1 g, 95 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,43 (s, 9H), 2,83 (t, 2H), 3,06-3,14 (m, 4H), 4,31 (t, 2H), 6,84 (d, 1H), 7,05-7,09 (m, 1H), 7,12 (d, 1H), 7,37 (d, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,52 (dt, 1H), 8,47 (d, 1H).

Etapa G

Se disolvió 2-amino-6-bromo-piridina disponible en el mercado (4,25 g, 24,6 mmol) en diclorometano (50 ml) y *N,N'*-diisopropiletamina (5,25 ml, 30,7 mmol) y se añadió 4-dimetilaminopiridina (0,15 g, 1,23 mmol). Tras la adición de una solución de di-*tert*-butil-dicarbonato (5,9 g, 27 mmol) en diclorometano (15 ml), se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche. Se diluyó la mezcla con diclorometano (100 ml) y se lavó con ácido cítrico al 10 % (50 ml) y salmuera (50 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/*n*-heptano (5/95), proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (2,15 g, 32 %). El lavado de la columna con acetato de etilo/*n*-heptano (10/90) proporcionó el derivado de bis-Boc correspondiente en forma de un sólido blanco (1,95 g, 21 %).

ES 2 657 701 T3

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): d = 1,52 (s, 9H), 7,13 (d, 1H), 7,27 (s a, 1H), 7,51 (t, 1H), 7,90 (d, 1H).

Derivado de Bis-Boc:

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): d = 1,48 (s, 18H), 7,27 (d, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,60 (t, 1H).

Etapa H

- 5 Se suspendió hidruro de sodio (0,18 g, 7,38 mmol) en N,N'-dimetilacetamida (10 ml) y se enfrió la mezcla hasta 0 °C. A 0 °C, se añadió una solución del compuesto del título de la Etapa G anterior (1,66 g, 6,1 mmol) en N,N'-dimetilacetamida (5 ml) durante un período de 5 minutos. Una vez completada la adición, se agitó la mezcla de reacción a 0 °C durante 5 minutos y luego 60 minutos a temperatura ambiente. Luego, se añadió metilioduro (0,5 ml, 8,12 mmol) en una porción y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con solución de ácido cítrico al 10 % (30 ml), bicarbonato sódico saturado (30 ml) y salmuera (30 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/ n-heptano (5/95), proporcionando el compuesto deseado en forma de un líquido incoloro (1,54 g, 90 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): d = 1,52 (s, 9H), 3,40 (s, 3H), 7,17 (d, 1H), 7,47 (t, 1H), 7,74 (d, 1H).

15 Etapa I

- 20 Se disolvieron los compuestos del título de la Etapa F (0,525 g, 1,54 mmol) y Etapa H (0,423 g, 1,53 mmol) anteriores en tolueno (24 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,186 g, 0,3 mmol) y *terc*-butilato de sodio (0,383 g, 3,98 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0,133 g, 0,15 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~110 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (100 ml), agua (20 ml) y salmuera (20 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo/n-heptano (60/40) para eluir el compuesto deseado.

- 25 Se purificó más el compuesto del título en bruto de cuatro series mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite naranja pálido (3 g, 89 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): d = 1,50 (s, 9H), 1,52 (s, 9H), 3,02 (t, 2H), 3,18 (t, 2H), 3,32 (s, 3H), 3,70-3,74 (m, 2H), 4,38 (t, 2H), 5,20 (s a, 1H), 6,13 (d, 1H), 6,83-6,88 (m, 2H), 7,06-7,09 (m, 1H), 7,13 (d, 1H), 7,31 (t, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,50 (t, 1H), 7,53 (dt, 1H), 8,48 (d, 1H).

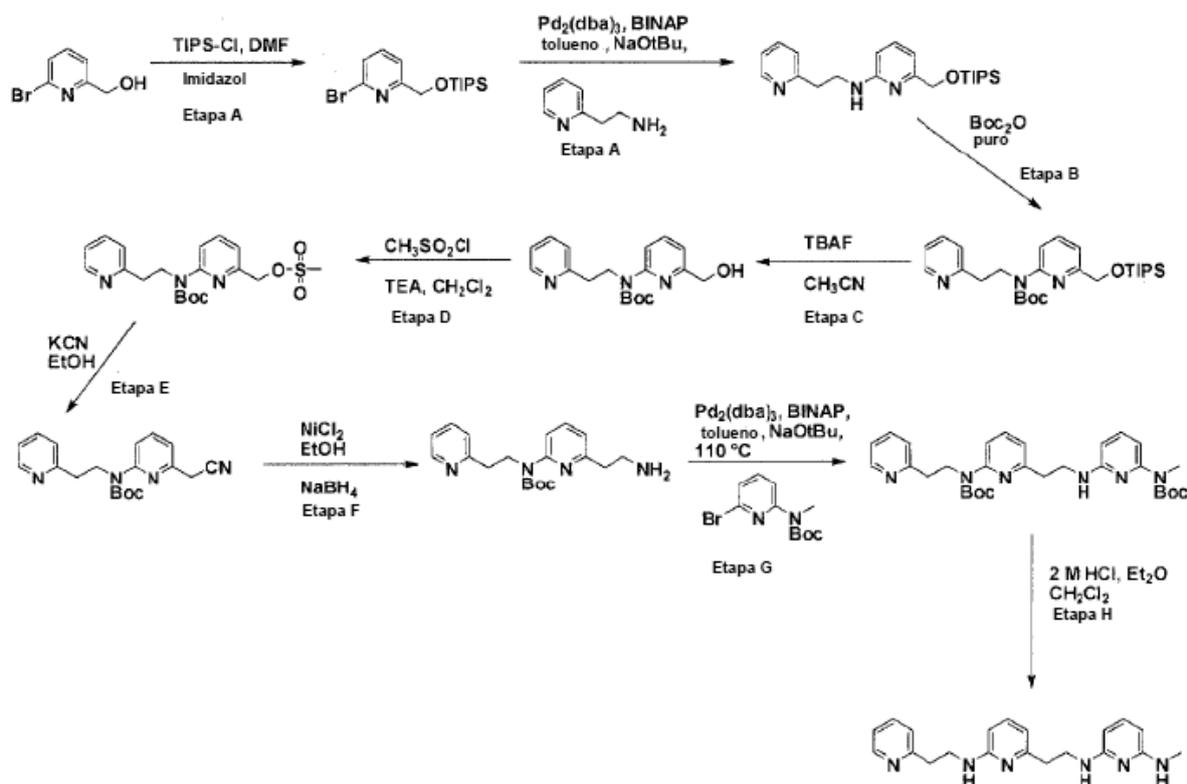
30 Etapa J

- 35 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa I anterior (3 g, 5,47 mmol) en diclorometano (50 ml), y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (50 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el residuo en agua (30 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 μm (10 ml por cartucho). Se lavaron los tres cartuchos con agua (5 ml). Se recogió la fracción filtrada combinada y se evaporó el disolvente usando un liofilizador, proporcionando el compuesto del título en forma de una espuma naranja pálida (2,2 g, 88 %).

RMN de ^1H (400 MHz, D_2O): d = 2,79 (s, 3H), 3,02 (t, 2H), 3,33 (t, 2H), 3,57 (t, 2H), 3,81 (t, 2H), 5,81 (d, 1H), 5,92 (d, 1H), 6,71 (d, 1H), 6,81 (d, 1H), 7,50 (t, 1H), 7,78 (t, 1H), 7,83-7,91 (m, 2H), 8,42 (t, 1H), 8,59 (d, 1H)
MS (ESI); m/z = 349,42 (MH^+).

40

Ejemplo de preparación 3 (esquema de síntesis alternativo para el compuesto 1):



Etapa A

- Se disolvió (6-bromopiridin-2-il)-metanol disponible en el mercado (1 g, 5,3 mmol) en N,N'-dimetilformamida (20 ml) y se añadió imidazol (0,97 g, 14,85 mmol). Tras la adición de cloruro de triisopropilsililo (1,58 ml, 7,42 mmol), se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante el fin de semana. Se diluyó la mezcla con dietiléter (80 ml) y se lavó con solución de ácido cítrico al 10 % (25 ml) y salmuera (25 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (5/95). Se recogieron las fracciones que contenían el alcohol protegido y se evaporaron los disolventes, proporcionando un líquido incoloro (1,7 g, 92 %).
- Se disolvieron el alcohol protegido (0,85 g, 2,47 mmol) y 2-(2-aminoetil)-piridina disponible en el mercado (0,35 g, 2,78 mmol) en tolueno (45 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,33g, 0,48 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,63 g, 6,625 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0,22 g, 0,24 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~80 to 85 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (1000 ml), agua (20 ml) y salmuera (20 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite marrón. Dos series proporcionaron un total de 1,6 g (84 %).
- RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,06-1,08 (m, 18 H), 1,13-1,24 (m, 3H), 3,07 (t, 2H), 3,64-3,69 (m, 2H), 4,72 (s, 2H), 4,81 (s a, 1H), 6,28 (d, 1H), 6,86 (d, 1H), 7,12-7,18 (m, 2H), 7,43 (t, 1H), 7,59 (dt, 1H), 8,56 (d, 1H)

Etapa B

- Se disolvió el compuesto del título de la Etapa A anterior (1,6 g, 4,15 mmol) en diclorometano (30 ml) y se añadió di-*tert*-butil-dicarbonato (4,75 g, 21,3 mmol). Se retiró el disolvente y se calentó el residuo oleoso en un baño de arena a ~75 °C durante 24 h hasta que la TLC indicó el consumo del material de partida. A continuación, se purificó la mezcla mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (10/90) para eliminar el exceso de di-*tert*-butil-dicarbonato, seguido de acetato de etilo/n-heptano (30/70), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (1,75 g, 86 %).
- RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,06-1,08 (m, 18 H), 1,13-1,24 (m, 3H), 1,44 (s, 9H), 3,10 (t, 2H), 4,31 (t, 2H), 4,80 (s, 2H), 7,05-7,08 (m, 1H), 7,12 (d, 1H), 7,25-7,33 (m, 2H), 7,53 (dt, 1H), 7,60 (t, 1H), 8,48 (d, 1H).

Etapa C

5 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa B anterior (1,75 g, 3,6 mmol) en acetonitrilo (45 ml) y se trató con solución 1 M de fluoruro de tetrabutilamonio (13 ml, 13 mmol) en tetrahidrofurano. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite naranja pálido (1,16 g, 97 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1, 52 (s, 9H), 3,18 (t, 2H), 4,31 (t, 2H), 4,40-4,52 (s a, 1H), 4,70 (s, 2H), 6,87-6,90 (m, 1H), 7,08-7,16 (m, 2H), 7,54-7,62 (m, 3H), 8,55 (d, 1H).

Etapa D

10 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa C anterior (0,33 g, 1 mmol) en diclorometano (5 ml), y se añadió trietilamina (0,28 ml, 2 mmol). Se enfrió la mezcla hasta 0 °C y se añadió cloruro de metanosulfonilo (0,13 ml, 1,7 mmol). Una vez completada la adición, se agitó la mezcla a 0 °C durante 5 min y luego a temperatura ambiente durante 1 h. Se evaporaron los disolventes y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,31 g, 75 %).

15 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_2): δ = 1,46 (s, 9H), 3,07 (s, 3H), 3,11 (t, 2H), 4,33 (t, 2H), 5,22 (s, 2H), 7,07-7,16 (m, 3H), 7,53-7,66 (m, 3H), 8,48 (d, 1H).

Etapa E

20 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa D anterior (0,3 g, 0,75 mmol) en etanol (17,5 ml) y se añadió cianuro de potasio (0,24 g, 3,75 mmol). Se calentó la mezcla a ~85 °C en un baño de arena durante 1 h. Se retiró el disolvente y se disolvió el residuo con acetato de etilo (30 ml) y agua (5 ml). Se separó la fase orgánica, se lavó con salmuera (5 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,118 g, 46 %).

25 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,47 (s, 9H), 3,17 (t, 2H), 3,83 (s, 2H), 4,34 (t, 2H), 7,04-7,11 (m, 2H), 7,18 (d, 1H), 7,56 (dt, 1H), 7,60-7,63 (m, 2H), 8,49 (d, 1H).

Etapa F

30 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa E anterior (0,118 g, 0,35 mmol) en etanol seco (1,2 ml) y se añadió cloruro de níquel (II) (0,045 g, 0,35 mmol). A la mezcla de reacción, se añadió borohidruro de sodio (0,04 g, 1,05 mmol) en porciones (exotérmica). Una vez completada la adición, se agitó la mezcla de reacción negra a temperatura ambiente durante 2 h hasta que todo el material de partida se hubo consumido. La mezcla de reacción negra se filtró a través de un lecho corto de Celite y se lavó el lecho corto con etanol (25 ml). Se evaporó la fracción filtrada de color amarillo pálido y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (9/1) para eliminar los subproductos no polares, seguido de diclorometano/metanol (1/1, que contenía 10 ml de amoníaco 7 M en metanol por 500 ml), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo (0,084 g, 70 %).

35 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,51 (s, 9H), 3,03 (t, 2H), 3,16 (t, 2H), 3,30 (t, 2H), 3,12-3,48 (s a, 2H), 4,32 (t, 2H), 6,88 (d, 1H), 7,07-7,12 (m, 1H), 7,17 (d, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,53 (t, 1H), 7,58 (dt, 1H), 8,57 (d, 1H).
MS (ESI); m/z = 342,98 (MH^+).

Etapa G

40 Se disolvieron el compuesto del títulos de la Etapa F anterior (0,084 g, 0,245 mmol) y del Ejemplo de preparación 2, Etapa I (0,068 g, 0,245 mmol) anterior en tolueno (4 ml) y se trataron con 2,2-bis-(difenílfosfin)-1,1-naftaleno (0,03 g, 0,048 mmol) y *terc*-butilato de sodio (0,062 g, 0,64 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0,021 g, 0,024 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~110 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (30 ml), agua (5 ml) y salmuera (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo para eluir el compuesto deseado. El compuesto del título en bruto se purificó más mediante TLC prep usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,04 g, 29 %).

50 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,48 (s, 9H), 1,50 (s, 9H), 3,02 (t, 2H), 3,16 (t, 2H), 3,31 (s, 3H), 3,70 (t, 2H), 4,38 (t, 2H), 5,17-5,27 (s a, 1H), 6,11 (d, 1H), 6,81-6,86 (m, 2H), 7,06-7,09 (m, 1H), 7,13 (d, 1H), 7,29 (t, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,52 (dt, 1H), 8,48 (d, 1H).

