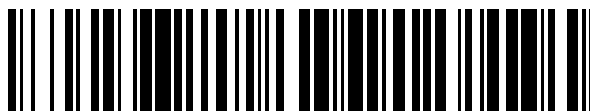


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 663 601**

51 Int. Cl.:

**C07D 239/95** (2006.01)

**A61K 31/517** (2006.01)

**A61P 31/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **18.05.2012 PCT/EP2012/059234**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.11.2012 WO12156498**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.05.2012 E 12721852 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.12.2017 EP 2709989**

54 Título: **Derivados de quinazolina para el tratamiento de infecciones víricas y otras enfermedades**

30 Prioridad:

**18.05.2011 EP 11166538**

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

**16.04.2018**

73 Titular/es:

**JANSSEN SCIENCES IRELAND UC (100.0%)  
Eastgate Village  
Eastgate, Little Island, County Cork, IE**

72 Inventor/es:

**MC GOWAN, DAVID;  
RABOISSON, PIERRE, JEAN-MARIE, BERNARD;  
JONCKERS, TIM, HUGO, MARIA;  
LAST, STEFAAN, JULIEN;  
EMBRECHTS, WERNER y  
PIETERS, SERGE, MARIA, ALOYSIUS**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 663 601 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Derivados de quinazolina para el tratamiento de infecciones víricas y otras enfermedades

Esta invención se refiere a derivados de quinazolina, a procesos para su preparación, a composiciones farmacéuticas y a su uso en terapia.

5 La presente invención se refiere al uso de derivados de quinazolina en el tratamiento de infecciones víricas, trastornos inmunitarios o inflamatorios, donde interviene la modulación o el agonismo de receptores de tipo Toll (TLR, por sus siglas en inglés). Los receptores de tipo Toll son proteínas transmembranales primarias que se caracterizan por un dominio extracelular rico en leucina y una extensión citoplásmica que contiene una región conservada. El sistema inmunitario innato puede reconocer patrones moleculares asociados con patógenos mediante estos TLR  
10 que se expresan en la superficie celular de ciertos tipos de células inmunitarias. El reconocimiento de patógenos externos activa la producción de citocinas y aumenta la cantidad de moléculas coestimuladoras en los fagocitos. Esto conlleva la modulación del comportamiento de los linfocitos T.

Se ha estimado que la mayoría de las especies de mamíferos tienen entre diez y quince tipos de receptores de tipo Toll. Se han identificado trece TLR (denominados simplemente TLR1-TLR13) en seres humanos y ratones conjuntamente, y se han encontrado formas equivalentes de muchos de ellos en otras especies de mamíferos. Sin embargo, los equivalentes de ciertos TLR que se encuentran en los seres humanos no están presentes en todos los mamíferos. Por ejemplo, un gen que codifica una proteína análoga a TLR10 en los seres humanos está presente en ratones, pero parece que ha sido dañado en algún momento del pasado por un retrovirus. Por otro lado, los ratones expresan los TLR 11, 12 y 13, ninguno de los cuales está representado en los seres humanos. Otros mamíferos pueden expresar TLR que no se encuentren en los seres humanos. Otras especies que no sean mamíferos pueden tener TLR distintos a los de los mamíferos, como por ejemplo TLR14, que se encuentra en el pez globo Takifugu. Esto puede complicar el proceso de utilizar animales de experimentación como modelos de inmunidad humana.

Para consultar revisiones detalladas sobre los receptores de tipo Toll, remítase a los siguientes artículos de revistas: Hoffmann, J.A., *Nature*, **426**, págs. 33-38, 2003; Akira, S., Takeda, K. y Kaisho, T., *Annual Rev. Immunology*, **21**, págs. 335-376, 2003; Ulevitch, R. J., *Nature Reviews: Immunology*, **4**, págs. 512-520, 2004.

Previamente se han descrito compuestos que presentan actividad sobre los receptores de tipo Toll, tales como los derivados de purina en WO 2006/117670, derivados de adenina en WO 98/01448 y WO 99/28321, y pirimidinas en WO 2009/067081.

30 Sin embargo, es muy necesario disponer de moduladores novedosos de receptores de tipo Toll que presenten una selectividad preferida, mayor potencia, mayor estabilidad metabólica y un perfil de seguridad mejorado en comparación con los compuestos de la técnica anterior.

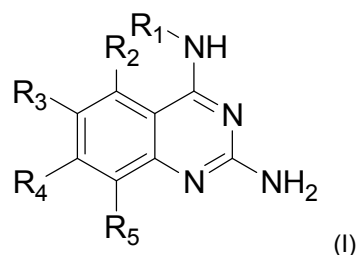
En el tratamiento de ciertas infecciones víricas, se pueden administrar inyecciones regulares de interferón (IFN $\alpha$ ), como en el caso del virus de la hepatitis C (VHC), (Fried *et al.* Peginterferon-alfa plus ribavirin for chronic hepatitis C virus infection, *N Engl J Med* 2002; 347: 975-82). Las moléculas de bajo peso molecular inductoras de IFN que se pueden administrar oralmente ofrecen las ventajas potenciales de una inmunogenicidad reducida y comodidad de administración. Por lo tanto, los inductores de IFN novedosos son una nueva clase de fármacos potencialmente eficaces para el tratamiento de infecciones víricas. Para consultar un ejemplo de la bibliografía de una molécula de bajo peso molecular inductora de IFN con un efecto antivírico, remítase a De Clercq, E.; Descamps, J.; De Somer, P. *Science* **1978**, *200*, 563-565.

El IFN $\alpha$  también se administra combinado con otros fármacos en el tratamiento de ciertos tipos de cáncer (remítase a *Eur. J. Cancer* 46, 2849-57, y *Cancer Res.* **1992**, *52*, 1056 para consultar ejemplos). Los agonistas de TLR 7/8 también son de interés como adyuvantes de vacunas debido a su capacidad para inducir una respuesta pronunciada de Th1.

45 La técnica anterior también incluye WO 2005/007672. Esta referencia se refiere a métodos y composiciones útiles para modular la señalización a través de los receptores de tipo Toll. Por consiguiente, los compuestos utilizados tienen una estructura nuclear que incluye al menos dos anillos y son normalmente 4-aminoquinolinas primarias.

Otro documento de referencia en la técnica anterior es WO 2009.067081, que se refiere a derivados de pirimidina para usos médicos que incluyen el tratamiento de infecciones virales tales como por VHC.

50 De acuerdo con la presente invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I)



o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, donde

R<sub>1</sub> es alquilo C<sub>4-8</sub> sustituido con un hidroxilo,

5 R<sub>2</sub> es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amina, alquilo C<sub>1-7</sub>, alquilamino C<sub>1-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, (alcoxi C<sub>1-4</sub>)-(alquilo C<sub>1-4</sub>), cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, heterociclo C<sub>4-7</sub>, resto aromático, heterociclo bicíclico, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, amida carboxílica, éster carboxílico cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, dialquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, heterociclo, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo,

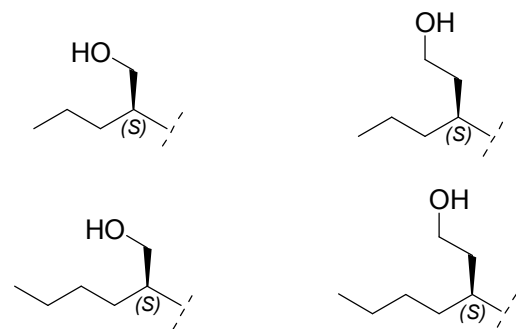
10 R<sub>3</sub> es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amina, alquilo C<sub>1-7</sub>, alquenilo C<sub>1-7</sub>, alquinilo C<sub>1-7</sub>, alquilamino C<sub>1-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, (alcoxi C<sub>1-4</sub>)-(alquilo C<sub>1-4</sub>), cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, heterociclo C<sub>4-7</sub>, resto aromático, heterociclo bicíclico, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, ariloxi, heteroariloxi, cetona, nitrilo cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, dialquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, heterociclo, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo,

15 R<sub>4</sub> es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amina, alquilo C<sub>1-7</sub>, alquilamino C<sub>1-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, (alcoxi C<sub>1-4</sub>)-(alquilo C<sub>1-4</sub>), cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, heterociclo C<sub>4-7</sub>, heterociclo bicíclico, arilalquilo, heteroarilalquilo, ariloxi, heteroariloxi cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, dialquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, heterociclo, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo, y

R<sub>5</sub> es hidrógeno, flúor, cloro o metilo con la condición de que

R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, y R<sub>5</sub> no pueden ser todos H.

Una realización se refiere a compuestos de fórmula (I) donde R<sub>1</sub> es uno de los siguientes:



En otra realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I) donde R<sub>5</sub> es preferentemente hidrógeno o flúor y R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> son como se ha descrito previamente.

30 Los compuestos de fórmula (I) y sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables presentan actividad como agentes farmacéuticos, en particular como moduladores de la actividad de los receptores de tipo Toll (especialmente TLR7 y/o TLR8).

Por tanto, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, junto con uno o más excipientes, diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables.

Además, un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con la presente invención, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables se puede utilizar como un medicamento.

- 5 Otro aspecto de la invención consiste en que un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, o dicha composición farmacéutica que comprende dicho compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables se puede utilizar según corresponda en el tratamiento de un trastorno en el que interviene la modulación de TLR7 y/o TLR8.

El término "alquilo" se refiere a un hidrocarburo alifático saturado de cadena lineal o de cadena ramificada que contiene el número especificado de átomos de carbono.

- 10 El término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "alquenilo" se refiere a un alquilo según se ha definido anteriormente constituido por al menos dos átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono.

El término "alquinilo" se refiere a un alquilo según se ha definido anteriormente constituido por al menos dos átomos de carbono y al menos un triple enlace carbono-carbono.

- 15 El término "cicloalquilo" se refiere a un anillo carbocíclico que contiene el número especificado de átomos de carbono.

El término "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo (cadena de carbono e hidrógeno) unido mediante un enlace sencillo a oxígeno como, por ejemplo, un grupo metoxi o un grupo etoxi.

- 20 El término "arilo" se refiere a una estructura anular aromática que comprende opcionalmente uno o dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S, en particular entre N y O. Dicha estructura anular aromática puede tener 5, 6 o 7 átomos anulares. En particular, dicha estructura anular aromática puede tener 5 o 6 átomos anulares.

El término "ariloxi" se refiere a una estructura anular aromática. Dicho grupo aromático está unido mediante un enlace sencillo a oxígeno como, por ejemplo, fenol.

- 25 El término "heteroariloxi" se refiere a una estructura anular aromática que opcionalmente comprende uno o dos heteroátomos seleccionados entre N, O y S. Dicho grupo aromático contiene de 5 a 7 átomos anulares, uno de los cuales está unido mediante enlace sencillo a oxígeno como, por ejemplo, hidroxipiridina.

La expresión "heterociclo bicíclico" se refiere a una estructura anular aromática, según define el término "arilo", que comprende dos anillos aromáticos fusionados. Cada anillo comprende opcionalmente heteroátomos seleccionados entre N, O y S, en particular entre N y O.

- 30 El término "arilalquilo" se refiere a una estructura anular aromática, según define el término "arilo", opcionalmente sustituida con un grupo alquilo.

El término "heteroarilalquilo" se refiere a una estructura anular aromática, según define el término "heteroarilo", opcionalmente sustituida con un grupo alquilo.

- 35 El término "heterociclo" se refiere a moléculas que están saturadas o parcialmente saturadas e incluye óxido de etilo, tetrahidrofurano, dioxano u otros éteres cíclicos. Los heterociclos que contienen nitrógeno incluyen, por ejemplo, azetidina, morfolina, piperidina, piperazina, pirrolidina y similares. Otros heterociclos incluyen, por ejemplo, tiomorfolina, dioxolinilo y sulfonas cíclicas.

- 40 Los grupos heteroarilo son grupos heterocíclicos de naturaleza aromática. Estos son grupos monocíclicos, bicíclicos o policíclicos que contienen uno o más heteroátomos seleccionados entre N, O o S. Los grupos heteroarilo pueden ser, por ejemplo, imidazolilo, isoxazolilo, furilo, oxazolilo, pirrolilo, piridonilo, piridilo, piridazinilo o pirazinilo.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) incluyen sus sales de adición de ácido y de base. Las sales de adición de ácido adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales atóxicas. Las sales de adición de base adecuadas se forman a partir de bases que forman sales atóxicas.

- 45 Los compuestos de la invención también pueden existir en formas solvatadas y no solvatadas. El término "solvato" se utiliza en la presente para describir un complejo molecular que comprende el compuesto de la invención y una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, etanol.

El término "polimorfo" se refiere a la capacidad del compuesto de la invención de existir en más de una forma o estructura cristalina.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar como productos amorfos o cristalinos. Se pueden obtener, por ejemplo, como masas compactas sólidas, polvos o películas mediante métodos tales como la precipitación, cristalización, secado por congelación, secado por pulverización o secado por evaporación. Se pueden administrar solos o combinados con uno o más compuestos diferentes de la invención o combinados con uno o más fármacos diferentes. En general, se administrarán como una formulación asociada con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. El término "excipiente" se utiliza en la presente para describir cualquier ingrediente que no sea el o los compuestos de la invención. La selección del excipiente depende en gran medida de factores tales como la vía particular de administración, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y estabilidad, y la naturaleza de la forma farmacéutica.

Los compuestos de la presente invención o cualquier subgrupo de estos se pueden formular en varias formas farmacéuticas con el fin de poderlos administrar. Como composiciones adecuadas, se pueden citar todas las composiciones empleadas normalmente para administrar fármacos por vía sistémica. Para preparar las composiciones farmacéuticas de esta invención, se combina una cantidad eficaz del compuesto particular, opcionalmente en forma de sal de adición, como el principio activo, mezclándolo de forma íntima con un portador farmacéuticamente aceptable, pudiendo adoptar dicho portador una gran variedad de formas dependiendo de la forma de preparación que se desee para la administración. Estas composiciones farmacéuticas se encuentran convenientemente en una forma farmacéutica unitaria adecuada, por ejemplo, para la administración oral, rectal o percutánea. Por ejemplo, a la hora de preparar las composiciones en una forma farmacéutica oral, pueden utilizarse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparados líquidos orales tales como suspensiones, jarabes, elixires, emulsiones y soluciones; o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, diluyentes, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan las formas farmacéuticas unitarias orales más convenientes, en cuyo caso se emplean obviamente portadores farmacéuticos sólidos. También se incluyen preparaciones en forma sólida que pueden convertirse, poco antes de su uso, en formas líquidas. En las composiciones adecuadas para la administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con aditivos adecuados de cualquier naturaleza, en proporciones minoritarias, siempre que estos aditivos no produzcan efectos perjudiciales significativos sobre la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de varias formas, por ejemplo, como un parche transdérmico, como una unción dorsal puntual o como una pomada. Los compuestos de la presente invención también se pueden administrar por inhalación o insuflación mediante métodos y formulaciones empleadas en la técnica para la administración por esta vía. De este modo, en general los compuestos de la presente invención se pueden administrar a los pulmones en forma de una solución, una suspensión o un polvo seco.

Es especialmente conveniente formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en una forma farmacéutica unitaria para facilitar la administración y uniformidad de la dosis. La expresión "forma farmacéutica unitaria", tal como se utiliza en la presente, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, asociada con el portador farmacéutico requerido. Los ejemplos de dichas formas farmacéuticas unitarias son los comprimidos (incluidos los comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvos, obleas, supositorios, soluciones o suspensiones inyectables y similares, y múltiples segregados de estos.

Los expertos en el tratamiento de enfermedades infecciosas serán capaces de determinar la cantidad eficaz a partir de los resultados de las pruebas que se presentan posteriormente en la presente. En general, se considera que una cantidad diaria eficaz sería de 0.01 mg/kg a 50 mg/kg de peso corporal, más preferentemente de 0.1 mg/kg a 10 mg/kg de peso corporal. Podría resultar adecuado administrar la dosis requerida como dos, tres, cuatro o más subdosis en intervalos adecuados a lo largo del día. Dichas subdosis se pueden formular como formas farmacéuticas unitarias, por ejemplo, que contengan de 1 a 1000 mg y, en particular, de 5 a 200 mg de principio activo por forma farmacéutica unitaria.

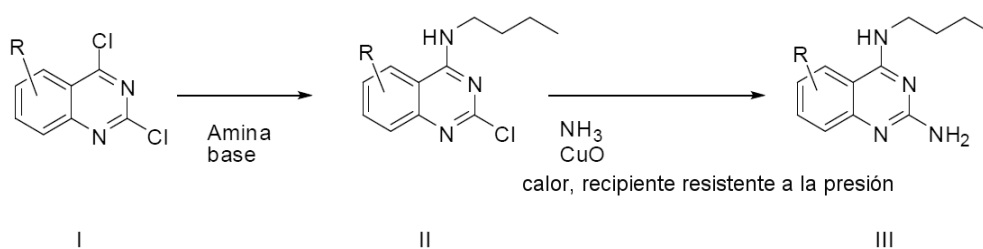
La dosis exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto particular de fórmula (I) utilizado, la afección particular que se esté tratando, la gravedad de la afección que se esté tratando, la edad, el peso y el estado físico general del paciente particular, así como también de otra medicación que el individuo pueda estar tomando, como bien sabrán los expertos en la técnica. Además, es obvio que la cantidad eficaz se puede reducir o incrementar dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la presente invención. Por consiguiente, los intervalos de la cantidad eficaz que se han mencionado anteriormente son solamente orientativos y no se pretende que limiten el alcance ni el uso de la invención de ningún modo.

#### Preparación de los compuestos

Los compuestos de fórmula (I) se preparan de acuerdo con el **esquema 1**. Las 2,4-dicloroquinazolias se pueden hacer reaccionar en pasos diferentes para obtener las 2,4-diaminoquinazolininas con un rendimiento aceptable. En el

5 primer paso, la 2,4-dicloroquinazolina se mezcla o calienta con una amina con o sin un catalizador de un metal de transición para proporcionar la 2-cloro-4-aminoquinazolina. Después del tratamiento de la 2-cloro-4-aminoquinazolina cruda, se calentó el intermedio en un recipiente resistente a la presión con una fuente de amoníaco (por ejemplo, amoníaco en metanol) y opcionalmente con CuO. El esquema muestra un compuesto de referencia no acorde a la invención, en el que R1 es butilo.

### Esquema 1

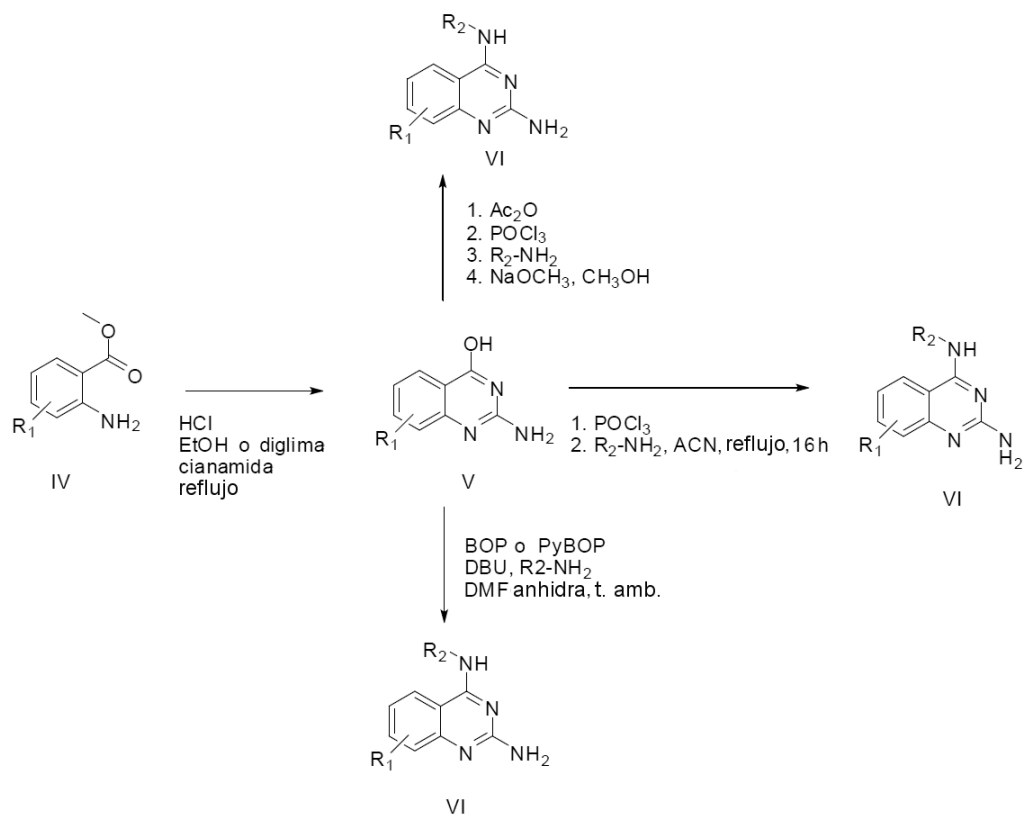


10 Los compuestos de fórmula (I) también se pueden preparar de acuerdo con el esquema 2. Se calentaron ésteres antranílicos sustituidos (IV) en condiciones ácidas en presencia de un exceso de cianamida, utilizando un disolvente alcohólico (p. ej., etanol) o diglima de acuerdo con el método descrito en la bibliografía (O'Hara *et al.* *JOC* (1991) 56, p776). La sustitución posterior con una amina de las 2-amino-4-hidroxiquinazolinas (V) puede proceder a través de varias rutas diferentes. En un ejemplo, los intermedios V se pueden calentar en presencia de oxicloruro de fósforo (POCl<sub>3</sub>) con o sin disolvente. Tras la eliminación de los disolventes, se puede añadir la amina sola o en presencia

15 de un disolvente polar (p. ej., acetonitrilo) para proporcionar VI a temperatura ambiente o calentando. Una segunda estrategia es hacer reaccionar los intermedios V con un agente de acoplamiento tal como BOP o PyBOP en presencia de DBU y la amina. La reacción tiene lugar en un disolvente polar (p. ej., DMF). Un tercer método consiste en proteger el grupo 2-amino del intermedio V con un grupo acilo. Se hace reaccionar el intermedio V con anhídrido (p. ej., anhídrido acético), normalmente a reflujo durante varias horas. Se pueden eliminar los disolventes a presión reducida y el crudo puede experimentar una reacción posterior con POCl<sub>3</sub> tal como se ha descrito anteriormente. La fácil eliminación del grupo acilo protector se lleva a cabo mediante la reacción en un disolvente básico (p. ej., metóxido de sodio en metanol). R<sub>2</sub> en el esquema 2 es R<sub>1</sub> tal como se ha definido anteriormente en la presente.

