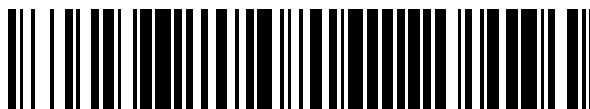


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 687 177**

51 Int. Cl.:

C07D 213/74 (2006.01)

C07D 237/22 (2006.01)

C07D 239/42 (2006.01)

A61K 31/415 (2006.01)

A61K 31/4164 (2006.01)

A61K 31/4192 (2006.01)

A61P 39/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.02.2011** **PCT/US2011/025613**

87 Fecha y número de publicación internacional: **25.08.2011** **WO11103536**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.02.2011** **E 11707268 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.08.2018** **EP 2536690**

54 Título: **Inhibidores de radicales multifuncionales y su uso**

30 Prioridad:

19.02.2010 US 306036 P

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

24.10.2018

73 Titular/es:

**ARIZONA BOARD OF REGENTS, A BODY
CORPORATE OF THE STATE OF ARIZONA
ACTING, FOR AND ON BEHALF OF ARIZONA
STATE UNIVERSITY (100.0%)
1475 N. Scottsdale Road, Skysong-suite 200
Scottsdale, AZ 85257, US**

72 Inventor/es:

**HECHT, SIDNEY;
ARMSTRONG, JEFFREY;
KHDOUR, OMAR;
LU, JUN y
ARCE, PABLO**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

Observaciones:

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

ES 2 687 177 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de radicales multifuncionales y su uso

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de Estados Unidos No. 61/306,036, presentada el 19 de febrero de 2010.

Campo de la invención

La presente divulgación proporciona compuestos biológicamente activos inhibidores de radicales multifuncionales de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, composiciones que comprenden estos compuestos, y una variedad de aplicaciones, tales como tratamiento o supresión de enfermedades asociadas con la función mitocondrial disminuida que resulta en una producción disminuida de ATP y/o estrés oxidativo y/o peroxidación lipídica.

El documento WO 02/00683 A2 se refiere a derivados de 5-pirimidinol y 3-piridinol que actúan como antioxidantes de ruptura de cadena tanto del lípido como de la variedad soluble en agua y que a este respecto son análogos a vitamina E y C.

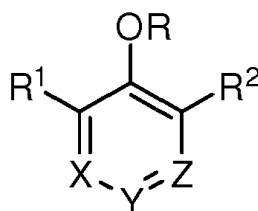
Bogdan Boduszek y Jan S. Wieczorek describen un método para la síntesis de ácido piridin-4-fosfónico (Boduszek and Wieczorek, *Synthesis* 1979, 1979(6): 452-453). Un compuesto descrito en esta publicación es 3,5-dimetil-4-hidroxipiridina.

Takashi Itoh et al. describen la sustitución de 5-halo-1,2,3-triazinas con superóxido generado electrolíticamente (T. Itoh et al., *Tetrahedron*, 47(25): 4221-4518, 1991). Un compuesto descrito por Itoh et al. es 4,6-dimetil-5-hidroxi-1,2,3-triazina.

Resumen de la invención

Las mitocondrias son organelas intracelulares responsables de una serie de transformaciones metabólicas y funciones reguladoras. Producen gran parte del ATP empleado por las células eucariotas. También son la principal fuente de radicales libres y especies reactivas de oxígeno que causan estrés oxidativo. En consecuencia, los defectos mitocondriales son dañinos, particularmente para los tejidos neurales y musculares que tienen altas demandas de nivel de energía. Por lo tanto, los defectos energéticos han sido implicados en formas de trastornos del movimiento, cardiomiopatía, miopatía, ceguera y sordera (DiMauro et al (2001) *Am. J. Med. Genet.* 106, 18-26; Leonard et al. (2000) *Lancet.* 355, 299-304). Hay una serie de enfermedades mitocondriales resultantes de defectos genéticos nucleares y mitocondriales, y las bioquímicas subyacentes de estas enfermedades tienden a ser bastante similares. Incluyen una mayor producción de lactato, disminución de la respiración y la producción de ATP, y reflejan las consecuencias del estrés oxidativo. Esta invención describe nuevos compuestos para el tratamiento o la supresión de enfermedades asociadas con una función mitocondrial disminuida que da como resultado una producción disminuida de ATP y/o estrés oxidativo y/o peroxidación de lípidos. La invención también describe el uso de estos compuestos para el tratamiento de trastornos mitocondriales, que incluyen, pero no se limitan a la ataxia de Friedreich, la neuropatía óptica hereditaria de Leber, el síndrome de Kearns-Sayre, la encefalomiopatía mitocondrial con acidosis láctica y episodios similares al accidente cerebrovascular y, más en general, cualquier enfermedad asociada con deterioro de la producción de energía y la función mitocondrial.

Por lo tanto, en un aspecto, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (I):



(I)

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Otro aspecto de la divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos y sales de la divulgación y un vehículo, excipiente o diluyente apropiado. La naturaleza exacta del vehículo, excipiente o diluyente dependerá del uso deseado para la composición, y puede variar desde ser adecuado para usos veterinarios hasta ser adecuado para uso humano. Las composiciones pueden incluir opcionalmente uno o más compuestos adicionales adecuados para un uso.

Otro aspecto de la divulgación proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento o la supresión de enfermedades asociadas con una función mitocondrial disminuida que da como resultado una producción disminuida de ATP y/o estrés oxidativo y/o peroxidación de lípidos.

- 5 Otro aspecto de la divulgación proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento o la supresión de enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en ataxia de Friedreich, neuropatía óptica hereditaria de Leber, síndrome de Kearns-Sayre, encefalomiopatía mitocondrial con acidosis láctica y los episodios similares al accidente cerebrovascular y el síndrome de Leigh.

- 10 Otro aspecto de la divulgación proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento o la supresión de enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en obesidad, aterosclerosis, enfermedad de Parkinson, cáncer, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio (MI), enfermedad de Alzheimer, Enfermedad de Huntington, esquizofrenia, trastorno bipolar, síndrome de X frágil, síndrome de fatiga crónica y síndrome de Leigh.

- 15 Los compuestos de la invención aumentan la concentración de ATP en células deficientes en CoQ₁₀. Además, los compuestos de la invención inhiben la peroxidación de lípidos y evitan la producción de especies de oxígeno reactivo (ROS) en células agotadas del antioxidante glutatión (GSH) usando el dietil maleato químico. Además, todos estos compuestos evitan la muerte celular dependiente de ROS después de que las células se agotaron en GSH. El potencial antioxidante de los compuestos descritos anteriormente aumenta significativamente en comparación con el de α -tocoferol e idebenona; por lo tanto, estos compuestos tienen el potencial de una eficacia mejorada en aplicaciones clínicas en comparación con α -tocoferol e idebenona.

- 20 Descripción de las diversas vistas de los dibujos

- Figuras 1A-C. Efecto de los desactivadores de radicales multifuncionales (MRQ) sobre la peroxidación de lípidos inducida por radicales peroxilo generados a partir de la descomposición térmica de AAPH en liposomas de fosfolípidos en regulador de fosfato a 40°C. La potencia de estos MRQ se mide directamente por su capacidad para retener la fluorescencia de C₁₁-BODIPY^{581/591} en presencia de AAPH. Las unidades de fluorescencia relativa se normalizan al 100% de intensidad. Una repetición independiente dio resultados idénticos. Figura 1A, Comparación de las actividades antioxidantes del compuesto C y α -tocoferol. El Compuesto C previene la peroxidación de lípidos de una manera dependiente de la concentración con una actividad de barrido mucho más alta que el α -tocoferol. Figura 1B, el núcleo redox del Compuesto C que carece de la cadena lateral de fitol (1,4,6-trimetil-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-ol) es menos eficaz que el propio compuesto C. Figura 1C, el Compuesto A muestra una protección completa a 15 μ M, y es más efectiva en la prevención de la peroxidación de lípidos que la idebenona y su forma reducida (Idebenol). El núcleo redox del compuesto A, que es el compuesto 12, es menos activo que el compuesto A (con cadena lateral alifática).

- Figura 2. Histogramas citométricos de flujo representativos que muestran la producción de ROS en células CEM. Las células CEM se trataron con control solo con medio (nivel de ROS basal); maleato de dietilo (DEM) (5 mM) (estrés oxidativo inducido por depleción de glutatión), maleato de dietilo (5 mM) + compuesto MRQ A (5 μ M); maleato de dietilo (5 mM) + compuesto MRQ B (5 μ M); maleato de dietilo (5 mM) + idebenona (5 μ M); maleato de dietilo (5 mM) + compuesto MRQ C; maleato de dietilo (5 mM) + idebenona (5 μ M) o maleato de dietilo (5 mM) + α -tocoferol durante 30 minutos, lavados en regulador HSSB. Las células se cargaron con diacetato de diclorofluoresceína (10 μ M) durante 20 min, y la fluorescencia verde se midió mediante citometría de flujo usando el canal FL1-H. La figura muestra un ejemplo representativo de tres experimentos independientes. En cada análisis, se registraron 10000 eventos. El aumento de la fluorescencia de DCF, una medida de la oxidación intracelular y la producción de ROS, se determinó mediante un cambio en la fluorescencia de DCF a la derecha en el eje X del histograma FACS. Los resultados después de la activación de las poblaciones de células para el aumento de la fluorescencia espectáculo DCF muestran que los MRQs A y B son significativamente más efectivos en el bloqueo de la producción de maleato de dietilo inducida por ROS en comparación con idebenona o su forma reducida (Idebenol), mientras que un compuesto C de α -tocoferol de tipo analógico fue más eficaz en la protección de las células CEM agotadas con glutatión que el α -tocoferol.

- Figura 3. Histogramas citométricos de flujo representativos que muestran la producción de ROS en células CEM. Las células CEM se trataron con control solo con medio (nivel de ROS basal); maleato de dietilo (DEM) (5 mM) (estrés oxidativo inducido por depleción de glutatión), maleato de dietilo (5 mM) + compuesto MRQ A (1 μ M); maleato de dietilo (5 mM) + compuesto MRQ B (1 μ M); maleato de dietilo (5 mM) + idebenol (1 μ M); durante 30 minutos, lavado en regulador HSSB. Las células se cargaron con diacetato de diclorofluoresceína (10 μ M) durante 20 minutos, y la fluorescencia verde se midió mediante citometría de flujo usando el canal FL1-H. La figura muestra un ejemplo representativo de tres experimentos independientes. En cada análisis, se registraron 10000 eventos. El aumento de la fluorescencia de DCF, una medida de la oxidación intracelular y la producción de ROS, se determinó mediante un cambio en la fluorescencia de DCF a la derecha en el eje X del histograma FACS. El compuesto A nuevamente proporcionó protección completa cuando se usó a una concentración de 1 μ M, mientras que el compuesto B y el idebenol fueron menos efectivos a esta concentración.