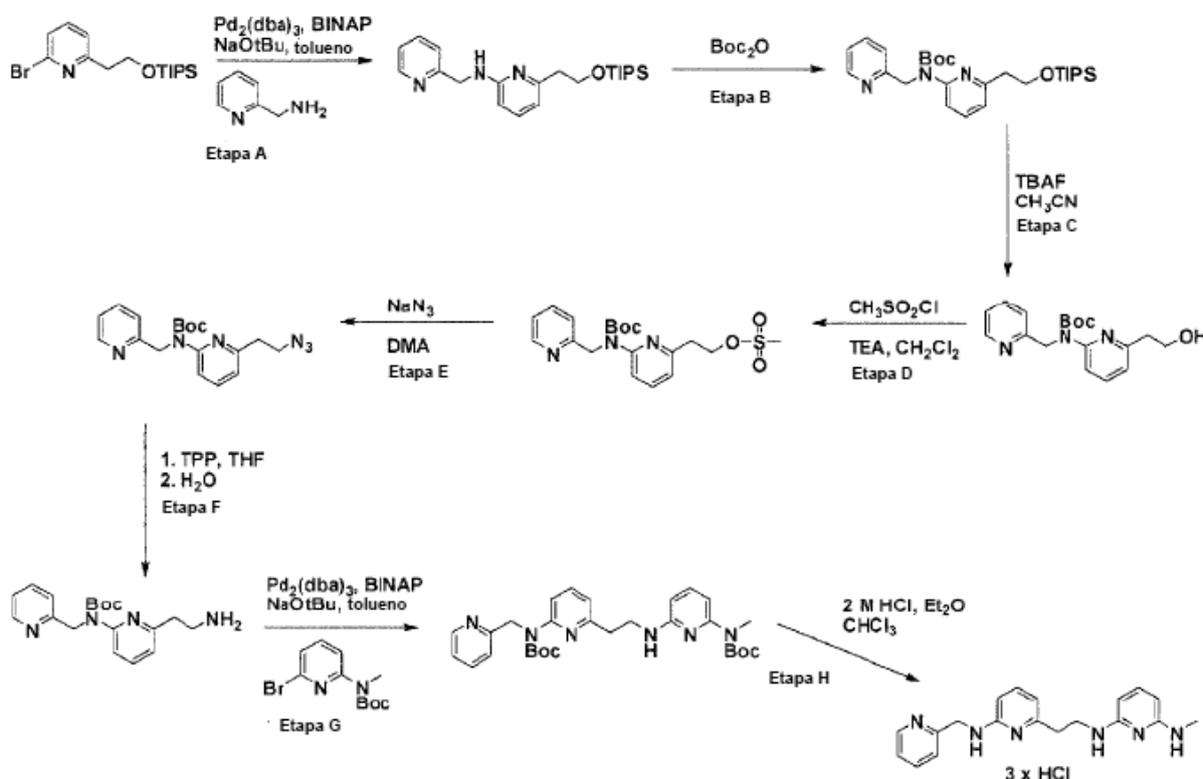
Etapa H

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa G anterior (0,075 g, 0,137 mmol) en diclorometano (2 ml) y se trató con una solución 2 M de hidrógeno cloruro en dietiléter (2 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el residuo en agua (5 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 μ m. Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente usando un liofilizador, proporcionando el compuesto del título en forma de una espuma naranja pálida (0,045 g, 72 %).

RMN de ^1H (400 MHz, D_2O): δ = 2,79 (s, 3H), 3,02 (t, 2H), 3,33 (t, 2H), 3,57 (t, 2H), 3,81 (t, 2H), 5,81 (d, 1H), 5,92 (d, 1H), 6,71 (d, 1H), 6,81 (d, 1H), 7,50 (t, 1H), 7,78 (t, 1H), 7,83-7,91 (m, 2H), 8,42 (t, 1H), 8,59 (d, 1H).

MS (ESI); m/z = 349,42 (MH^+).

10 Ejemplo de preparación 4 (compuesto 2)



Etapa A

Se disolvieron el compuesto del título del Ejemplo 1, Etapa H (0,35 g, 0,95 mmol) y 2-aminometil-piridina disponible en el mercado (0,108 g, 1 mmol) en tolueno (17 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,13 g, 0,19 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,245 g, 2,58 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,086 g, 0,095 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~ 80 a 85 $^{\circ}\text{C}$ en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (40 ml), agua (10 ml) y salmuera (10 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo para eluir el producto. Se volvió a purificar el material en bruto mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/*n*-heptano (80/20), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite naranja pálido (0,28 g, 75 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 0,98-1,10 (m, 21H), 2,88 (t, 2H), 4,02 (t, 2H), 4,65 (d, 2H), 5,51 (s a, 1H), 6,28 (d, 1H), 6,53 (d, 1H), 7,16-7,20 (m, 1H), 7,30-7,38 (m, 2H), 7,63 (dt, 1H), 8,58 (d, 1H).

Etapa B

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa A anterior (0,28 g, 0,73 mmol) en diclorometano (5 ml), y se añadió di-*tert*-butil-dicarbonato (0,8 g, 3,65 mmol). Se retiró el disolvente y se calentó el residuo oleoso en un baño de arena a ~ 75 $^{\circ}\text{C}$ durante 3 días. A continuación se purificó la mezcla mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/*n*-heptano (10/90) para eliminar el exceso de di-*tert*-butil-dicarbonato seguido de acetato de etilo/*n*-heptano

(30/70), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,32 g, 91 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 0,85-1,10 (m, 21H), 1,38 (s, 9H), 2,88 (t, 2H), 3,90 (t, 2H), 5,31 (s, 2H), 6,91 (d, 1H), 7,12-7,17 (m, 1H), 7,28 (d, 1H), 7,54-7,62 (m, 2H), 7,67 (d, 1H), 8,54 (d, 1H).

Etapa C

- 5 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa B anterior (0,32 g, 0,66 mmol) en acetonitrilo (8 ml), y se trató con solución 1 M de fluoruro de tetrabutilamonio (3,3 ml, 3,3 mmol) en tetrahidrofurano. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite naranja pálido (0,18 g, 84 %).

10 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,42 (s, 9H), 2,91 (t, 2H), 3,69 (s, 1H), 3,88 (t, 2H), 5,27 (s, 2H), 6,88 (d, 1H), 7,15-7,20 (m, 1H), 7,30 (d, 1H), 7,59 (t, 1H), 7,63-7,67 (m, 2H), 8,54 (d, 1H).

Etapa D

- 15 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa C anterior (0,18 g, 0,56 mmol) en diclorometano (3 ml), y se añadió trietilamina (0,17 ml, 1,26 mmol). Se enfrió la mezcla hasta 0 °C y se añadió cloruro de metanosulfonilo (0,09 ml, 1,12 mmol). A continuación, se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Se dispuso luego la mezcla sobre una columna de sílice equilibrada con acetato de etilo. Se reveló la columna con acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,22 g, 96 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,42 (s, 9H), 2,82 (s, 3H), 3,07 (t, 2H), 4,43 (t, 2H), 5,30 (s, 2H), 6,91 (d, 1H), 7,18-7,23 (m, 1H), 7,29 (d, 1H), 7,61 (t, 1H), 7,69 (dt, 1H), 7,78 (d, 1H), 8,57 (d, 1H).

Etapa E

- 20 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa D anterior (0,22 g, 0,54 mmol) en N,N'-dimetilacetamida (2,1 ml), y se añadió azida de sodio (0,18 g, 2,7 mmol). Se calentó la mezcla a ~75 °C en un baño de arena durante una noche. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (25 ml) y agua (10 ml). Se separó la fase orgánica, se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (0,15 g, 78%).

25 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,42 (s, 9H), 2,88 (t, 2H), 3,49 (t, 2H), 5,30 (s, 2H), 6,90 (d, 1H), 7,13-7,18 (m, 1H), 7,22 (d, 1H), 7,59-7,66 (m, 2H), 7,77 (d, 1H), 8,55 (d, 1H).

Etapa F

- 30 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa E anterior (0,15 g, 0,41 mmol) en tetrahidrofurano (4 ml), y se añadió trifenilfosfina (0,13 g, 0,5 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 24 h y luego se añadió agua (2 ml). Se prosiguió con la agitación durante el fin de semana y se retiraron los disolventes al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (95/5) seguido de diclorometano/metanol (1/1, que contenía 10 ml de amoníaco 7 M en metanol por 500 ml), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (0,135 g, 98%).

35 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,42 (s, 9H), 2,79 (t, 2H), 2,94 (t, 2H), 5,30 (s, 2H), 6,88 (d, 1H), 7,12-7,16 (m, 1H), 7,26 (d, 1H), 7,58 (t, 1H), 7,61 (dt, 1H), 7,70 (d, 1H), 8,54 (d, 1H).

Etapa G

- 40 Se disolvieron el compuesto del título de la Etapa F de preparación anterior (0,135 g, 0,41 mmol) y el compuesto del título del Ejemplo de preparación 2 Etapa H (0,095 g, 0,4 mmol) en tolueno (7,2 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,05 g, 0,08 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,125 g, 1,25 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,037 g, 0,04 mmol). Se escaló el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~110 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (40 ml), bicarbonato sódico saturado (10 ml) y salmuera (10 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (95/5) para eluir los subproductos menos polares, seguido de diclorometano/metanol (9/1) para eluir una mezcla de 2 compuestos según lo juzgado por TLC (diclorometano/metanol (9/1)). Se retiraron los disolventes y la mezcla en bruto (87 mg, 46 % combinada) se usó directamente para la siguiente etapa.

Etapa E

- 50 Se disolvieron los compuestos del título de la Etapa B anterior (0,06 g, 0,183 mmol) y Etapa D anterior (0,048 g, 0,167 mmol) en tolueno (3 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,021 g, 0,034 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,049 g, 0,51 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a

través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,015 g, 0,0167 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~110 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (20 ml), agua (5 ml) y salmuera (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo/n-heptano (70/30) para eluir el compuesto deseado. Para eliminar el resto de impurezas, se purificó más el producto en bruto mediante TLC prep (Analtech, 0,5 mm) usando diclorometano/metanol (95/5) como fase móvil, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo oscuro (0,023 g, 25 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,40 (s, 9H), 1,50 (s, 9H), 2,92 (t, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,50-3,54 (m, 2H), 4,69 (s a, 1H), 5,31 (s, 2H), 5,92 (d, 1H), 6,82-6,88 (m, 2H), 7,11-7,14 (m, 1H), 7,27-7,30 (m, 2H), 7,55-7,62 (m, 2H), 7,70 (d, 1H), 8,53 (d, 1H).

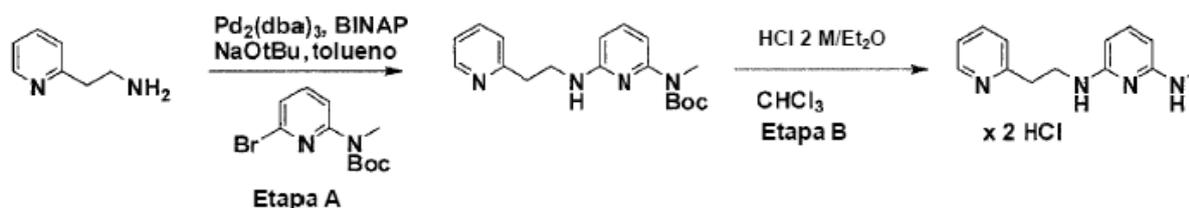
Etapa F

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa E anterior (0,023 g, 0,04 mmol) en cloroformo (0,8 ml), y se trató con una solución 2 M de hidrógeno cloruro en dietiléter (0,8 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (2 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 µm. Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio amarillo oscuro (0,016 g, 84 %).

RMN de ¹H (400 MHz, D₂O): d = 2,79 (s, 3H), 3,07 (t, 2H), 3,58 (t, 2H), 5,00 (s, 2H), 5,81 (d, 1H), 5,92 (d, 1H), 6,82 (d, 1H), 6,89 (d, 1H), 7,51 (t, 1H), 7,83-7,91 (m, 3H), 8,43 (t, 1H), 8,63 (d, 1H).

MS (ESI); m/z = 335,44 (MH⁺).

Ejemplo de preparación 5 (compuesto 6):



Etapa A

Se disolvieron 2-(2-aminoetil)-piridin-2-ilo disponible en el mercado (0,037 g, 0,3 mmol) y el compuesto del título del Ejemplo de preparación 2, Etapa H (0,072 g, 0,25 mmol) en tolueno (4,5 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,031 g, 0,05 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,075 g, 0,78 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,023 g, 0,025 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~110 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (20 ml), agua (5 ml) y salmuera (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo/n-heptano (80/20) para eluir el compuesto deseado. Para eliminar el resto de impurezas, se purificó más el producto en bruto mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (80/20), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,07 g, 85 %).

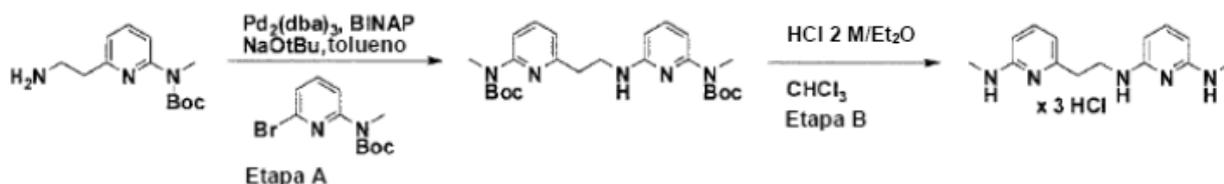
RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,51 (s, 9H), 3,14 (t, 2H), 3,36 (s, 3H), 3,66-3,76 (m, 2H), 4,81 (s a, 1H), 6,11 (d, 1H), 6,88 (d, 1H), 7,13-7,19 (m, 2H), 7,36 (t, 1H), 7,61 (dt, 1H), 8,56 (d, 1H).

Etapa B

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa A anterior (0,062 g, 0,189 mmol) en cloroformo (2,75 ml), y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (2,75 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (5 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 µm. Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio de color amarillo oscuro (0,047 g, 84 %).

RMN de ¹H (400 MHz, D₂O): d = 2,78 (s, 3H), 3,28 (t, 2H), 3,67 (t, 2H), 5,80 (d, 1H), 5,91 (d, 1H), 7,50 (t, 1H), 7,82 (t, 1H), 7,86 (d, 1H), 8,40 (t, 1H), 8,56 (d, 1H).