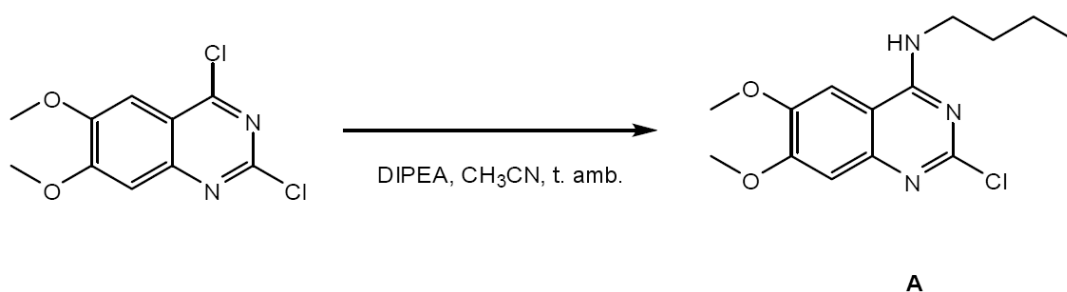
20

## ESQUEMA 2



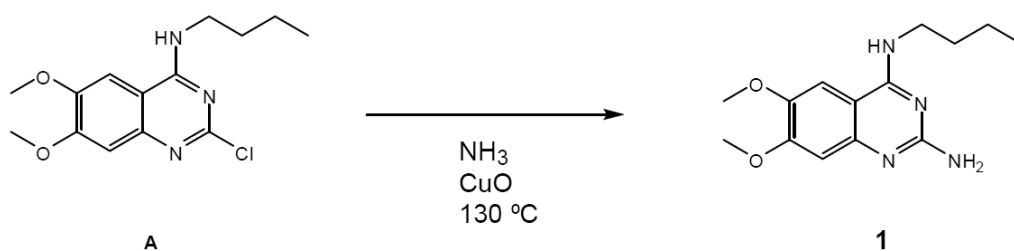
## Sección experimental

## Preparación del intermedio A



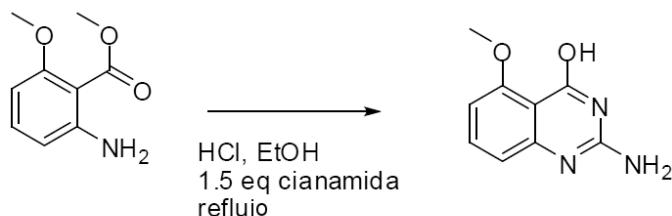
- 5 Se añadió una solución de *n*-butilamina (0.19 mL, 1.9 mmol) en acetonitrilo (5 mL) gota a gota y mientras se agitaba sobre una mezcla de 2,4-dicloro-6,7-dimetoxiquinazolina (500 mg, 1.9 mmol), diisopropiletilamina (0.73 mL, 4.2 mmol) y acetonitrilo (0.1 mL). Se dejó agitar la mezcla durante 1 día a temperatura ambiente. Se añadió acetato de etilo, se lavó la fase orgánica con una solución acuosa de cloruro amónico saturada. Se recogió la fase orgánica y se secó con sulfato de magnesio. Se eliminaron los sólidos mediante filtración para proporcionar el crudo **A**, que se utilizó como tal en el paso siguiente.
- 10

## Preparación del Compuesto 1 (compuesto de referencia)



- 5 Se introdujo el intermedio A (0.5 g, 1.7 mmol) en un recipiente resistente a la presión de 20 mL con amoníaco 7 N en metanol (15 mL) y sobre este se añadió CuO (242 mg, 1.7 mmol). El recipiente se selló y la mezcla se calentó hasta 130 °C con agitación durante 18 horas. Se dejó que la reacción se enfriara hasta temperatura ambiente. Se eliminaron los sólidos mediante filtración y se eliminaron los disolventes del filtrado a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna en fase inversa (Vydac Denali columna C18 10 µm, 250g, 5cm). Fase móvil (solución de NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> al 0.25% en agua, CH<sub>3</sub>CN).

Preparación de **9** (compuesto de referencia)



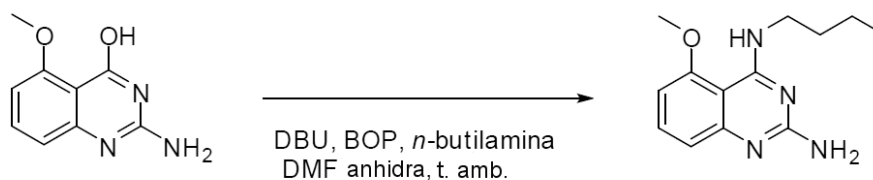
**V-1**

- 10 Paso 1. En un matraz de fondo redondo de 500 mL dotado de una barra agitadora magnética, se introdujeron 2-amino-6-metoxibenzoato de metilo (25 g, 149.6 mmol), etanol (200 mL), cianamida (9.43 g, 224 mmol) y HCl concentrado (6 mL). Se dejó agitar la mezcla a reflujo durante 6 horas. Se añadió HCl concentrado (0.5 mL) en intervalos de una hora. Se dejó enfriar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y el sólido, **V-1**, se aisló mediante filtración y se lavó con etanol.

LC-MS m/z = 192(M+H).

- 15 <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 3.88 (s, 3 H), 6.96 (dd, *J*=8.2, 3.1 Hz, 2 H), 7.69 (t, *J*=8.3 Hz, 1 H), 8.28 (s. a., 2 H), 12.67 (s. a., 1 H)

Paso 2.

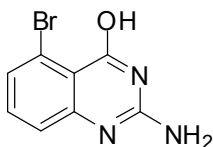


**V-1**

**9**

- 20 Se introdujeron V-1 (250 mg, 1.24 mmol), DMF anhidra (5 mL), DBU (0.6 g, 3.73 mmol) y BOP (659 mg, 1.49 mmol) en un vial de 50 mL. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas, se añadió *n*-butilamina (287 mg, 3.73 mmol) y se dejó agitar la reacción a temperatura ambiente durante 15 horas. Se redujo el volumen de disolvente y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de sílice utilizando un gradiente de diclorometano a un 10% de metanol en diclorometano. Se agruparon las mejores fracciones y se eliminaron los disolventes a presión reducida para proporcionar **9**.

- 25 Se prepararon los siguientes intermedios de acuerdo con el método para preparar V-1.

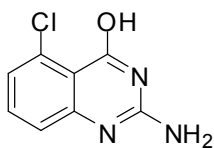


**V-2**

LC-MS m/z = 240/242

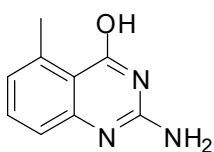


$^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 3.09 - 3.55 (m, 2 H), 7.09 (s. a., 1 H), 7.26 (dd,  $J=7.9, 1.3$  Hz, 1 H), 7.37 - 7.48 (m, 2H)

**V-3**

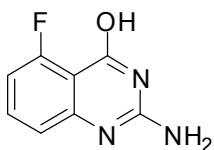
LC-MS  $m/z$  = 196(M+H)

5  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 7.00 (s. a., 2 H) 7.13 (d,  $J=7.78$  Hz, 1 H) 7.18 (d,  $J=8.28$  Hz, 1 H) 7.50 (t,  $J=8.03$  Hz, 1 H), *no se observó el protón fenólico.*

**V-7**

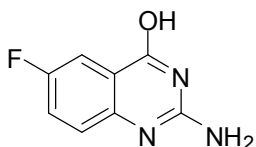
LC-MS  $m/z$  = 176(M+H)

10

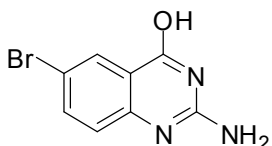
**V-8**

LC-MS  $m/z$  = 180(M+H)

15  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 6.98 (dd,  $J=11.0, 8.3$  Hz, 1 H), 7.13 (d,  $J=8.3$  Hz, 1 H), 7.51 (s. a., 2 H), 7.64 (td,  $J=8.3, 5.8$  Hz, 1 H), 12.30 (s. a., 1 H)

**V-19**

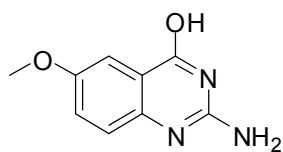
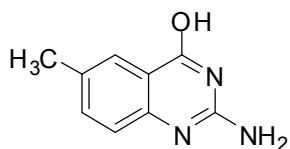
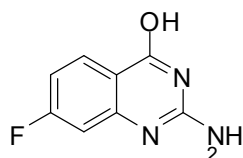
LC-MS  $m/z$  = 180(M+H)



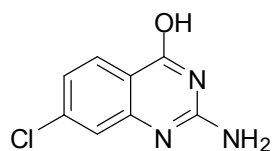
20 **V-14**

LC-MS  $m/z$  = 239/241(M+H)

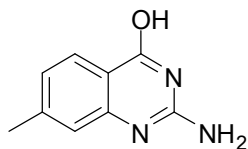
$^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 7.32 (d,  $J=8.8$  Hz, 1 H), 7.49 (s, 2 H), 7.71 (s. a., 1 H), 7.81 (dd,  $J=8.6, 2.4$  Hz, 1 H), 8.00 (d,  $J=2.4$  Hz, 1 H)

**V-20**LC-MS  $m/z = 192(M+H)$ 5 **V-21**LC-MS  $m/z = 176(M+H)$ **V-4****V-22**LC-MS  $m/z = 180(M+H)$ 

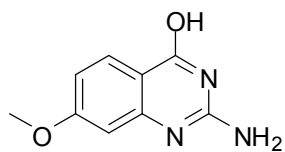
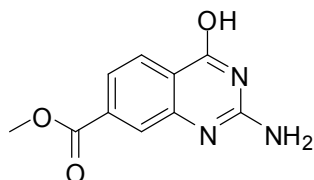
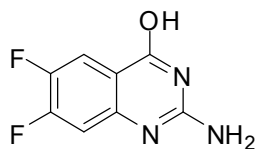
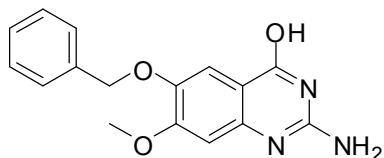
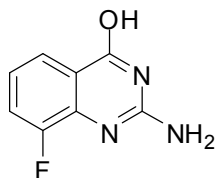
- 10  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  ppm 7.01 - 7.16 (m, 2 H), 7.56 (s. a., 2 H), 7.99 (t,  $J=7.7$  Hz, 1 H), 10.38 - 13.48 (m, 1 H)

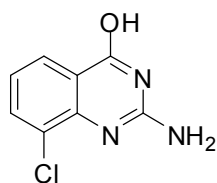
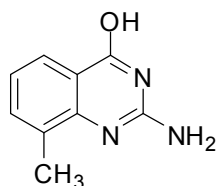
**V-23**LC-MS  $m/z = 196(M+H)$ 

- 15  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  ppm 7.41 (dd,  $J=8.5, 2.0$  Hz, 1 H), 7.55 (d,  $J=2.0$  Hz, 1 H), 7.98 (d,  $J=8.5$  Hz, 1 H), 8.49 (s. a., 2 H), 10.79 - 13.69 (m, 1 H)

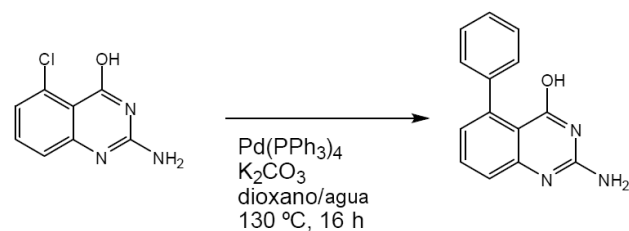
**V-5**LC-MS  $m/z = 176(M+H)$ 

- 20  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{DMSO-}d_6$ )  $\delta$  ppm 2.43 (s, 3 H), 7.22 (d,  $J=1.0$  Hz, 1 H), 7.24 (s, 1 H), 7.89 (d,  $J=8.0$  Hz, 1 H), 8.29 (s. a., 2 H), 12.65 (s. a., 1 H)

**V-24**LC-MS  $m/z = 192(M+H)$ 5 **V-25**LC-MS  $m/z = 220(M+H)$ 
 $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 3.87 - 3.95 (m, 3 H), 7.12 - 7.47 (m, 1 H), 7.83 (dd,  $J=8.3, 1.4$  Hz, 1 H), 7.99 (d,  $J=1.3$  Hz, 1 H), 8.07 - 8.13 (m, 1 H), 8.43 (s. a., 2 H)
10 **V-26**LC-MS  $m/z = 198(M+H)$ **V-27**LC-MS  $m/z = 298(M+H)$ 
 15  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 3.85 (s, 3 H), 5.10 (s, 2 H), 6.17 (s. a., 2 H), 6.70 (s, 1 H), 7.30 - 7.36 (m, 2 H), 7.40 (t,  $J=7.4$  Hz, 2 H), 7.44 - 7.48 (m, 2 H), 10.82 (s. a., 1 H)
**V-28**LC-MS  $m/z = 180(M+H)$ 
 20  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 6.51-6.67 (m, 2H), 7.00-7.08 (m, 1H), 7.42 (ddd,  $J = 11.2, 7.9, 1.3$  Hz, 1H), 7.69 (dd,  $J=7.9, 0.6$  Hz, 1H), 11.08 (s. a., 1H)

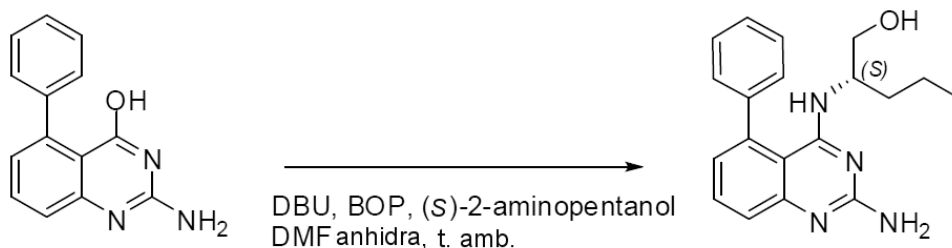
**V-29**LC-MS  $m/z = 196$  (M+H)5 **V-30**LC-MS  $m/z = 176$  (M+H)

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 2.41 (s, 3 H), 7.15 (t,  $J=7.5$  Hz, 1 H), 7.43 (s. a., 2 H), 7.55 (d,  $J=7.0$  Hz, 1 H), 7.80 (d,  $J=7.8$  Hz, 1 H), 11.17 - 12.49 (m, 1 H)

Preparación de **10**10 **V-3****V-6**

Paso 1. Preparación de V-6. Se introdujeron V-3 (500 mg, 2.16 mmol), ácido fenilborónico (342 mg, 2.8 mmol), carbonato de potasio (1.19 g, 8.62 mmol), dioxano (5.5 mL), agua (1.8 mL) y tetrakis(trifenilfosfina)paladio (249 mg, 0.215 mmol) en un vial de 50 mL dotado de una barra agitadora magnética. Se burbujeó nitrógeno gaseoso a través de la mezcla de reacción durante 10 minutos. Se selló el vial y se calentó hasta 130 °C. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se eliminaron los disolventes a presión reducida. Se purificó el crudo mediante cromatografía en columna en fase inversa (RP Vydac Denali C18 - 10  $\mu\text{m}$ , 200 g, 5 cm. Fase móvil solución de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  al 0.25% en agua,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ) para proporcionar **V-6**.

15

LC-MS  $m/z = 238$  (M+H)**V-6****10**

20 Paso 2. Se introdujeron V-6 (148 mg, 0.624 mmol), DMF anhidra (3.5 mL), DBU (0.373 mL, 2.5 mmol), BOP (345 mg, 0.78 mmol) y a continuación (S)-2-aminopentanol (322 mg, 3.12 mmol) en un vial de 50 mL dotado de una barra agitadora magnética. Se dejó agitar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 3 días. Se eliminaron los

componentes volátiles a presión reducida y el crudo se repartió entre agua y acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron, se secaron (sulfato de magnesio), se separaron los sólidos mediante filtración y los disolventes del filtrado se eliminaron a presión reducida. Se purificó el crudo mediante cromatografía en columna en fase inversa (RP SunFire Prep C18 OBD-10  $\mu\text{m}$ , 30 x 150 mm). Fase móvil (solución de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  al 0.25% en agua,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ) para proporcionar **10**.

5

Preparación de **11** (compuesto de referencia)



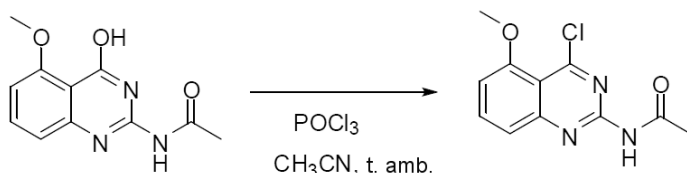
V-1

V-9

Paso 1. Se introdujeron V-1 (8.8 g, 46.03 mmol) y anhídrido acético (150 mL) en un matraz de fondo redondo de 1 L dotado de una barra agitadora magnética. Se dotó el matraz de un condensador de reflujo y la mezcla se calentó a reflujo con agitación durante 15 horas. El precipitado se aisló mediante filtración, se lavó con éter diisopropílico y a continuación se secó al vacío para proporcionar un sólido blanco, **V-9**.

10

LC-MS  $m/z = 234$  (M+H)

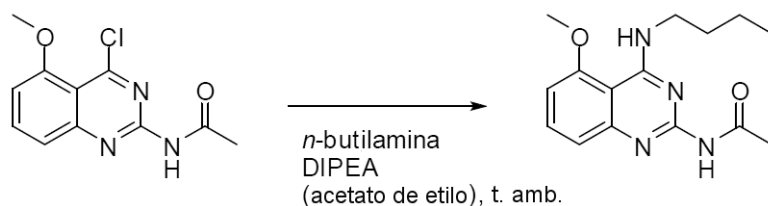


V-9

V-10

Paso 2. Se colocaron V-9 (4.5 g, 19.3 mmol) y acetonitrilo (100 mL) en un matraz de fondo redondo de 250 mL dotado de una barra agitadora magnética. Se añadió  $\text{POCl}_3$  (5.56 mL, 59.8 mmol) gota a gota durante 30 minutos y a continuación se añadió DIPEA (10.3 mL, 59.8 mmol). La mezcla de reacción se transformó en una solución color café y se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. Se vertió la mezcla de reacción sobre  $\text{NaOH}$  1M (100 mL) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 mL). Se secaron las fases orgánicas combinadas con  $\text{MgSO}_4$ , se eliminaron los sólidos mediante filtración y el filtrado se utilizó como tal en el siguiente paso.

15



V-10

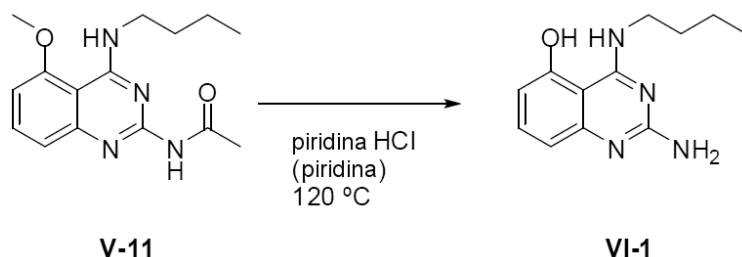
V-11

Paso 3. La solución filtrada del paso 2 en acetato de etilo se trató con DIPEA (9.2 mL, 53.6 mmol) y *n*-butilamina (3.5 mL, 35.8 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Se eliminó el disolvente a presión reducida, se reconstituyó el crudo en diclorometano y se lavó con agua. La fase orgánica se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se eliminaron los sólidos mediante filtración y se evaporaron los disolventes del filtrado hasta sequedad para obtener un sólido naranja, **V-11**.

20

25

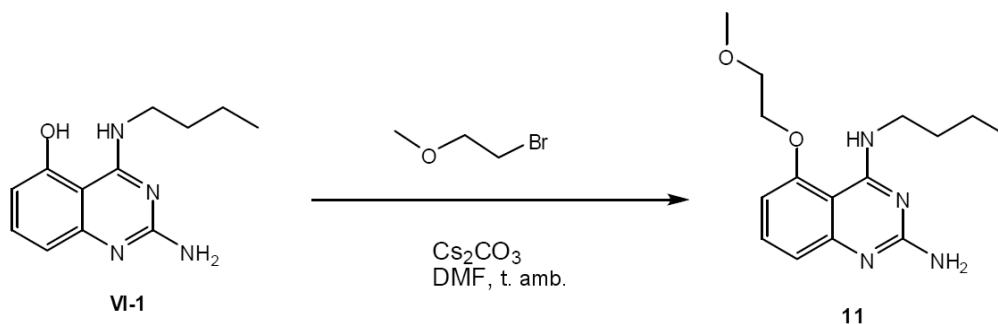
LC-MS  $m/z = 289$  (M+H)



Paso 4. Se introdujeron V-11 (2.8 g, 9.71 mmol), clorhidrato de piridina (6.73 g, 58.26 mmol) y piridina (50 mL) en un tubo resistente a la presión de 30 mL y la mezcla se calentó hasta 120 °C durante 16 horas. Se eliminó la piridina a presión reducida. Se disolvió el crudo en una mezcla de diclorometano/metanol: 95/5 y se lavó con una solución de HCl 1N y agua. La fase orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), se eliminaron los sólidos mediante filtración y se eliminaron los disolventes del filtrado a presión reducida para proporcionar **VI-1**.