Figura 4. Comparación de los efectos citoprotectores de MRQs A y B (estructuras mostradas en la Figura 2) en comparación con idebenona. Viabilidad de células CEM tratadas con maleato de dietilo durante 3 h después del

tratamiento previo con diversas concentraciones de idebenona o MRQs A y B durante 2 h. Ensayo de citotoxicidad determinado por exclusión con azul de tripano. Las EC_{50} (concentración eficaz que previene el 50% de la muerte celular) para el compuesto A, el compuesto B y la idebenona fueron 203 ± 23 nM, 300 ± 22 nM y 765 ± 36 nM, respectivamente. Los datos se expresan como media \pm S.E.M (n=3).

Figura 5. Curvas de dosis/respuestas típicas para idebenona, α -tocoferol, compuesto A, núcleo rédox del compuesto A (compuesto 12) y compuesto C. Se midió la viabilidad celular después del tratamiento con BSO mediante fluorescencia de calceína-AM de células vivas. La viabilidad celular es relativa a fibroblastos de FRDA no tratados con BSO y se representa gráficamente frente a la concentración. Las EC_{50} (concentración eficaz que previene el 50% de la muerte celular) para el compuesto A, el compuesto C, la idebenona y el α -tocoferol fueron de 390 ± 28 nM, 833 ± 75 nM, 710 ± 80 nM y 1030 ± 116 nM respectivamente. Los datos mostrados son de un experimento típico, repetido al menos 3 veces, y cada punto representa la media \pm DE de tres determinaciones.

Figura 6. Reducción del citocromo c por superóxido (generado por xantina oxidasa) (círculo abierto), Idebenol (triángulo sólido), compuesto A (cuadrado sólido) y compuesto B (cuadrado abierto).

Figura 7A. Representante perfil de superposición de histogramas de citometría de flujo que muestra la producción de ROS en células CEM después del pretratamiento con los compuestos indicados (0.5, 1 o 5 μ M). La figura muestra un ejemplo representativo de tres experimentos independientes. El aumento de la fluorescencia de DCF, una medida de la oxidación intracelular y la producción de ROS, se determinó mediante un cambio en la fluorescencia de DCF a la derecha en el eje x del histograma de FACS. Los datos muestran que los compuestos A y B fueron más efectivos que la idebenona en todas las concentraciones probadas.

Figura 7B. Una representación gráfica en barras de la cuantificación del % de intensidad de fluorescencia media en el control tratado (DEM) y las células CEM tratadas con fármaco calculadas usando el software CellQuest. Los datos se expresan como medias \pm SE (n=3). Los datos muestran que los compuestos A y B fueron más efectivos que la idebenona en todas las concentraciones probadas.

Figura 8. Una representación gráfica de barras de la producción de ROS como el % de intensidad de fluorescencia media en el control tratado (DEM) y las células CEM tratadas con fármaco después del pretratamiento con los compuestos indicados (0.5, 1 o 5 μ M). Las intensidades de fluorescencia en las células de control tratadas se expresan como 100%. La figura muestra un ejemplo representativo de tres experimentos independientes. Los datos se expresan como medias \pm SE (n=3). El compuesto más efectivo para suprimir ROS fue D.

Figura 9. Superposición representativa de histogramas citométricos de flujo que muestra la producción de ROS en células CEM. Después del pretratamiento con los compuestos indicados (5 μ M) para 4 (panel a) o 24 h (panel b). El panel inferior izquierdo (c) muestra un gráfico de barras de los valores medios de fluorescencia de DCF (a.u.) registrados por FACS y representa las medias geométricas de los perfiles de citograma de flujo anteriores calculados usando el software CellQuest. Los datos se expresan como medias \pm SE (n=3). El compuesto C muestra una mejor protección contra la producción de ROS que el α -tocoferol después de una preincubación de 4 horas, mientras que los núcleos rédox del compuesto C (núcleo C de piridinol) y α -tocoferol (trolox) que carecen de la cadena lateral fitilo no mostraron protección.

Figura 10. Superposiciones de histogramas citométricos de flujo representativos que muestran la producción de ROS en células CEM después del pretratamiento con los compuestos indicados (a una concentración de 1 μ M) durante 1, 3 o 6 horas, con o sin maleato de dietilo 5 mM (DEM). La figura muestra un ejemplo representativo de tres experimentos independientes. El aumento de la fluorescencia de DCF, una medida de la oxidación intracelular y la producción de ROS, se determinó mediante un cambio en la fluorescencia de DCF a la derecha en el eje x del histograma de FACS. También se muestra un gráfico de barras de fluorescencia de DCF media (a.u.) registrada por FACS y representa los medios geométricos de los perfiles de citograma de flujo anteriores calculados usando el software CellQuest. Los datos se expresan como medias \pm SE (n=3). El compuesto C fue claramente más eficaz que el α -tocoferol en la supresión de ROS.

Figura 11. Análisis representativos de parcela de puntos de densidad de color bidimensional citométrica de flujo del potencial de membrana mitocondrial $\Delta\psi_m$ en células CEM después del pretratamiento con los compuestos indicados (0.5, 1 o 2.5 μ M) durante la noche. El porcentaje de células con $\Delta\psi_m$ intacto se indica en el cuadrante superior derecho de los subtítulos. La parte inferior de la figura muestra un gráfico de barras de significa el porcentaje de células con $\Delta\psi_m$ intacto registrado por FACS. Los datos se expresan como medias \pm SE (n=3). Los compuestos A y B fueron claramente más eficaces en el mantenimiento del potencial de membrana mitocondrial a partir de la oxidación que la idebenona, o los núcleos rédox de A y B (es decir, los compuestos que carecen de las cadenas laterales).

Figura 12. Análisis de parcela de puntos de densidad de color bidimensional de citometría de flujo representativa del potencial de membrana mitocondrial $\Delta\psi_m$ en células CEM después del pretratamiento con los compuestos indicados (0.5, 1 o 2.5 μ M) durante la noche. El porcentaje de células con $\Delta\psi_m$ intacto se indica en el cuadrante superior derecho de los subtítulos. La parte inferior de la figura muestra un gráfico de barras de significa el porcentaje de células con $\Delta\psi_m$ intacto registrado por FACS. Los datos se expresan como medias \pm SE (n=3). Los compuestos D fueron los más efectivos para mantener el potencial de la membrana mitocondrial a partir de la oxidación.

Figuras 13 A-F. Representativo de citometría de flujo bidimensional densidad de color densidad gráfica de puntos de potencial de membrana mitocondrial $\Delta\psi_m$ en células CEM después del pretratamiento con los compuestos indicados (1, 2.5 o 5 μM) durante 4 horas (Figura 13 A, Figura 13 C, Figura 13 E) o 24 horas (Figura 13 B, Figura 13 D, Figura 13 F). El porcentaje de células con $\Delta\psi_m$ intacto se indica en el cuadrante superior derecho de los subtítulos. La parte inferior derecha de cada figura muestra un gráfico de barras de los medios el porcentaje de células con $\Delta\psi_m$ intacto registrado por FACS. Los datos se expresan como medias \pm SE (n=3). El compuesto C fue más efectivo que el tocoferol en la preservación del potencial de membrana mitocondrial después del pretratamiento de 4 horas, y es comparable al tocoferol después del pretratamiento de 24 horas.

Figura 14. Prueba de exclusión de Azul de tripano. Las células CEM se incubaron en medio RPMI (control) \pm compuesto A, compuesto B, compuesto D, compuesto G o idebenona durante la noche seguido de tratamiento con 5 mM de maleato de dietilo (DEM). La viabilidad celular se determinó por análisis de exclusión con azul de tripano a las 3 h después del tratamiento con DEM. Los compuestos A, B y D fueron todos bastante efectivos para mantener la viabilidad celular después del tratamiento con DEM, siendo D el más eficaz.

Figura 15. Prueba de exclusión de Azul de tripano. Las células CEM se incubaron en medio RPMI (control) \pm compuesto C, núcleo rédox compuesto, α -tocoferol o trolox durante toda la noche seguido de tratamiento con maleato de dietilo 5 mM (DEM). La viabilidad celular se determinó por análisis de exclusión con azul de tripano a las 3 h después del tratamiento con DEM. Los compuestos C y tocoferol fueron eficaces para mantener la viabilidad celular después del tratamiento con DEM, siendo el compuesto C algo más efectivo. Los núcleos rédox de estos compuestos fueron bastante ineficaces.

Figura 16. Prueba de exclusión de Azul de tripano. Las células CEM se incubaron en medio RPMI (control) \pm acetato de compuesto C (35) o α -tocoferol durante toda la noche seguido de tratamiento con 5 mM de maleato de dietilo (DEM). La viabilidad celular se determinó por análisis de exclusión con azul de tripano a las 3 h después del tratamiento con DEM. Los profármacos de acetato de los compuestos C y tocoferol fueron eficaces para mantener la viabilidad celular después del tratamiento con DEM, siendo el acetato del compuesto C algo más eficaz.

Figura 17. Ensayo de viabilidad de citometría de flujo usando el kit de viabilidad/vida/muerte/citotoxicidad (Molecular Probes) en donde las células de leucemia CEM humanas se incubaron durante la noche en medio RPMI solo (control) o con α -tocoferol (α -TOH), compuesto C, núcleo rédox de compuesto C o trolox y luego tratado con DEM durante 3 horas. Los compuestos C y tocoferol fueron eficaces para mantener la viabilidad celular después del tratamiento con DEM, siendo el compuesto C algo más efectivo. Los núcleos rédox de estos compuestos fueron bastante ineficaces.

Figura 18 A. Efecto del compuesto C en la peroxidación de lípidos inducida por radicales peroxilo generados a partir de la descomposición térmica de AAPH en liposomas de fosfolípidos en regulador de fosfato a 40°C. La potencia se midió directamente por su capacidad para conservar la fluorescencia de C_{11} -BODIPY^{581/591} en presencia de 10 mM de AAPH. Las unidades de fluorescencia relativa se normalizan al 100% de intensidad. El compuesto C evita la peroxidación de lípidos de una manera dependiente de la concentración con actividad de barrido mucho mayor que la del núcleo rédox de α -tocoferol y compuesto C.

Figura 18 B. El compuesto C resultó ser más eficaz en la prevención de la formación de TBARS en membranas mitocondriales estresadas con H_2O_2 (generado usando glucosa oxidasa (GO)) en membranas mitocondriales del corazón bovino.