MS (ESI); m/z = 229,30 (MH⁺).

Ejemplo de preparación 6 (compuesto 7):**Etapa A**

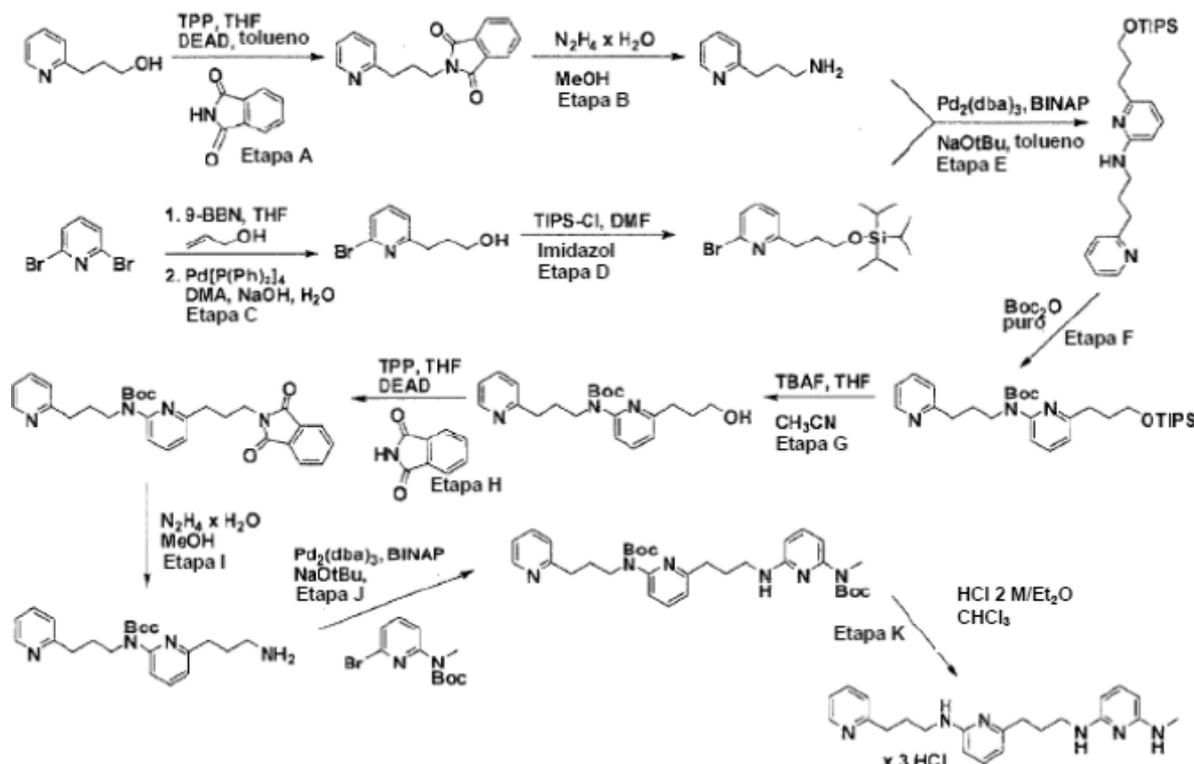
- 5 Se disolvieron el compuesto del título del Ejemplo 1 Etapa F (0,075 g, 0,3 mmol) y el compuesto del título del Ejemplo 2, Etapa H (0,072 g, 0,25 mmol) en tolueno (4,5 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,031 g, 0,05 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,075 g, 0,78 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,023 g, 0,025 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~110 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (20 ml), agua (5 ml) y salmuera (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares junto con el compuesto deseado (0,098 g). El producto se purificó más mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/*n*-heptano (30/70), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,09 g, 78 %).
- 10
- 15 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,51 (s, 9H), 1,54 (s, 9H), 3,04 (t, 2H), 3,33 (s, 3H), 3,44 (s, 3H), 3,64-3,70 (m, 2H), 5,02 (s a, 1H), 6,12 (d, 1H), 6,86-6,90 (m, 2H), 7,37 (t, 1H), 7,53-7,57 (m, 2H).

Etapa B

- 20 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa A anterior (0,09 g, 0,196 mmol) en cloroformo (2,9 ml), y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (2,9 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (5 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 μm. Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio de color amarillo oscuro (0,057 g, 80 %).

- 25 RMN de ¹H (400 MHz, D₂O): d = 2,78 (s, 3H), 2,89 (s, 3H), 2,98 (t, 2H), 3,57 (t, 2H), 5,80 (d, 1H), 5,90 (d, 1H), 6,63 (d, 1H), 6,77 (d, 1H), 7,50 (t, 1H), 7,68 (t, 1H).
MS (ESI); m/z = 258,28 (MH⁺).

Ejemplo de preparación 7 (compuesto 4):



Etapa A

5 Se disolvieron trifenilfosfina (3,8 g, 14,4 mmol) y ftalimida (1,08 g, 7,4 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml), y se enfrió la mezcla hasta 0 °C. A 0 °C, se añadieron una mezcla de 2-piridin-1-propanol disponible en el mercado (1 g, 7,4 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) y una solución al 40 % de azodicarboxilato de dietilo en tolueno (6 ml, 14,4 mmol) durante un periodo de 5 min. Se agitó la mezcla durante una noche y se dejó que alcanzara la temperatura ambiente. Se retiraron los disolventes y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite rojo (1,9 g, 98 %).

10 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): d = 2,13-2,21 (m, 2H), 2,87 (t, 2H), 3,80 (t, 2H), 7,07-7,11 (m, 1H), 7,20 (d, 1H), 7,58 (dt, 1H), 7,69-7,72 (m, 2H), 7,83-7,86 (m, 2H), 8,50 (d, 1H).

Etapa B

15 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa A anterior (1,9 g, 7 mmol) en metanol (50 ml), y se trató con una solución al 50 % de hidrazina en agua (1,4 ml, 14 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes. Se trató el sólido con diclorometano (100 ml) y se sometió a ultrasonidos durante 5 min, obteniéndose una suspensión, que se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se filtró la mezcla y se lavó la fracción precipitada con 30 ml de diclorometano. Se concentró la fracción filtrada y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (9/1) para eluir las impurezas coloreadas seguido de diclorometano/metanol (1:1) que contenía 10 ml de amoníaco 7 M en metanol por 500 ml, proporcionando el compuesto del título en forma de un líquido marrón (0,69 g, 70 %).

20 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): d = 1,43 (s a, 2H), 1,85-1,92 (m, 2H), 2,74 (t, 2H), 2,83 (t, 2H), 7,08-7,12 (m, 1H), 7,16 (d, 1H), 7,59 (dt, 1H), 8,52 (d, 1H).

Etapa C

25 Se disolvió alcohol alílico (0,087 ml, 1,5 mmol) en tetrahidrofurano (3 ml) y se enfrió la mezcla hasta 0 °C. A 0 °C, se añadió una solución 0,4 M de 9-borabicyclo[3,3,1]nonano en hexano (11,25 ml, 4,5 mmol) y se siguió agitando a 0 °C durante 15 min. A continuación, se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 4 h y se evaporaron los disolventes. Se disolvió el residuo en tetrahidrofurano (8 ml) y se añadió una solución acuosa 3 M de hidróxido de sodio (2 ml, 6 mmol). Tras la adición de una solución de 2,6-dibromopiridina disponible en el mercado (0,46 g, 1,95 mmol) en N,N'-dimetilacetamida (10 ml), se sometió la mezcla a ultrasonidos durante 5 min mientras se burbujeara una corriente de argón a través de la mezcla. Luego se añadió tetraquis(trifenilfosfin)paladio(0) (0,17 g,

30

0,156 mmol) y se calentó la mezcla a ~95 °C en un baño de arena durante 90 min. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (50 ml) y se lavó con ácido cítrico al 10 % (20 ml) y salmuera (15 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (30/70) para eluir las impurezas coloreadas seguido de acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el producto en bruto. Se purificaron más los productos en bruto combinados y dos series más mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (50/50), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,48 g, 49 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,97-2,03 (m, 2H), 2,92 (t, 2H), 3,68-3,73 (m, 2H), 7,12 (d, 1H), 7,34 (d, 1H), 7,42 (t, 1H).

Nota: la RMN de ¹H mostró la presencia de pequeñas cantidades de productos de descomposición de 9-BBN, pero el material fue lo suficientemente puro para su uso en la siguiente etapa.

Etapa D

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa C anterior (0,48 g, 2,23 mmol) en N,N'-dimetilformamida (10 ml) y se añadió imidazol (0,3 g, 4,46 mmol). Tras la adición de clortrisopropilsilano (0,43 g, 2,23 mmol), se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 16 h. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (60 ml) y se lavó con una solución de ácido cítrico al 10 % (3 x 15 ml) y salmuera (15 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (5/95), proporcionando el compuesto del título en forma de un líquido incoloro (0,66 g, 79 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): (= 1,05-1,14 (m, 21H), 1,94-2,01 (m, 2H), 2,88 (t, 2H), 3,72 (t, 2H), 7,14 (d, 1H), 7,31 (d, 1H), 7,45 (t, 1H).

Etapa E

Se disolvieron los compuestos del título de la Etapa B (0,136 g, 1 mmol) y de la Etapa D (0,35 g, 0,95 mmol) anterior en tolueno (17 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,13 g, 0,19 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,25 g, 2,58 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,086 g, 0,095 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y la mezcla se calentó a ~85 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (80 ml), agua (20 ml) y salmuera (20 ml).

Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo/n-heptano (80/20) para eluir el compuesto deseado. Se volvió a purificar el producto en bruto mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (80/20), proporcionando el compuesto del título como un aceite de color amarillo oscuro (0,34 g, 83%).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,05-1,14 (m, 21H), 1,92-1,97 (m, 2H), 2,05-2,12 (m, 2H), 2,68 (t, 2H), 2,91 (t, 2H), 3,27-3,33 (m, 2H), 3,74 (t, 2H), 4,60-4,63 (s a, 1H), 6,18 (d, 1H), 6,46 (d, 1H), 7,10-7,13 (m, 1H), 7,17 (d, 1H), 7,32 (t, 1H), 7,60 (dt, 1H), 8,52 (d, 1H).

Etapa F

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa E anterior (0,34 g, 0,79 mmol) en diclorometano (5 ml) y se añadió di-*tert*-butil-dicarbonato (0,86 g, 3,95 mmol). Se retiró el disolvente y se calentó el residuo oleoso en un baño de arena a ~75 °C durante 3 días hasta que todo el material de partida hubo desaparecido según lo juzgado mediante TLC. A continuación, se purificó la mezcla mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (10/90) para eluir el exceso de di-*tert*-butil-dicarbonato seguido de acetato de etilo/n-heptano (30/70), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite naranja (0,38 g, 92 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,05-1,14 (m, 21H), 1,49 (s, 9H), 1,99-1,96 (m, 2H), 2,05-2,12 (m, 2H), 2,74-2,84 (m, 4H), 3,72 (t, 2H), 4,01 (t, 2H), 6,88 (d, 1H), 7,07-7,10 (m, 1H), 7,12 (d, 1H), 7,39 (d, 1H), 7,52 (t, 1H), 7,58 (dt, 1H), 8,51 (d, 1H).

Etapa G

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa F anterior (0,38 g, 0,72 mmol) en acetonitrilo (8 ml) y se añadió una solución 1 M de fluoruro de tetrabutilamonio (3,6 ml, 3,6 mmol) en tetrahidrofurano. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,25 g, 94 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,49 (s, 9H), 2,00-2,11 (m, 4H), 2,81-2,89 (m, 4H), 3,68 (t, 2H), 4,02 (t, 2H), 6,88 (d, 1H), 7,08-7,12 (m, 1H), 7,16 (d, 1H), 7,41 (d, 1H), 7,52 (t, 1H), 7,59 (t, 1H), 8,47 (d, 1H).

Etapa H

5 Se disolvieron trifetilfosfina (0,35 g, 1,36 mmol) y ftalamida (0,1 g, 0,68 mmol) en tetrahidrofurano (3 ml), y se enfrió la mezcla hasta 0 °C. A 0 °C, se añadieron una mezcla del compuesto del título de la Etapa G anterior (0,25 g, 0,68 mmol) en tetrahidrofurano (2 ml) y una solución del 40 % de azodicarboxilato de dietilo en tolueno (0,55 ml, 1,36 mmol) durante un período de 5 min. Se agitó la mezcla durante una noche y se dejó que alcanzara la temperatura ambiente. Se retiraron los disolventes y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite naranja (382 mg).

10 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,49 (s, 9H), 2,00-2,17 (m, 4H), 2,77 (t, 2H), 2,81 (t, 2H), 3,76 (t, 2H), 4,03 (t, 2H), 6,88 (d, 1H), 7,04-7,08 (m, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,48 (t, 1H). 7,55 (t, 1 H), 7,69-7,72 (m, 2H), 7,82-7,86 (m, 2H), 8,48 (d, 1H).

Note: la RMN de ¹H mostró la presencia de pequeñas cantidades de hidrazin-1,2-dicarboxilato de dietilo, pero el material fue lo suficientemente puro para su uso en la siguiente etapa.

Etapa I

15 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa H anterior (0,34 g, 0,68 mmol) en metanol (7 ml), y se trató con una solución al 50 % de hidrazina en agua (0,14 ml, 1,36 mmol). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes. Se trató el sólido con diclorometano (20 ml) y se sometió a ultrasonidos durante 5 min, obteniéndose una suspensión, que se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se filtró la mezcla y se lavó la fracción precipitada con 10 ml de diclorometano. Se concentró la fracción filtrada y el residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (9/1) para eluir las impurezas coloreadas seguido de diclorometano/metanol (1:1) que contenía 10 ml de amoníaco 7 M en metanol por 500 ml, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,16 g, 62 %).

20 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,52 (s, 9H), 1,86 (c, 2H), 2,08 (c, 2H), 2,70-2,76 (m, 4H), 2,83 (t, 2H), 4,04 (t, 2H), 6,85 (d, 1H), 7,08-7,11 (m, 1H), 7,14 (d, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,52 (t, 1H), 7,57 (t, 1H), 8,51 (d, 1H).