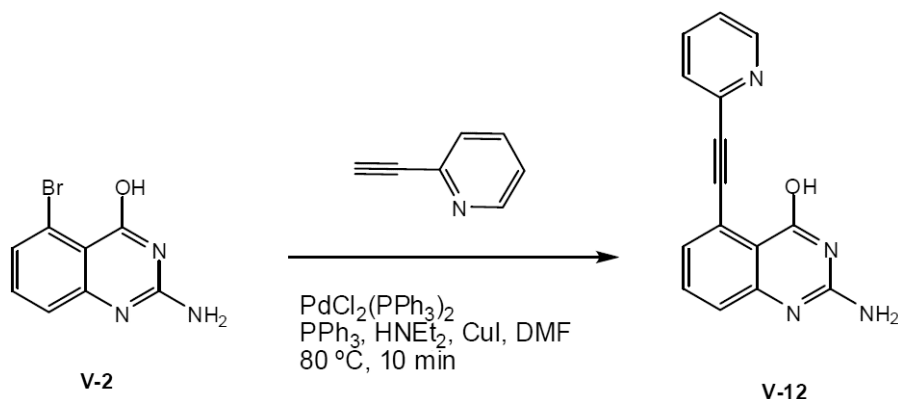
LC-MS m/z = 231 (M-H)

<sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ ppm 0.92 (t, J=7.37 Hz, 3 H) 1.33 - 1.43 (m, 2 H) 1.50 - 1.59 (m, 2 H) 3.41 - 3.49 (m, 2 H) 5.79 - 5.88 (m, 1 H) 6.02 (d, J=8.14 Hz, 1 H) 6.91 (s. a., 2 H) 6.99 - 7.04 (m, 1 H) 10.78 (s. a., 1 H) 13.35 (s. a., 1 H)



Paso 5. Se introdujeron VI-1 (175 mg, 0.753 mmol), carbonato de cesio (0.74 g, 2.26 mmol) y DMF (15 mL) en un matraz de 100 mL. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió éter 2-bromoetil metílico (0.089 mL, 0.94 mmol) y la mezcla se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Se eliminó el disolvente a presión reducida y el residuo crudo se purificó mediante HPLC (RP Vydac Denali C18 - 10 μm, 250 g, 5 cm. Fase móvil (solución de NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> al 0.25% en agua, metanol), se recogieron las mejores fracciones y se eliminaron los disolventes a presión reducida para obtener **11** como un sólido.

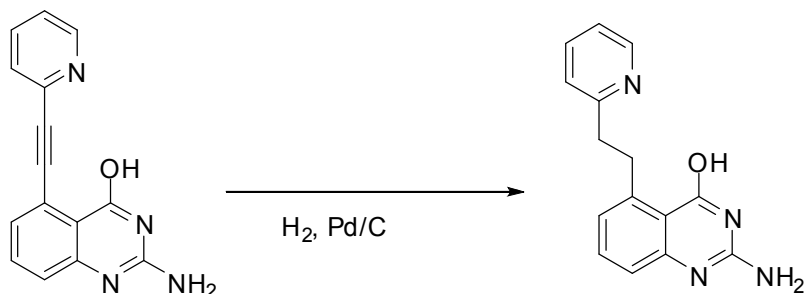
Preparación de **12** (compuesto de referencia)



Paso 1. Se disolvió V-2 en DMF (15 mL) y se purgó con N<sub>2</sub> en un baño de aceite a 80 °C durante 10 minutos. A continuación se añadieron dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II) (69 mg, 0.098 mmol), trifenilfosfina (57.6 mg, 0.22 mmol) y yoduro de cobre (42.5 mg, 0.22 mmol). Después de purgar durante 5 minutos con N<sub>2</sub>, se añadió dietilamina (3.15 mL, 30.31 mmol) y a continuación se añadió 2-piridiletino (168 mg, 1.63 mmol) Se cerró el recipiente y la reacción se agitó a 80 °C durante 16 horas. Se vertió la mezcla de reacción sobre agua-hielo, y se aisló el precipitado mediante filtración, se lavó con agua y se secó al vacío. Se agitó el producto en diclorometano

durante 30 minutos. Se aisló el precipitado mediante filtración, se lavó con diclorometano y éter diisopropílico y se secó al vacío a 50 °C para obtener **V-12**.

LC-MS  $m/z$  = 263 (M-H)

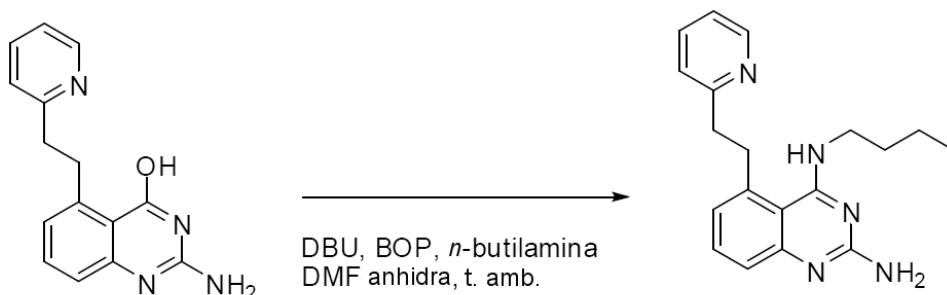


**V-12**

**V-13**

- 5 Paso 2. Se añadió Pd/C al 10% (100 mg) sobre una solución de V-12 (300 mg, 1.15 mmol) en THF (50 mL) en una atmósfera de  $N_2(g)$ . La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente y a continuación se filtró sobre Decalite empaquetada. Se eliminó el disolvente del filtrado a presión reducida para proporcionar **V-13** crudo, que se utilizó como tal en el siguiente paso.

LC-MS  $m/z$  = 267 (M-H)



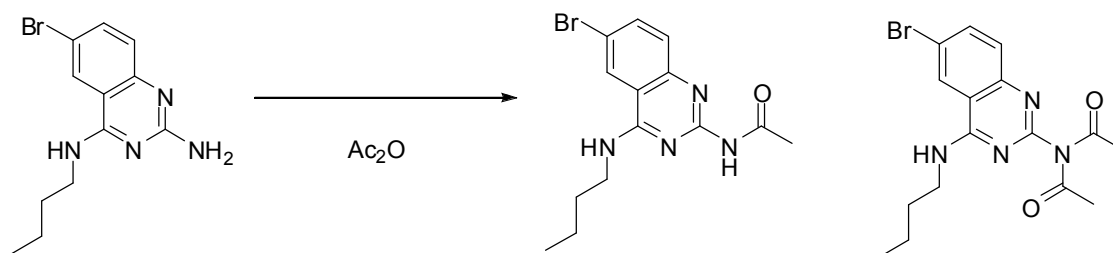
**V-13**

**12**

10

Paso 3. El ejemplo **12** se preparó de acuerdo con el método para preparar 9.

Preparación de **14** (compuesto de referencia)



**13**

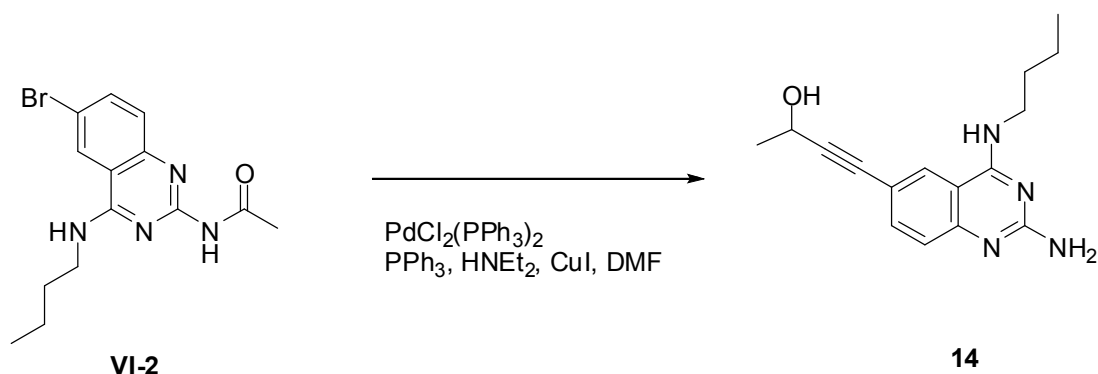
**VI-2**

**VI-3**

- 15 Paso 1. Los intermedios **VI-2** y **VI-3** se prepararon de acuerdo con el método para preparar VI-1. Se aisló VI-3 tras agitar con éter diisopropílico a temperatura ambiente.

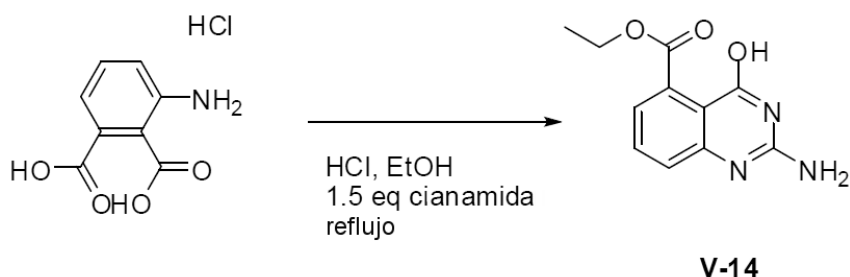
**VI-2** : LC-MS  $m/z$  = 337 (M+H)

**VI-3** : LC-MS  $m/z$  = 379 (M+H)



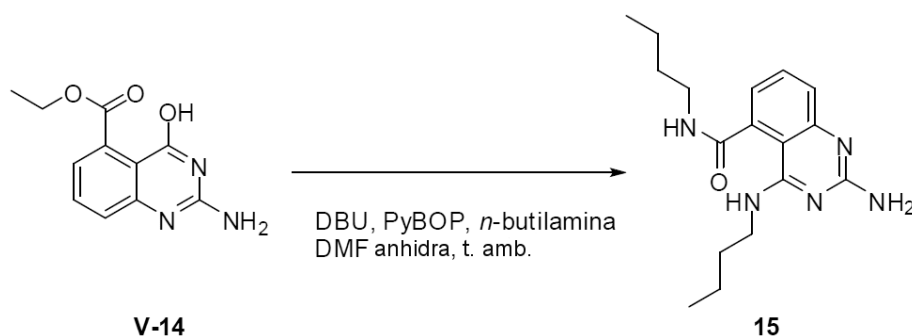
Paso 2. El compuesto **14** se preparó de acuerdo con el método para preparar el intermedio V-12.

Preparación de **15** (compuesto de referencia)



- 5 Paso 1. En un matraz de fondo redondo de 500 mL dotado de una barra agitadora magnética, se introdujeron el clorhidrato del ácido 3-aminoftálico (25 g, 115 mmol), etanol (250 mL), cianamida (7.25 g, 172 mmol) y HCl concentrado (6 mL). Se dotó el matraz de un condensador de reflujo y la mezcla se dejó agitar a reflujo durante 6 horas. Se añadió HCl concentrado (0.5 mL) mediante una pipeta de vidrio en intervalos de una hora. Se dejó enfriar la reacción hasta temperatura ambiente y se eliminaron los disolventes a presión reducida para proporcionar un aceite amarillo. El crudo se secó con gel de sílice y a continuación se purificó parcialmente mediante cromatografía en columna de gel de sílice utilizando un gradiente de diclorometano a un 10% de metanol en diclorometano. **V-14** crudo, un sólido amarillo, se utilizó como tal en el siguiente paso.
- 10

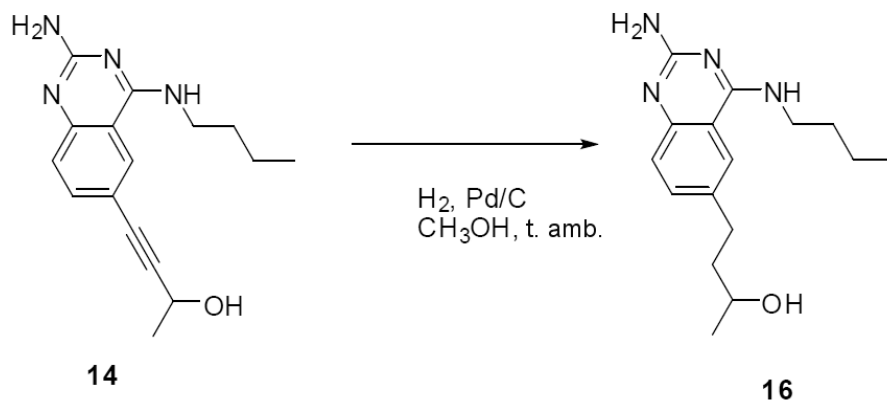
LC-MS  $m/z = 234$  (M+H).



- 15 Paso 2. En un matraz de fondo redondo de 100 mL dotado de una barra agitadora magnética, se introdujeron V-14 (1.7 g, 7.29 mmol), DMF anhidra (25 mL), DBU (3.3 g, 21.87 mmol) y PyBOP (4.55 g, 8.75 mmol). Se dejó agitar la mezcla de reacción durante 1 hora a temperatura ambiente. Se añadió *n*-butilamina (2.1 g, 29.2 mmol) y se dejó agitar la mezcla durante 15 horas a temperatura ambiente. Se eliminó el disolvente a presión reducida y se filtró el crudo a través de gel de sílice utilizando un 20% de metanol en diclorometano. Se eliminaron los disolventes del filtrado a presión reducida y el aceite crudo (**15**, 4 g) se purificó mediante cromatografía en columna en fase inversa (RP Vydac Denali C18 - 10  $\mu\text{m}$ , 200 g, 5 cm). Fase móvil (solución de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  al 0.25% en agua,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ).
- 20

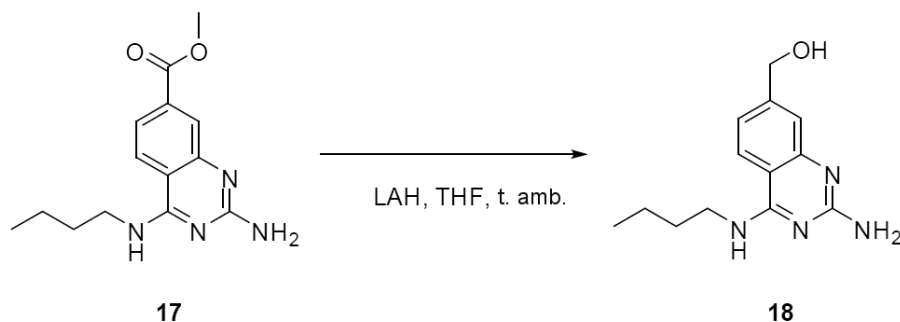
Preparación de **16** (compuesto de referencia)





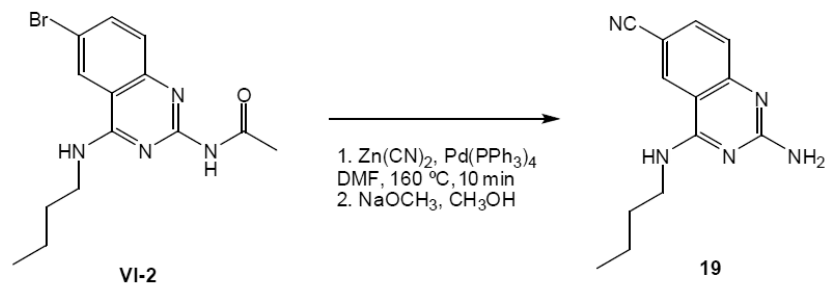
- 5 Se añadió el compuesto 14 (111 mg, 0.39 mmol) sobre una suspensión de Pd/C al 10% en metanol (25 mL) en una atmósfera de N<sub>2</sub>. Se eliminó la atmósfera de nitrógeno y se reemplazó por hidrógeno gaseoso. Se dejó agitar la mezcla a temperatura ambiente hasta que se consumieron 2 equivalentes de hidrógeno gaseoso. Se filtró la mezcla de reacción sobre Decalite empaquetada. Se eliminó el disolvente del filtrado a presión reducida. El crudo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice utilizando un gradiente de diclorometano a un 10% de metanol en diclorometano para proporcionar **16**.

Preparación de **18**



- 10 Se disolvió 17 (625 mg, 2.28 mmol) en THF anhidro (10 mL). Se añadió LAH (1 M en THF, 3.42 mL, 3.42 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó durante 3 horas a temperatura ambiente. El análisis de LC-MS mostró una conversión completa en el producto deseado. La mezcla de reacción se desactivó con una solución ac. sat. de NH<sub>4</sub>Cl, se eliminaron los sólidos mediante filtración y se eliminaron los disolventes del filtrado a presión reducida. Se purificó el residuo mediante HPLC prep. para obtener el producto como un sólido blanco.

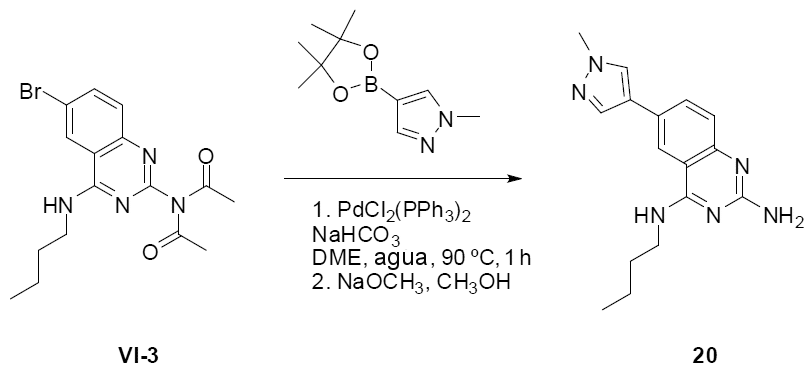
- 15 Preparación de **19** (compuesto de referencia)



- 20 Se introdujeron una mezcla de VI-2 (500 mg, 1.48 mmol), tetrakis(trifenilfosfina)paladio (86 mg, 0.074 mmol) y cianuro de zinc (106 mg, 0.89 mmol) en DMF (5 mL) en un tubo de 10 mL con irradiación de microondas a 160 °C durante 10 minutos. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se repartió entre diclorometano y agua. Se separó la fase orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se eliminaron los disolventes mediante filtración y se concentraron al vacío los disolventes del filtrado. Se lavó el producto disgregándolo en CH<sub>3</sub>CN y se aisló el sólido mediante filtración. Se consiguió la eliminación del grupo acilo protector tras el tratamiento con

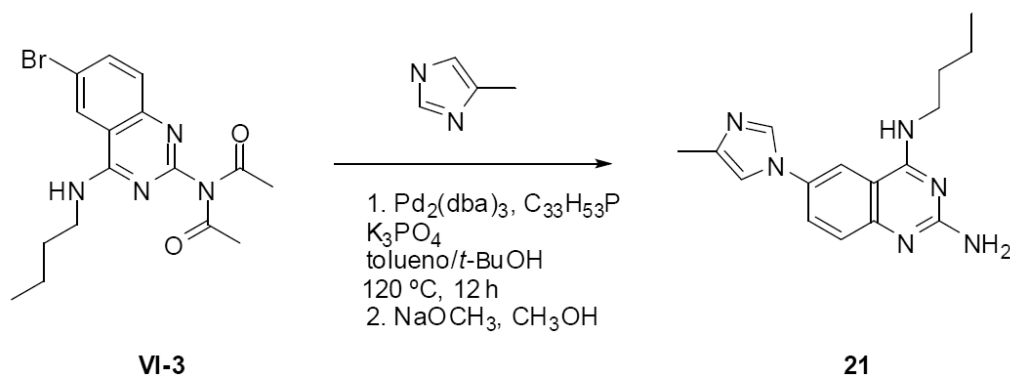
metóxido de sodio en metanol a 60 °C durante una hora. Se enfrió la mezcla y el producto precipitó. Se aisló el sólido blanco, **19**, mediante filtración y se secó al vacío.