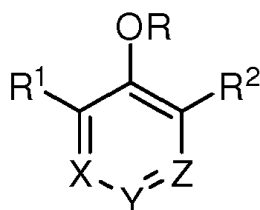
Figura 18 C. Peroxidación de lípidos en células de leucemia CEM reducidas de glutatión. Superposición representativa de histogramas citométricos de flujo que muestra la peroxidación de lípidos en células CEM después del pretratamiento con los compuestos indicados (concentraciones de 2.5 o 1 μM) para 4 (panel a) o 24 horas (panel b). El panel inferior izquierdo (c) muestra un gráfico de barras de la fluorescencia media C_{11} -BODIPY^{581/591} - verde (forma oxidada) (a.u.) registrada por FACS y representa los medios geométricos de los perfiles de citograma de flujo anteriores calculados usando el software CellQuest. Los datos se expresan como medias \pm SE (n=3). El compuesto C mostró una mejor protección contra la peroxidación de lípidos que el α -tocoferol en una concentración y en función del tiempo, mientras que el núcleo rédox del compuesto C y el α -tocoferol (trolox) no mostraron protección.

Figura 19. Análisis por citometría de flujo de células CCRF-CEM teñidas con DCFH-DA durante 20 min, y pretratadas con los diferentes compuestos (Idebenona, compuesto L, compuesto J, compuesto I, compuesto K y compuesto H) a 0.25 μM para 15 horas, y luego con el maleato de dietilo (DEM) eliminador de glutatión durante 40 minutos. Los compuestos más efectivos para suprimir ROS en este ensayo fueron los compuestos I y J, que son derivados de hidrocarburos de cadena lateral del compuesto A.

Figura 20. Niveles totales de ATP intracelular en linfocitos normales y deficientes en CoQ_{10} medidos utilizando la reacción luciferina-luciferasa.

Descripción detallada de la invención

En un aspecto, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (I):



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

R es hidrógeno, o -CO(alquilo C₁-C₆);

5 R¹ es alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆ o alcoxi C₁-C₆, cada uno opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados entre halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁶, -NR⁶₂, -CO₂R⁶ y -CONR⁶₂; en donde cada R⁶ es independientemente hidrógeno o alquilo C₁-C₆;

10 R² es alquilo C₇-C₂₀, alquenilo C₂-C₂₀ o alquinilo C₂-C₂₀, en donde el alquilo C₇-C₂₀ está opcionalmente sustituido con uno a cuatro -OR⁷, en donde cada R⁷ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆), y en donde cada uno de alquenilo C₂-C₂₀ y alquinilo C₂-C₂₀ está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; en donde cada R⁷ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆);

X es CR³ o N; en donde R³ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

15 Y es CR⁴ o N; en donde R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷, -CON(R⁷)₂, anillo arilo, heteroarilo o heterociclilo, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; y

Z es CR⁵ o N; en donde R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂, o

en donde R⁴ y R⁵ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo heteroarilo o heterociclilo de 5-7 miembros, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂,

20 con la condición de que al menos uno de X, Y y Z sea N.

En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (I) en donde

R es hidrógeno, o -CO(alquilo C₁-C₆);

25 R¹ es alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆ o alcoxi C₁-C₆, cada uno opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados entre halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁶, -NR⁶₂, -CO₂R⁶ y -CONR⁶₂; en donde cada R⁶ es independientemente hidrógeno o alquilo C₁-C₆;

30 R² es alquilo C₇-C₂₀, alquenilo C₂-C₂₀ o alquinilo C₂-C₂₀, en donde el alquilo C₇-C₂₀ está opcionalmente sustituido con uno a cuatro -OR⁷, en donde cada R⁷ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆), y en donde cada uno de alquenilo C₂-C₂₀ y alquinilo C₂-C₂₀ está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; en donde cada R⁷ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆);

X es CR³ o N; en donde R³ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

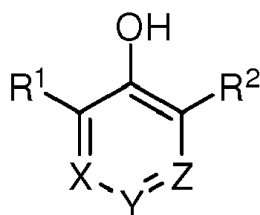
Y es CR⁴ o N; en donde R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷, -CON(R⁷)₂, anillo heteroarilo o heterociclilo, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; y

35 Z es CR⁵ o N; en donde R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂, o

en donde R⁴ y R⁵ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo heteroarilo o heterociclilo de 5-7 miembros, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂,

con la condición de que al menos uno de X, Y y Z sea N.

40 En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (I) en donde R es hidrógeno. Tales compuestos son en lo sucesivo compuestos de fórmula (II):



(II)

En otra realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmulas (I) o (II), en donde R¹ es alquilo C₁-C₆, opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados entre halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁶, -NR⁶₂, -CO₂R⁶ y -CONR⁶₂, y en donde cada R⁶ es independientemente hidrógeno o alquilo C₁-C₆.

En aún otra realización, la divulgación proporciona compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I) o (II), en donde R¹ es alquilo C₁-C₆ no sustituido. En una realización, R¹ es metilo.

En aún otra realización, la divulgación proporciona compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I) o (II), en donde R¹ es alcoxi C₁-C₆ no sustituido.

En una realización, la divulgación proporciona compuestos como se describió anteriormente con referencia a cualquiera de las fórmulas (I) o (II), en donde R² es alquilo C₇-C₂₀ o alquenilo C₂-C₂₀, en donde alquilo C₇-C₂₀ está opcionalmente sustituido con de uno a cuatro -OR⁷, en donde cada R⁷ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆), y en donde el alquenilo C₂-C₂₀ está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂, en donde cada R⁷ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆).

Otra realización de la divulgación proporciona compuestos de fórmulas (I) o (II), en donde R² es alquilo C₇-C₂₀ opcionalmente sustituido con uno a cuatro grupos -OR⁷, en donde cada R⁷ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁-C₆, o halo (alquilo C₁-C₆).

En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmulas (I) o (II), en donde R² es alquilo C₇-C₂₀ opcionalmente sustituido con uno a cuatro grupos -OH. Otra realización proporciona compuestos en los que R² es hidroxidecilo o 3,7,11,15-tetrametil-3-hidroxihexadecanilo.

En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmulas (I) o (II), en donde R² es alquilo C₇-C₂₀. Otra realización proporciona compuestos en donde R² es decilo o hexadecilo.

En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmulas (I) o (II), en donde

X es CR³ o N; en donde R³ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

Y es CR⁴ o N; en donde R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂; y

Z es CR⁵ o N; en donde R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂, o

en donde R⁴ y R⁵ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo heteroarilo o heterociclilo de 5-7 miembros, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; y

R, R¹ y R² son como se definieron anteriormente con referencia a cualquier realización anterior.

En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (III) en donde

X es N;

Y es CR⁴, en donde R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

Z es N; y

R, R¹ y R² son como se han definido anteriormente con referencia a cualquiera de las realizaciones anteriores.

En otra realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (III) en donde R⁴ es -OR⁷, o -NR⁷₂. Todavía otra realización proporciona compuestos de fórmula (III) en donde R⁴ es -OH, -O(alquilo C₁-C₆), -NH₂, -NH (alquilo C₁-C₆) o -N(alquilo C₁-C₆)₂. Una realización de la divulgación proporciona compuestos de fórmula (III) en donde R⁴ es -OCH₃ o -N(CH₃)₂. Otra realización proporciona compuestos de fórmula (III) en donde R⁴ es -N(CH₃)₂.

En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (IV) en donde

X es CR³, en donde R³ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

Y es CR⁴, en donde R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

Z es N; y

- 5 R, R¹ y R² son como se han definido anteriormente con referencia a cualquiera de las realizaciones anteriores.

En otra realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (IV) en donde R³ es hidrógeno o -OCH₃.

En una realización, los compuestos de fórmula (IV) son aquellos en los que R⁴ es -OR⁷, o -NR⁷₂. Todavía otra realización proporciona compuestos de fórmula (IV) en donde R⁴ es -OH, -O(alquilo C₁-C₆), -NH₂, -NH (alquilo C₁-C₆) o -N(alquilo C₁-C₆)₂. Una realización de la divulgación proporciona compuestos de fórmula (IV) en donde R⁴ es -OCH₃ o -N(CH₃)₂. Otra realización proporciona compuestos de fórmula (IV) en donde R⁴ es -N(CH₃)₂.

10

En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (V) en donde

X es N; Y es CR⁴; y Z es CR⁵, en donde

R⁴ y R⁵ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo heteroarilo o heterociclilo de 5-7 miembros, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo (alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; y

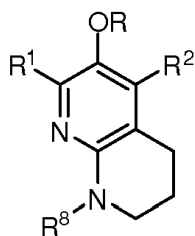
15

R, R¹ y R² son como se han definido anteriormente con referencia a cualquiera de las realizaciones anteriores.

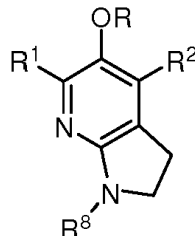
En otra realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (V) en donde R⁴ y R⁵ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo heteroarilo o heterociclilo de 5 o 6 miembros, que contiene al menos un átomo de nitrógeno, y es opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados entre halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂.

20

Una realización de la divulgación proporciona compuestos de fórmula (VI) y (VII):



(VI)



(VII)

R⁸ es hidrógeno o alquilo C₁-C₆; y R, R¹ y R² son como se han definido anteriormente con referencia a cualquiera de las realizaciones anteriores.

- 25 En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (VIII), en donde

X es CR³ o N; en donde R³ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

Y es un anillo arilo, heteroarilo o heterociclilo, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados entre halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷, y -CON(R⁷)₂; y

Z es CR⁵ o N; en donde R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂, o

30

en donde R⁴ y R⁵ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo heteroarilo o heterociclilo de 5-7 miembros, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; y

R, R¹ y R² son como se definieron anteriormente con referencia a cualquier realización anterior.