25 Etapa J

30 Se disolvieron el compuesto del título de la Etapa I anterior (0,075 g, 0,2 mmol) y el compuesto del título del Ejemplo 2, Etapa H (0,055 g, 0,193 mmol) en tolueno (3,1 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difetilfosfin)-1,1-naftaleno (0,024 g, 0,039 mmol) y *terc*-butilato de sodio (0,05 g, 0,52 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,017 g, 0,019 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~110 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (20 ml), agua (5 ml) y salmuera (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo/n-heptano (60/40) para eluir el compuesto deseado. Se volvió a purificar el producto en bruto mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,094 g, 89 %).

40 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,50 (s, 9H), 1,52 8s, 9H), 2,00-2,12 (m, 4H), 2,78-2,84 (m, 4H), 3,27-3,33 (m, 5H), 4,02 (t, 2H), 4,70 (s a, 1H), 6,08 (d, 1H), 6,86 (d, 2H), 7,08-7,13 (m, 2H), 7,34 (t, 1H), 7,40 (d, 1H), 7,48-7,57 (m, 2H), 8,50 (d, 1H).

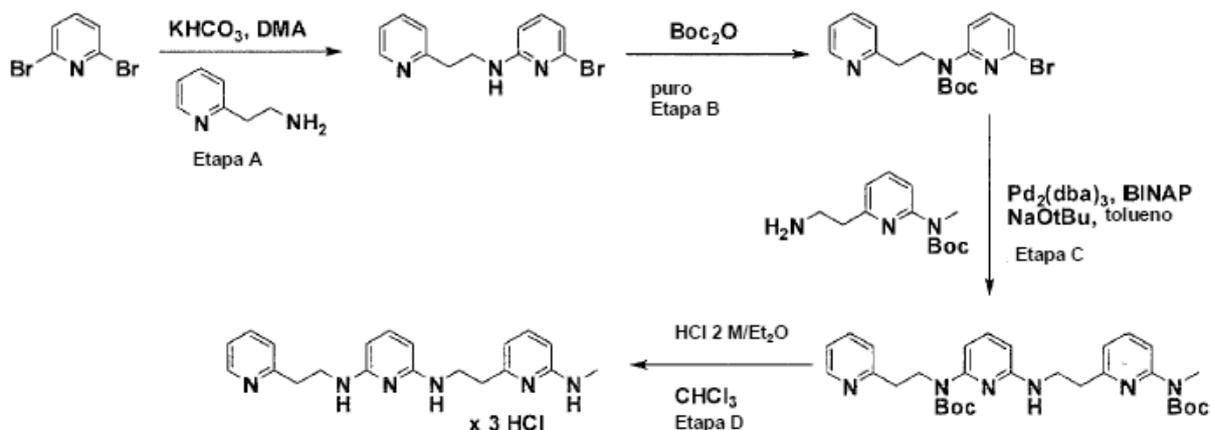
Etapa K

45 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa J anterior (0,094 g, 0,16 mmol) en cloroformo (2,3 ml) y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (2,3 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (5 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 µm. Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio naranja (0,06 g, 76 %).

50 RMN de ¹H (400 MHz, D₂O): d = 1,97 (c, 2H), 2,06 (c, 2H), 2,73-2,79 (m, 5H), 3,07 (t, 2H), 3,25 (t, 2H), 3,36 (t, 2H), 5,82-5,87 (m, 2H), 6,66 (d, 1H), 6,73 (d, 1H), 7,50 (t, 1H), 7,72 (t, 1H), 7,78 (t, 1H), 7,83 (d, 1H), 8,39 (t, 1H), 8,51 (d, 1H).

MS (ESI); m/z = 377,17 (MH⁺).

Ejemplo de preparación 8 (compuesto 3)



Etapa A

5 Se disolvió 2,6-dibromo-piridina disponible en el mercado (0,5 g, 2,1 mmol) en N,N'-dimetilacetamida (5 ml), y se añadió 2-piridil-etilamina disponible en el mercado (0,26 g, 2,1 mmol). Tras la adición de bicarbonato de potasio (0,23 g, 2,3 mmol), se calentó la mezcla a ~110 °C en un baño de arena durante 5 h. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (80 ml) y se lavó con agua 83 x 20 ml. Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite naranja (0,13 g, 21 %).

10 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 3,07 (t, 2H), 3,68 (m, 2H), 5,17 (s a, 1H), 6,30 (d, 1H), 6,70 (d, 1H), 7,10-7,21 (m, 3 H), 7,58 (t, 1H), 8,52 (d, 1H).

Etapa B

15 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa A anterior (0,13 g, 0,46 mmol) en diclorometano (3 ml), y se añadió di-*tert*-butil-dicarbonato (0,5 g, 2,32 mmol). Se retiró el disolvente y se calentó el residuo oleoso en un baño de arena a ~75 °C durante 3 días. A continuación, se purificó la mezcla mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (20/80) para eluir el exceso de di-*tert*-butil-dicarbonato seguido de acetato de etilo/n-heptano (40/60), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,095 g, 53 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,49 (s, 9H), 3,18 (t, 2H), 4,38 (t, 2H), 7,11-7,14 (m, 1H), 7,18 (d, 1H), 7,23 (d, 1H), 7,48 (t, 1H), 7,59-7,67 (m, 2H), 8,52 (d, 1H).

Etapa C

25 Se disolvieron el compuesto del título de la Etapa B anterior (0,09 g, 0,238 mmol) y el compuesto del título del Ejemplo 1, Etapa F (0,07 g, 0,27 mmol) en tolueno (4,25 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,032 g, 0,048 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,061 g, 0,65 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,021 g, 0,024 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~110 °C. en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (20 ml), agua (5 ml) y salmuera (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo/n-heptano (60/40) para eluir el compuesto deseado. Se volvió a purificar el producto en bruto mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,12 g, 94 %).

35 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,42 (s, 9H), 1,53 (s, 9H), 3,04 (t, 2H), 3,18 (t, 2H), 3,43 (s, 3H), 3,68-3,73 (m, 2H), 4,30 (t, 2H), 5,00 (s a, 1H), 6,14 (d, 1H), 6,83 (d, 1H), 6,86-6,89 (m, 1H), 7,09-7,11 (m, 1H), 7,16 (d, 1H), 7,38 (t, 1H), 7,53-7,58 (m, 3H), 8,51 8d, 1H).

Etapa D

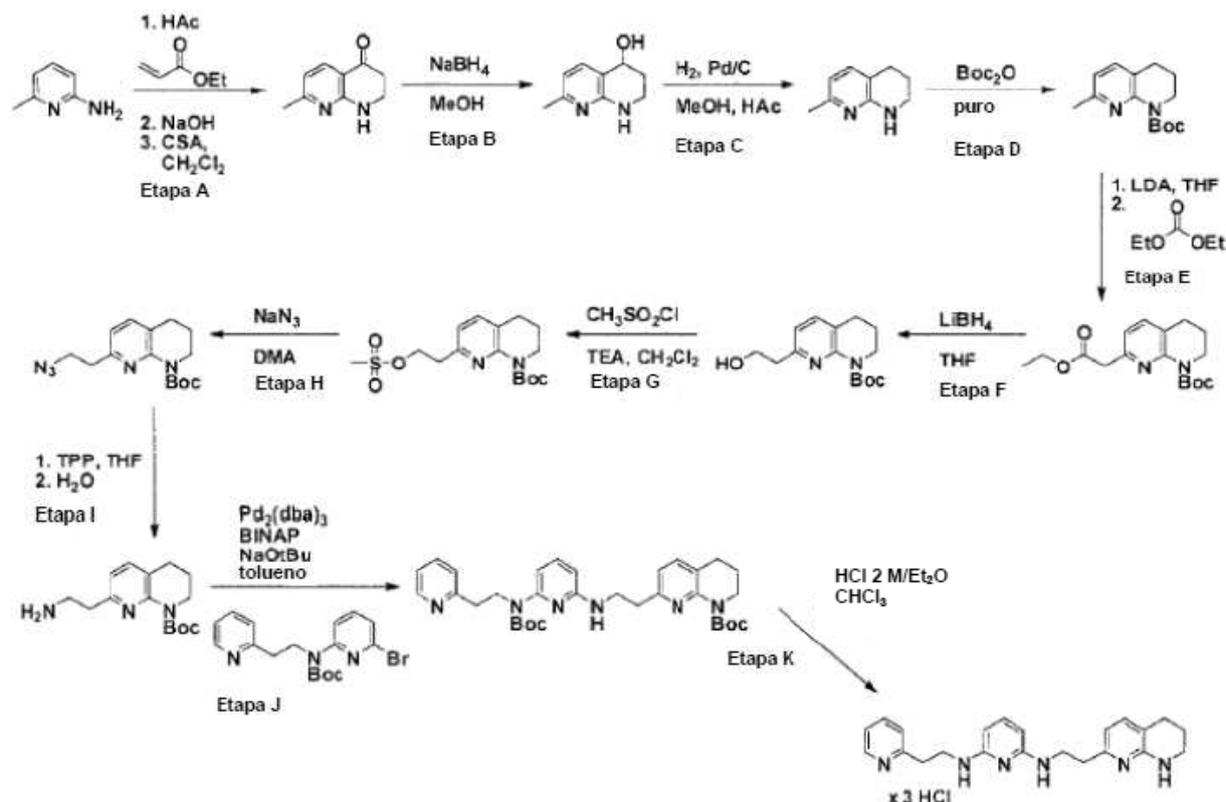
Se disolvió el compuesto del título de la Etapa C anterior (0,12 g, 0,22 mmol) en cloroformo (3,1 ml), y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (3,1 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (5 ml) y

se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 μm . Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio naranja (0,074 g, 74 %).

RMN de ^1H (400 MHz, D_2O): d = 2,90 (s, 3H), 3,00 (t, 2H), 3,31 (t, 2H), 3,58 (t, 2H), 3,69 (t, 2H), 5,88-5,93 (m, 2H), 6,61-6,65 (m, 1H), 6,79 (d, 1H), 7,50-7,73 (m, 1H), 7,70 (t, 1H), 7,84-7,91 (m, 2H), 8,42 (t, 1H), 8,58 (d, 1H).

5 MS (ESI); m/z = 349,49 (MH^+).

Ejemplo de preparación 9 (compuesto 9):



Etapa A

10 Se añadió, a 2-amino-6-metilpiridina disponible en el mercado (25,46 g, 235 mmol), acrilato de etilo (26 ml, 239 mmol) y ácido acético (6 ml, 105 mmol). Se calentó esta mezcla a ~ 150 $^{\circ}\text{C}$ en un baño de arena durante 50 h. Se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y se añadió hidróxido de sodio 6 N (120 ml, 720 mmol). A continuación, se calentó la mezcla a ~ 120 $^{\circ}\text{C}$ en un baño de arena durante 1 h. Se enfrió la mezcla hasta la temperatura ambiente y se añadió ácido clorhídrico concentrado hasta que se alcanzó un pH de aprox. 4-5 con enfriamiento con hielo. Se formó un precipitado polimérico y se filtró la mezcla. Se evaporó la fracción filtrada y se trató el residuo con metanol (100 ml). Se agitó la suspensión resultante a temperatura ambiente durante 30 minutos y se filtró. Se lavó la fracción precipitada con metanol (30 ml) y se evaporaron las fracciones precipitadas combinadas, dejando una masa pegajosa pardusca. Se disolvió este producto en bruto en diclorometano (400 ml) y se dispuso la solución en un baño con hielo. Luego se añadió ácido clorosulfónico (162 ml, 2.430 mmol) gota a gota. Una vez completada la adición, se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 h. Luego se volvió a colocar la mezcla en un baño con hielo y se añadió agua (800 ml) cuidadosamente. Una vez completada la adición, se volvió alcalina la solución ácida a pH ~ 6 mediante la adición de hidróxido de sodio. Luego se añadió carbonato sódico hasta ajustar el pH a ~ 10 a 11. Se formó un precipitado y se extrajo la mezcla con acetato de etilo (3 x 400 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (75/25) para eluir las impurezas no polares, seguido de acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido amarillo (12,2 g, 32 %).

25 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): d = 2,40 (s, 3H), 2,69 (t, 2H), 3,58-3,62 (m, 2H), 5,31 8s a-, 1H), 6,58 (d, 1H), 7,97 (d, 1H).

Etapa B

30 Se suspendió el compuesto del título de la Etapa A anterior (7 g, 43,2 mmol) en metanol (170 ml), y se añadió borohidruro de sodio (2,94 g, 77,7 mmol) en porciones. Una vez completada la adición, se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 h, obteniéndose una solución transparente. Luego, se añadió ácido acético (21 ml)

y se retiraron los disolventes. Se disolvió el residuo en agua (250 ml) y se lavó la fase acuosa con diclorometano (2 x 100 ml). Se volvió alcalina la fase acuosa (pH ~10) mediante la adición carbonato de sodio y se extrajo con acetato de etilo (6 x 150 ml). Se secó la fase orgánica combinada sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes, proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (6,39 g, 90 %).

- 5 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,82-1,90 (m, 1H), 1,95-2,01 (m, 1H), 2,30 (s, 3H), 3,10 (s a, 1H), 3,31-3,36 (m, 1H), 3,48 (dt, 1H), 4,72 (t, 1H), 5,32 (s a, 1H), 6,38 (d, 1H), 7,32 (d, 1H).

Etapa C

- 10 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa B anterior (6,39 g, 38,9 mmol) en metanol (130 ml) y ácido acético (65 ml). Tras la adición de catalizador de paladio al 10 % sobre carbono (1,6 g), se deshidrogenó la mezcla durante 3 días. La mezcla se filtró, se lavó el catalizador con metanol (50 ml) y se evaporaron las fracciones filtradas combinadas. Se disolvió la sal acetato en agua (200 ml) y se ajustó el pH hasta pH ~10 mediante la adición de carbonato sódico. Se extrajo la fase acuosa con diclorometano (3 x 150 ml). Se secó la fase orgánica combinada sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes, proporcionando la amina libre en forma de un sólido blanco (4,42 g, 76 %).

- 15 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,86-1,92 (m, 2H), 2,30 (s, 3H), 2,68 (t, 2H), 3,37-3,41 (m, 2H), 4,80 (s a, 1H), 6,34 (d, 1H), 7,03 (d, 1H).