Preparación de **20** (compuesto de referencia)

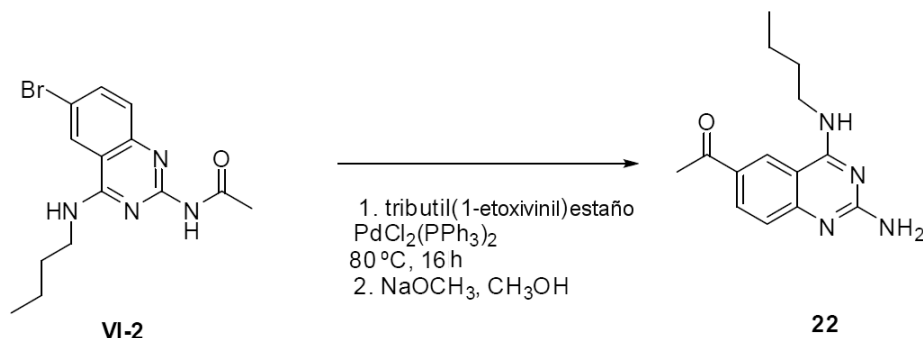


- 5 En un vial de 50 mL dotado de una barra agitadora magnética en el que se hizo burbujear nitrógeno gaseoso, se introdujeron VI-3 (300 mg, 0.79 mmol), el éster borónico (198 mg, 0.95 mmol), agua (3 mL, desgasificada) y se añadieron DME (6 mL, desgasificada), bicarbonato sódico (199 mg, 2.37 mmol) y  $\text{PdCl}_2(\text{PPh}_3)_2$  (55 mg, 0.079 mmol) y la mezcla se calentó hasta 90 °C durante 1 hora. Se enfrió la mezcla y se añadió acetato de etilo. Se separó la fase orgánica, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se eliminaron los sólidos mediante filtración y se eliminaron al vacío los disolventes del filtrado. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice utilizando un gradiente de diclorometano a un 10% de metanol en diclorometano (que contenía amoníaco). Se recogieron las fracciones del producto y concentraron al vacío. Se consiguió la eliminación del grupo acilo protector tras el tratamiento con metóxido de sodio en metanol a 60 °C durante una hora. Se eliminaron los disolventes a presión reducida y el residuo se repartió entre agua y diclorometano. Se separó la fase orgánica, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se eliminaron los disolventes mediante filtración y se eliminaron al vacío los disolventes del filtrado. Se cristalizó el producto en  $\text{CH}_3\text{CN}$ , se aisló mediante filtración y se secó al vacío para obtener un sólido blanco, **20**.
- 10
- 15

Preparación de **21** (compuesto de referencia)

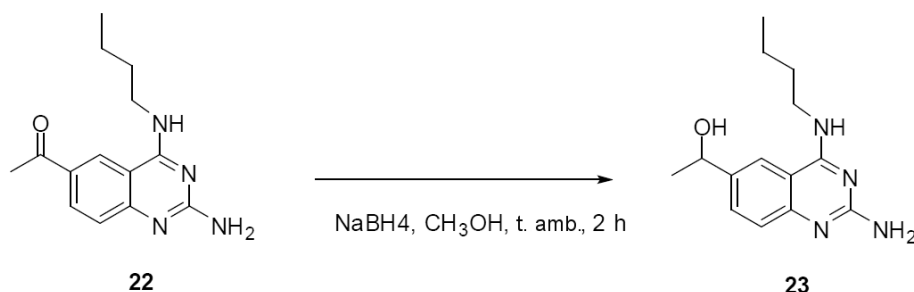


- 20 En un primer vial dotado de una barra agitadora magnética y un tapón de rosca con septum, se burbujó con  $\text{N}_2$  gaseoso una solución de  $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$  (6 mg, 0.007 mmol) y 2-di-*tert*-butilfosfino-3,4,5,6-tetrametil-2',4',6'-triiisopropil-1,1'-bifenilo (6 mg, 0.013 mmol) en tolueno (0.5 mL) y a continuación se agitó a 120 °C durante 3 minutos. En un segundo vial, dotado de una barra agitadora magnética y un tapón de rosca con septum, se introdujeron 2-metilimidazol (104 mg, 1.26 mmol) y  $\text{K}_3\text{PO}_4$  (224 mg, 1.05 mmol), a continuación VI-3 (200 mg, 0.53 mmol) y también se burbujó con  $\text{N}_2(\text{g})$ . Se añadieron a través de una jeringa la solución de catalizador mezclada previamente, a continuación tolueno anhidro (0.5 mL) y *t*-butanol (1.0 mL) al segundo vial (un total de 2 mL de tolueno: *t*-BuOH, solución 1:1). La reacción se calentó a 120 °C durante 12 horas. La mezcla se enfrió y se añadió metóxido de sodio (30% en metanol). La mezcla se calentó a 60 °C durante 1 hora. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró al vacío. El residuo se repartió entre diclorometano y agua. Se separó la fase orgánica, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se eliminaron los sólidos mediante filtración y se concentraron al vacío los disolventes del filtrado. Se purificó el crudo mediante HPLC Prep (RP SunFire Prep C18 OBD-10  $\mu\text{m}$ , 30 x 150 mm). Fase móvil (solución de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  al 0.25% en agua,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ). Se recogieron las fracciones del producto y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto **21**.
- 25
- 30

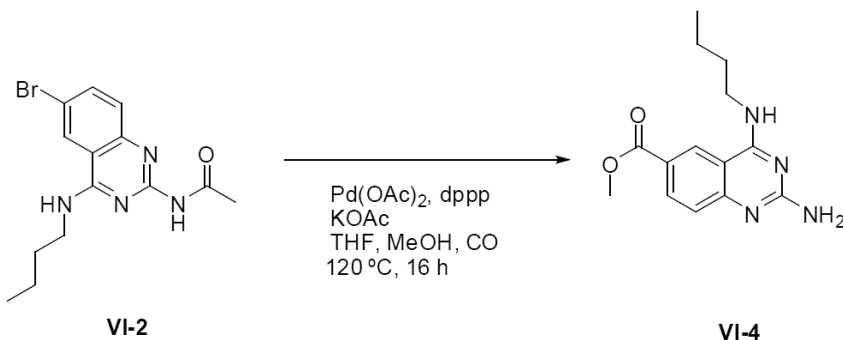
Preparación de **22** (compuesto de referencia)

Se calentó una mezcla de VI-2 (500 mg, 1.48 mmol), tributil(1-etoxyvinil)estaño (0.626 mL, 1.85 mmol), PdCl<sub>2</sub>(PPh<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (220 mg, 0.31 mmol) en DMF (10 mL) hasta 80 °C durante 16 horas. Se enfrió la mezcla de reacción y se añadió HCl (1N, 2 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, a continuación se vertió sobre una solución ac. sat. de NaHCO<sub>3</sub> (100 mL) y se aisló el precipitado mediante filtración, se reconstituyó en diclorometano, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se eliminaron los sólidos mediante filtración y se concentraron al vacío los disolventes del filtrado. El producto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice utilizando un gradiente de diclorometano a un 5% de metanol en diclorometano, se recogieron las fracciones del producto y se concentraron al vacío. Se lavó el producto disgregándolo en DIPE, se filtró y se secó al vacío para convertirlo en un sólido amarillo pálido.

Se añadieron metanol (6 mL) y metóxido de sodio (0.716 mL) a la mezcla y se agitó a 60 °C durante 1 hora. La mezcla se enfrió y se concentró al vacío. El residuo se repartió entre diclorometano y agua. Se separó la fase orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se eliminaron los sólidos mediante filtración y se concentraron al vacío los disolventes del filtrado. Se lavó el producto disgregándolo en DIPE, se aisló mediante filtración y se secó al vacío para convertirlo en un sólido amarillo, **22**.

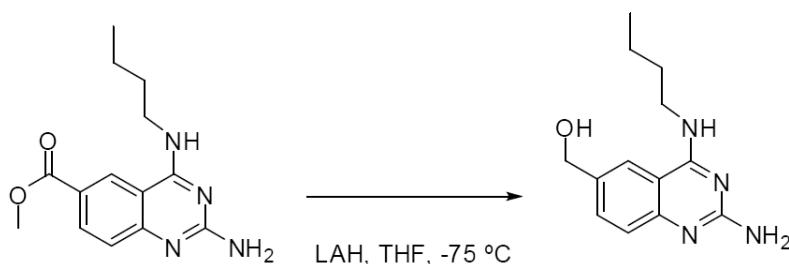
Preparación de **23** (compuesto de referencia)

Se suspendió 22 (59 mg, 0.23 mmol) en metanol (2 mL) y se añadió borohidruro de sodio (9 mg, 0.23 mmol). La mezcla se agitó en N<sub>2</sub>(g) a temperatura ambiente durante dos horas. La mezcla se diluyó con diclorometano (5 mL), a continuación se añadió una solución ac. sat. de NH<sub>4</sub>Cl (0.5 mL) y a continuación se añadió NaHCO<sub>3</sub>. Se secó la fase orgánica (MgSO<sub>4</sub>), se eliminaron los sólidos mediante filtración y se concentraron al vacío los disolventes del filtrado. Se lavó el producto disgregándolo en DIPE, se aisló mediante filtración y se secó al vacío para convertirlo en un sólido amarillo pálido, **23**.

Preparación de **24** (compuesto de referencia)

25

5 Paso 1. En un autoclave de acero inoxidable de 75 mL se introdujeron en atmósfera de nitrógeno VI-2 (626 mg, 1.87 mmol), Pd(OAc)<sub>2</sub> (8 mg, 0.037 mmol), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (31 mg, 0.074 mmol), acetato de potasio (364 mg, 3.71 mmol), THF (20 mL) y metanol (20 mL). Se cerró el autoclave y se presurizó hasta 30 bar de CO(g). Se agitó la mezcla de reacción durante 16 horas a 120 °C. Se dejó enfriar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y a continuación se concentró al vacío. Se disolvió el residuo en agua y se extrajo con diclorometano. Se secó la fase orgánica (MgSO<sub>4</sub>), se eliminaron los sólidos mediante filtración y se concentró al vacío el disolvente del filtrado. El producto se purificó mediante una columna de sílice utilizando un gradiente de diclorometano a un 5% de metanol en diclorometano. Se recogieron las fracciones del producto y se concentraron al vacío para obtener un sólido blanquecino, **VI-4**.

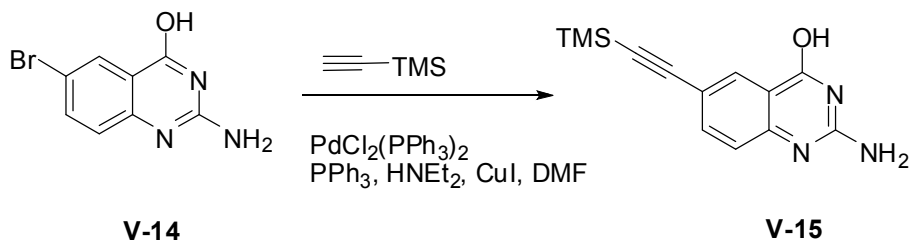


10 **VI-4**

**24**

15 Paso 2. Se añadió LAH (1M en THF, 1.04 mL, 1.04 mmol) sobre una solución de VI-4 (190 mg, 0.69 mmol) en THF anhidro (20 mL) a -75 °C en una atmósfera de nitrógeno. Se dejó agitar la reacción durante dos horas mientras se calentaba lentamente hasta 0 °C. A continuación se enfrió la mezcla en un baño de hielo-etanol y se desactivó cuidadosamente añadiendo 15 mL de acetato de etilo y a continuación Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10H<sub>2</sub>O (2 g). Se agitó la mezcla durante una hora y a continuación se secó con MgSO<sub>4</sub>, se eliminaron los sólidos mediante filtración y se eliminó a presión reducida el disolvente del filtrado. Se purificó el residuo mediante HPLC prep. (RP Vydac Denali C18 – 10 μm, 200 g, 5 cm). Fase móvil (solución de NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> al 0.25% en agua, CH<sub>3</sub>CN), seguido por purificación SFC (Chiralpak Diacel AD 30 x 250 mm). Fase móvil (CO<sub>2</sub>, metanol con isopropilamina al 0.2%), se recogieron las fracciones deseadas y se eliminaron los disolventes a presión reducida para proporcionar **24**.

20 Preparación de **25**

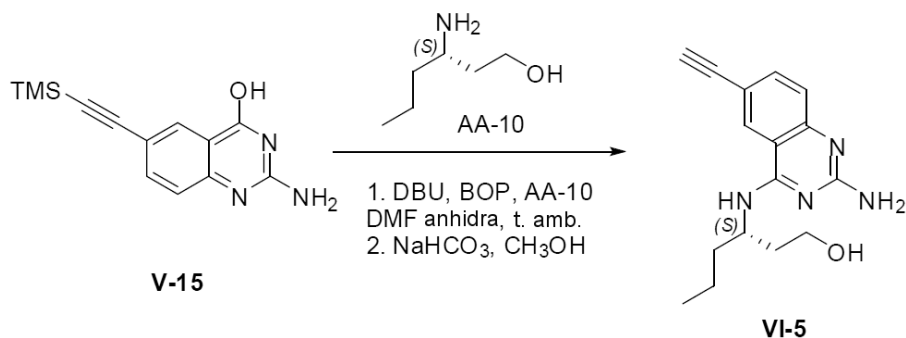


**V-14**

**V-15**

Paso 1. Se hizo reaccionar V-14 con trimetilacetileno de acuerdo con el método para preparar el compuesto 14, para proporcionar **V-15**.

LC-MS m/z = 258 (M+H)

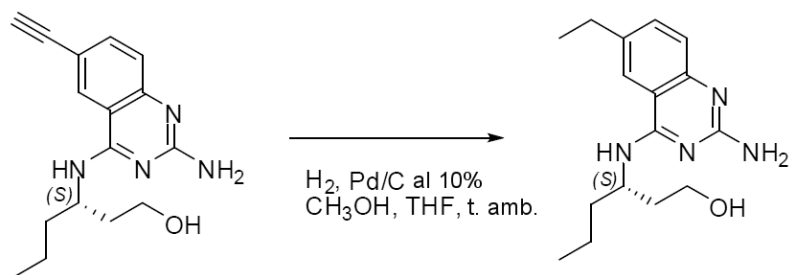


**V-15**

**VI-5**

25 Paso 2. Se preparó **VI-5** de acuerdo con el método para preparar el compuesto 9. Se llevó a cabo la desprotección del grupo TMS en una mezcla de NaHCO<sub>3</sub>, agua y metanol.

LC-MS m/z = 357(M+H)

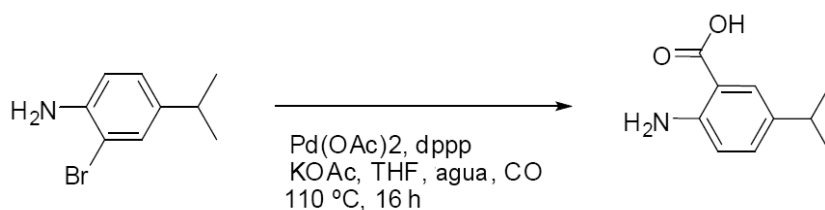


**VI-5**

**25**

Paso 3. Se llevó a cabo la hidrogenación de acuerdo con el método para preparar 16.

Preparación de **26**

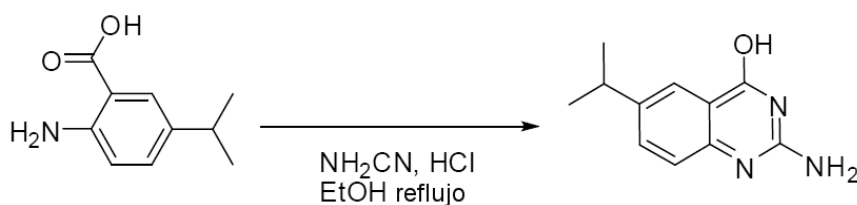


5

ácido 2-amino-5-isopropilbenzoico

Paso 1. La carbonilación catalizada por paladio de la 2-bromo-4-isopropilanilina se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento para preparar VI-4 con la excepción de que la reacción se realizó a 110 °C para proporcionar el **ácido 2-amino-5-isopropilbenzoico**.

LC-MS m/z = 180 (M+H)



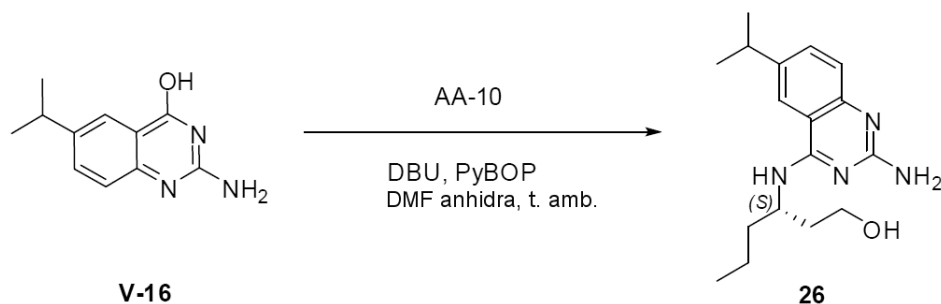
10

2-amino-5-isopropilbenzoico ácido

**V-16**

Paso 2. Se preparó **V-16** de acuerdo con el método para preparar V-1.

LC-MS m/z = 204(M+H)

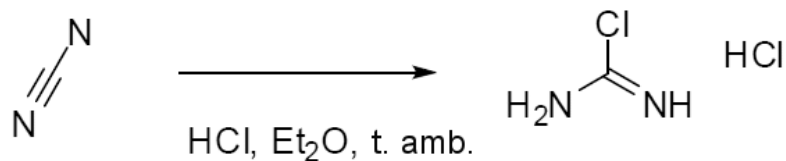


**V-16**

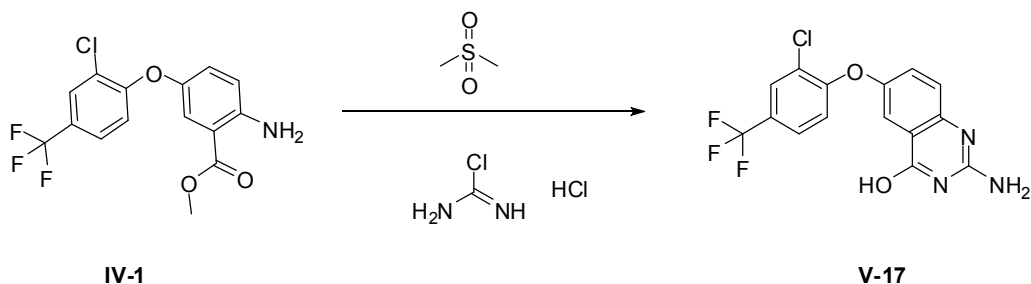
**26**

Paso 3. El ejemplo **26** se preparó de acuerdo con el método para preparar 15.

15

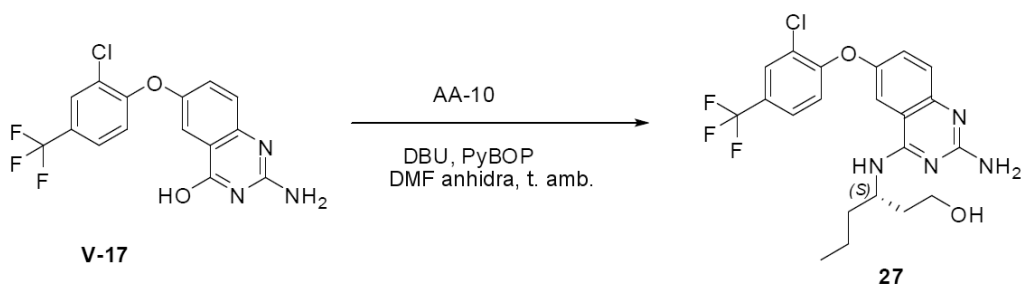
Preparación de **27****A-2**

- 5 Paso 1. Se disolvió cianamida en éter y se agitó la mezcla en nitrógeno gaseoso. Se añadió HCl (2M en éter) gota a gota sobre la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se agitaba continuamente durante 2 horas a temperatura ambiente. Se aisló el precipitado, **A-2**, mediante filtración y se secó al vacío a 50 °C.

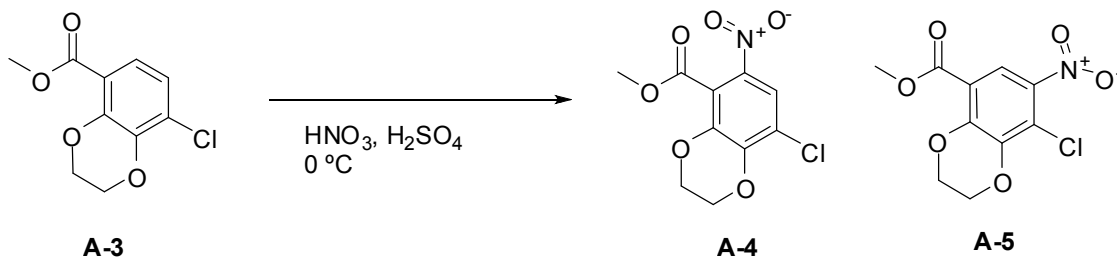


- 10 Paso 2. Se calentó  $\text{SO}_2(\text{CH}_3)_2$  (20.4 g, 217 mmol) hasta que se fundió. Se añadió A-2 (3.3 g, 29 mmol), se agitó la mezcla resultante y se calentó hasta 120 °C hasta que se disolvió completamente. Se añadió 5-(2-cloro-4-trifluorometilfenoxi)antranilato de metilo (5 g, 14.5 mmol) en una porción sobre la mezcla de reacción. La agitación continuó durante 30 minutos. Se trató la mezcla de reacción con agua (10 mL) y se agitó durante 10 minutos. Se aisló el precipitado, **V-17**, un sólido blanco, mediante filtración y se secó en un horno al vacío.

LC-MS  $m/z = 356$  (M+H)

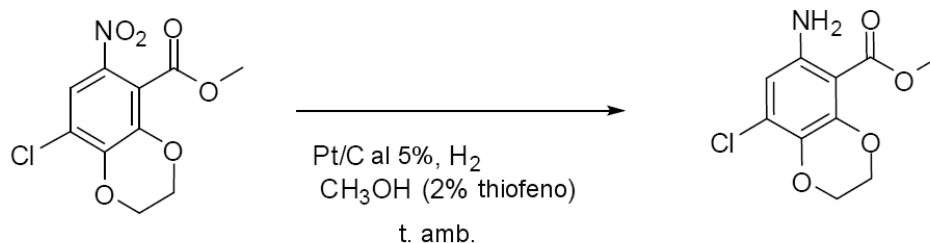


- 15 Paso 3. El compuesto **27** se preparó de acuerdo con el método para preparar 15.