En otra realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (VIII), en donde

- 35 X es CR³ o N; en donde R³ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

Y es un anillo heteroarilo o heterociclilo, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados entre halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; y

Z es CR⁵ o N; en donde R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂, o

en donde R⁴ y R⁵ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo heteroarilo o heterociclilo de 5-7 miembros, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(C₁-C₆) alquilo), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; y

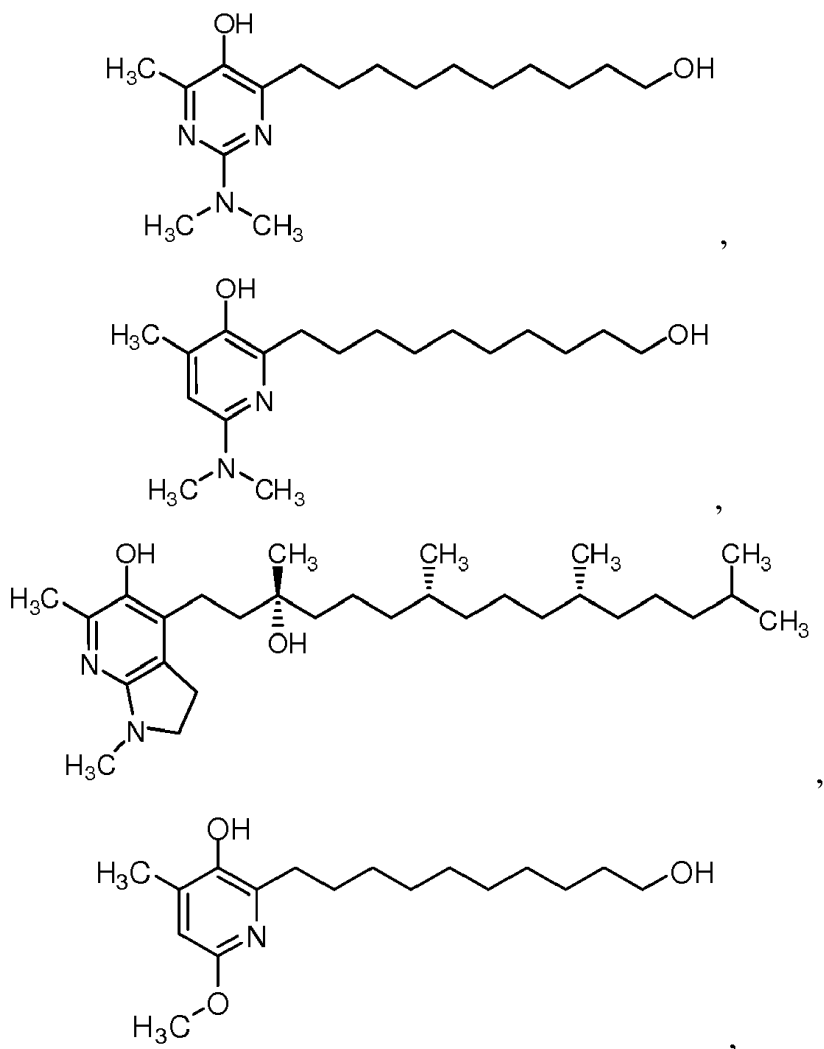
- 5 R, R¹ y R² son como se definieron anteriormente con referencia a cualquier realización anterior.

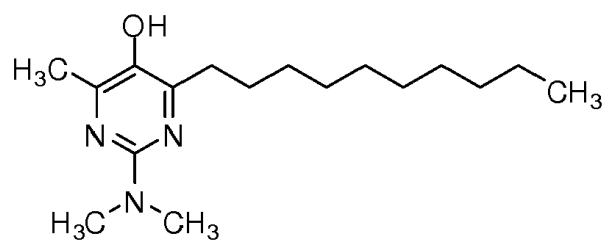
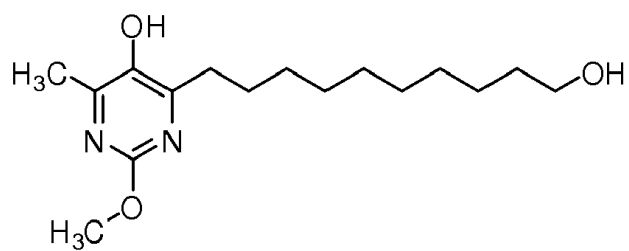
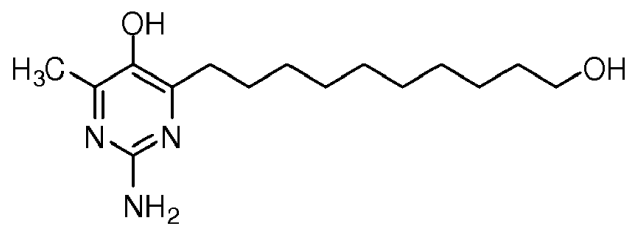
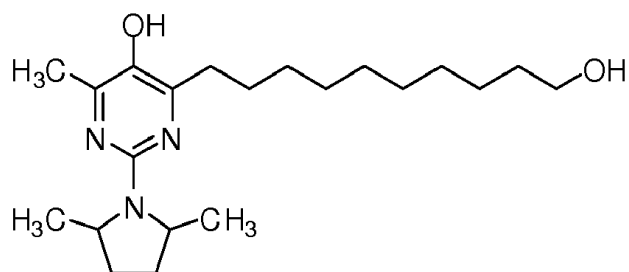
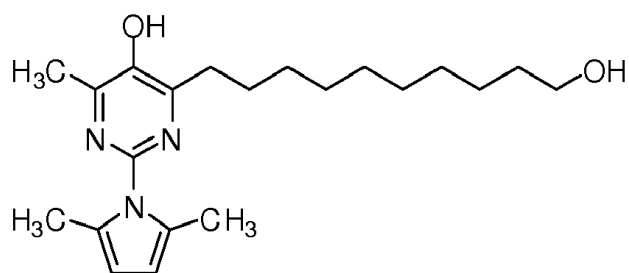
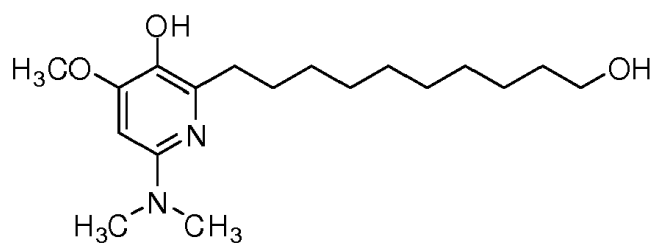
En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (VIII), en donde, Y es un anillo heteroarilo, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados entre halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂. Otra realización proporciona compuestos en los que el anillo de heteroarilo es heteroarilo que contiene nitrógeno. En una realización, el anillo de heteroarilo es pirrolilo.

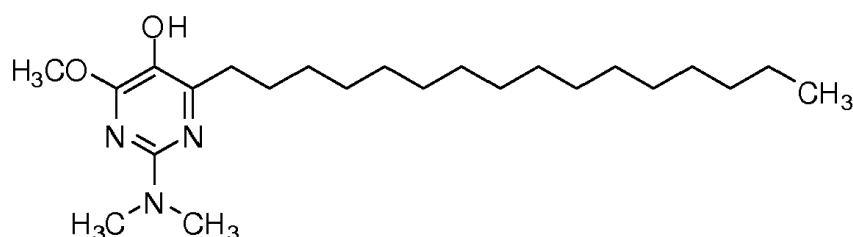
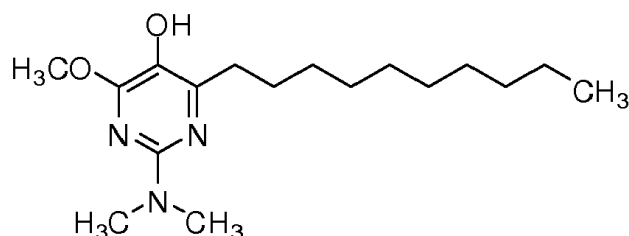
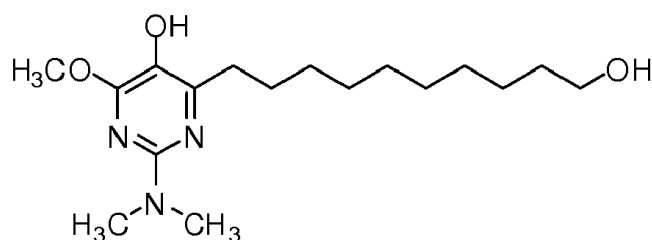
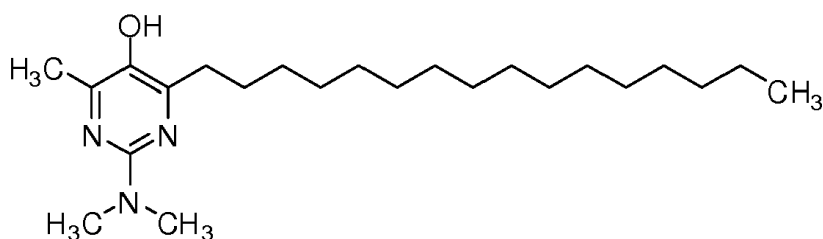
- 10 En una realización, la divulgación proporciona compuestos de fórmula (VIII), en donde, Y es un anillo heterociclilo, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados entre halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂. Otra realización proporciona compuestos en los que el anillo de heterociclilo es heterociclilo que contiene nitrógeno. En una realización, el anillo de heterociclilo es pirrolidinilo.

En otra realización, la divulgación proporciona los siguientes compuestos:

15







5 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En otra realización, la divulgación proporciona sales farmacéuticamente aceptables de compuestos de la divulgación. En general, las sales farmacéuticamente aceptables son aquellas sales que retienen sustancialmente una o más de las actividades farmacológicas deseadas del compuesto original y que son adecuadas para la administración a humanos. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos o ácidos orgánicos. Los ácidos inorgánicos adecuados para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen, a modo de ejemplo y sin limitación, hidrohaluroácidos (por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, yodhídrico, etc.), ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares. Los ácidos orgánicos adecuados para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen, a modo de ejemplo y sin carácter limitante, ácido acético, ácido monofluoroacético, ácido difluoroacético, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido oxálico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido palmítico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácidos alquilsulfónicos (por ejemplo, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, etc.), ácidos arilsulfónicos (por ejemplo, ácido bencenosulfónico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, etc.), ácido 4-metilbencilo[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptonico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido lauril sulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico y similares. Por ejemplo, en una realización, la sal es una sal de ácido trifluoroacético, sal de ácido p-toluenosulfónico o sal de hidrocloreuro.

25 Las sales farmacéuticamente aceptables también incluyen sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original se reemplaza por un ion inorgánico (por ejemplo, un ion de metal alcalino tal como Na^+ , K^+ o Li^+ , un ion alcalinotérreo tal como Ca^{2+} o Mg^{2+} , un ion aluminio, o un ion amonio) o se coordina con una base orgánica (por ejemplo, etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, N-metilglucamina, morfina, piperidina, dimetilamina, dietilamina, etc.).

Los compuestos descritos en el presente documento, así como las sales de los mismos, también pueden estar en forma de hidratos, solvatos y N-óxidos, como es bien conocido en la técnica.

Aplicaciones terapéuticas

Los compuestos de la divulgación son útiles, por ejemplo, para tratar o suprimir enfermedades asociadas con una función mitocondrial disminuida que da como resultado una producción disminuida de ATP y/o estrés oxidativo y/o peroxidación de lípidos en un sujeto que necesita tratamiento. La presente divulgación proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de afecciones seleccionadas del grupo que consiste en ataxia de Friedreich, neuropatía óptica hereditaria de Leber, síndrome de Kearns-Sayre, encefalomiopatía mitocondrial con acidosis láctica y episodios similares al accidente cerebrovascular y síndrome de Leigh.