Etapa D

- 20 Al compuesto del título de la Etapa C anterior (7,42 g, 50,13 mmol), se añadió una solución de di-*terc*-butil-dicarbonato (33,7 g, 150,4 mmol) en diclorometano (100 ml). Se retiró el disolvente y se calentó el residuo oleoso a ~75 °C en un baño de arena durante 18 h. Se purificó la mezcla de reacción mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (10/90) para eliminar el exceso de di-*terc*-butil-dicarbonato seguido de acetato de etilo/n-heptano (40/60), proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (11,2 g, 90 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,52 (s, 9H), 1,87-1,93 (m, 2H), 2,46 (s, 3H), 2,70 (t, 2H), 3,72 (t, 2H), 6,80 (d, 1H), 7,24 (d, 1H).

Etapa E

- 30 Se preparó una solución de LDA mediante la adición una solución 1,6 M de n-butilitio (39,24 ml, 62,82 mmol) a 0 °C a una solución agitada de N,N'-diisopropilamina (9,9 ml, 75,4 mmol) en tetrahydrofurano (45 ml). Se agitó la mezcla a 0 °C durante 15 min. Entonces, se añadió la solución de LDA gota a gota a -78 °C a una solución del compuesto del título de la Etapa D anterior (5,6 g, 22,56 mmol) y dietilcarbonato (10,08 ml, 83,1 mmol) en tetrahydrofurano (72 ml). Se agitó la mezcla a -78 °C durante 40 minutos. Se inactivó la reacción mediante la adición una solución de cloruro de amonio saturado (100 ml) a -8 °C. Se dejó que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo (200 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (50/50), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo, que se solidificó mediante reposo a temperatura ambiente (7 g, 96 %).

35 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,25 (t, 3H), 1,51 (s, 9H), 1,88-1,93 (m, 2H), 2,72 (t, 2H), 3,71-3,75 (m, 4H), 4,13 (c, 2H), 6,96 (d, 1H), 7,34 (d, 1H).

Etapa F

- 40 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa E anterior (2 g, 6,25 mmol) en tetrahydrofurano (40 ml) y se añadió borohidruro de litio (0,18 g, 8,14 mmol) en porciones. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche. Luego se añadió agua (25 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 10 min. Tras la adición de acetato de etilo (150 ml), se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo (50 ml). Se secó la fase orgánica combinada sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo, proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (1,48 g, 85 %), seguido de diclorometano/metanol (4/1), proporcionando el producto de N-Boc desprotegido en forma de un aceite amarillo (0,13 g, 11 %).

Compuesto del título:

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,51 (s, 9H), 1,88-1,93 (m, 2H), 2,70 (t, 2H), 2,92 (t, 2H), 3,77 (t, 2H), 3,98 (t, 2H), 5,53 (s a, 1H), 6,75 (d, 1H), 7,30 (d, 1H).

- 50 Producto de N-Boc desprotegido:

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,87-1,93 (m, 2H), 2,03 (s, 1H), 2,68 (t, 2H), 2,80 (t, 2H), 3,40 (t, 2H), 3,89 (t, 2H), 6,32 (d, 1H), 6,48 (s a, 1H), 7,10 (d, 1H).

Etapa G

5 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa F anterior (822 mg, 2,95 mmol) en diclorometano (15 ml), y se añadió trietilamina (0,9 ml, 6,5 mmol). Tras la adición de cloruro de metano-sulfonilo (0,46 ml, 5,87 mmol), se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Se diluyó la mezcla con diclorometano (50 ml) y se lavó con solución de ácido cítrico al 10 % (20 ml), bicarbonato sódico saturado (20 ml) y salmuera (20 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (80/20), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (0,83 g, 78 %).

10 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,51 (s, 9H), 1,88-1,93 (m, 2H), 2,72 (t, 2H), 2,92 (s, 3H), 3,12 (t, 2H), 3,74 (t, 2H), 4,65 (t, 2H), 6,86 (d, 1H), 7,32 (d, 1H).

Etapa H

15 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa G anterior (0,83 g, 2,22 mmol) en N,N'-dimetilacetamida (5,5 ml), y se añadió azida de sodio (0,76 g, 11,65 mmol). Se calentó la mezcla en un baño de arena a ~75 °C durante 16 h. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (55 ml) y solución de ácido cítrico al 10 % (15 ml). Se separó la fase orgánica, se lavó con bicarbonato sódico saturado (15 ml) y salmuera (15 ml). Se secó la fase orgánica sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (40/60), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,6 g, 84 %).

20 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,51 (s, 9H), 1,88-1,93 (m, 2H), 2,72 (t, 2H), 2,98 (t, 2H), 3,69 (t, 2H), 3,74 (t, 2H), 6,84 (d, 1H), 7,32 (d, 1H).

Etapa I

25 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa H anterior (0,6 g, 1,98 mmol) en tetrahidrofurano (8 ml), y se añadió trifetilfosfina (0,63 g, 2,38 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 20 h y luego se añadió agua (4 ml). Se prosiguió con la agitación durante una noche y se retiraron los disolventes al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (95/5) seguido de diclorometano/metanol (1/1, que contenía 10 ml de amoníaco 7 M en metanol por 500 ml), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (0,5 g, 91 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,52 (s, 9H), 1,66 (s a, 2H), 1,89-1,96 (m, 2H), 2,72 (t, 2H), 2,87 (t, 2H), 3,11 (t, 2H), 3,78 (t, 2H), 6,80 (d, 1H), 7,25 (d, 1H).

Etapa J

30 Se disolvieron el compuesto del título del Ejemplo 8, Etapa B (0,090 g, 0,238 mmol) y el compuesto del título de la Etapa I anterior (0,075 g, 0,27 mmol) en tolueno (4,25 ml), y se trató con 2,2-bis-(difetilfosfin)-1,1-naftaleno (0,032 g, 0,048 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,061 g, 0,65 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,021 g, 0,024 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~110 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (20 ml), agua (5 ml) y salmuera (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (60/40), proporcionando el compuesto del título en bruto. Se volvió a purificar el material en bruto mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (80/20), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo (0,58 g, 42 %).

35 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,40 (s, 9H), 1,52 (s, 9H), 1,86-1,92 (m, 2H), 2,67-2,71 (m, 2H), 2,93-2,99 (m, 2H), 3,10-3,17 (m, 2H), 3,68-3,73 (m, 2H), 3,73-3,80 (m, 2H), 4,23-4,27 (m, 2H), 6,40 (d, 1H), 6,68 (d, 1H), 6,80 (d, 1H), 7,06-7,09 (m, 1H), 7,12 (d, 1H), 7,23-7,29 (m, 2H), 7,50-7,56 (m, 1H), 8,50-8,53 (m, 1H).

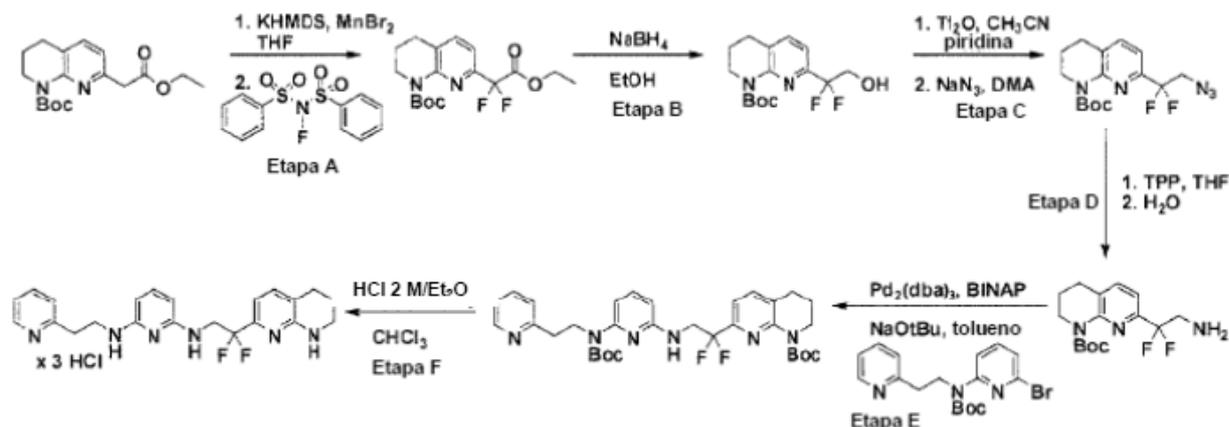
Etapa K

45 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa J anterior (0,058 g, 0,1 mmol) en cloroformo (1,6 ml) y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (1,6 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (4 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 µm. Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio de color amarillo oscuro (0,042 g, 86 %).

50 RMN de ¹H (400 MHz, D₂O): d = 1,71-1,78 (m, 2H), 2,57-2,61 (m, 2H), 2,79-2,84 (m, 2H), 3,22-3,30 (m, 4H), 3,47-3,50 (m, 2H), 3,59-3,63 (m, 2H), 5,80 (d, 1H), 6,44 (d, 1H), 7,33 (d, 1H), 7,42-7,83 (m, 4H), 8,35 (t, 1H), 8,51 (d, 1H)

MS (ESI); m/z = 375,29 (MH⁺).

Ejemplo de preparación 10 (compuesto 10):



Etapa A

5 Se disolvió bis(trimetilsilil)amida de potasio (5,99 g, 30 mmol) en tetrahidrofurano (90 ml) y se enfrió la solución hasta -78 °C. A -78 °C, se añadió el compuesto del título del Ejemplo 9, Etapa E (3,2 g, 10 mmol) en una porción y se agitó la mezcla a -78 °C durante 45 minutos. Se añadió bromuro de manganeso (II) (4,3 g, 20 mmol) en una porción y se siguió agitando a -78 °C durante 30 minutos. Luego se añadió N-fluorobencenosulfonimida (8,9 g, 28,2 mmol) a -78 °C en una porción. Se agitó la mezcla a -78 °C durante 30 minutos y se dejó calentar to temperatura ambiente durante una noche. Se diluyó la mezcla con bicarbonato sódico saturado (250 ml) y acetato de etilo (300 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (40/60), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite naranja pálido (2,15 g, 60 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,30 (m, 3H), 1,50 (s, 9H), 1,88-1,96 (m, 2H), 2,77-2,82 (m, 2H), 3,73-3,78 (m, 2H), 4,30-4,36 (m, 2H), 7,31-7,34 (m, 1H), 7,48-7,51 (m, 1H).

15 Etapa B

20 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa A anterior (2,15 g, 6 mmol) en etanol (8 ml) y se enfrió la mezcla hasta 0 °C. Luego se añadió borohidruro de sodio (0,23 g, 6 mmol) en porciones durante un período de 10 minutos. Una vez completada la adición, se agitó la mezcla durante una noche y se dejó que alcanzara la temperatura ambiente. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (80 ml), agua (10 ml) y solución de ácido cítrico al 10 % (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (40/60), proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido blanco (1,08 g, 57 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,50 (s, 9H), 1,92-1,98 (m, 2H), 2,76-2,80 (m, 2H), 3,77-3,82 (m, 2H), 4,14 (t, 2H), 5,28 (s a, 1H), 7,30-7,38 (m, 1H), 7,52,7,56 (m, 1H).

25 Etapa C

30 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa B anterior (1,08 g, 3,44 mmol) en acetonitrilo (6 ml), y se añadió piridina (0,36 ml, 5,4 mmol). Se enfrió la mezcla hasta 0 °C y se añadió anhídrido de ácido trifluorometanosulfónico (0,63 ml, 3,77 mmol) gota a gota. Una vez completada la adición, se agitó la mezcla a 0 °C durante 30 minutos. Se diluyó la mezcla con dietiléter (100 ml) y se lavó con ácido cítrico al 10 % (10 ml) y salmuera (10 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes, proporcionando el triflato en bruto en forma de un aceite naranja. Se disolvió el triflato en bruto en N,N'-dimetilacetamida (7,5 ml) y se añadió azida de sodio (1,1 g, 17,2 mmol). Se calentó la mezcla a ~75 °C en un baño de arena durante 3 h. Se diluyó la mezcla con dietiléter (100 ml) y se lavó con agua (20 ml) y salmuera (20 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (30/70), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido, que se solidificó mediante reposo a temperatura ambiente (0,87 g, 742 %).

35 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,50 (s, 9H), 1,92-1,98 (m, 2H), 2,79 (t, 2H), 3,78 (t, 2H), 3,97 (t, 2H), 7,36 (d, 1H), 7,51 (d, 1H).

Etapa D

40 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa C anterior (0,87 g, 2,58 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml), y se añadió trifenilfosfina (0,81 g, 3,1 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 20 h y luego se añadió agua (10 ml). Se prosiguió con la agitación durante una noche y se retiraron los disolventes al vacío. El

residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (98/2) seguido de diclorometano/metanol (95/5), proporcionando el compuesto del título en bruto. Se volvió a purificar el material en bruto mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (99/1) seguido de diclorometano/metanol (9/1), proporcionando el compuesto del título en forma de un líquido amarillo, que se convirtió en un sólido/una cera mediante reposo a temperatura ambiente (0,79 g, 98 %). El compuesto del título contiene trazas de óxido de trifenilfosfina.

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,50 (s, 9H), 1,70 (s a, 2H), 1,90-1,97 (m, 2H), 2,74-2,79 (m, 2H), 3,40 (t, 2H), 3,74-3,79 (m, 2H), 7,31 (d, 1H), 7,48 (d, 1H).