Preparación de **28** (compuesto de referencia)

- 20 Paso 1. Se disolvió A-3 (101 g, 0.44 mol) en ácido sulfúrico (850 mL). Esta solución se enfrió hasta 0 °C. Se añadió  $\text{HNO}_3$  (18.3 mL, 0.44 mol) en ácido sulfúrico (200 mL) gota a gota durante 2 horas. Se agitó la mezcla de reacción durante 45 minutos a -10 °C y a continuación se vertió sobre hielo-agua (6 L). Se decantaron los disolventes y el

residuo se disolvió en diclorometano (1.5 L). Se extrajo la fase acuosa con diclorometano (1 L). Se secaron las fases orgánicas combinadas ( $\text{MgSO}_4$ ), se eliminaron los sólidos mediante filtración y se eliminó el disolvente a presión reducida para proporcionar **A-4**, y el isómero **A-5**, un producto secundario, que se separó mediante cromatografía en columna en gel de sílice utilizando un gradiente de heptano a acetato de etilo.

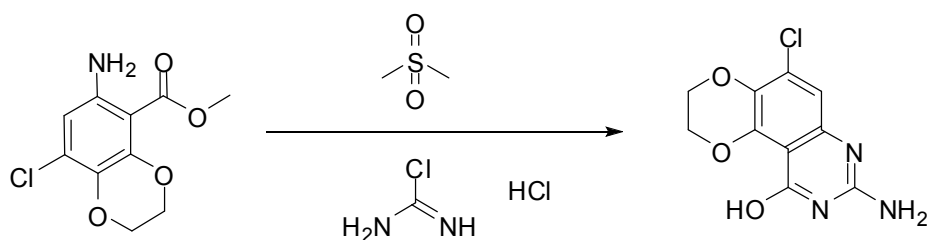


5

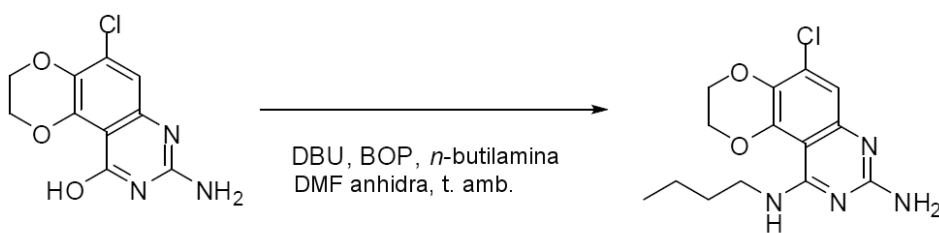
**A-4****IV-2**

Paso 2. En un matraz erlenmeyer de 500 mL dotado de una barra agitadora magnética en el que se hizo burbujear nitrógeno gaseoso, se introdujeron metanol (100 mL, que contenía un 2% de tiofeno), Pt/C al 5% (2 g, 0.513 mmol) y a continuación se colocaron en una atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Se eliminó el catalizador mediante filtración y se eliminaron los componentes volátiles del filtrado a presión reducida. Se purificó el residuo en sílice utilizando un gradiente de diclorometano a diclorometano:metanol 9:1 para obtener un aceite amarillo, **IV-2**.

10

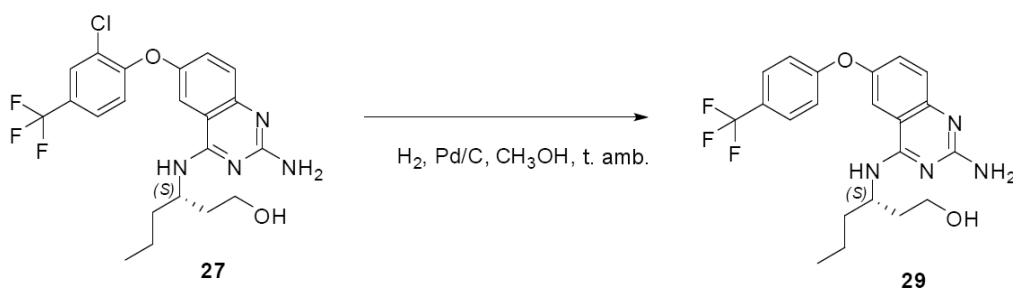
LC-MS  $m/z = 244$  (M+H)**IV-2****V-18**

Paso 3. Se preparó el intermedio **V-18** de acuerdo con el método para preparar V-17.

15 LC-MS  $m/z = 254$  (M+H)**V-18****28**

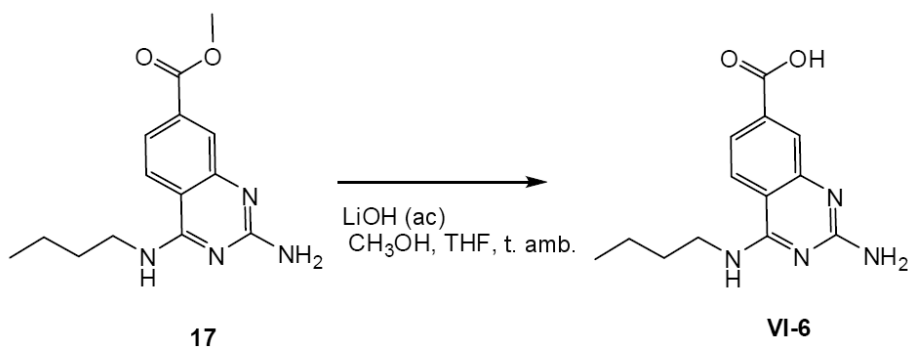
Paso 4. Se aplicó el procedimiento para preparar el compuesto 9 en la síntesis de **28** a partir de V-18.

Preparación del compuesto **29**



Paso 1. Se obtuvo el ejemplo **29** tras la hidrogenación catalítica de **27**, de acuerdo con el método descrito en la preparación de **25**.

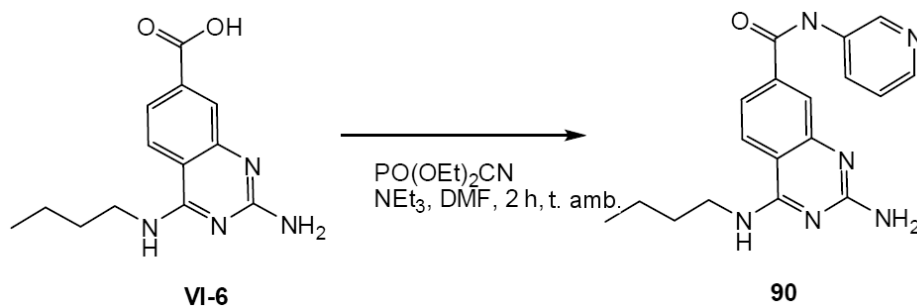
Preparación de **90** (compuesto de referencia)



5

Paso 1. Se disolvió **17** (12.515 g, 45.62 mmol) en THF (100 mL). Se añadió LiOH (3.83 g, 91.2 mmol) disuelto en agua (20 mL) y a continuación metanol (50 mL). La mezcla de reacción se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. Los componentes volátiles se eliminaron a presión reducida, se lavó el sólido con agua y se lavó disgregándolo en DIPE para proporcionar **VI-6** como un sólido blanquecino.

10  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 0.95 (t,  $J=7.4$  Hz, 3 H), 1.40 (dc,  $J=14.9, 7.3$  Hz, 2 H), 1.68 (quin,  $J=7.3$  Hz, 2 H), 3.54 - 3.65 (m, 2 H), 7.89 - 8.05 (m, 2 H), 8.14 - 8.31 (m, 2 H), 9.11 (s. a., 1 H), 11.10 (s. a., 1 H), 16.37 (s. a., 1 H)

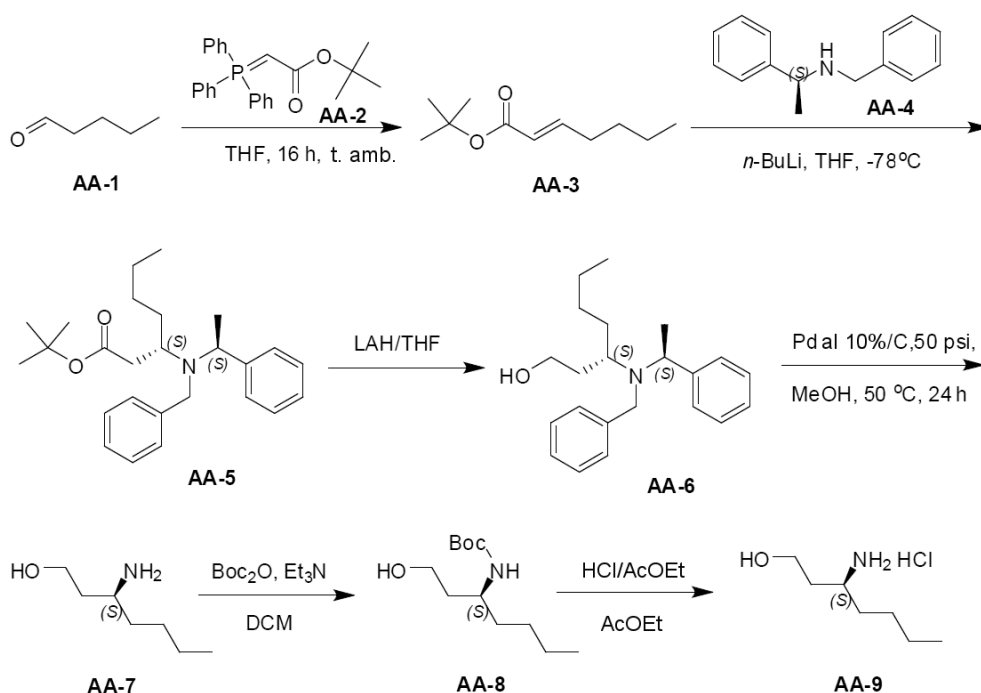


15

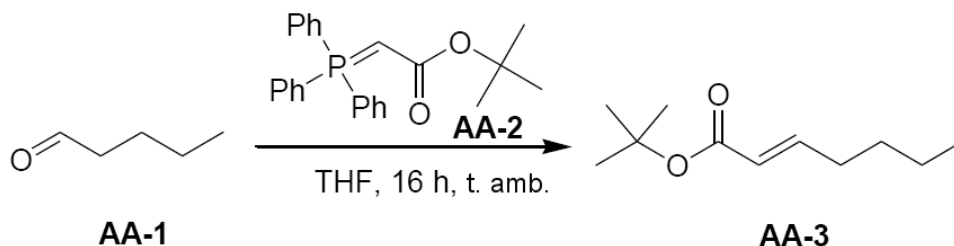
Paso 2. En un vial de 50 mL, se introdujeron VI-6 (200 mg, 0.768 mmol), DMF (10 mL), trietilamina (0.641, 4.61 mmol), 3-aminopiridina (181 mg, 1.92 mmol) y cianofosfonato de dietilo (0.233 mL, 1.54 mmol). Se dejó agitar la reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Se eliminó el disolvente a presión reducida y se purificó el crudo mediante cromatografía en columna en fase inversa (Sunfire Prep C18, OBD 10 $\mu\text{m}$ , 30 x 150 mm). Fase móvil (solución de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  al 0.25% en agua, metanol) para proporcionar **90**.

**Esquema sintético para la preparación de AA-9**





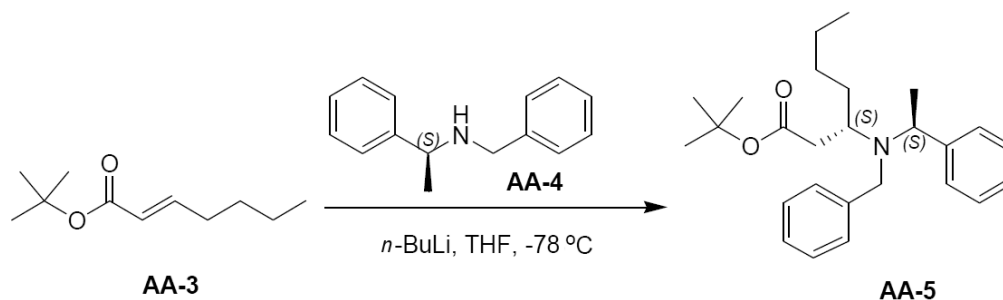
#### Síntesis del intermedio AA-3



5 A una solución de valeraldehído (43 g, 500 mmol) en THF (1 L), se añadió **AA-2** (200 g, 532 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a temperatura ambiente. Se evaporaron los disolventes y el residuo se diluyó en éter de petróleo y se filtró. Los disolventes del filtrado se eliminaron a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía en sílice utilizando un gradiente de éter de petróleo a un 3% de acetato de etilo en éter de petróleo, para obtener **AA-3** (90 g) como un aceite incoloro.

10  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 6.81-6.77 (m, 1H), 5.68-5.64 (td,  $J=1.2\text{Hz, 15.6 Hz}$ , 1H), 2.11-2.09 (m, 2H), 1.406 (s, 9H), 1.38-1.26 (m, 4H), 0.85-0.81 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H).

#### Síntesis del compuesto AA-5

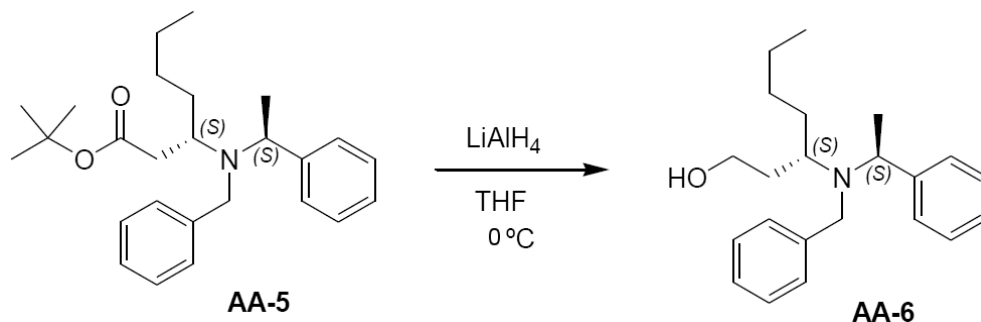


15 Se añadió *n*-butilitio (290 mL, 725 mmol, 1.5 eq) a una solución agitada de **AA-4** (165 g, 781 mmol) en THF (800 mL) a  $-78^\circ\text{C}$ . La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos, a continuación se añadió **AA-3** (90 g, 488.4 mmol) en THF (400 mL) y la reacción se agitó durante 2 horas a  $-78^\circ\text{C}$ . La mezcla se desactivó con una solución ac. sat. de  $\text{NH}_4\text{Cl}$  y se calentó hasta temperatura ambiente. El producto se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó

con salmuera, se secó y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna eluyendo con un 5% de acetato de etilo en éter de petróleo para proporcionar un aceite incoloro, **AA-5** (132 g).

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 7.36-7.16 (m, 10H), 3.75-3.70 (m, 2H), 3.43-3.39 (d,  $J=15.2\text{Hz}$ , 1H), 3.33-3.15 (m, 1H), 1.86-1.80 (m, 2H), 1.47-1.37 (m, 2H), 1.32 (s, 9H), 1.26-1.17 (m, 7H), 0.83-0.79 (t,  $J=7.2\text{Hz}$ , 3H).

#### 5 Síntesis de AA-6

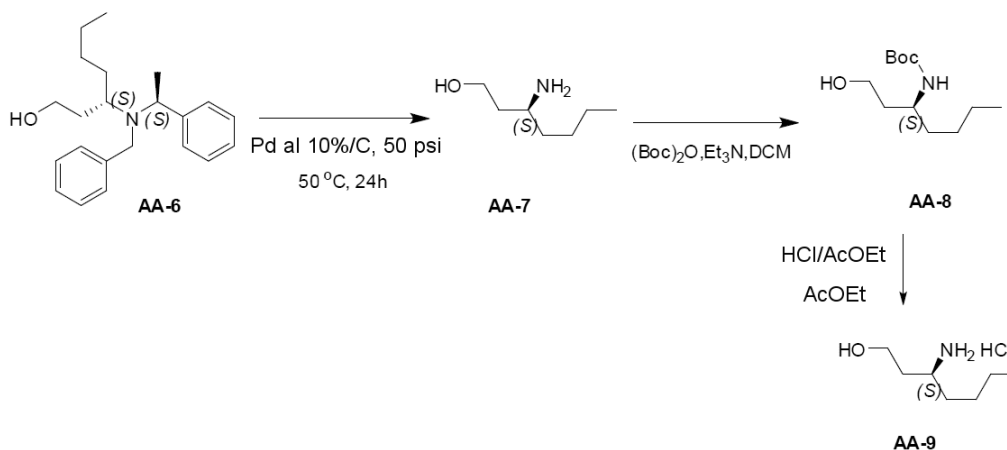


Se disolvió AA-5 (130 g, 328 mmol) en THF (1.5 L) y se añadió LAH (20 g, 526 mmol) a 0 °C en porciones pequeñas. La mezcla resultante se agitó a la misma temperatura durante 2 horas y a continuación se dejó que se calentara hasta temperatura ambiente. La mezcla se desactivó con una solución ac. sat. de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . El producto se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó y se evaporó. Las fases orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio, los sólidos se eliminaron mediante filtración y se concentraron para proporcionar **AA-6** crudo (100 g), que se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional.

10

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 7.33-7.14 (m, 10H), 3.91-3.86 (m, 1H), 3.80-3.77 (d,  $J=13.6\text{Hz}$ , 1H), 3.63-3.60 (d,  $J=13.6\text{Hz}$ , 1H), 3.43-3.42 (m, 1H), 3.15-3.10 (m, 1H), 2.70-2.63 (m, 2H), 1.65-1.28 (m, 10H), 0.89-0.81 (m, 3H).

#### 15 Síntesis de AA-9



Una solución de AA-6 (38 g, 116.75 mmol) y Pd/C al 10% en metanol (200 mL) se hidrogenó con 50 PSI de hidrógeno a 50 °C durante 24 horas. La mezcla de reacción se filtró y se evaporó el disolvente para obtener el producto crudo **AA-7** (17 g).

20 El producto crudo se disolvió en diclorometano (200 mL) y se añadieron trietilamina (26.17 g, 259.1 mmol) y dicarbonato de di-*tert*-butilo (84.7g, 194.4 mmol) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se repartió entre diclorometano y agua. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó y se evaporó. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice eluyendo con un 20% de acetato de etilo en éter de petróleo para proporcionar **AA-8** (13 g) como un aceite incoloro.

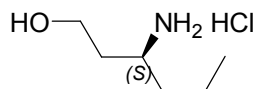
25  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  ppm 4.08-4.03 (a, 1H), 3.68 (m, 1H), 3.58-3.55 (m, 2H), 3.20-2.90(a, 1H), 1.80-1.73 (m, 1H), 1.42-1.17 (m, 15 H), 0.85-0.82 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H).

Se disolvió AA-8 (42 g, 0.182 mol) en dioxano (200 mL) y se añadió dioxano/HCl (4 M, 200 mL) a 0 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se evaporó el disolvente para proporcionar el producto

crudo. Se añadió una mezcla de diclorometano/éter de petróleo (50 mL, 1:1, v/v) al producto crudo y se decantó el sobrenadante. Se repitió este procedimiento dos veces para obtener un aceite, **AA-9** (26.6 g).

$^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  ppm 8.04 (s, 3H), 3.60-3.49 (m, 2H), 3.16-3.15 (m, 1H), 1.71-1.67 (m, 2H), 1.60-1.55 (m, 2H), 1.33-1.26 (m, 4H), 0.90-0.87 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H).

#### 5 Preparación de AA-10



#### AA-10

AA-10 se preparó de acuerdo con la preparación de AA-9, utilizando butiraldehído en lugar de valeraldehído.

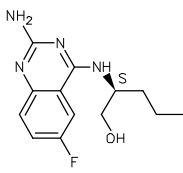
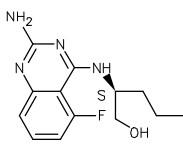
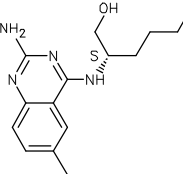
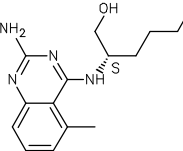
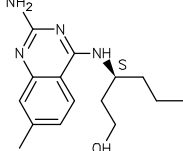
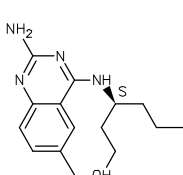
$^1\text{H}$  RMN (400 MHz, DMSO- $d_6$ ):  $\delta$  ppm 8.07 (s, 3H), 4.85 (a, 1H), 3.57-3.45 (m, 2H), 3.14-3.12 (m, 1H), 1.70-1.64 (m, 2H), 1.56-1.49 (m, 2H), 1.38-1.30 (m, 2H), 0.90-0.80 (t,  $J=6.8\text{Hz}$ , 3H).

Tabla 1 Compuestos de fórmula (I).