La descripción también proporciona un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de afecciones seleccionadas del grupo que consiste en obesidad, aterosclerosis, enfermedad de Parkinson, cáncer, insuficiencia cardíaca, infarto de miocardio (MI), enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, esquizofrenia, trastorno bipolar, síndrome de X frágil, síndrome de fatiga crónica y síndrome de Leigh.

Ataxia de Friedreich

La ataxia de Friedreich es una afección neurodegenerativa y cardiodegenerativa grave. Se caracteriza por ataxia progresiva de las extremidades, debilidad muscular, disartria, deformidades esqueléticas y cardiomiopatía. Si bien la base bioquímica de la enfermedad todavía está bajo investigación, está fuertemente asociada con una frataxina insuficiente (Wilson et al., (1997) Nat. Genet., 16, 352-357; Wilson et al (2003) J. Neurol. Sci. 207, 103-105). En la mayoría de los pacientes, la insuficiencia de frataxina es consecuencia de una expansión intrónica de la tripleta de GAA repetida en el gen de la frataxina, que produce una disminución significativa en sus niveles de ARNm, y finalmente también en los niveles de proteína (Campuzano et al.) Science 271, 1423-1427, Campuzano et al (1997) Hum. Mol. Genet. 6, 1771-1780). La frataxina actúa como chaperona de hierro durante la biosíntesis de hemo (Bencze et al (2007) J.C.S. Chem. Commun. 1798-1800) y se ha demostrado que es capaz de estimular el ensamblaje *in vitro* de los grupos de hemo y Fe-S (Park et al. (2003) J. Biol. Chem. 278, 31340-31351; Yoon et al. (2003) J. Am Chem. Soc. 125, 6078-6084; Yoon et al. (2004) J. Biol. Chem. 279, 25943-25946). La frataxina puede interactuar físicamente con las proteínas de la cadena de transporte de electrones mitocondriales, así como con la aconitasa mitocondrial (que contiene un grupo Fe-S) (Bulteau et al. (2004) Science 305, 242-245; Gonzalez-Cabo et al. (2005) Hum. Mol. Genet. 14, 2091-2098). Por lo tanto, la deficiencia de frataxina resulta en la alteración de la homeostasis del hierro celular, con una acumulación progresiva de hierro en la mitocondria y una deficiencia en los grupos de hemo y Fe-S.

Se cree que una deficiencia en frataxina conduce a una función de la cadena respiratoria mitocondrial comprometida a través del fracaso en el ensamblaje de una o más proteínas que utilizan Fe; uno o más grupos Fe-S en los complejos respiratorios mitocondriales es probable que representen un locus crítico. De hecho, se ha observado una función disminuida de estos complejos en pacientes con ataxia de Friedreich (Bradley et al. (2000) Hum. Mol. Genet. 9, 275-282). La pérdida de la función de la cadena respiratoria mitocondrial puede disminuir la producción de ATP, mientras que la acumulación de Fe en la mitocondria hace que el orgánulo sea altamente susceptible al daño oxidativo por especies de oxígeno reactivas, cuya concentración aumenta concomitantemente con la disminución de la función de la cadena respiratoria. Existe evidencia convincente de que, aunque el daño oxidativo no es la lesión primaria en la ataxia de Friedreich, el estrés oxidativo ayuda a impulsar la progresión de la enfermedad. Por lo tanto, las estrategias para superar el estrés oxidativo deberían mitigar la progresión de la enfermedad y proporcionar una terapia eficaz.

Otras enfermedades mitocondriales de ejemplo

La neuropatía óptica hereditaria de Leber está asociada con la degeneración de las células ganglionares de la retina y causa una pérdida progresiva de la visión que produce varios grados de ceguera. La neuropatía óptica hereditaria de Leber afecta principalmente a hombres mayores de 20 años y se transmite por vía materna debido a mutaciones en el genoma mitocondrial (no nuclear).

El síndrome de Kearns-Sayre es un trastorno neuromuscular raro, típicamente con inicio usualmente antes de los 20 años. Se caracteriza por oftalmoplejía externa progresiva (parálisis de los músculos oculares) y debilidad leve del músculo esquelético, pérdida de audición, pérdida de coordinación, problemas de corazón y retrasos cognitivos. Hay muchos otros nombres para el síndrome de Kearns-Sayre que incluyen: oftalmoplejía externa progresiva crónica CPEO con miopatía; CPEO con fibras rojas irregulares; KSS; citopatía mitocondrial, tipo Kearns-Sayre; síndrome oculocraniosomático; síndrome de oftalmoplejía plus; oftalmoplejía con miopatía; y oftalmoplejía con fibras rojas irregulares.

La encefalomiopatía mitocondrial con acidosis láctica y episodios similares al accidente cerebrovascular es una enfermedad mitocondrial progresiva que implica sistemas de órganos múltiples que incluyen el sistema nervioso central, el músculo cardíaco, el músculo esquelético y el sistema gastrointestinal. Los síntomas incluyen debilidad muscular, eventos similares a un accidente cerebrovascular, parálisis muscular ocular y deterioro cognitivo. El síndrome de Leigh es un trastorno cerebral degenerativo que generalmente se diagnostica a una edad temprana (por ejemplo, antes de los dos años). El deterioro a menudo es rápido con síntomas como convulsiones, demencia,

dificultad para comer y hablar, disfunción respiratoria, problemas cardíacos y debilidad muscular. El pronóstico es malo y la muerte generalmente se produce al cabo de unos años después del diagnóstico.

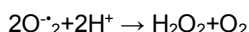
Producción de energía mitocondrial

La energía liberada del ciclo del ácido cítrico (Krebs) en la matriz mitocondrial entra en la cadena de transporte de electrones mitocondrial como NADH (complejo I) y FADH₂ (complejo II). Estos son los dos primeros de cinco complejos de proteínas implicados en la producción de ATP, todos los cuales se encuentran en la membrana mitocondrial interna. Los electrones derivados de NADH (por oxidación con una deshidrogenasa específica de NADH) y FADH₂ (por oxidación con succinato deshidrogenasa) viajan por la cadena respiratoria, liberando su energía en pasos discretos impulsando el transporte activo de protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembrana (es decir, a través de la membrana mitocondrial interna). Los portadores de electrones en la cadena respiratoria incluyen flavinas, centros de hierro-azufre unidos a proteínas, quinonas, citocromos y cobre. Hay dos moléculas que transfieren electrones entre los complejos: la coenzima Q (complejo I → III y complejo II → III) y el citocromo c (complejo III → IV). El aceptor de electrones final en la cadena respiratoria es O₂, que se convierte en H₂O en el complejo IV.

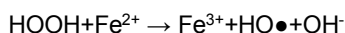
En una mitocondria funcional, el transporte de dos electrones a través del complejo I resulta en el transporte de 4 H⁺ en el espacio intermembrana. Dos transferencias más de H⁺ al espacio intermembrana son el resultado del transporte de electrones a través del complejo III y cuatro transferencias más de H⁺ del transporte de electrones a través del complejo IV. Los 10 electrones transportados al espacio intermembrana crean un gradiente electroquímico de protones; pueden regresar a la matriz mitocondrial a través del complejo V (ATP sintasa), con la conversión concomitante de ADP a ATP. Es interesante que no se transfiera H⁺ al espacio intermembrana como consecuencia del transporte de electrones a través del complejo II. Por lo tanto, la transferencia de 2e⁻ de FADH₂ (complejo II → complejo III → complejo IV) da como resultado el transporte de solo 6 protones, en comparación con 10 protones resultantes de la transferencia de 2e⁻ de NADH (complejo I → complejo III → complejo IV), con el correspondiente menos ATP producido. Cada molécula de glucosa metabolizada por la glucólisis produce 12 electrones; estos se convierten en 5 moléculas de NADH y 1 FADH₂ a través del ciclo de Krebs en la matriz mitocondrial. Las 5 moléculas de NADH empleadas en el transporte de electrones mitocondrial producen alrededor de 25 ATP, mientras que el único FADH₂ produce solo alrededor de 3 moléculas de ATP. (Hay otras 4 moléculas de ATP derivadas del metabolismo de la glucosa -2 durante la glucólisis y 2 en el ciclo de Krebs-). Si bien este análisis subraya la importancia de la participación compleja I en la producción normal de ATP, también tiende a oscurecer ciertas realidades/incertidumbres metabólicas que pueden ofrecer oportunidades importantes para la intervención terapéutica. Una realidad metabólica es que el complejo I, aunque importante cuantitativamente para la producción de ATP en las mitocondrias normales, no es esencial para la producción de ATP mitocondrial. Los electrones pueden ingresar a la cadena de transporte de electrones a nivel de la coenzima Q (ya sea del complejo II o de la oxidación de ácidos grasos), produciendo alrededor de 60% de ATP como hubiera resultado si hubieran ingresado a la cadena de transporte de electrones en el complejo I). Mientras que el flujo de electrones que normalmente entran en los complejos mitocondriales individuales, que finalmente pasan a través de la coenzima Q, está probablemente dictado en gran parte por la disponibilidad de electrones derivados de NADH, FADH₂ y oxidación de ácidos grasos, no parece que la capacidad intrínseca de las vías individuales haya sido estudiada cuidadosamente.

En mitocondrias funcionales, algunos parámetros experimentales se pueden medir fácilmente, reflejando la respiración mitocondrial. Estos incluyen el consumo de NADH y O₂, y la producción de ATP. Menos fácilmente medidos son los electrones que fluyen a través de la cadena de transporte de electrones, consumiendo oxígeno y produciendo H₂O y ATP. Los electrones dentro de las mitocondrias realmente solo se pueden medir cuando están asociados con uno de los portadores de electrones mitocondriales como la coenzima Q. En los humanos, esta coenzima mitocondrial está presente como la coenzima Q₁₀, que tiene un sustituyente C de 50 carbonos que hace que la molécula prácticamente insoluble en agua (coeficiente de partición octanol-agua calculado >10²⁰) (James et al. (2005) J Biol. Chem. 280, 21295-21312).