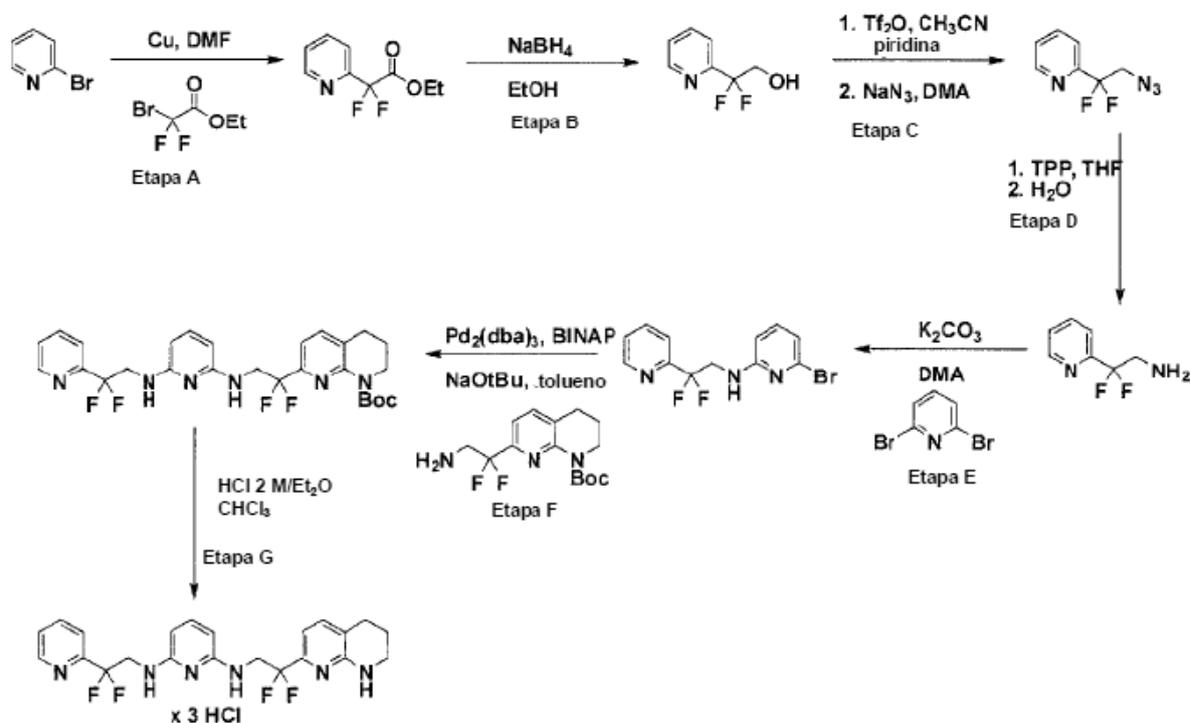
Etapa E

- 10 Se disolvieron el compuesto del título del Ejemplo 8, Etapa B (0,09 g, 0,238 mmol) y el compuesto del título de la Etapa D anterior (0,085 g, 0,27 mmol) en tolueno (4,25 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,032 g, 0,048 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,061 g, 0,65 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,021 g, 0,024 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a -115 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (20 ml), agua (5 ml) y salmuera (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/*n*-heptano (40/60), proporcionando el compuesto del título en forma de una cera de color amarillo oscuro (0,62 g, 43 %).
- 15
- 20 RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,42 (s, 9H), 1,57 (s, 9H), 1,92-1,98 (m, 2H), 2,76-2,80 (m, 2H), 3,13-3,18 (m, 2H), 3,77-3,82 (m, 2H), 4,22-4,32 (m, 4H), 6,38 (d, 1H), 6,52 (s a, 1H), 6,82 (d, 1H), 7,06-7,09 (m, 1H), 7,17-7,20 (m, 1H), 7,26-7,31 (m, 2H), 7,47-7,56 (m, 2H), 8,51 (m, 1H).

Etapa F

- 25 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa E anterior (0,06 g, 0,1 mmol) en cloroformo (1,6 ml), y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (1,6 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (4 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 μm . Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio de color amarillo oscuro (0,039 g, 74 %).
- 30 RMN de ^1H (400 MHz, D_2O): δ = 1,73-1,81 (m, 2H), 2,67-2,71 (m, 2H), 3,23-3,28 (m, 2H), 3,32-3,38 (m, 2H), 3,62-3,67 (m, 2H), 3,97 (t, 2H), 5,90-5,93 (m, 1H), 6,80-6,83 (m, 1H), 7,44-7,83 (m, 5H), 8,38 (t, 1H), 8,50-8,53 (m, 1H). MS (ESI); m/z = 411,45 (MH^+).

Ejemplo de preparación 11 (compuesto 12):



Etapa A

- 5 Se suspendió polvo de cobre (4,5 g, 70,8 mmol) en N,N'-dimetilformamida (22,5 ml) y 2-bromopiridina (4,5 g, 28,5 mmol), y se añadió 2-bromo-2,2-difluoroacetato (6 g, 29,6 mmol). Se calentó la mezcla a ~72 °C en un baño de arena durante una noche. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (60 ml), y se añadió una solución de dihidrógenofosfato de potasio (8,58 g, 63 mmol) en agua (50 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos y se filtró. Se lavó la fracción precipitada con acetato de etilo (30 ml) y se separó la fase orgánica de la fracción filtrada. Se lavó la fase orgánica con agua (2 x 20 ml), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (20/80), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite amarillo (3,17 g, 55 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,33 (t, 3H), 4,38 (c, 2H), 7,40-7,45 (m, 1H), 7,72 (d, 1H), 7,86 (t, 1H), 8,66 (d, 1H).

Etapa B

- 15 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa A anterior (3,17 g, 15,8 mmol) en etanol (18 ml) y se rodeó el matraz de un baño de agua. Luego se añadió borohidruro de sodio (0,6 g, 16 mmol) en porciones durante un período de 10 minutos. Una vez completada la adición, se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 90 minutos. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (60 ml) y se añadió una solución de ácido cítrico al 10 % hasta que se detuvo la formación de espuma de la mezcla. Se añadió más agua (25 ml) y se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (95/5), proporcionando el compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (2 g, 79 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 3,52 (s a, 1H), 4,23 (t, 2H), 7,40-7,45 (m, 1 H), 7,72 (d, 1H), 7,87 (t, 1H), 8,61 (d, 1H).

Etapa C

- 25 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa B anterior (1,8 g, 11,3 mmol) en acetonitrilo (18 ml), y se añadió piridina (1,18 ml, 17,8 mmol). Se enfrió la mezcla hasta 0 °C y se añadió anhídrido de ácido trifluorometanosulfónico (2,09 ml, 12,4 mmol) gota a gota. Una vez completada la adición, se agitó la mezcla a 0 °C durante 30 minutos. Se diluyó la mezcla con dietiléter (200 ml) y se lavó con ácido cítrico al 10 % (60 ml) y salmuera (60 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes, proporcionando el triflato en bruto en forma de un aceite marrón. Se disolvió el triflato en bruto en N,N'-dimetilacetamida (25 ml) y se añadió azida de sodio (3,69 g, 56,7 mmol). Se calentó la mezcla a ~75 °C en un baño de arena durante 3 h. Se diluyó la mezcla con dietiléter (200 ml) y se lavó con ácido cítrico al 10 % (60 ml) y salmuera (60 ml). Se separó la fase orgánica, se secó

30

sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (30/70), proporcionando el compuesto del título en forma de un líquido incoloro (1,29 g, 62 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 4,02 (t, 2H), 7,39-7,45 (m, 1H), 7,72 (d, 1 H), 7,86 (t, 1H), 8,68 (d, 1H).

5 Etapa D

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa C anterior (1,4 g, 7,6 mmol) en tetrahidrofurano (30 ml), y se añadió trifenilfosfina (2,4 g, 9,1 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 48 h y luego se añadió agua (15 ml). Se prosiguió con la agitación durante una noche y se retiraron los disolventes al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/metanol (98/2) seguido de diclorometano/metanol (95/5), proporcionando el compuesto del título en forma de un líquido amarillo pálido (1,05 g, 87 %).

RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,42 (s, 2H), 3,42 (t, 2H), 7,35-7,40 (m, 1H), 7,68 (d, 1H), 7,82 (t, 1H), 8,65 (d, 1H).

Etapa E

15 Se disolvió 2,6-dibromopiridina disponible en el mercado (0,5 g, 2,1 mmol) en N,N'-dimetilacetamida (5 ml), y se añadió el compuesto del título de la Etapa D anterior (0,31 g, 2,1 mmol). Tras la adición de bicarbonato de potasio (0,23 g, 2,3 mmol), se calentó la mezcla a ~145 °C en un baño de arena durante 8 h. Se diluyó la mezcla con acetato de etilo (100 ml), y se lavó con agua (30 ml) y salmuera (30 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (30/70), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite naranja (0,13 g, 20 %).

20 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 4,20 (dt, 2H), 5,08 (s a, 1H), 6,42 (d, 1H), 6,71 (d, 1H), 7,20 (d, 1H), 7,35-7,39 (m, 1H), 7,66 (d, 1H), 7,79 (t, 1H), 8,63 (d, 1H).

Etapa F

25 Se disolvieron el compuesto del título de la Etapa E anterior (0,12 g, 0,39 mmol) y el compuesto del título del Ejemplo 10, Etapa D (0,14 g, 0,44 mmol) en tolueno (7 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difeniilfosfin)-1,1-naftaleno (0,053 g, 0,078 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,1 g, 1,06 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,035 g, 0,039 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a ~115 °C en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (20 ml), agua (5 ml) y salmuera (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando diclorometano/acetona (95/5), proporcionando el compuesto del título en bruto. Se volvió a purificar el material en bruto mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/n-heptano (50/50), proporcionando el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo oscuro (0,62 g, 29 %).

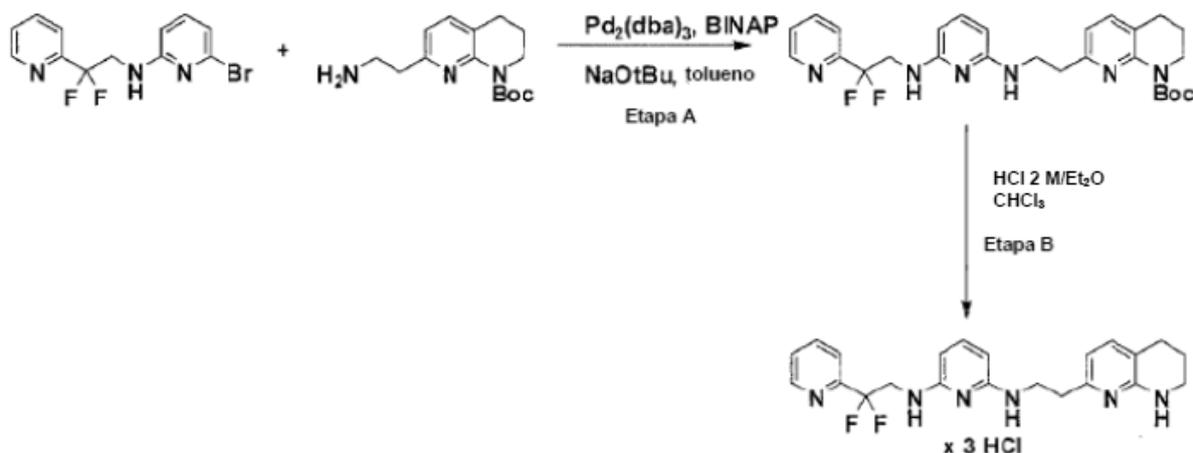
35 RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃): d = 1,56 (s, 9H), 1,90-1,97 (m, 2H), 2,74-2,80 (m, 2H), 3,78-3,82 (m, 2H), 4,13-4,27 (m, 4H), 4,50 (s a, 1H). 5,68-5,70 (m, 1H). 5,92-5,98 (m, 2H), 7,10 (t, 1H), 7,26-7,32 (m, 2H), 7,45-7,50 (m, 1H), 7,63-7,68 (m, 1H), 7,73-7,79 (m, 1H), 8,63-8,67 (m, 1H).

Etapa G

40 Se disolvió el compuesto del título de la Etapa F anterior (0,06 g, 0,11 mmol) en cloroformo (1,6 ml) y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (1,6 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (4 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 µm. Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio de color amarillo oscuro (0,048 g, 77 %).

45 RMN de ¹H (400 MHz, D₂O): d = 1,71-1,78 (m, 2H), 2,63-2,69 (m, 2H), 3,30-3,36 (m, 2H), 3,90-4,02 (m, 4H), 5,81-8,48 (m, 9H).

MS (ESI); m/z = 447,38 (MH⁺).

Ejemplo de preparación 12 (compuesto 11)**Etapa A**

Se disolvieron el compuesto del título del Ejemplo 11, Etapa E (0,13 g, 0,42 mmol) y el compuesto del título del Ejemplo 9, Etapa I (0,13 g, 0,48 mmol) en tolueno (7,6 ml), y se trataron con 2,2-bis-(difenilfosfin)-1,1-naftaleno (0,058 g, 0,084 mmol) y *tert*-butilato de sodio (0,11 g, 1,15 mmol). A continuación, se desgasificó la mezcla de reacción burbujeando argón a través de la mezcla de reacción, seguido de la adición de complejo de tris(dibencilidenoacetona)dipaladio y cloroformo (0,038 g, 0,042 mmol). Se cerró herméticamente el recipiente de reacción y se calentó la mezcla a $\sim 115^\circ\text{C}$ en un baño de arena durante 45 minutos. Se diluyó la mezcla de reacción con acetato de etilo (20 ml), agua (5 ml) y salmuera (5 ml). Se separó la fase orgánica, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se retiraron los disolventes. El residuo se purificó mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/*n*-heptano (70/30), proporcionando el compuesto del título en bruto. Se volvió a purificar el material en bruto mediante cromatografía sobre sílice usando acetato de etilo/*n*-heptano (70/30), proporcionando el compuesto del título en forma de una espuma gris (0,07 g, 32 %).

RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3): δ = 1,54 (s, 9H), 1,86-2,04 (m, 2H), 2,66-2,74 (m, 2H), 2,93-3,08 (m, 2H), 3,48-3,66 (m, 2H), 3,72-3,80 (m, 2H), 4,18 (t, 2H), 4,5 (s a, 1H), 5,65-5,98 (m, 2H), 6,21-6,40 (m, 1H), 6,76-6,83 (m, 1H), 7,10 (t, 1H), 7,25-7,36 (m, 2H), 7,61-7,68 (m, 1H), 7,72-7,77 (m, 1H), 8,60-8,64 (m, 1H).

Etapa B

Se disolvió el compuesto del título de la Etapa A anterior (0,07 g, 0,14 mmol) en cloroformo (2 ml), y se trató con una solución 2 M de hidrógeno-cloruro en dietiléter (2 ml). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche y se retiraron los disolventes usando una jeringa. Se disolvió el material sólido en agua (4 ml) y se filtró a través de un cartucho de filtro de 0,2 μm . Se recogió la fracción filtrada y se evaporó el disolvente, proporcionando el compuesto del título en forma de un vidrio de color amarillo oscuro (0,063 g, 88 %).

RMN de ^1H (400 MHz, D_2O): δ = 1,63-1,75 (m, 2H), 2,44-2,59 (m, 2H), 2,73-2,85 (m, 2H), 3,18-3,28 (m, 2H), 3,41-3,49 (m, 2H), 3,93 (t, 2H), 5,73-5,80 (m, 1H), 6,38-6,4 (m, 1H), 7,25-7,50 (m, 4 H), 7,61-7,65 (m, 1H), 7,85-7,90 (m, 1H), 8,42-8,48 (m, 1H).