#	ESTRUCTURA	H RMN	Método, T <sub>R</sub>	Método sintético
3		<sup>1</sup> H RMN (360 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.79 - 0.91 (m, 3 H), 1.29 (m, <i>J</i> =3.3 Hz, 4 H), 1.59 (m, <i>J</i> =6.6 Hz, 2 H), 1.64 - 1.70 (m, 1 H), 1.72 - 1.79 (m, 1 H), 3.40 - 3.50 (m, 2 H), 3.80 (s, 3 H), 3.80 (s, 3 H), 4.33 - 4.43 (m, 1 H), 4.48 (t, <i>J</i> =5.1 Hz, 1 H), 5.68 (s, 2 H), 6.63 (s, 1 H), 7.09 (d, <i>J</i> =8.4 Hz, 1 H), 7.44 (s, 1 H)	A, 0.74	Mismo método que para preparar 1
4		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i> ) δ ppm 0.91 (t, <i>J</i> =7.0 Hz, 3 H), 1.28 - 1.48 (m, 5 H), 1.58 - 1.77 (m, 2 H), 3.48 (s, 1 H), 3.72 (dd, <i>J</i> =11.0, 6.3 Hz, 1 H), 3.88 (s, 3 H), 3.91 (s, 3 H), 4.34 (td, <i>J</i> =6.8, 2.8 Hz, 1 H), 4.78 (s. a., 2 H), 5.64 (d, <i>J</i> =7.0 Hz, 1 H), 6.81 (s, 1 H), 6.81 (s, 1 H)	A, 0.68	Mismo método que para preparar 1
5		<sup>1</sup> H RMN (360 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.88 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.23 - 1.42 (m, 2 H), 1.48 - 1.81 (m, 4 H), 3.39 - 3.48 (m, 2 H), 3.79 (s, 3 H), 3.80 (s, 3 H), 4.38 - 4.46 (m, 1 H), 4.49 (t, <i>J</i> =5.3 Hz, 1 H), 5.68 (s, 2 H), 6.63 (s, 1 H), 7.08 (d, <i>J</i> =8.4 Hz, 1 H), 7.44 (s, 1 H)	A, 0.69	Mismo método que para preparar 1
6		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i> ) δ ppm 0.95 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.35 - 1.52 (m, 2 H), 1.60 - 1.71 (m, 2 H), 3.48 (s, 1 H), 3.71 (dd, <i>J</i> =11.0, 6.3 Hz, 1 H), 3.85 (s, 3 H), 3.85 - 3.88 (m, 1 H), 3.90 (s, 3 H), 4.37 (td, <i>J</i> =6.7, 3.3 Hz, 1 H), 4.85 (s. a., 2 H), 5.82 (d, <i>J</i> =7.3 Hz, 1 H), 6.78 (s, 1 H), 6.85 (s, 1 H)	A, 0.69	Mismo método que para preparar 1
7		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i> ) δ ppm 0.89 - 0.96 (m, 4 H), 1.01 (d, <i>J</i> =1.0 Hz, 4 H), 1.25 (ddd, <i>J</i> =13.7, 8.5, 7.4 Hz, 1 H), 1.47 - 1.65 (m, 1 H), 1.77 - 1.92 (m, 1 H), 3.48 (s, 0 H), 3.81 - 3.84 (m, 1 H), 3.87 (s, 3 H), 3.87 (s, 3 H), 4.21 - 4.31 (m, 1 H), 5.15 (s. a., 2 H), 6.04 - 6.11 (m, 1 H), 6.74 (s, 1 H), 6.86 (s, 1 H)		Mismo método que para preparar 1
10		<sup>1</sup> H RMN (360 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.80 (t, <i>J</i> =1.00 Hz, 3 H) 0.83 - 0.93 (m, 1 H) 0.96 - 1.17 (m, 2 H) 1.20 - 1.35 (m, 1 H) 3.10 - 3.26 (m, 2 H) 3.36 (s. a., 2 H) 4.12 (td, <i>J</i> =8.23, 4.39 Hz, 1 H) 4.56 - 4.74 (m, 1 H) 5.96 (d, <i>J</i> =8.42 Hz, 1 H) 7.18 (d, <i>J</i> =1.00 Hz, 1 H) 7.37 - 7.64 (m, 6 H) 7.81 (t, <i>J</i> =1.00 Hz, 1 H)	C, 0.88	

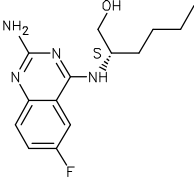
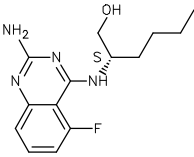
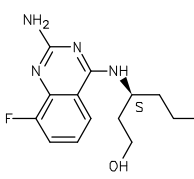
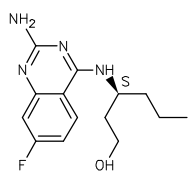
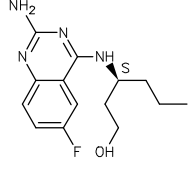
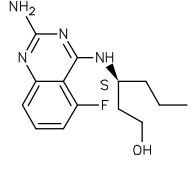
#	ESTRUCTURA	H RMN	Método, T <sub>R</sub>	Método sintético
25		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.89 (t, <i>J</i> =7.28 Hz, 3 H) 1.17 - 1.29 (m, 3 H) 1.29 - 1.39 (m, 2 H) 1.54 - 1.71 (m, 2 H) 1.76 - 1.86 (m, 2 H) 2.71 (c, <i>J</i> =7.61 Hz, 2 H) 3.46 (t, <i>J</i> =6.65 Hz, 2 H) 4.54 - 4.63 (m, 1 H) 7.36 - 7.40 (m, 1 H) 7.66 (dd, <i>J</i> =8.41, 1.63 Hz, 1 H) 7.81 (s. a., 2 H) 8.21 (s, 1 H) 8.87 (d, <i>J</i> =8.53 Hz, 1 H) 12.31 (s, 1 H)	C,0.81	Remítase a la sección experimental
26		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.90 (t, <i>J</i> =7.32 Hz, 3 H) 1.27 (d, <i>J</i> =6.95 Hz, 6 H) 1.29 - 1.40 (m, 2 H) 1.57 - 1.74 (m, 2 H) 1.74 - 1.90 (m, 2 H) 2.93 - 3.05 (m, 1 H) 3.41 - 3.53 (m, 2 H) 4.54 - 4.65 (m, 1 H) 7.38 (d, <i>J</i> =8.42 Hz, 1 H) 7.70 (dd, <i>J</i> =8.60, 1.65 Hz, 1 H) 8.27 (s, 1 H) 8.98 (d, <i>J</i> =8.42 Hz, 1 H) 12.49 (s, 1 H)	C,0.85	Remítase a la sección experimental
27		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.87 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 1.23 - 1.38 (m, 2 H), 1.49 - 1.62 (m, 2 H), 1.63 - 1.79 (m, 2 H), 3.44 (t, <i>J</i> =6.4 Hz, 2 H), 4.33 - 6.44 (m, 1 H), 4.42 - 4.52 (m, 1 H), 6.43 (s. a., 2 H), 6.99 (d, <i>J</i> =8.8 Hz, 1 H), 7.34 (d, <i>J</i> =9.0 Hz, 1 H), 7.41 (dd, <i>J</i> =9.0, 2.5 Hz, 1 H), 7.58 - 7.68 (m, 2 H), 8.02 (d, <i>J</i> =2.0 Hz, 1 H), 8.06 (d, <i>J</i> =2.5 Hz, 1 H)	C,1.1	Remítase a la sección experimental
29		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.87 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 1.22 - 1.39 (m, 2 H), 1.46 - 1.61 (m, 2 H), 1.61 - 1.79 (m, 2 H), 3.43 (t, <i>J</i> =6.5 Hz, 2 H), 4.28 - 6.45 (m, 2 H), 6.07 (s, 2 H), 7.10 (d, <i>J</i> =8.8 Hz, 2 H), 7.24 - 7.40 (m, 3 H), 7.71 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2 H), 7.98 (d, <i>J</i> =2.3 Hz, 1 H)	C,1.05	Remítase a la sección experimental
33		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.89 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 1.21 - 1.45 (m, 2 H), 1.48 - 1.71 (m, 2 H), 3.49 (cd, <i>J</i> =10.4, 5.8 Hz, 2 H), 4.31 - 4.43 (m, 1 H), 6.45 (s, 2 H), 4.71 (s. a., 1 H), 5.27 (s. a., 1 H), 6.26 (s. a., 2 H), 7.00 (dd, <i>J</i> =8.4, 1.4 Hz, 1 H), 7.16 (s, 1 H), 7.40 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 1 H), 8.03 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H) OH	C,0.51	Mismo método para preparar 24
34		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.89 (t, <i>J</i> =7.15 Hz, 3 H) 1.34 (td, <i>J</i> =14.81, 7.78 Hz, 2 H) 1.48 - 1.74 (m, 2 H) 3.48 (m, <i>J</i> =11.70, 5.40 Hz, 2 H) 4.38 (m, <i>J</i> =4.00 Hz, 1 H) 4.50 (d, <i>J</i> =4.02 Hz, 2 H) 4.68 (t, <i>J</i> =1.00 Hz, 1 H) 5.12 (t, <i>J</i> =1.00 Hz, 1 H) 5.87 (s. a., 2 H) 7.15 (d, <i>J</i> =8.53 Hz, 1 H) 7.26 (d, <i>J</i> =8.03 Hz, 1 H) 7.44 (dd, <i>J</i> =8.50 Hz, 1 H) 7.98 (s. a., 1 H)	B,3.04	Mismo método para preparar 24

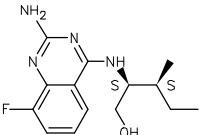
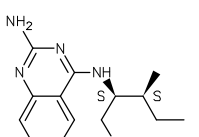
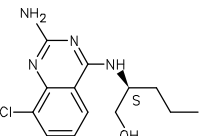
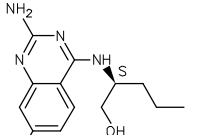
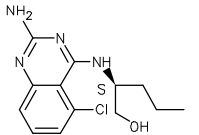
#	ESTRUCTURA	H RMN	Método, T <sub>R</sub>	Método sintético
43		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.78 - 0.95 (m, 3 H), 1.15 - 1.42 (m, 2 H), 1.47 - 1.74 (m, 3 H), 2.37 (s, 3 H), 3.22 - 3.27 (m, 1 H), 3.42 - 3.60 (m, 2 H), 4.37 (d, <i>J</i> =5.3 Hz, 1 H), 4.68 (s. a., 1 H), 6.89 (t, <i>J</i> =7.5 Hz, 1 H), 7.18 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 7.33 (d, <i>J</i> =7.0 Hz, 1 H), 7.89 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 1 H). LC-MS <i>m/z</i> = 261 (M+H)	C,0.64	Mismo método para preparar 9
44		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.89 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.20 - 1.44 (m, 2 H), 1.55 (td, <i>J</i> =9.1, 4.4 Hz, 1 H), 1.61 - 1.71 (m, 1 H), 2.33 (s, 3 H), 3.41 - 3.57 (m, 2 H), 4.24 - 4.43 (m, 1 H), 4.71 (s. a., 1 H), 5.88 (s, 2 H), 6.84 (dd, <i>J</i> =8.3, 1.3 Hz, 1 H), 6.98 (s, 1 H), 7.19 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 7.94 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H) es coherente con la estructura. LC-MS <i>m/z</i> = 261 (M+H)	C,0.64	Mismo método para preparar 9
45		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.80 - 0.92 (m, 3 H), 1.22 - 1.43 (m, 2 H), 1.48 - 1.70 (m, 2 H), 2.34 (s, 3 H), 3.47 (ddt, <i>J</i> =16.81, 10.98, 5.43, 5.43 Hz, 2 H), 4.30 - 4.40 (m, 1 H), 4.66 (t, <i>J</i> =5.40 Hz, 1 H), 5.79 (s, 2 H), 7.09 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 7.15 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 7.30 (dd, <i>J</i> =8.53, 1.76 Hz, 1 H), 7.86 (s, 1 H) wembrech_1457_2	C,0.65	Mismo método para preparar 9
46		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.85 - 0.94 (m, 3 H), 1.31 - 1.45 (m, 2 H), 1.53 - 1.68 (m, 2 H), 1.90 (s, 3 H), 2.73 (s, 3 H), 3.51 - 3.56 (m, 2 H), 4.30 - 4.39 (m, 1 H), 6.00 (s, 2 H), 6.28 (d, <i>J</i> =8.03 Hz, 1 H), 6.81 (d, <i>J</i> =7.03 Hz, 1 H), 7.05 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 7.30 (t, <i>J</i> =8.00 Hz, 1 H) wembrech_1405_2	C,0.66	Mismo método para preparar 9
47		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.89 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 1.20 - 1.45 (m, 2 H), 1.47 - 1.72 (m, 2 H), 3.41 - 3.56 (m, 2 H), 4.31 - 4.43 (m, 1 H), 4.69 (s. a. 6, 1 H), 6.24 (s. a., 2 H), 6.95 (td, <i>J</i> =7.9, 5.0 Hz, 1 H), 7.31 (dd, <i>J</i> =11.3, 7.8 Hz, 1 H), 7.41 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 7.90 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H)	C,0.64	Mismo método para preparar 9
48		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.90 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.20 - 1.45 (m, 2 H), 1.51 - 1.73 (m, 2 H), 3.54 (s. a., 2 H), 4.45 (td, <i>J</i> =8.5, 5.5 Hz, 1 H), 4.82 (s. a., 1 H), 7.18 (dd, <i>J</i> =10.0, 2.5 Hz, 1 H), 7.25 (td, <i>J</i> =8.8, 2.5 Hz, 1 H), 7.63 (s. a., 2 H), 8.41 (dd, <i>J</i> =9.0, 5.8 Hz, 1 H), 8.60 (d, <i>J</i> =8.3	C,0.65	Mismo método para preparar 9

#	ESTRUCTURA	H RMN	Método, T <sub>R</sub>	Método sintético
		Hz, 1 H)		
49		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.90 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 1.22 - 1.45 (m, 2 H), 1.49 - 1.72 (m, 2 H), 3.43 - 3.55 (m, 2 H), 4.36 (td, <i>J</i> =8.7, 5.0 Hz, 1 H), 6 4.69 (s. a., 1 H), 5.98 (s, 2 H), 7.22 (dd, <i>J</i> =9.0, 5.5 Hz, 1 H), 7.27 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 7.37 (td, <i>J</i> =8.8, 2.8 Hz, 1 H), 7.98 (dd, <i>J</i> =10.3, 2.8 Hz, 1 H)	C,0.63	Mismo método que para preparar 9
50		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.92 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 1.26 - 1.42 (m, 2 H), 1.59 - 1.70 (m, 2 H), 3.53 - 3.67 (m, 3 H), 4.47 (d, <i>J</i> =5.3 Hz, 1 H), 7.21 - 7.36 (m, 2 H), 7.80 (td, <i>J</i> =8.3, 6.0 Hz, 1 H), 7.93 (dd, <i>J</i> =14.8, 8.5 Hz, 1 H), 8.38 (s. a., 1 H), 13.06 (s. a., 1 H). LC-MS <i>m/z</i> = 265 (M+H)	C,0.75	Mismo método que para preparar 9
51		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.79 - 0.92 (m, 3 H), 1.19 - 1.39 (m, 4 H), 1.55 - 1.75 (m, 2 H), 2.41 (s, 3 H), 3.46 - 3.61 (m, 2 H), 4.40 - 4.51 (m, 1 H), 7.36 (d, <i>J</i> =8.53 Hz, 1 H), 7.62 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 7.80 (s, 2 H), 8.29 (s, 1 H), 8.87 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 12.51 (s, 1 H) wembrech_1457_1	C,0.73	Mismo método que para preparar 9
52		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.78 - 0.90 (m, 3 H), 1.20 - 1.39 (m, 4 H), 1.53 - 1.70 (m, 2 H), 1.90 (s, 3 H), 2.73 (s, 3 H), 3.50 - 3.57 (m, 2 H), 4.28 - 4.36 (m, 1 H), 5.98 (s, 2 H), 6.28 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 6.81 (d, <i>J</i> =7.03 Hz, 1 H), 7.05 (d, <i>J</i> =7.78 Hz, 1 H), 7.30 (t, <i>J</i> =8.30 Hz, 1 H)	C,0.75	Mismo método que para preparar 9
53		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.89 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.23 - 1.39 (m, 2 H), 1.52 - 1.71 (m, 2 H), 1.74 - 1.91 (m, 2 H), 2.43 (s, 3 H), 3.45 (t, <i>J</i> =6.5 Hz, 2 H), 4.48 - 4.60 (m, 2 H), 7.18 - 7.29 (m, 2 H), 7.37 - 8.21 (m, 2 H), 8.35 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 8.99 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 12.78 (s. a., 1 H)	C,0.69	Mismo método que para preparar 9
54		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.00 (s, 1 H), 0.79 - 0.97 (m, 3 H), 1.19 - 1.39 (m, 2 H), 1.51 - 1.74 (m, 2 H), 1.74 - 1.93 (m, 2 H), 2.40 (s, 3 H), 3.41 - 3.52 (m, 2 H), 4.51 - 4.63 (m, 1 H), 7.35 (d, <i>J</i> =8.53 Hz, 1 H), 7.57 - 7.65 (m, 1 H), 7.83 (s, 2 H), 8.25 (s, 1 H), 8.91 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 12.57 (s, 1 H) wembrech_1457_4	C,0.72	Mismo método que para preparar 9

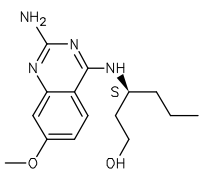
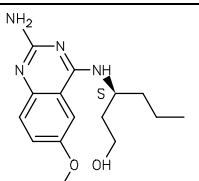
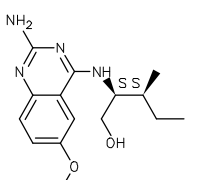
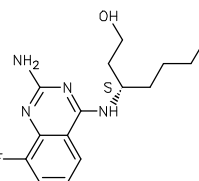
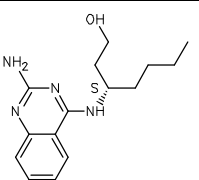
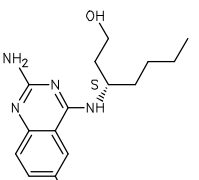
#	ESTRUCTURA	H RMN	Método, T <sub>R</sub>	Método sintético
55		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.85 - 0.95 (m, 3 H), 1.29 - 1.42 (m, 2 H), 1.53 - 1.78 (m, 2 H), 1.79 - 1.86 (m, 2 H), 2.78 (s, 3 H), 3.50 - 3.66 (m, 2 H), 4.57 - 4.70 (m, 1 H), 7.21 (d, <i>J</i> =7.28 Hz, 1 H), 7.29 (d, <i>J</i> =8.03 Hz, 1 H), 7.62 (t, <i>J</i> =7.91 Hz, 1 H), 7.75 (d, <i>J</i> =8.03 Hz, 2 H), 7.87 (d, <i>J</i> =8.03 Hz, 1 H), 12.36 (s, 1 H)	C,0.75	Mismo método que para preparar 9
56		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.88 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.18 - 1.43 (m, 2 H), 1.54 (td, <i>J</i> =9.1, 4.4 Hz, 1 H), 1.60 - 1.71 (m, 1 H), 3.39 - 3.54 (m, 2 H), 3.79 (s, 3 H), 4.33 (td, <i>J</i> =8.6, 5.1 Hz, 1 H), 4.66 (t, <i>J</i> =5.4 Hz, 1 H), 5.87 (s, 2 H), 6.56 - 6.65 (m, 2 H), 7.11 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 7.95 (d, <i>J</i> =8.8 Hz, 1 H)	C,0.63	Mismo método que para preparar 9
57		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.90 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.25 - 1.45 (m, 2 H), 1.57 (dtd, <i>J</i> =13.7, 9.1, 9.1, 5.0 Hz, 1 H), 1.63 - 1.75 (m, 1 H), 3.44 - 3.55 (m, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 4.39 (td, <i>J</i> =8.5, 5.3 Hz, 1 H), 4.70 (s. a., 1 H), 5.74 (s, 2 H), 7.11 - 7.17 (m, 2 H), 7.23 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 7.54 (s, 1 H)	C,0.64	Mismo método que para preparar 9
58		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.92 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.29 - 1.43 (m, 2 H), 1.56 - 1.71 (m, 2 H), 3.53 - 3.65 (m, 2 H), 4.04 (s, 3 H), 4.27 - 4.43 (m, 1 H), 4.66 (s. a., 3 H), 7.02 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 2 H), 7.71 (t, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 8.90 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 12.85 (s, 1 H)	C,0.66	Mismo método que para preparar 9
59		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.85 (t, <i>J</i> =6.5 Hz, 3 H), 1.19 - 1.39 (m, 4 H), 1.48 - 1.62 (m, 1 H), 1.62 - 1.77 (m, 1 H), 3.40 - 3.56 (m, 2 H), 4.35 (td, 6 <i>J</i> =8.7, 5.0 Hz, 1 H), 4.69 (t, <i>J</i> =5.4 Hz, 1 H), 6.24 (s. a., 2 H), 6.95 (td, <i>J</i> =8.0, 5.0 Hz, 1 H), 7.31 (dd, <i>J</i> =11.2, 7.7 Hz, 1 H), 7.41 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 7.90 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H)	C,0.74	Mismo método que para preparar 9
60		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.86 (t, <i>J</i> =6.7 Hz, 3 H), 1.20 - 1.39 (m, 4 H), 1.54 - 1.76 (m, 2 H), 3.55 (d, <i>J</i> =5.8 Hz, 4 H), 4.37 - 4.50 (m, 1 H), 7.26 (dd, <i>J</i> =9.8, 2.5 Hz, 1 H), 7.30 - 7.36 (m, 1 H), 8.50 - 8.57 (m, 1 H), 8.99 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 1 H), 12.48 (s. a., 1 H)	C,0.77	Mismo método que para preparar 9

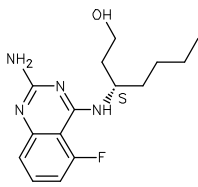
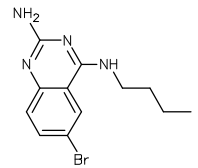
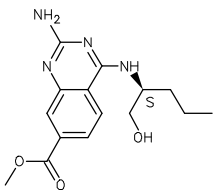
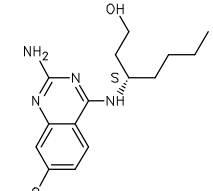
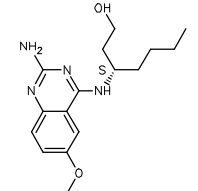