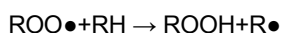
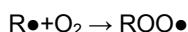
En las mitocondrias disfuncionales, todavía se pueden llevar a cabo los mismos tipos de mediciones que las indicadas anteriormente para las mitocondrias en funcionamiento. Si se interrumpe el flujo de electrones a través del complejo I, varios parámetros medidos deberían cambiar. Estos incluyen el consumo disminuido de NADH (medido como el aumento de lactato a través de la reducción de piruvato) y la producción disminuida de ATP. Como los electrones no fluirán tan eficientemente del complejo I a la coenzima Q, la concentración de esta coenzima reducida disminuirá. Curiosamente, se crea una nueva vía para el consumo de oxígeno. Mientras que el oxígeno no se convierte tan eficientemente en agua en el complejo IV (una reducción total de cuatro electrones de cada molécula de oxígeno), gran parte del flujo de electrones en un complejo I defectuoso se redirige al oxígeno, con la producción de superóxido (una reducción de un electrón de cada oxígeno). Por lo tanto, la estequiometría de la utilización de oxígeno se altera. La producción de superóxido por parte de las mitocondrias ocurre en cierta medida incluso en las mitocondrias normales, pero es un evento mucho más frecuente en las mitocondrias que contienen defectos en la cadena respiratoria. El superóxido es una forma de especie de oxígeno reactivo (ROS). Se cree que el superóxido en sí mismo no reacciona fácilmente con moléculas biológicas tales como las membranas lipídicas, las proteínas y el ADN, y en realidad funciona como una molécula de señalización para la regulación de ciertos procesos celulares. Biológicamente, el destino principal del superóxido (O₂^{•-}) es una reacción de desproporción entre sí para producir peróxido (H₂O₂) y oxígeno, es decir.



Esta reacción ocurre espontáneamente y también puede ser catalizada por la superóxido dismutasa. El superóxido también se puede reducir a peróxido en un proceso monovalente. Al igual que el superóxido, el peróxido de hidrógeno tampoco es intrínsecamente nocivo para las macromoléculas celulares, y en realidad es esencial para la función de varias enzimas. Sin embargo, en presencia de iones metálicos como hierro y cobre, el peróxido de hidrógeno se convierte en radical hidroxilo ($\text{HO}\bullet$) e ion hidróxido (OH^-) de acuerdo con la reacción de Fenton, es decir.



Los radicales hidroxilo son muy reactivos, capaces de reaccionar con prácticamente cualquier molécula biológica, incluido el ADN, las proteínas y los lípidos. Los radicales hidroxilo también pueden difundirse a través de las células fácilmente, y su capacidad para dañar las células está limitada solo por la distancia que viajan antes de que reaccionen. Los radicales hidroxilo también pueden reaccionar con superóxido, produciendo oxígeno singlete ($(^1\text{O}_2) + \text{OH}^-$), otra forma altamente reactiva de ROS que daña las macromoléculas y los ensamblajes celulares. Una reacción particularmente perjudicial y bien estudiada mediada por radicales hidroxilo es la abstracción de los átomos de hidrógeno ($\text{H}\bullet$) de los lípidos de la membrana, formando un radical centrado en el carbono ($\text{R}\bullet$). Este radical



puede reaccionar fácilmente con oxígeno, formando un radical hidroperoxi ($\text{ROO}\bullet$). El radical hidroperoxi también es altamente reactivo y puede abstraer otro átomo de hidrógeno del lípido de la membrana, produciendo otro radical centrado en carbono (que puede experimentar exactamente la misma química), produciendo finalmente una reacción en cadena que produce muchas lesiones oxidativas en los lípidos de la membrana de un único radical hidroxilo (peroxidación lipídica). Es por esta razón que la peroxidación de lípidos probablemente representa un proceso importante por el cual las membranas celulares y mitocondriales se degradan en células que contienen mitocondrias (parcialmente) disfuncionales. La acumulación observada de lipofusina en pacientes con ataxia de Friedreich es totalmente coherente con la tesis de que la peroxidación lipídica es un proceso central que impulsa la progresión de la enfermedad (La Marche et al. (1980) *Can. J. Neurosci.* 7, 389-396; Yin, D (1996) *Free Rad. Biol. Med.* 21, 871-888, Yamada et al. (2001) *J. Lipid Res.* 42, 1187-1196).

Cabe señalar que, si bien todas las lesiones en la cadena de transporte de electrones mitocondriales que afectan la disfunción mitocondrial darán lugar a niveles elevados de superóxido, algunos tipos de lesiones pueden producir un mayor daño funcional. Este último incluiría sin duda la ataxia de Friedreich, en donde los niveles subóptimos de la proteína frataxina (que es responsable de la homeostasis del hierro celular; Park et al. (2003) *J. Biol. Chem.* 278, 31340-31351; Yoon et al. (2003) *J. Am. Chem. Soc.* 125, 6078-6084; Yoon et al. (2004) *J. Biol. Chem.* 279, 25943-25946; Bencze et al. (2007) *J.C.S. Chem. Commun.* 1798-1800) da como resultado una acumulación de $\text{Fe}^{2+/3+}$ dentro de la mitocondria, y contribuye en cambio a la química de Fenton indicada anteriormente. Del mismo modo, trastornos tales como la esclerosis lateral amiotrófica están asociados con una deficiencia en la enzima destoxicante superóxido dismutasa, y tendrán concentraciones mucho mayores de las ROS discutidas anteriormente.

Un parámetro poco estudiado del transporte de electrones mitocondrial es si el proceso se caracteriza mejor involucrando una o dos transferencias de electrones. Esto es importante porque NADH es un donante obligatorio de dos electrones, y la coenzima Q y el citocromo C participan en ciclos redox de dos electrones, al igual que FADH_2 . Prácticamente todas las publicaciones representan los procesos en los que participan estas especies que implican un cambio neto de dos electrones. Sin embargo, FADH_2 puede (y generalmente lo hace) transferir sus equivalentes reductores como electrones individuales. Además, el ciclo Q en el complejo III implica claramente transferencias de un solo electrón. Se sabe que la reducción del citocromo c transfiere electrones uno a la vez a la citocromo C oxidasa, la enzima responsable del paso final en la respiración. Finalmente, la acumulación de electrones dentro de las mitocondrias disfuncionales (que produce estrés reductor) se alivia sustancialmente mediante la reducción (de un electrón) de oxígeno a superóxido (*vide supra*). Por lo tanto, aunque la cadena de transporte de electrones tiene la capacidad de transferir dos electrones en virtud de los ciclos redox de la mayoría de sus participantes, no está claro que necesariamente deba hacerlo para funcionar.

Dado que el estrés reductor (acumulación de electrones) que se encuentra inicialmente en la disfunción mitocondrial es un proceso de un solo electrón, como lo es la peroxidación de lípidos, los portadores de electrones individuales podrían encontrar utilidad en el tratamiento del estrés reductor, por ejemplo, moléculas en las que el intermedio reducido con un electrón se estabiliza mediante interacciones dipolo, efectos de sustituyentes, efectos de resonancia o efectos captodonantes. Las moléculas diseñadas para el tráfico de electrones individuales, y que pueden (i) aceptar electrones del superóxido (ii) donar electrones al complejo III y (iii) inactivar los radicales lipídicos centrados en el carbono son especialmente útiles. Los atenuadores radicales multifuncionales (MRQ) de la invención pueden proteger eficazmente las mitocondrias, las células y los organismos del estrés oxidativo.

Composiciones farmacéuticas

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona composiciones que comprenden uno o más de los compuestos descritos anteriormente con respecto a cualquiera de las fórmulas (I)-(VIII) y un vehículo, excipiente o diluyente apropiado. La naturaleza exacta del vehículo, excipiente o diluyente dependerá del uso deseado para la composición, y puede variar desde ser adecuado o aceptable para usos veterinarios hasta ser adecuado o aceptable para uso humano. La composición puede incluir opcionalmente uno o más compuestos adicionales.

Cuando se usan para tratar o prevenir tales enfermedades, los compuestos descritos en el presente documento se pueden administrar solos, como mezclas de uno o más compuestos o en mezcla o combinación con otros agentes útiles para tratar tales enfermedades y/o los síntomas asociados con tales enfermedades. Los compuestos también pueden administrarse en mezcla o en combinación con agentes útiles para tratar otros trastornos o enfermedades, tales como esteroides, estabilizadores de membrana, inhibidores de 5LO, síntesis de leucotrienos e inhibidores de receptores, inhibidores del cambio de isotipo de IgE o síntesis de IgE, cambio de isotipo IgG o síntesis de IgG, β -agonistas, inhibidores de la triptasa, aspirina, inhibidores de la COX, metotrexato, fármacos anti-TNF, retuxin, inhibidores de la PD4, inhibidores de la p38, inhibidores de la PDE4 y antihistamínicos, por nombrar algunos. Los compuestos se pueden administrar en forma de compuestos per se, o como composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos se pueden fabricar por medio de procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización convencionales. Las composiciones se pueden formular de manera convencional usando uno o más vehículos, diluyentes, excipientes o auxiliares fisiológicamente aceptables que facilitan el procesamiento de los compuestos en preparaciones que se pueden usar farmacéuticamente.

Los compuestos se pueden formular en la composición farmacéutica per se, o en forma de un hidrato, solvato, N-óxido o sal farmacéuticamente aceptable, como se describió previamente. Típicamente, tales sales son más solubles en soluciones acuosas que los correspondientes ácidos y bases libres, pero también pueden formarse sales que tienen una solubilidad menor que las correspondientes bases y ácidos libres.

Las composiciones farmacéuticas pueden tomar una forma adecuada para virtualmente cualquier modo de administración, incluyendo, por ejemplo, tópico, ocular, oral, bucal, sistémico, nasal, inyección, transdérmico, rectal, vaginal, etc., o una forma adecuada para administración por inhalación o insuflación.

Para la administración tópica, los compuestos se pueden formular como soluciones, geles, ungüentos, cremas, suspensiones, etc., como es bien conocido en la técnica. Las formulaciones sistémicas incluyen las diseñadas para administración mediante inyección, por ejemplo, inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intratecal o intraperitoneal, así como aquellas diseñadas para administración transdérmica, transmucosa oral o pulmonar.

Las preparaciones inyectables útiles incluyen suspensiones, soluciones o emulsiones estériles de los compuestos activos en vehículos acuosos u oleosos. Las composiciones también pueden contener agentes de formulación, tales como agente de suspensión, estabilización y/o dispersión. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en recipientes multidosis, y pueden contener conservantes añadidos. Alternativamente, la formulación inyectable puede proporcionarse en forma de polvo para su reconstitución con un vehículo adecuado, que incluye, pero no se limita a, agua libre de pirógenos estériles, regulador, solución de dextrosa, etc., antes de su uso. Con este fin, los compuestos activos se pueden secar mediante cualquier técnica conocida en la técnica, tal como liofilización, y reconstituir antes del uso.

Para la administración transmucosa, se usan en la formulación agentes de penetración apropiados para la barrera que se va a permear. Tales agentes de penetración son conocidos en la técnica.

Para la administración oral, las composiciones farmacéuticas pueden tomar la forma de, por ejemplo, pastillas, tabletas o cápsulas preparadas por medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); rellenos (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes (por ejemplo, almidón de patata o almidón glicolato de sodio); o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Las tabletas se pueden recubrir por métodos bien conocidos en la técnica con, por ejemplo, azúcares, películas o revestimientos entéricos.