MS (ESI); m/z = 411,45 (MH^+).

Ejemplo de preparación 13 (compuesto 8):

El Compuesto 8 se preparó como se describe en el documento WO2008/061795,.

Resultados experimentales**Método de medición de la solubilidad****1. Materiales, reactivos y equipo**

Agitador de placa, Centrifugadora (Eppendorf, 8 cm de radio), HPLC (Dionex P580), Columna: Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18 de rápida resolución (4,6 x 50 mm, 3,5 mM, Agilent), microtubos no coloreados de 1,5 ml (Eppendorf, 1,5 ml), Micropipetas de 100-1.000 ml, Micropipetas de 10-100 ml, tampón de fosfato de Dulbecco, DMSO, formiato de amonio, ácido fórmico al 98-100%, UP- H_2O , calidad HPLC de acetonitrilo, análisis de GR de metanol, filtro de membrana de PVDF.

2. Método

2.1 Preparación de PBS x 5 (almacenado a 4 °C) y PBS x 1 para el análisis

PBS x 5

Se disuelve todo el contenido de sal de PBS (D-5652-10L) en 2 l de H₂O UP.

5 PBS x

Antes del análisis, se diluye el PBS x 5 con factor de dilución de 5 para preparar 30 ml de PBS x 1 y se filtra la solución usando una jeringa y cualquier membrana hidrófila, por ejemplo, membrana de PVDF.

2.2 Preparación del disolvente para la HPLC (almacenado a TA)

Disolvente A: formiato de amonio 13,3 mM/ácido fórmico 6,5 mM/agua UP

10 Se disuelven 820 ± 1 mg de formiato de amonio y 245 µl de ácido fórmico en 1000 ml de H₂O UP.

Disolvente B: formiato de amonio 6,0 mM/ácido fórmico 2,9 mM/acetoneitrilo al 90 %/agua UP al 10 %

Se disuelven 378 ± 1 mg de formiato de amonio y 110 µl de ácido fórmico en 900 ml de acetoneitrilo y 100 ml de H₂O UP.

2.3 Preparación de la solución madre del compuesto

15 Se disuelve el compuesto en DMSO a una concentración de 25 mM (mínimo de 50 ml).

2.4 Preparación de la curva patrón

Se preparan 15 ml de metanol/H₂O (6/4).

Se preparan 5 calibradores patrón: 250 µM, 200 µM, 50 µM, 12,5 µM y 3,13 µM en metanol/H₂O (6/4).

Las preparaciones se realizan para concentración patrón en microtubos de 1,5.

Concentración [mM]	250	200	50	12,5	3,13	Blanco
Microtubos n.º	1	2	3	4	5	6
Metanol/H ₂ O (6/4)	392 µl	392 µl	294 µl	294 µl	294 µl	294 µl
DMSO	4 µl	4,8 µl	6 µl	6 µl	6 µl	6 µl
Compuesto de reserva de DMSO 25 mM	4 µl	3,2 µl	-	-	-	-
Patrón 200 mM (de n.º 2)	-	-	100 µl	-	-	-
Patrón 50 mM (de n.º 3)	-	-	-	100 µl	-	-
Patrón 12,5 mM (de n.º 4)	-	-	-	-	100 ml	-

20 Se transfieren directamente de 250 a 300 µl de cada microtubo a un vial de HPLC.

Se ejecuta la HPLC (de los microtubos n.º 6 a n.º 1), usando las siguientes condiciones:

Columna C18, 0,7 ml/min, 20 °C, detección UV a 254 nm, volumen de inyección: 20 µl y uno de los siguientes ingredientes:

ES 2 657 701 T3

Gradiente para los compuestos muy polares/hidrófilos

Tiempo [min]	Caudal [ml/min]	% de A	% de B
0	0,7	100	0
2,5	0,7	75	25
5	0,7	55	45
6	0,7	35	65
7	0,7	15	85
8	0,7	0	100
9	0,7	0	100
9,1	0,7	100	0
12,0	0,7	100	0

Gradiente para los compuestos menos polares/lipófilos

Tiempo [min]	Caudal [ml/min]	% de A	% de B
0	0,7	100	0
5	0,7	10	90
6	0,7	5	95
9	0,7	0	100
9,1	0,7	100	0
12	0,7	100	0

2.5. Preparación de la muestra para la solubilidad acuosa

Se preparan las muestras del compuesto por triplicado

Concentración [mM]	200 μ M	Blanco
PBS x 1	392 μ l	294 μ l
DMSO	4,8 μ l	6 μ l
Compuesto de reserva de DMSO 25 mM	3,2 μ l	-

5 Se agita suavemente (350 rpm) durante 24 horas a temperatura ambiente.

Tras el tiempo de incubación, se centrifuga a 2500 g (5500 rpm) durante 30 min.

Se muestrean 200 µl de sobrenadante para el análisis de HPLC usando las mismas condiciones descritas en 2.4.

2.6. Tratamiento de datos

Se integra el área de cada máximo de punto de patrón a 254 nm.

- 5 Se determina la curva patrón para el compuesto trazando el área frente a la concentración teórica. Se establece la ecuación de curva patrón basada en una regresión lineal (con una intersección a 0, $R^2 \geq 0,90$).

$$y \text{ (área)} = \text{pendiente} \times x \text{ (concentración)}$$

Se calcula el área media de cada triplicado preparado en fase acuosa.

La concentración del compuesto en el sobrenadante se determina por la siguiente fórmula:

$$x \text{ (concentración)} = \left(\frac{y \text{ (área media)}}{\text{Pendiente (curva patrón)}} \right) [\mu\text{M}]$$

- 10 La solubilidad del compuesto se determina mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Solubilidad acuosa} = \left(\frac{\text{PM}_p \text{ (base libre)} \bullet x \text{ (concentración)}}{1000} \right) [\text{mg/l}]$$

Ejemplo: Inhibición de la agregación de péptido beta-amiloide (Ab) 1-42 (ensayo de ThT)

Se ensayó una serie de moléculas pequeñas para determinar su capacidad para inhibir la agregación de péptido beta-amiloide (Ab) 1-42 usando un ensayo de espectrofluorescencia de tioflavina T.

- 15 *Preparación de la película de péptido Ab*

Se reconstituyó polvo liofilizado Ab1-42 (Bachem) en hexafluoroisopropanol (HFIP) a 1 mM. Se sometió la solución de péptido a ultrasonidos durante 15 minutos a temperatura ambiente, se agitó durante una noche y se colocaron alícuotas en tubos de microcentrifugación no siliconados. A continuación, se evaporó el HFIP bajo una corriente de argón. Se secó la película de péptido resultante al vacío durante 10 minutos, se selló herméticamente y se almacenó a -80 °C hasta su uso.

20

Inhibición de la agregación de Ab1-42

Para ensayar la inhibición mediada por moléculas pequeñas de la agregación de Ab1-42, se disolvieron las moléculas pequeñas antes de cada experimento en dimetilsulfóxido anhidro (DMSO, Sigma-Aldrich) hasta alcanzar una concentración de 7,4 mM. Se disolvió la película de péptido Ab1-42 en DMSO hasta alcanzar 400 µM. Se preparó la solución de ensayo en tampón PBS en tubos de incubación no siliconados hasta alcanzar las siguientes concentraciones: molécula pequeña 330 mM, Ab1-42 33 mM, tioflavina T (ThT) 10 µM y DMSO al 12,8 %. Por lo tanto, la relación molar final de molécula pequeña con respecto a Ab1-42 fue de 10:1. Se preparó un control positivo sin molécula pequeña para medir la RFU máxima. Se preparó un control negativo sin Ab1-42 para cada molécula pequeña. Se ensayó el trímero de 3-aminopirazol (Trímero) en todos los ensayos para determinar la reproducibilidad entre experimentos independientes. Se incubaron las soluciones durante 24 horas a 37 °C y se leyó la espectrofluorescencia (unidades de fluorescencia relativas, RFU) en seis repeticiones en placas de ensayo de 384 pocillos negros (Perkin-Elmer) en un espectrofluorómetro Perkin-Elmer FluoroCount. La inhibición de la agregación se expresa como el % medio de inhibición o ± 1 desviación típica (DT) según la siguiente ecuación:

30

% de inhibición =

- 35
$$\frac{(\text{RFU del control positivo} - \text{RFU del control negativo}) - (\text{RFU de la muestra con A}\beta\text{-42} - \text{RFU de la muestra sin A}\beta\text{-42}) \times 100}{(\text{RFU del control positivo} - \text{RFU del control negativo})}$$

Los criterios de corte para la selección de moléculas funcionales se definieron con una capacidad de inhibición del 50 %. Las moléculas que muestran una capacidad de inhibición superior al 70 % se consideraron candidatas muy

sólidas.

Para determinar la Cl_{50} , se usaron las siguientes diluciones de los compuestos en el ensayo de ThT descrito anteriormente:

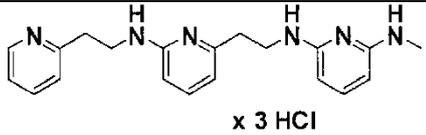
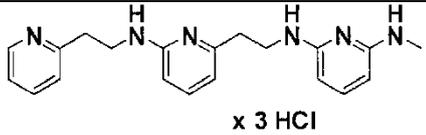
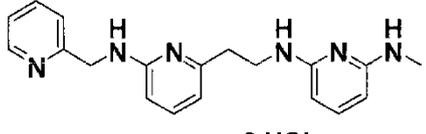
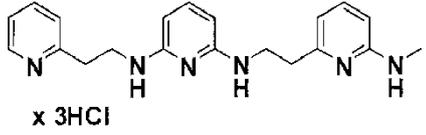
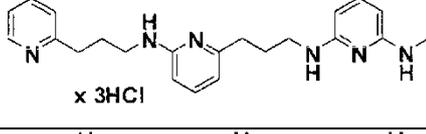
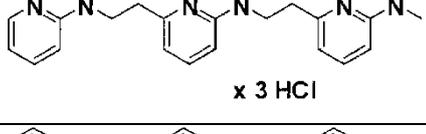
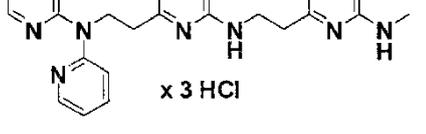
330 μ M, 82,50 μ M, 20,63 μ M, 5,16 μ M, 1,29 μ M, 0,32 μ M y 0,08 μ M.

5 Ejemplo: efecto de un compuesto de la invención en un modelo de rata de hipertensión ocular crónica/glaucoma

se creó un modelo de rata de hipertensión ocular crónica (OHT)/glaucoma inyectando solución salina hipertónica en las venas episclerales de un ojo de ratas Dark Agouti. 18 ratas recibieron una inyección intravítrea que contenía un volumen de 5 μ l del compuesto 1 (ACI-260) a una concentración de 74 mg/l en el ojo de OHT. 18 ratas sirvieron como control negativo y recibieron 5 μ l de solución salina y 18 ratas sirvieron como control positivo y recibieron 6 μ l de rojo Congo (1,46 mg/ml). Se sacrificaron 6 animales/punto de tiempo a las 3, 8 y 16 semanas después del tratamiento.

Se midió la presión intraocular (PIO) con Tonopen una vez cada 4 semanas después de la dosificación y antes del sacrificio (en el transcurso de 3 días). De 5 a 7 días antes del sacrificio, se inyectaron a los animales por vía intracerebral 5 μ l de FluoroGold al 4 % para marcar las células ganglionares de la retina (RGC). Para cuantificar las RGC viables, se procesaron las imágenes usando un sistema específico de software de análisis de imágenes y se expresaron las RGC viables por milímetro cuadrado.

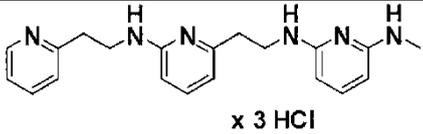
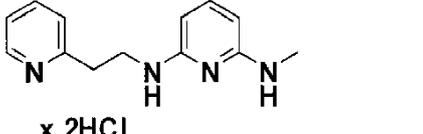
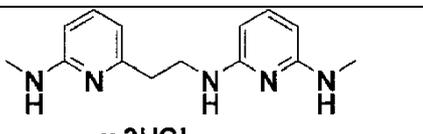
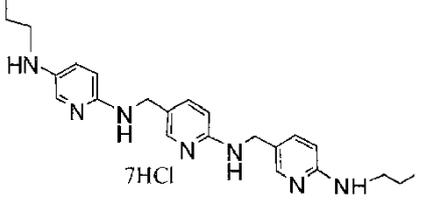
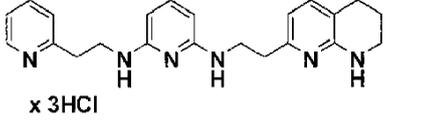
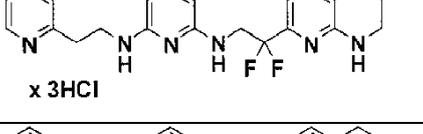
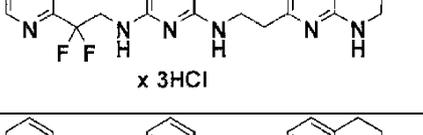
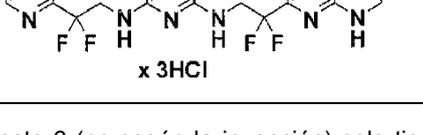
A las 3 semanas, no se observó una reducción de la presión intraocular en ninguno de los animales. Sin embargo, el número de RGC viables aumentó significativamente en el grupo tratado con el compuesto 1 ($p < 0,001$) y en el grupo de rojo Congo ($p < 0,001$) en comparación con el grupo de control. A las 8 y 16 semanas, estos resultados se confirmaron, lo que sugiere que el compuesto 1 es neuroprotector. Los resultados se muestran en la Figura 1.

Comp.		Cl_{50} Ensayo de ThT* [μ M]	Solubilidad [μ M] [mg/l]
1		25,5 μ M	857 μ M 298 mg/l
2		12,9 μ M	-
3		35,3 μ M	206 μ M 71 mg/l
4		16,5 μ M	103 μ M 38 mg/l
5		140 μ M	
13		298 μ M	

* media de 2 experimentos

Como puede verse comparando los resultados obtenidos con los compuestos según la invención (compuestos 1, 2, 3 y 4), el enlazador más largo disminuye la solubilidad.