#	ESTRUCTURA	H RMN	Método, T <sub>R</sub>	Método sintético
61		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.86 (t, <i>J</i> =6.5 Hz, 3 H), 1.17 - 1.40 (m, 4 H), 1.47 - 1.62 (m, 1 H), 1.62 - 1.76 (m, 1 H), 3.42 - 3.55 (m, 2 H), 4.25 - 6.44 (m, 1 H), 4.69 (s. a., 1 H), 6.13 (s. a., 2 H), 7.23 (dd, <i>J</i> =9.2, 5.4 Hz, 1 H), 7.39 (s. a., 1 H), 7.39 (td, <i>J</i> =8.6, 2.4 Hz, 1 H), 8.00 (dd, <i>J</i> =10.3, 2.8 Hz, 1 H)	C,0.73	Mismo método para preparar 9
62		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.82 - 0.92 (m, 3 H), 1.25 - 1.40 (m, 4 H), 1.53 - 1.73 (m, 2 H), 3.51 - 3.60 (m, 2 H), 4.37 (m, <i>J</i> =3.5 Hz, 1 H), 4.92 (s. a., 1 H), 6.74 (s. a., 2 H), 6.92 (dd, <i>J</i> =12.8, 8.0 Hz, 1 H), 7.01 - 7.08 (m, 1 H), 7.08 - 7.12 (m, 1 H), 7.54 (td, <i>J</i> =8.2, 6.5 Hz, 1 H). LC-MS <i>m/z</i> = 279 (M+H).	C,0.83	Mismo método para preparar 9
63		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.88 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 1.22 - 1.40 (m, 2 H), 1.47 - 1.66 (m, 2 H), 1.66 - 1.80 (m, 2 H), 3.41 - 3.49 (m, 2 H), 4.33 - 6.45 (m, 2 H), 6.26 (s. a., 2 H), 6.95 (td, <i>J</i> =8.0, 4.9 Hz, 1 H), 7.31 (dd, <i>J</i> =11.3, 7.8 Hz, 1 H), 7.48 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H), 7.87 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H)	C,0.69	Mismo método para preparar 9
64		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.88 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 1.21 - 1.41 (m, 2 H), 1.48 - 1.66 (m, 2 H), 1.68 - 1.81 (m, 2 H), 3.42 - 3.48 (m, 2 H), 4.30 - 4.55 (m, 2 H), 6.69 (s. a., 2 H), 6.89 - 7.07 (m, 2 H), 7.86 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 8.21 (dd, <i>J</i> =8.9, 6.1 Hz, 1 H)	C,0.73	Mismo método para preparar 9
65		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.88 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 1.25 - 1.40 (m, 2 H), 1.50 - 1.65 (m, 2 H), 1.65 - 1.81 (m, 2 H), 3.45 (t, <i>J</i> =6.5 Hz, 2 H), 4.32 - 6.45 (m, 2 H), 6.00 (s, 2 H), 7.22 (dd, <i>J</i> =9.0, 5.5 Hz, 1 H), 7.28 - 7.42 (m, 2 H), 7.95 (dd, <i>J</i> =10.2, 2.9 Hz, 1 H)	C,0.68	Mismo método para preparar 9
66		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i> ) δ ppm 0.95 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.34 - 1.58 (m, 4 H), 1.59 - 1.72 (m, 2 H), 1.92 - 2.07 (m, 1 H), 3.55 - 3.73 (m, 2 H), 4.42 - 4.59 (m, 1 H), 5.10 (s. a., 2 H), 6.62 (dd, <i>J</i> =18.7, 8.4 Hz, 1 H), 6.81 (dd, <i>J</i> =13.1, 8.0 Hz, 1 H), 7.21 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H), 7.42 - 7.55 (m, 1 H). LC-MS <i>m/z</i> = 279 (M+H)	C,0.79	Mismo método para preparar 9

#	ESTRUCTURA	H RMN	Método, T <sub>R</sub>	Método sintético
67		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.86 (t, <i>J</i> =7.5 Hz, 3 H), 0.93 (d, <i>J</i> =6.8 Hz, 3 H), 1.08 - 1.24 (m, 1 H), 1.43 - 1.59 (m, 1 H), 1.84 (ddt, <i>J</i> =11.2, 7.7, 4.0, 6 4.0 Hz, 1 H), 3.54 - 3.68 (m, 2 H), 4.20 - 4.30 (m, 1 H), 4.56 (t, <i>J</i> =5.4 Hz, 1 H), 6.20 (s. a., 2 H), 6.95 (td, <i>J</i> =8.0, 5.0 Hz, 1 H), 7.30 (ddd, <i>J</i> =11.4, 7.7, 0.8 Hz, 1 H), 7.39 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H), 7.95 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H)	C,0.72	Mismo método para preparar 9
68		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.86 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 0.92 (d, <i>J</i> =6.8 Hz, 3 H), 1.11 - 1.24 (m, 1 H), 1.44 - 1.59 (m, 1 H), 1.83 (ddt, <i>J</i> =11.3, 7.7, 3.9, 6 3.9 Hz, 1 H), 3.53 - 3.69 (m, 2 H), 4.16 - 4.28 (m, 1 H), 4.55 (s. a., 1 H), 5.94 (s, 2 H), 7.21 (dd, <i>J</i> =9.2, 5.4 Hz, 1 H), 7.28 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 7.37 (td, <i>J</i> =8.8, 2.8 Hz, 1 H), 8.04 (dd, <i>J</i> =10.3, 2.8 Hz, 1 H) F 6	C,0.71	Mismo método para preparar 9
69		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.88 (t, <i>J</i> =7.28 Hz, 3 H), 1.20 - 1.43 (m, 2 H), 1.49 - 1.70 (m, 2 H), 3.40 - 3.54 (m, 2 H), 4.30 - 4.42 (m, 1 H), 4.68 (t, <i>J</i> =5.02 Hz, 1 H), 6.25 (s. a., 2 H), 6.96 (t, <i>J</i> =7.91 Hz, 1 H), 7.41 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 7.62 (d, <i>J</i> =7.53 Hz, 1 H), 8.04 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H)	C,0.71	Mismo método para preparar 9
70		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.80 - 0.95 (m, 3 H), 1.16 - 1.43 (m, 2 H), 1.46 - 1.74 (m, 2 H), 1.91 (t, <i>J</i> =5.8 Hz, 0 H), 3.43 - 3.60 (m, 2 H), 3.50 - 3.50 (m, 0 H), 4.35 (td, <i>J</i> =8.4, 5.3 Hz, 1 H), 4.79 (s. a., 1 H), 6.17 (s. a., 2 H), 7.00 (dd, <i>J</i> =8.8, 2.0 Hz, 1 H), 7.16 (d, <i>J</i> =2.0 Hz, 1 H), 7.54 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 1 H), 8.18 (d, <i>J</i> =8.8 Hz, 1 H). LC-MS <i>m/z</i> = 281 (M+H) es coherente con la estructura. LC-MS <i>m/z</i> = 281 (M+H)	C,0.72	Mismo método para preparar 9
71		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.91 (t, <i>J</i> =7.28 Hz, 3 H), 1.23 - 1.44 (m, 2 H), 1.52 - 1.68 (m, 2 H), 3.54 (t, <i>J</i> =4.14 Hz, 2 H), 4.33 (ddt, <i>J</i> =10.60, 7.22, 3.76, 3.76 Hz, 1 H), 4.90 (t, <i>J</i> =5.14 Hz, 1 H), 6.22 (s. a., 2 H), 7.05 (dd, <i>J</i> =7.65, 1.13 Hz, 1 H), 7.15 (dd, <i>J</i> =8.41, 1.13 Hz, 1 H), 7.33 - 7.42 (m, 1 H), 7.60 (d, <i>J</i> =8.03 Hz, 1 H)	B,4.98	Mismo método para preparar 9

#	ESTRUCTURA	H RMN	Método, T <sub>R</sub>	Método sintético
72		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.89 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.22 - 1.44 (m, 2 H), 1.47 - 1.59 (m, 1 H), 1.59 - 1.72 (m, 1 H), 3.41 - 3.53 (m, 2 H), 4.28 - 6.44 (m, 1 H), 4.68 (t, <i>J</i> =5.4 Hz, 1 H), 6.11 (s, 2 H), 7.07 (dd, <i>J</i> =12.5, 7.8 Hz, 1 H), 7.29 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 8.22 (dd, <i>J</i> =12.0, 9.0 Hz, 1 H)	C,0.74	Mismo método que para preparar 9
73		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.85 (t, <i>J</i> =6.8 Hz, 3 H), 1.19 - 1.40 (m, 4 H), 1.56 - 1.72 (m, 2 H), 1.74 - 1.92 (m, 2 H), 2.44 (s, 3 H), 2.49 - 2.55 (m, 1 H), 3.46 (t, <i>J</i> =6.5 Hz, 2 H), 4.47 - 4.63 (m, 1 H), 7.19 - 7.28 (m, 2 H), 7.92 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 2 H), 8.37 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 9.01 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 12.80 (s, 1 H)	C,0.77	Mismo método que para preparar 9
74		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.82 - 0.90 (m, 3 H), 1.22 - 1.37 (m, 4 H), 1.60 - 1.68 (m, 2 H), 1.75 - 1.83 (m, 2 H), 2.42 (s, 3 H), 3.43 - 3.48 (m, 2 H), 4.51 - 4.59 (m, 1 H), 7.36 (d, <i>J</i> =8.53 Hz, 1 H), 7.62 (d, <i>J</i> =8.53 Hz, 1 H), 7.74 (s. a., 2 H), 8.19 (s, 1 H), 8.84 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 12.27 (s, 1 H) wembrech_1457_3	C,0.75	Mismo método que para preparar 9
75		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.82 - 0.91 (m, 3 H), 1.28 - 1.40 (m, 4 H), 1.59 - 1.77 (m, 2 H), 1.83 (c, <i>J</i> =5.94 Hz, 2 H), 2.78 (s, 3 H), 3.50 - 3.66 (m, 2 H), 4.55 - 4.66 (m, 1 H), 7.21 (d, <i>J</i> =7.53 Hz, 1 H), 7.29 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 7.62 (t, <i>J</i> =7.91 Hz, 1 H), 7.77 (s. a., 2 H), 7.88 (d, <i>J</i> =8.03 Hz, 1 H), 12.38 (s, 1 H)	C,0.83	Mismo método que para preparar 9
76		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.85 (t, <i>J</i> =6.40 Hz, 3 H), 1.17 - 1.38 (m, 4 H), 1.45 - 1.58 (m, 1 H), 1.62 - 1.73 (m, 1 H), 3.37 - 3.52 (m, 2 H), 3.79 (s, 3 H), 4.30 (dd, <i>J</i> =8.53, 5.02 Hz, 1 H), 4.60 - 4.68 (m, 1 H), 5.87 (s, 2 H), 6.59 - 6.60 (m, 1 H), 6.60 - 6.65 (m, 1 H), 7.12 (d, <i>J</i> =8.28 Hz, 1 H), 7.96 (d, <i>J</i> =8.78 Hz, 1 H) wembrech_1505_1	C,0.72	Mismo método que para preparar 9
77		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.86 (t, <i>J</i> =6.5 Hz, 3 H), 1.22 - 1.40 (m, 4 H), 1.49 - 1.63 (m, 1 H), 1.65 - 1.80 (m, 1 H), 3.44 - 3.56 (m, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 4.37 (td, <i>J</i> =8.5, 5.3 Hz, 1 H), 4.70 (s. a., 1 H), 5.73 (s, 2 H), 7.12 - 7.17 (m, 2 H), 7.23 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 7.54 (s, 1 H)	C,0.73	Mismo método que para preparar 9

#	ESTRUCTURA	H RMN	Método, T <sub>R</sub>	Método sintético
78		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.87 (t, <i>J</i> =7.40 Hz, 3 H), 1.22 - 1.39 (m, 2 H), 1.48 - 1.78 (m, 4 H), 3.37 - 3.50 (m, 2 H), 3.78 (s, 3 H), 4.34 - 4.49 (m, 1 H), 4.34 - 4.49 (m, 1 H), 5.92 (s, 2 H), 6.60 (d, <i>J</i> =2.51 Hz, 1 H), 6.61 - 6.66 (m, 1 H), 7.21 (d, <i>J</i> =8.53 Hz, 1 H), 7.94 (d, <i>J</i> =8.78 Hz, 1 H) wembrech_1505_4	C,0.67	Mismo método para preparar 9
79		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.89 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.26 - 1.41 (m, 2 H), 1.51 - 1.66 (m, 2 H), 1.66 - 1.83 (m, 2 H), 3.42 - 3.47 (m, 1 H), 3.81 (s, 3 H), 4.38 - 4.52 (m, 2 H), 5.87 (s, 2 H), 7.14 - 7.19 (m, 2 H), 7.35 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H), 7.53 (s, 1 H)	C,0.67	Mismo método para preparar 9
80		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.86 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3 H), 0.94 (d, <i>J</i> =6.8 Hz, 3 H), 1.11 - 1.24 (m, 1 H), 1.53 (ddd, <i>J</i> =13.4, 7.5, 3.9 Hz, 1 H), 1.87 (ddt, 6 <i>J</i> =11.2, 7.7, 4.0, 4.0 Hz, 1 H), 3.58 - 3.66 (m, 2 H), 3.82 (s, 3 H), 4.20 - 4.31 (m, 1 H), 4.58 (s. a., 1 H), 5.69 (s, 2 H), 7.12 - 7.17 (m, 2 H), 7.24 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H), 7.59 (s, 1 H)	C,0.7	Mismo método para preparar 9
81		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.84 (t, <i>J</i> =6.5 Hz, 3 H), 1.20 - 1.37 (m, 4 H), 1.52 - 1.65 (m, 2 H), 1.65 - 1.80 (m, 2 H), 3.44 (c, <i>J</i> =6.2 Hz, 2 H), 4.35 - 6 4.49 (m, 2 H), 6.25 (s. a., 2 H), 6.95 (td, <i>J</i> =7.9, 5.0 Hz, 1 H), 7.31 (dd, <i>J</i> =11.3, 7.8 Hz, 1 H), 7.48 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H), 7.87 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1 H)	C,0.79	Mismo método para preparar 9
82		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.79 - 0.89 (m, 3 H), 1.19 - 1.37 (m, 4 H), 1.59 (d, <i>J</i> =6.5 Hz, 2 H), 1.65 - 1.79 (m, 2 H), 3.43 (t, <i>J</i> =6.3 Hz, 2 H), 4.31 - 4.53 (m, 2 H), 6.24 (s, 2 H), 6.80 - 6.98 (m, 2 H), 7.51 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H), 8.14 (dd, <i>J</i> =8.8, 6.5 Hz, 1 H)	C,0.81	Mismo método para preparar 9
83		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.85 (t, <i>J</i> =6.3 Hz, 3 H), 1.20 - 1.37 (m, 4 H), 1.53 - 1.64 (m, 2 H), 1.64 - 1.82 (m, 2 H), 3.45 (t, <i>J</i> =6.4 Hz, 2 H), 4.34 - 6 4.48 (m, 2 H), 6.01 (s, 2 H), 7.22 (dd, <i>J</i> =9.2, 5.4 Hz, 1 H), 7.29 - 7.42 (m, 2 H), 7.95 (dd, <i>J</i> =10.3, 2.8 Hz, 1 H)	C,0.77	Mismo método para preparar 9

#	ESTRUCTURA	H RMN	Método, T <sub>R</sub>	Método sintético
84		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i> ) δ ppm 0.89 (t, <i>J</i> =7.0 Hz, 3 H), 1.19 - 1.46 (m, 4 H), 1.50 - 1.79 (m, 4 H), 1.92 - 2.12 (m, 1 H), 3.59 - 3.75 (m, 2 H), 3.96 (s. a., 2 H), 4.40 - 4.56 (m, 1 H), 6.72 (dd, <i>J</i> =18.6, 8.5 Hz, 1 H), 6.81 (ddd, <i>J</i> =12.8, 8.0, 0.8 Hz, 1 H), 7.19 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H), 7.48 (td, <i>J</i> =8.2, 6.4 Hz, 1 H). LC-MS <i>m/z</i> = 293 (M+H)	C,0.88	Mismo método que para preparar 9
85		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, METANOL- <i>d</i> <sub>4</sub> ) δ ppm 0.99 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.38 - 1.50 (m, 2 H), 1.71 (quin, <i>J</i> =7.4 Hz, 2 H), 3.66 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 2 H), 7.33 (d, <i>J</i> =8.8 Hz, 1 H), 7.87 (dd, <i>J</i> =8.8, 1.8 Hz, 1 H), 8.00 (s. a., 1 H), 8.35 (d, <i>J</i> =2.0 Hz, 1 H), <i>no se aprecian los protones intercambiables</i>	C,0.9	Mismo método que para preparar 9
86		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.89 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3 H), 1.24 - 1.44 (m, 2 H), 1.50 - 1.73 (m, 2 H), 3.50 (tc, <i>J</i> =11.1, 5.3 Hz, 2 H), 3.88 (s, 3 H), 4.38 (td, <i>J</i> =8.6, 5.1 Hz, 1 H), 4.69 (t, <i>J</i> =5.1 Hz, 1 H), 6.17 (s. a., 2 H), 7.50 (dd, <i>J</i> =8.5, 1.8 Hz, 2 H), 7.74 (d, <i>J</i> =1.8 Hz, 1 H), 8.19 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H)	C,0.68	Mismo método que para preparar 9
87		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.76 - 0.89 (m, 3 H), 1.28 (d, <i>J</i> =5.02 Hz, 4 H), 1.48 - 1.78 (m, 4 H), 3.36 - 3.48 (m, 2 H), 3.69 - 3.84 (m, 3 H), 4.32 - 4.46 (m, 1 H), 4.32 - 4.46 (m, 1 H), 5.90 (s, 2 H), 6.60 (d, <i>J</i> =2.51 Hz, 1 H), 6.63 (s, 1 H), 7.20 (d, <i>J</i> =8.53 Hz, 1 H), 7.94 (d, <i>J</i> =9.03 Hz, 1 H)	C,0.74	Mismo método que para preparar 9
88		<sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ ppm 0.85 (t, <i>J</i> =6.7 Hz, 2 H), 1.22 - 1.36 (m, 4 H), 1.56 - 1.65 (m, 2 H), 1.65 - 1.84 (m, 2 H), 3.40 - 3.50 (m, 2 H), 3.81 (s, 3 H), 4.38 - 4.49 (m, 2 H), 5.74 (s, 2 H), 7.15 (s, 2 H), 7.27 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1 H), 7.51 (s, 1 H)	C,0.76	Mismo método que para preparar 9

## Métodos analíticos.

Todos los compuestos se caracterizaron por LC-MS. Se emplearon los siguientes métodos de LC-MS:

- 5 **Método A.** La UPLC en fase inversa (cromatografía líquida de ultrarresolución) se realizó en una columna C18 híbrida con puente de etilsiloxano/sílice (BEH) (1.7 μm, 2.1 x 50 mm; Waters Acquity) con una velocidad de flujo de 0.8 mL/min. Se utilizaron dos fases móviles (acetato de amonio 10 mM en H<sub>2</sub>O/acetoneitrilo 95/5; fase móvil B: acetoneitrilo) para aplicar unas condiciones de gradiente de un 95% de A y un 5% de B a un 5% de A y un 95% de B en 1.3 minutos, y se mantuvo durante 0.7 minutos. Se empleó un volumen de inyección de 0.75 μL. El voltaje del cono fue de 30 V para el modo de ionización positivo y de 30 V para el modo de ionización negativo.
- 10 **Método B.** La HPLC en fase inversa se realizó en una columna C18 Xterra MS (3.5 μm, 4.6 x 100 mm) con una velocidad de flujo de 1.6 mL/min. Se emplearon tres fases móviles (fase móvil A: 95% de acetato de amonio 25 mM + 5 % de acetoneitrilo; fase móvil B: acetoneitrilo; fase móvil C: metanol) para aplicar unas condiciones de gradiente de

un 100% de A a un 50 % de B y un 50% de C en 6.5 minutos, hasta un 100% de B en 0.5 minutos, se mantiene un 100% de B durante 1 minuto y se reequilibra con un 100% de A durante 1.5 minutos. Se empleó un volumen de inyección de 10  $\mu$ L.

- 5 **Método C.** La UPLC en fase inversa (cromatografía líquida de ultraresolución) se realizó en una columna C18 híbrida con puente de etilsiloxano/sílice (BEH) (1.7  $\mu$ m, 2.1 x 50 mm; Waters Acquity) con una velocidad de flujo de 0.8 mL/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: acetato de amonio 10 mM en H<sub>2</sub>O/acetonitrilo 95/5; fase móvil B: acetonitrilo) para llevar a cabo unas condiciones de gradiente de un 95% de A y un 5% de B a un 5% de A y un 95% de B en 1.3 minutos y que se mantiene durante 0.2 minutos. Se empleó un volumen de inyección de 0.5  $\mu$ L.