Las preparaciones líquidas para administración oral pueden tomar la forma de, por ejemplo, elixires, soluciones, jarabes o suspensiones, o se pueden presentar como un producto seco para su constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden prepararse por medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o acacia); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico, cremophore™ o aceites vegetales fraccionados); y conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las preparaciones también pueden contener sales reguladoras, conservantes, aromatizantes, colorantes y edulcorantes, según corresponda.

Las preparaciones para administración oral se pueden formular de forma adecuada para proporcionar una liberación controlada del compuesto, como es bien sabido.

Para la administración bucal, las composiciones pueden tomar la forma de tabletas o pastillas formuladas de manera convencional.

- 5 Para las vías de administración rectal y vaginal, los compuestos se pueden formular como soluciones (para enemas de retención), supositorios o ungüentos que contengan bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

- 10 Para administración nasal o administración por inhalación o insuflación, los compuestos pueden administrarse convenientemente en forma de un aerosol de envases presurizados o un nebulizador con el uso de un propelente adecuado, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, fluorocarbonos, dióxido de carbono u otro gas adecuado. En el caso de un aerosol presurizado, la unidad de dosificación puede determinarse proporcionando una válvula para suministrar una cantidad medida. Pueden formularse cápsulas y cartuchos para usar en un inhalador o insuflador (por ejemplo, cápsulas y cartuchos compuestos de gelatina) que contienen una mezcla en polvo del compuesto y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

- 15 Para la administración ocular, los compuestos se pueden formular como una solución, emulsión, suspensión, etc., adecuados para administración al ojo. En la técnica se conocen una variedad de vehículos adecuados para administrar compuestos al ojo.

- 20 Para suministro prolongado, los compuestos se pueden formular como una preparación de depósito para la administración mediante implantación o inyección intramuscular. Los compuestos se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados poco solubles, por ejemplo, como una sal escasamente soluble. Alternativamente, se pueden usar sistemas de administración transdérmica fabricados como un disco adhesivo o parche que libera lentamente los compuestos para la absorción percutánea. Para este fin, los potenciadores de la permeación se pueden usar para facilitar la penetración transdérmica de los compuestos.

- 25 Alternativamente, se pueden emplear otros sistemas de administración farmacéutica. Los liposomas y las emulsiones son ejemplos bien conocidos de vehículos de administración que pueden usarse para administrar los compuestos. También se pueden emplear ciertos disolventes orgánicos tales como dimetilsulfóxido (DMSO), aunque habitualmente a costa de una mayor toxicidad.

- 30 Las composiciones farmacéuticas pueden, si se desea, presentarse en un paquete o dispositivo dispensador que puede contener una o más formas de dosificación unitaria que contienen los compuestos. El paquete puede, por ejemplo, comprender una lámina metálica o de plástico, tal como un paquete blíster. El paquete o dispositivo dispensador puede ir acompañado de instrucciones de administración.

- 35 Los compuestos descritos en el presente documento, o las composiciones del mismo, se usarán generalmente en una cantidad efectiva para lograr el resultado deseado, por ejemplo, en una cantidad eficaz para tratar o prevenir la enfermedad particular que se trata. Por beneficio terapéutico se entiende erradicación o mejora del trastorno subyacente que se está tratando y/o erradicación o mejora de uno o más de los síntomas asociados con el trastorno subyacente de manera que el paciente informe una mejora en la sensación o condición, a pesar de que el paciente todavía puede estar afligido con el trastorno subyacente. El beneficio terapéutico también generalmente incluye detener o ralentizar la progresión de la enfermedad, independientemente de si se realiza una mejoría.

- 40 La cantidad de los compuestos administrados dependerá de una variedad de factores, que incluyen, por ejemplo, la indicación particular que se está tratando, el modo de administración, si el beneficio deseado es profiláctico o terapéutico, siendo la gravedad de la indicación tratada y la edad y el peso del paciente, la biodisponibilidad de los compuestos particulares, la velocidad de conversión y la eficacia en el compuesto activo del fármaco en la ruta de administración seleccionada, etc.

- 45 La determinación de una dosificación efectiva de los compuestos para un uso y modo de administración particular está dentro de las capacidades de los expertos en la técnica. Las dosis efectivas pueden estimarse inicialmente a partir de la actividad *in vitro* y los ensayos de metabolismo. Por ejemplo, una dosificación inicial de compuesto para uso en animales puede formularse para lograr una concentración sanguínea circulante o en suero del compuesto activo metabolito que está en o por encima de una IC₅₀ del compuesto particular medida en el ensayo *in vitro*. El cálculo de las dosificaciones para alcanzar tales concentraciones de sangre circulante o de suero teniendo en cuenta la biodisponibilidad del compuesto particular a través de la ruta de administración deseada está dentro de las capacidades de los expertos en la técnica. Las dosificaciones iniciales del compuesto también se pueden estimar a partir de datos *in vivo*, tales como modelos animales. Los modelos animales útiles para probar la eficacia de los metabolitos activos para tratar o prevenir las diversas enfermedades descritas anteriormente son bien conocidos en la técnica. También son bien conocidos los modelos animales adecuados para probar la biodisponibilidad y/o el metabolismo de los compuestos en metabolitos activos. Los expertos en la técnica ordinaria pueden adaptar rutinariamente dicha información para determinar dosificaciones de compuestos particulares adecuados para la administración humana.

Las cantidades de dosificación estarán típicamente en el intervalo de aproximadamente 0.0001 mg/kg/día, 0.001 mg/kg/día o 0.01 mg/kg/día a aproximadamente 100 mg/kg/día, pero pueden ser mayores o menores, dependiendo de, entre otros factores, la actividad del compuesto de metabolito activo, la biodisponibilidad del compuesto, su cinética de metabolismo y otras propiedades farmacocinéticas, el modo de administración y diversos otros factores, discutidos anteriormente. La cantidad y el intervalo de dosificación pueden ajustarse individualmente para proporcionar los niveles en plasma de los compuestos y/o de metabolitos activos de los compuestos que son suficientes para mantener el efecto terapéutico o profiláctico. Por ejemplo, los compuestos pueden administrarse una vez por semana, varias veces por semana (por ejemplo, cada dos días), una vez al día o varias veces al día, dependiendo de, entre otras cosas, el modo de administración, la indicación específica que se está tratando, y el juicio del médico que prescribe.

En casos de administración local o absorción selectiva, tal como administración tópica local, la concentración local efectiva de los compuestos y/o los metabolitos activos de los compuestos puede no estar relacionada con la concentración en plasma. Los expertos en el arte podrán optimizar las dosis locales efectivas sin demasiada experimentación.

Definiciones

Los siguientes términos y expresiones usados en el presente documento tienen los significados indicados.

Los términos utilizados en el presente documento pueden estar precedidos y/o seguidos por un solo guión, "-", o un guión doble, "=", para indicar el orden de enlace del enlace entre el sustituyente nombrado y su fracción precursora; un solo guión indica un enlace sencillo y un doble guión indica un doble enlace. En ausencia de un guión único o doble, se entiende que se forma un enlace sencillo entre el sustituyente y su unidad estructural precursora; además, los sustituyentes están destinados a leerse "de izquierda a derecha" a menos que un guión indique lo contrario. Por ejemplo, alcoxicarbonilo C_1-C_6 y alquilo $-OC(O)C_1-C_6$ indican la misma funcionalidad; de manera similar, arilalquilo y -alquilarilo indican la misma funcionalidad.

El término "alqueno", como se usa en el presente documento, significa un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 2 a 10 átomos de carbono, a menos que se especifique lo contrario, y que contenga al menos un doble enlace carbono-carbono. Ejemplos representativos de alqueno incluyen, pero sin limitación, etenilo, 2-propenilo, 2-metil-2-propenilo, 3-butenilo, 4-pentenilo, 5-hexenilo, 2-heptenilo, 2-metil-1-heptenilo, 3-decenilo y 3,7-dimetilocta-2,6-dienilo.

El término "alcoxi", como se usa en el presente documento, significa un grupo alquilo, como se define en el presente documento, unido a la unidad estructural molecular precursora a través de un átomo de oxígeno. Ejemplos representativos de alcoxi incluyen, pero sin limitación, metoxilo, etoxilo, propoxilo, 2-propoxilo, butoxilo, tert-butoxilo, pentiloxilo y hexiloxilo.

El término "alquilo", como se usa en el presente documento, significa un hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 1 a 10 átomos de carbono a menos que se especifique lo contrario. Ejemplos representativos de alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, sec-butilo, iso-butilo, tert-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo, n-hexilo, 3-metilhexilo, 2,2-dimetilpentilo, 2,3-dimetilpentilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo y n-decilo. Cuando un grupo "alquilo" es un grupo de enlace entre otras dos unidades estructurales, por lo cual también puede ser una cadena lineal o ramificada; ejemplos incluyen, pero no se limitan a $-CH_2-$, $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH(CH_3)-$, $-CH_2CH(CH_2CH_3)CH_2-$.

El término "alquino", como se usa en el presente documento, significa un grupo hidrocarburo de cadena lineal o ramificada que contiene de 2 a 10 átomos de carbono y que contiene al menos un triple enlace carbono-carbono. Ejemplos representativos de alquino incluyen, pero sin limitación, acetilenilo, 1-propinilo, 2-propinilo, 3-butinilo, 2-pentinilo y 1-butinilo.