El Compuesto 5 (no según la invención) no tiene una fracción de 2,6-diaminopiridina. Como se puede ver, la actividad biológica se reduce significativamente.

Comp.		% de inhib. del ensayo de ThT a 330 μ M	% de inhib. del ensayo de ThT a 330 μ M	% de inhib. medio	Solubilidad [μ M] [mg/l]
1		88,8	79,6	84,2	857 μ M 298 mg/l
6		68,4	59,0	63,7	
7		77,6	70,3	74,0	195 μ M 50 mg/l
8		73,3	80,7	77,0	1,0 μ M 0,4 mg/l
9		91,8	93,4	92,6	154 μ M 57 mg/l
10		89,6	77,6	83,6	
11		95,3	94,4	94,9	119 μ M 48 mg/l
12		56,4	63,7	60,0	21,5 μ M 9,5 mg/l

5 El compuesto 6 (no según la invención) solo tiene dos anillos de piridina. El compuesto 7 (no según la invención) solo tiene dos anillos de piridina. Ambos compuestos tienen una actividad significativamente reducida en comparación con el compuesto 1 (según la invención).

La solubilidad del compuesto 8 (no según la invención), que tiene una fracción de 2,5-diaminopiridina, es significativamente peor que la del compuesto 1 (según la invención), que tiene una fracción de 2,6-diaminopiridina.

10 Los compuestos 9, 10 y 11 (no según la invención) tienen una actividad comparable con la del compuesto 1, pero su solubilidad es peor. Solo para el compuesto 12 (no según la invención), tanto la solubilidad como la actividad son

peores en comparación con el compuesto 1.

Listado de secuencias

- <110> AC Immune
 - 5 <120> Compuestos de 2,6-diaminopiridina adecuados para tratar enfermedades asociadas con proteínas amiloides o de tipo amiloide o para tratar o prevenir enfermedades o condiciones oculares asociadas a una anomalía/cambio patológico en el tejido del sistema visual
 - <130> R2718 PCT
 - <150> EP 09 17 3184.4
 - <151> 2009-10-15
 - 10 <160> 4
 - <170> PatentIn version 3.3
 - <210> 1
 - <211> 112
 - <212> PRT
 - 15 <213> Secuencia artificial
 - <220>
 - <221> fuente
 - <223> /nota=\224Descripción de secuencia artificial(*):
cadena ligera variable de C2 HuVK 1 humanizado artificial\224
 - 20 <400> 1
- | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Asp | Ile | Val | Met | Thr | Gln | Ser | Pro | Leu | Ser | Leu | Pro | Val | Thr | Pro | Gly |
| 1 | | | | 5 | | | | | 10 | | | | | 15 | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| Glu | Pro | Ala | Ser | Ile | Ser | Cys | Arg | Ser | Ser | Gln | Ser | Leu | Val | Tyr | Ser |
| | | | 20 | | | | | 25 | | | | | 30 | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| Asn | Gly | Asp | Thr | Tyr | Leu | His | Trp | Tyr | Leu | Gln | Lys | Pro | Gly | Gln | Ser |
| | | 35 | | | | | 40 | | | | | 45 | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pro | Gln | Leu | Leu | Ile | Tyr | Lys | Val | Ser | Asn | Arg | Phe | Ser | Gly | Val | Pro |
| | 50 | | | | | 55 | | | | | 60 | | | | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| Asp | Arg | Phe | Ser | Gly | Ser | Gly | Ser | Gly | Thr | Asp | Phe | Thr | Leu | Lys | Ile |
| 65 | | | | | 70 | | | | | 75 | | | | | 80 |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ser | Arg | Val | Glu | Ala | Glu | Asp | Val | Gly | Val | Tyr | Tyr | Cys | Ser | Gln | Ser |
| | | | | 85 | | | | | 90 | | | | | 95 | |
| | | | | | | | | | | | | | | | |
| Thr | His | Val | Pro | Trp | Thr | Phe | Gly | Gln | Gly | Thr | Lys | Val | Glu | Ile | Lys |
| | | | 100 | | | | | 105 | | | | | 110 | | |
- <210> 2
 - <211> 219
 - <212> PRT
 - 25 <213> Secuencia artificial
 - <220>
 - <221> fuente
 - <223> /nota=\224Descripción de secuencia artificial(*):
cadena ligera de C2 humanizado artificial\224
 - 30 <400> 2

ES 2 657 701 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Leu Ser Leu Pro Val Thr Pro Gly
 1 5 10 15

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Val Tyr Ser
 20 25 30

Asn Gly Asp Thr Tyr Leu His Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
 35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Lys Val Ser Asn Arg Phe Ser Gly Val Pro
 50 55 60

Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys Ile
 65 70 75 80

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Ser Gln Ser
 85 90 95

Thr His Val Pro Trp Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
 100 105 110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
 115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
 130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
 145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
 165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
 180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
 195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
 210 215

<210> 3

<211> 112

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=\224Descripción de secuencia artificial(*):
 cadena pesada variable de C2 HuVH AF 4 humanizado artificial\224

10 <400> 15

ES 2 657 701 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val
 35 40 45

Ala Ser Ile Asn Ser Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Pro Asp Ser Val
 50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ser Leu Tyr
 65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95

Ala Ser Gly Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Thr Val Thr Val Ser Ser
 100 105 110

<210> 4

<211> 439

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<221> fuente

<223> /nota=\224Descripción de secuencia artificial(*):
 cadena pesada de C2 humanizado artificial\224

10 <400> 4

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Leu Val

ES 2 657 701 T3

Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp
 290 295 300

Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu
 305 310 315 320

Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg
 325 330 335

Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys
 340 345 350

Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp
 355 360 365

Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys
 370 375 380

Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser
 385 390 395 400

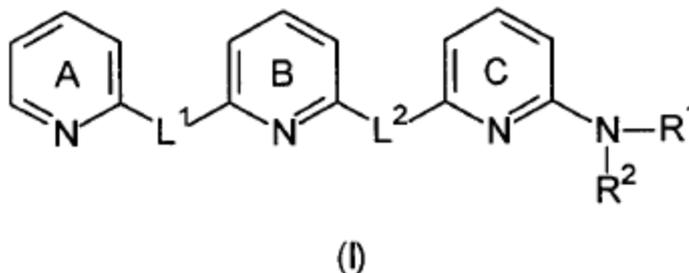
Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser
 405 410 415

Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser
 420 425 430

Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435

REIVINDICACIONES

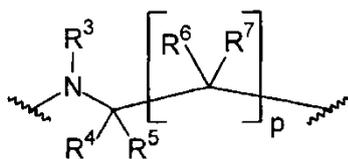
1. Un compuesto que tiene la fórmula general (I):



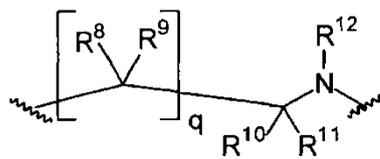
en donde:

5 los anillos de piridina A, B y C están independientemente no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes que se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₆, haloalquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, Hal u OR¹³;

L¹ y L² se seleccionan independientemente de fracciones que tienen la fórmula (a) o (b)



(a)



(b)

10 en donde al menos uno de L¹ o L² tiene la fórmula (b);

R¹ y R² se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₆ y fenilo;

R³ se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁₋₆;

R⁴, R⁵, R⁶ y R⁷ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₆;

R⁸, R⁹, R¹⁰ y R¹¹ se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₆;

15 R¹² se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₆;

R¹³ se selecciona independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₆ y fenilo;

p es 1 o 2;

q es 0, 1 o 2; y

Hal se selecciona del grupo que consiste en F, Cl, Br y I;

20 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto según la reivindicación 1, en donde los anillos de piridina A, B y C están independientemente no sustituidos o sustituidos con uno o más grupos alquilo o átomos de halógeno.

3. El compuesto según la reivindicación 1, en donde los anillos de piridina A, B y C están independientemente no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes que se seleccionan independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₆ u OH.

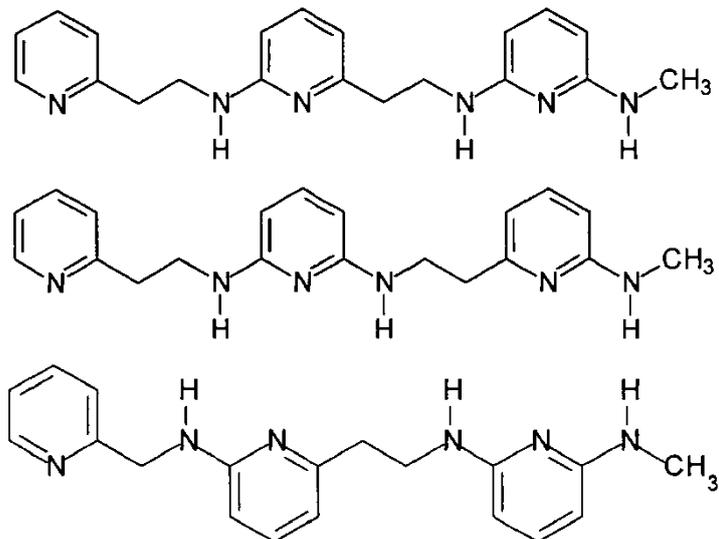
25

4. El compuesto según la reivindicación 1, en donde los anillos de piridina A, B y C no están sustituidos.

5. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde R¹ y R² se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C₁₋₆.

6. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde q es 2.

7. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde el compuesto se selecciona de:



- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.
8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.
9. La composición farmacéutica según la reivindicación 8 que comprende además un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
10. Uso del compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección ocular seleccionada del grupo que consiste en glaucoma, degradación neuronal, déficits visuales corticales, catarata debida a la deposición de beta-amiloide, amiloidosis ocular, degeneración retiniana primaria, degeneración macular, drusas del nervio óptico, neuropatía óptica, neuritis óptica y distrofia reticular.
11. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección ocular seleccionada del grupo que consiste en glaucoma, degradación neuronal, déficits visuales corticales, cataratas debidas a deposición de beta-amiloide, amiloidosis ocular, degeneración retiniana primaria, degeneración macular, drusas del nervio óptico, neuropatía óptica, neuritis óptica y distrofia reticular.
12. El uso según la reivindicación 10 o el compuesto para el uso según la reivindicación 11, en donde la enfermedad es glaucoma.
13. El uso o el compuesto para el uso según la reivindicación 12, en donde la enfermedad es glaucoma de ángulo abierto crónico (idiopático), glaucoma de bloque pupilar, glaucoma de desarrollo, glaucoma asociado con otros trastornos oculares, glaucoma asociado con presión venosa episcleral elevada, glaucoma asociado con inflamación y traumatismo, glaucoma posterior a cirugía intraocular, glaucoma de alta presión, glaucoma de presión normal, glaucoma de ángulo cerrado agudo, glaucoma de ángulo cerrado subagudo, glaucoma de ángulo cerrado crónico, glaucoma de mecanismo combinado, glaucoma congénito (infantil), aniridia de glaucoma juvenil, glaucoma asociado con trastornos del endotelio corneal, glaucoma asociado con trastornos del iris y del cuerpo ciliar, glaucoma asociado con trastornos del cristalino, glaucoma asociado con trastornos de la retina, coroides y vítreo, glaucoma asociado con desprendimiento de retina y anomalías vitreoretinianas, glaucoma neovascular, glaucoma pigmentario, síndrome de exfoliación, glaucoma de ángulo abierto inducido por el cristalino, glaucoma asociado con intumescencia y dislocación del cristalino, glaucoma asociado con queratitis, epiescleritis y escleritis, glaucoma de bloque ciliar (maligno), glaucoma en afaquia y pseudofagia, proliferación epitelial, fibrosa y endotelial, glaucoma asociado con cirugía corneal y glaucoma asociado con cirugía vitreoretiniana.
14. Una mezcla que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 y, opcionalmente, al menos otro compuesto biológicamente activo y/o un vehículo y/o un diluyente y/o un excipiente farmacéuticamente aceptable.
15. La mezcla según la reivindicación 14, en donde el compuesto biológicamente activo adicional es un compuesto usado en el tratamiento de la amiloidosis y/o la presión intraocular.

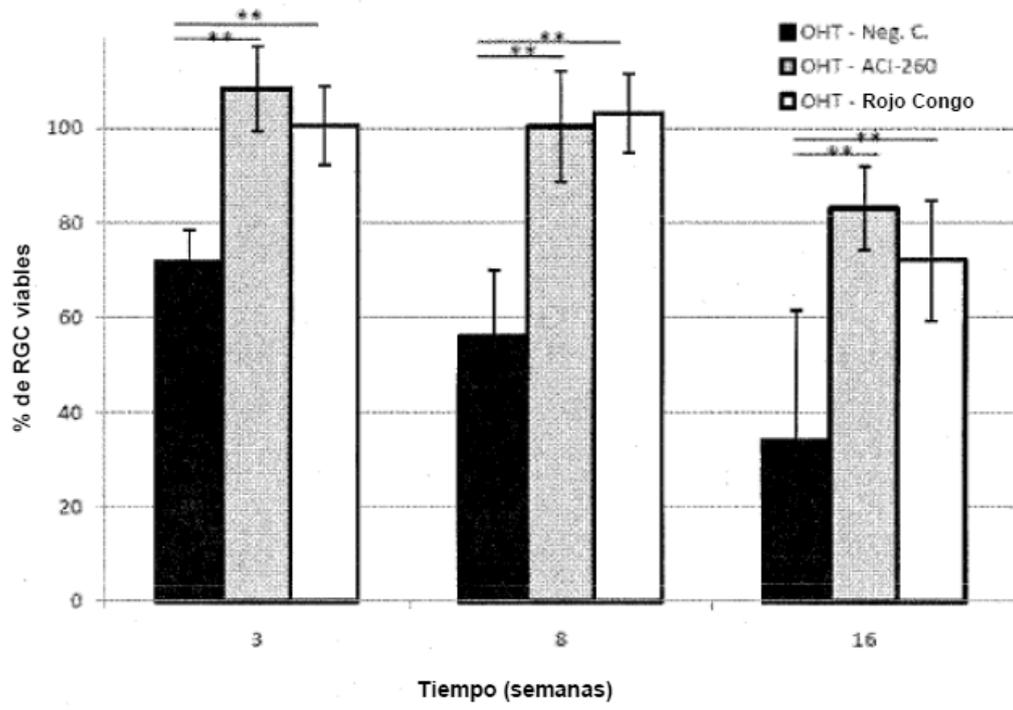


Figura 1