#### Actividad biológica de los compuestos de fórmula (I)

### 10 Descripción de los ensayos biológicos

#### **Evaluación de la actividad de TLR7 y TLR8**

- Se evaluó la capacidad de los compuestos para activar TLR7 y/o TLR8 humano en un ensayo con indicadores celulares utilizando células HEK293 transfectadas de forma transitoria con un vector de expresión de TLR7 o TLR8 y un constructo marcador de NF $\kappa$ B-luc. En un caso, el constructo de expresión de TLR expresa la secuencia de origen natural respectiva o una secuencia mutante que comprende una eliminación en la segunda repetición rica en leucina del TLR. Se ha demostrado previamente que tales proteínas de TLR mutantes son más sensibles a la activación por parte de agonistas (US 7498409).
- 15

- Resumiendo, se cultivaron células HEK293 en medio de cultivo (DMEM suplementado con un 10% de FCS y glutamina 2 mM). Para la transfección de las células en placas de 10 cm, las células se desprendieron con tripsina-EDTA, se transfectaron con una mezcla de plásmido TLR8 o CMV-TLR7 (750 ng), plásmido NF $\kappa$ B-luc (375 ng) y un reactivo de transfección y se incubaron durante 24 horas a 37 °C en una atmósfera humidificada con un 5% de CO<sub>2</sub>. A continuación, las células transfectadas se desprendieron con tripsina-EDTA, se lavaron con PBS y se volvieron a suspender en medio con una densidad de 1.67 x 10<sup>5</sup> células/mL. A continuación, se dispensaron treinta microlitros de células en cada pocillo en placas de 384 pocillos, donde ya había 10  $\mu$ L de compuesto en DMSO al 4%. Después de 6 horas de incubación a 37 °C con un 5% de CO<sub>2</sub>, se determinó la actividad luciferasa añadiendo 15  $\mu$ l de sustrato Steady Lite Plus (Perkin Elmer) a cada pocillo y la lectura se realizó con un generador de imágenes de microplacas ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Se generaron curvas de dosis-respuesta a partir de las mediciones realizadas por cuadruplicado. Se determinaron los valores de la concentración mínima eficaz (CME), que se define como la concentración que induce un efecto que es al menos dos veces superior a la desviación estándar del ensayo, para cada compuesto.
- 20
- 25
- 30

- La toxicidad del compuesto se determinó en paralelo utilizando una serie de dilución similar del compuesto con 30  $\mu$ L por pocillo de células transfectadas con el constructo de CMV-TLR7 solo (1.67 x 10<sup>5</sup> células/mL), en placas de 384 pocillos. La viabilidad de las células se midió después de 6 horas de incubación a 37 °C y con un 5% de CO<sub>2</sub> añadiendo 15  $\mu$ L de ATP lite (Perkin Elmer) por pocillo y realizando la lectura con un generador de imágenes de microplacas ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). Los datos se registraron como CC<sub>50</sub>.
- 35

#### **Supresión de la replicación del replicón del VHC**

- La activación de TLR7 humano provoca una gran producción de interferón por parte de las células dendríticas plasmacitoides presentes en la sangre humana. Se evaluó el potencial de los compuestos para inducir la producción de interferón observando la actividad antiviral del sistema de replicón del VHC tras la incubación con medios acondicionados procedentes de células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés). El ensayo del replicón del VHC se basa en un constructo de expresión bicistrónico, según describen Lohmann *et al.* (*Science* (1999) 285: 110-113; *Journal of Virology* (2003) 77: 3007-15 3019) con modificaciones descritas por Krieger *et al.* (*Journal of Virology* (2001) 75: 4614-4624). El ensayo empleó la línea celular transfectada de forma estable Huh-7 luc/neo que contenía un ARN codificante de un constructo de expresión bicistrónico que comprendía las regiones NS3-NS5B de origen natural del VHC de tipo 1b traducidas a partir de un sitio interno de entrada al ribosoma (IRES, por sus siglas en inglés) del virus de la encefalomiocarditis (VEMC), precedidas por un gen indicador (luciferasa de luciérnaga) y un gen marcador seleccionable (neoR, neomicina-fosfotransferasa). El constructo estaba flanqueado por NTR (regiones no traducidas) 5' y 3' del VHC de tipo 1b. El cultivo continuado de las células con replicón en presencia de G418 (neoR) depende de la replicación del ARN del VHC. Las células con replicón transfectadas de forma estable que replican el ARN del VHC de forma autónoma y hasta niveles elevados, las cuales codifican luciferasa entre otras, se utilizaron para analizar los medios de cultivos celulares acondicionados.
- 40
- 45
- 50

- Resumiendo, se prepararon PBMC a partir de capas leucocitarias de al menos dos donantes utilizando un protocolo estándar de centrifugación de Ficoll. Las PBMC aisladas se volvieron a suspender en medio RPMI suplementado con un 10% de suero AB humano y se dispensaron 2 x 10<sup>5</sup> células/pocillo en placas de 384 pocillos que contenían los compuestos (70  $\mu$ L de volumen total). Después de incubarlas durante toda la noche, se transfirieron 10  $\mu$ L de sobrenadante a placas de 384 pocillos que contenían 2.2 x 10<sup>3</sup> células con replicón/pocillo en 30  $\mu$ L (que se habían
- 55

colocado en las placas el día anterior). Después de 24 horas de incubación, se midió la replicación mediante el análisis de la actividad luciferasa utilizando 40 µL/pocillo de sustrato Steady Lite Plus (Perkin Elmer) y se midió con un generador de imágenes de microplacas ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). La actividad inhibitoria de cada compuesto en las células Huh7-luc/neo se indicó como valores de CE<sub>50</sub>, que se define como la concentración del compuesto aplicada a las PBMC que provoca una reducción del 50% de la actividad luciferasa, que a su vez indica el grado de replicación del ARN del replicón cuando se transfiere una cantidad definida de medio de cultivo de PBMC. Se utilizó el interferón α-2a recombinante (Roferón-A) como compuesto de control estándar.

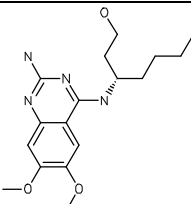
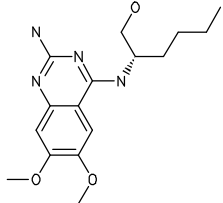
Actividad biológica de los compuestos de fórmula (I). Todos los compuestos presentaron una CC<sub>50</sub> > 24 µM en el ensayo HEK 293 TOX descrito anteriormente.

**10 Activación de elementos promotores de ISRE**

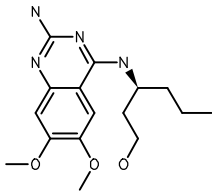
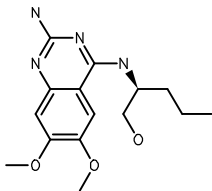
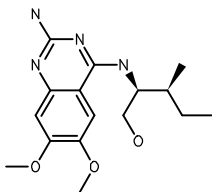
También se evaluó el potencial de los compuestos para inducir IFN-I midiendo la activación de elementos de respuesta estimulados por interferón (ISRE, por sus siglas en inglés) por parte de medios acondicionados de PBMC. El elemento ISRE de secuencia GAACTGAACT es muy sensible al factor de transcripción STAT1-STAT2-IRF9, que se activa cuando el IFN-I se une a su receptor IFNAR (Clontech, PT3372-5W). El plásmido pISRE-Luc de Clontech (ref. 631913) contiene 5 copias de este elemento ISRE seguidas de la luciferasa de luciérnaga ORF. Se estableció una línea celular HEK293 transfectada de forma estable con pISRE-Luc (HEK-ISRELuc) para analizar los medios de cultivo de células PBMC acondicionadas.

Resumiendo, se prepararon PBMC a partir de capas leucocitarias de al menos dos donantes utilizando un protocolo estándar de centrifugación de Ficoll. Las PBMC aisladas se volvieron a suspender en medio RPMI suplementado con un 10% de suero AB humano y se dispensaron 2 x 10<sup>5</sup> células/pocillo en placas de 384 pocillos que contenían los compuestos (70 µL de volumen total). Después de incubación durante toda la noche, se transfirieron 10 µL de sobrenadante a placas de 384 pocillos que contenían 5 x 10<sup>3</sup> células HEK-ISRELuc/pocillo en 30 µL (que se habían colocado en las placas el día anterior). Después de 24 horas de incubación, se midió la activación de los elementos ISRE mediante el análisis de la actividad luciferasa utilizando 40 µL/pocillo de sustrato Steady Lite Plus (Perkin Elmer) y se midió con un generador de imágenes de microplacas ViewLux ultraHTS (Perkin Elmer). La actividad estimuladora de cada compuesto sobre las células HEK-ISRELuc se indicó como un valor de CME, que se define como la concentración del compuesto aplicada a las PBMC que provoca una actividad luciferasa al menos dos veces superior a la desviación estándar del ensayo. A su vez, la CME indica el grado de activación del ISRE cuando se transfiere una cantidad definida de medio de cultivo de PBMC. Se utilizó el interferón α-2a recombinante (Roferón-A) como compuesto de control estándar.

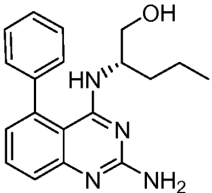
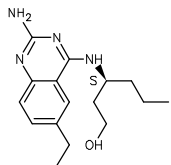
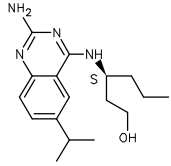
Para un compuesto dado, los valores de CME obtenidos de este ensayo se encontraron en el mismo intervalo que los valores de CE<sub>50</sub> obtenidos del "ensayo de supresión de la replicación del VHC". Por lo tanto, es posible comparar el potencial de los compuestos para inducir IFN-I por parte de PBMC, medido por cualquiera de los 2 ensayos.

#	ESTRUCTURA	TLR7-natural_CME	TLR7-dIRR2_CME	TLR8-natural_CME	TLR8-dIRR2_CME	PBMC-HUH7_CE50
3		4.0 *	0.9	5.5	2.4	0.6
4		NA	2.4	2.6	1.7	3.0

ES 2 663 601 T3

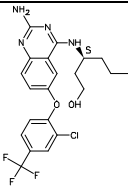
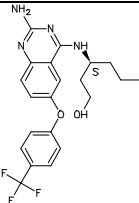
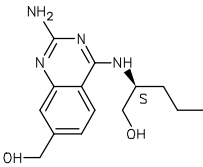
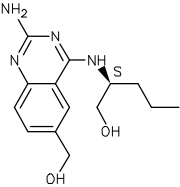
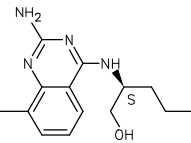
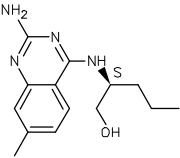
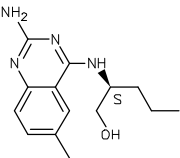
#	ESTRUCTURA	TLR7-natural_CME	TLR7-dIRR2_CME	TLR8-natural_CME	TLR8-dIRR2_CME	PBMC-HUH7_CE50
5		NA	2.6	6.7	2.6	3.3
6		NA	3.4	4.4	2.3	3.0
7		NA	3.8	13.8	9.0	12.4

\* Ensayo llevado a cabo a las 48 horas

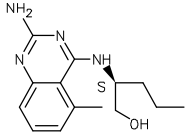
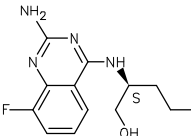
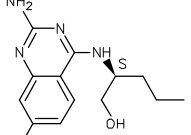
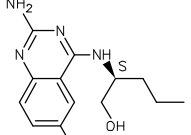
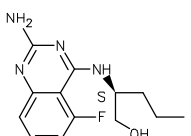
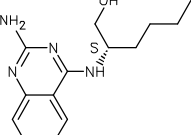
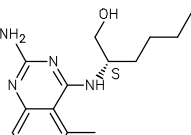
#	Estructura	TLR7-natural (CME)	TLR8-natural (CME)	HEK-ISRE luc (CME)
10		6.08	> 25	2.14
25		0.57	0.45	0.16
26		3.60	1.97	3.07



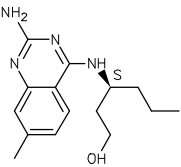
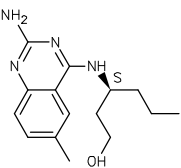
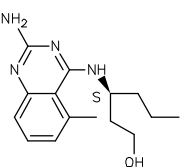
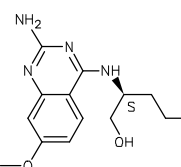
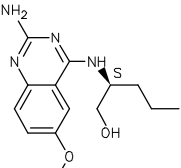
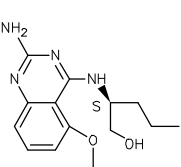
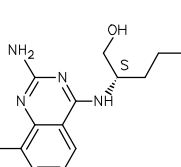
ES 2 663 601 T3

#	Estructura	TLR7-natural (CME)	TLR8-natural (CME)	HEK-ISRE luc (CME)
27		12.95	> 25	14.21
29		11.13	> 25	> 23.81
33		1.88	0.15	0.14
34		10.77	0.27	0.39
43		4.54	0.12	0.59
44		0.43	0.03	0.09
45		0.41	0.03	0.04

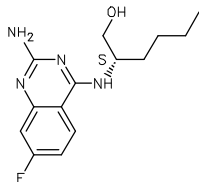
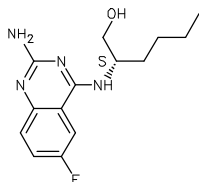
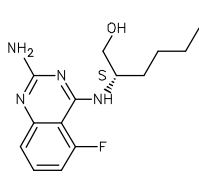
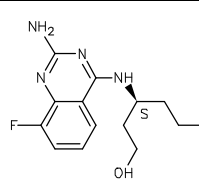
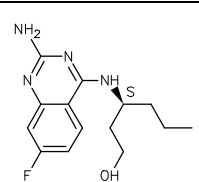
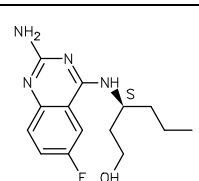
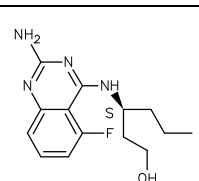
ES 2 663 601 T3

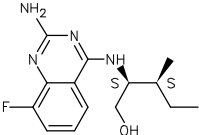
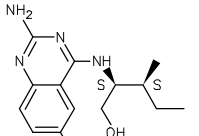
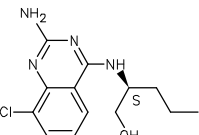
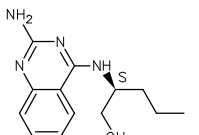
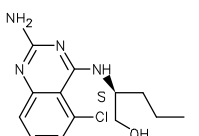
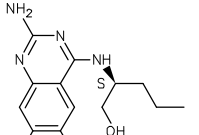
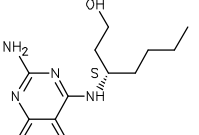
#	Estructura	TLR7-natural (CME)	TLR8-natural (CME)	HEK-ISRE luc (CME)
46		0.77	0.04	0.07
47		0.67	0.03	0.05
48		0.54	0.01	0.02
49		2.09	0.03	0.13
50		0.32	0.00	0.01
51		0.60	0.04	0.09
52		0.41	0.03	0.03

ES 2 663 601 T3

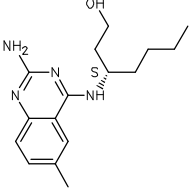
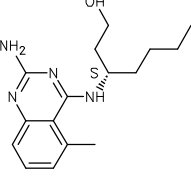
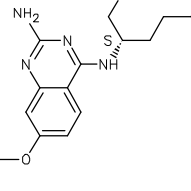
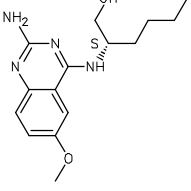
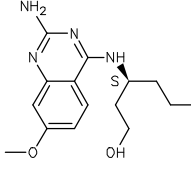
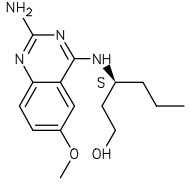
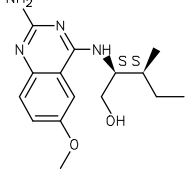
#	Estructura	TLR7-natural (CME)	TLR8-natural (CME)	HEK-ISRE luc (CME)
53		0.06	0.05	0.02
54		0.54	0.43	0.18
55		0.22	0.14	0.06
56		0.39	0.04	0.09
57		10.77	0.53	2.08
58		0.18	0.03	0.04
59		0.29	0.04	0.05

ES 2 663 601 T3

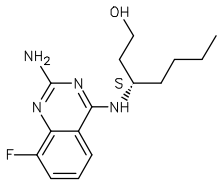
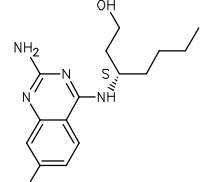
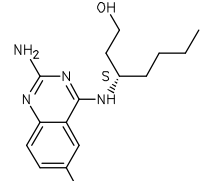
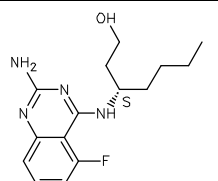
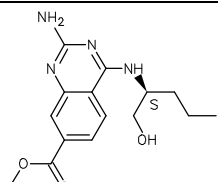
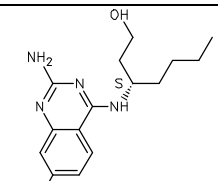
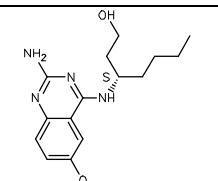
#	Estructura	TLR7-natural (CME)	TLR8-natural (CME)	HEK-ISRE luc (CME)
60		0.23	0.01	0.02
61		0.57	0.05	0.12
62		0.75	0.01	0.03
63		0.29	0.15	0.04
64		0.11	0.03	0.04
65		0.94	0.44	0.56
66		0.22	0.02	0.06

#	Estructura	TLR7-natural (CME)	TLR8-natural (CME)	HEK-ISRE luc (CME)
67		2.50	0.11	0.21
68		4.57	0.33	0.64
69		7.48	0.38	0.73
70		0.41	0.01	0.01
71		1.02	0.01	0.03
72		2.59	0.02	0.05
73		0.03	0.06	0.02

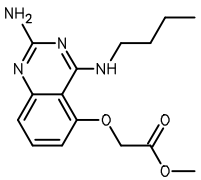
ES 2 663 601 T3

#	Estructura	TLR7-natural (CME)	TLR8-natural (CME)	HEK-ISRE luc (CME)
74		0.44	0.25	0.14
75		0.14	0.06	0.02
76		0.26	0.04	0.09
77		3.48	0.62	1.93
78		0.20	0.13	0.04
79		11.87	2.97	2.07
80		> 25	4.10	> 24

ES 2 663 601 T3

#	Estructura	TLR7-natural (CME)	TLR8-natural (CME)	HEK-ISRE luc (CME)
81		0.11	0.16	0.05
82		0.04	0.03	0.04
83		1.59	0.42	0.37
84		0.44	0.10	0.09
86		2.01	0.22	0.28
87		0.16	0.16	0.04
88		1.85	2.81	0.88

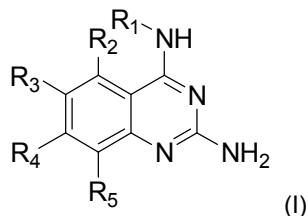
ES 2 663 601 T3

#	Estructura	TLR7-natural (CME)	TLR8-natural (CME)	HEK-ISRE luc (CME)
98		0.21	0.31	NA



## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables, donde

R<sub>1</sub> es alquilo C<sub>4-8</sub> sustituido con un hidroxilo,

10 R<sub>2</sub> es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amina, alquilo C<sub>1-7</sub>, alquilamino C<sub>1-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, (alcoxi C<sub>1-4</sub>)-(alquilo C<sub>1-4</sub>), cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, heterociclo C<sub>4-7</sub>, resto aromático, heterociclo bicíclico, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, amida carboxílica, éster carboxílico cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, dialquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, heterociclo, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo,

15 R<sub>3</sub> es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amina, alquilo C<sub>1-7</sub>, alquenilo C<sub>1-7</sub>, alquinilo C<sub>1-7</sub>, alquilamino C<sub>1-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, (alcoxi C<sub>1-4</sub>)-(alquilo C<sub>1-4</sub>), cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, heterociclo C<sub>4-7</sub>, resto aromático, heterociclo bicíclico, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, ariloxi, heteroariloxi, cetona, nitrilo cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, dialquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, heterociclo, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo,

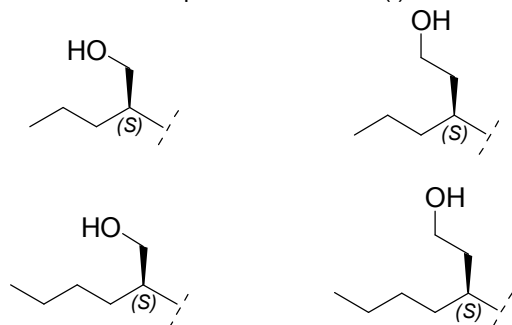
20 R<sub>4</sub> es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, amina, alquilo C<sub>1-7</sub>, alquilamino C<sub>1-7</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, (alcoxi C<sub>1-4</sub>)-(alquilo C<sub>1-4</sub>), cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, heterociclo C<sub>4-7</sub>, heterociclo bicíclico, arilalquilo, heteroarilalquilo, ariloxi, heteroariloxi cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, hidroxilo, amino, alquilo C<sub>1-6</sub>, dialquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilamino C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, ácido carboxílico, éster carboxílico, amida carboxílica, heterociclo, arilo, alquenilo, alquinilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo o nitrilo, y

25

R<sub>5</sub> es hidrógeno, flúor, cloro o metilo con la condición de que

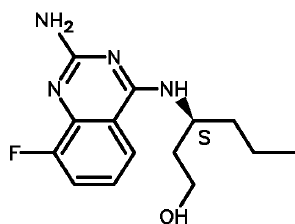
R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub>, R<sub>4</sub>, y R<sub>5</sub> no pueden ser todos H.

2. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, donde R<sub>1</sub> es uno de los siguientes:



30 3. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde R<sub>5</sub> es hidrógeno o flúor.

4. Un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con las reivindicaciones 1-3, que tiene la estructura



5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con una de las reivindicaciones 1-4, junto con uno o más excipientes, diluyentes o portadores farmacéuticamente aceptables.
- 5
6. Un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con una de las reivindicaciones 1-4, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 5 para su uso como un medicamento.
- 10
7. Un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o polimorfos farmacéuticamente aceptables de acuerdo con una de las reivindicaciones 1-4, o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 6 para su uso en el tratamiento de un trastorno en el que interviene la modulación de TLR7 y/o TLR8.