El término "arilo", como se usa en el presente documento, significa un fenilo (es decir, arilo monocíclico) o un sistema de anillo bicíclico que contiene al menos un anillo de fenilo o un anillo aromático bicíclico que contiene solo átomos de carbono en el sistema de anillo bicíclico aromático. El arilo bicíclico puede ser azuleno, naftilo o un fenilo condensado con un cicloalquilo monocíclico, un cicloalqueno monocíclico o un heterociclilo monocíclico. El arilo bicíclico está unido a la unidad estructural molecular precursora a través de cualquier átomo de carbono contenido dentro de la porción de fenilo del sistema bicíclico, o cualquier átomo de carbono con el anillo de naftilo o azuleno. Las porciones de cicloalquilo monocíclico o heterociclilo monocíclico fusionadas del arilo bicíclico están opcionalmente sustituidas con uno o dos grupos oxo y/o tio. Ejemplos representativos de los arilos bicíclicos incluyen, pero no se limitan a, azuleno, naftilo, dihidroinden-1-ilo, dihidroinden-2-ilo, dihidroinden-3-ilo, dihidroinden-4-ilo, 2,3-dihidroindol-4-ilo, 2,3-dihidroindol-5-ilo, 2,3-dihidroindol-6-ilo, 2,3-dihidroindol-7-ilo, inden-1-ilo, inden-2-ilo, inden-3-ilo, inden-4-ilo, dihidronaftalen-2-ilo, dihidronaftalen-3-ilo, dihidronaftalen-4-ilo, dihidronaftalen-1-ilo, 5,6,7,8-tetrahidronaftalen-1-ilo, 5,6,7,8-tetrahidronaftalen-2-ilo, 2,3-dihidrobenzofuran-4-ilo, 2,3-dihidrobenzofuran-5-ilo, 2,3-dihidrobenzofuran-6-ilo, 2,3-dihidrobenzofuran-7-ilo, benzo[d][1,3]dioxol-4-ilo, benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo, 2H-cromen-2-on-5-ilo, 2H-cromen-2-on-6-ilo, 2H-cromen-2-on-7-ilo, 2H-cromen-2-on-8-ilo, isoindolin-1,3-dion-4-ilo, isoindolin-1,3-dion-5-ilo, inden-1-on-4-ilo, inden-1-on-5-ilo, inden-1-on-6-ilo, inden-1-on-7-ilo, 2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxan-5-ilo, 2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxan-6-ilo, 2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-on-5-ilo, 2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-on-6-ilo, 2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-on-7-ilo, 2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-on-8-ilo, benzo[d]oxazin-2(3H)-on-5-ilo, benzo[d]oxazin-2(3H)-on-6-ilo, benzo[d]oxazin-

2(3H)-on-7-ilo, benzo[d]oxazin-2(3H)-on-8-il, quinazolin-4(3H)-on-5-ilo, quinazolin-4(3H)-on-6-ilo, quinazolin-4(3H)-on-7-il, quinazolin-4(3H)-on-8-il, quinoxalin-2(1H)-on-5-ilo, quinoxalin-2(1H)-on-6-ilo, quinoxalin-2(1H)-on-7-il, quinoxalin-2(1H)-on-8-il, benzo[d]tiazol-2(3H)-on-4-ilo, benzo[d]tiazol-2(3H)-on-5-il, benzo[d]tiazol-2(3H)-on-6-ilo, y, benzo[d]tiazol-2(3H)-on-7-ilo. En ciertas realizaciones, el anillo bicíclico es (i) naftilo o (ii) un anillo de fenilo fusionado con un cicloalquilo monocíclico de 5 o 6 miembros, un cicloalquenilo monocíclico de 5 o 6 miembros o un heterociclilo monocíclico de 5 o 6 miembros, en donde los grupos cicloalquilo, cicloalquenilo y heterociclilo fusionados están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos que son independientemente oxo o tia.

Los términos "ciano" y "nitrilo" como se usan en el presente documento, significan un grupo -CN.

El término "cicloalquilo" como se usa en el presente documento, significa un sistema de anillo de cicloalquilo monocíclico o bicíclico. Los sistemas de anillo monocíclico son grupos hidrocarbonados cíclicos que contienen de 3 a 8 átomos de carbono, en donde tales grupos pueden ser saturados o insaturados, pero no aromáticos. En ciertas realizaciones, los grupos cicloalquilo están completamente saturados. Ejemplos de cicloalquilos monocíclicos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo y ciclooctilo. Los sistemas de anillo de cicloalquilo bicíclico son anillos monocíclicos puenteados o anillos bicíclicos condensados. Los anillos monocíclicos puenteados contienen un anillo de cicloalquilo monocíclico en donde dos átomos de carbono no adyacentes del anillo monocíclico están unidos por un puente de alqueno de entre uno y tres átomos de carbono adicionales (es decir, un grupo puente de la forma $-(CH_2)_w-$, en donde w es 1, 2 o 3). Ejemplos representativos de sistemas de anillos bicíclicos incluyen, pero sin limitación, biciclo[3.1.1]heptano, biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[2.2.2]octano, biciclo[3.2.2]nonano, biciclo[3.3.1]nonano, y biciclo[4.2.1]nonano. Los sistemas cíclicos de cicloalquilo bicíclico condensados contienen un anillo de cicloalquilo monocíclico condensado con un fenilo, un cicloalquilo monocíclico, un cicloalquenilo monocíclico, un heterociclilo monocíclico o un heteroarilo monocíclico. El cicloalquilo bicíclico puenteado o fusionado está unido a la unidad estructural molecular precursora a través de cualquier átomo de carbono contenido dentro del anillo de cicloalquilo monocíclico. Los grupos cicloalquilo están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos que son independientemente oxo o tia. En ciertas realizaciones, el cicloalquilo bicíclico condensado es un anillo de cicloalquilo monocíclico de 5 o 6 miembros fusionado a un anillo de fenilo, un cicloalquilo monocíclico de 5 o 6 miembros, un cicloalquenilo monocíclico de 5 o 6 miembros, un heterociclilo monocíclico de 5 o 6 miembros o un heteroarilo monocíclico de 5 o 6 miembros, en donde el cicloalquilo bicíclico condensado está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos que son independientemente oxo o tia.

El término "halo" o "halógeno" como se usa en el presente documento, significa -Cl, -Br, -I o -F.

El término "haloalquilo", como se usa en el presente documento, significa al menos un halógeno, como se define en el presente documento, unido a la unidad estructural molecular precursora a través de un grupo alquilo, como se define en el presente documento. Ejemplos representativos de haloalquilo incluyen, pero sin limitación, clorometilo, 2-fluoroetilo, trifluorometilo, pentafluoroetilo y 2-cloro-3-fluoropentilo.

El término "heteroarilo", como se usa en el presente documento, significa un heteroarilo monocíclico o un sistema de anillo bicíclico que contiene al menos un anillo heteroaromático. El heteroarilo monocíclico puede ser un anillo de 5 o 6 miembros. El anillo de 5 miembros consiste en dos enlaces dobles y uno, dos, tres o cuatro átomos de nitrógeno y opcionalmente un átomo de oxígeno o azufre. El anillo de 6 miembros consta de tres enlaces dobles y uno, dos, tres o cuatro átomos de nitrógeno. El heteroarilo de 5 o 6 miembros está conectado a la unidad estructural molecular de origen a través de cualquier átomo de carbono o cualquier átomo de nitrógeno contenido dentro del heteroarilo. Ejemplos representativos de heteroarilo monocíclico incluyen, pero sin limitación, furilo, imidazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, oxazolilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirazinilo, pirazolilo, pirrolilo, tetrazolilo, tiadiazolilo, tiazolilo, tienilo, triazolilo y triazinilo. El heteroarilo bicíclico compuesto por un heteroarilo monocíclico condensado con un grupo fenilo, un grupo cicloalquilo monocíclico, un cicloalquenilo monocíclico, un heterociclilo monocíclico, o un heteroarilo monocíclico. La porción de cicloalquilo o heterociclilo fusionada del grupo heteroarilo bicíclico está opcionalmente sustituida con uno o dos grupos que son independientemente oxo o tia. Cuando el heteroarilo bicíclico contiene un cicloalquilo condensado, cicloalquenilo, o heterociclilo, a continuación, el grupo heteroarilo bicíclico está conectado al radical molecular de origen a través de cualquier átomo de carbono o nitrógeno contenido dentro de la porción de heteroarilo monocíclico del sistema de anillo bicíclico. Cuando el heteroarilo bicíclico es un heteroarilo monocíclico condensado con un anillo de fenilo, entonces el grupo heteroarilo bicíclico está conectado a la unidad estructural molecular de origen a través de cualquier átomo de carbono o átomo de nitrógeno dentro del sistema de anillo bicíclico. Ejemplos representativos de heteroarilo bicíclico incluyen, pero no se limitan a, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, benzoxadiazolilo, benzoxathiadiazolilo, benzotiazolilo, cinolinilo, 5,6-dihidroquinolin-2-ilo, 5,6-dihidroisoquinolin-1-ilo, fuopiridinilo, indazolilo, indolilo, isoquinolinilo, naftiridinilo, quinolinilo, purinilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolin-2-ilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolin-3-ilo, 5,6,7,8-tetrahidroquinolin-4-il, 5,6,7,8-tetrahidroisoquinolin-1-ilo, tienopiridinilo, 4,5,6,7-tetrahidrobenzo[c][1,2,5]oxadiazolilo y 6,7-dihidrobenzo[c][1,2,5]oxadiazol-4(5H)-onilo. En ciertas realizaciones, el heteroarilo bicíclico condensado es un anillo heteroarilo monocíclico de 5 o 6 miembros fusionado a un anillo de fenilo, un cicloalquilo monocíclico de 5 o 6 miembros, un cicloalquenilo monocíclico de 5 o 6 miembros, un heterociclilo monocíclico de 5 o 6 miembros o un heteroarilo monocíclico de 5 o 6 miembros, en donde los grupos cicloalquilo, cicloalquenilo y heterociclilo condensados están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos que son independientemente oxo o tia.

El término "heterociclilo" como se usa en el presente documento, significa un heterociclo monocíclico o un heterociclo bicíclico. El heterociclo monocíclico es un anillo de 3, 4, 5, 6 o 7 miembros que contiene al menos un heteroátomo seleccionado independientemente del grupo que consiste en O, N y S en donde el anillo es saturado o insaturado, pero no es aromático. El anillo de 3 o 4 miembros contiene 1 heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en O, N y S. El anillo de 5 miembros puede contener cero o un doble enlace y uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S. El anillo de 6 o 7 miembros contiene cero, uno o dos enlaces dobles y uno, dos o tres heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en O, N y S. El heterociclo monocíclico está conectado a la unidad estructural molecular de origen a través de cualquier átomo de carbono o cualquier otro átomo de nitrógeno contenido dentro del heterociclo monocíclico. Ejemplos representativos de heterociclo monocíclico incluyen, pero sin limitación, azetidino, azepano, aziridino, diazepano, 1,3-dioxano, 1,3-dioxolano, 1,3-ditiofano, 1,3-ditiano, imidazolino, imidazolidino, isotiazolino, isotiazolidino, isoxazolino, isoxazolidino, morfolino, oxadiazolino, oxadiazolidino, oxazolino, oxazolidino, piperazino, piperidino, pirano, pirazolino, pirazolidino, pirrolino, pirrolidino, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotieno, tiadiazolino, tiadiazolidino, tiazolino, tiazolidino, tiomorfolino, 1,1-dioxidotiomorfolino (tiomorfolina sulfona), tiopirano, y tritiano. El heterociclo bicíclico es un heterociclo monocíclico fusionado a un fenilo, un cicloalquilo monocíclico, un cicloalqueno monocíclico o un heteroarilo monocíclico. El heterociclo bicíclico está conectado a la unidad estructural molecular de origen a través de cualquier átomo de carbono o cualquier átomo de nitrógeno contenido dentro de la porción de heterociclo monocíclico del sistema de anillo bicíclico. Ejemplos representativos de heterociclos bicíclicos incluyen, pero no se limitan a, 2,3-dihidrobenzofuran-2-il, 2,3-dihidrobenzofuran-3-il, indolin-1-il, indolin-2-il, indolin-3-il, 2,3-dihidrobenzotien-2-il, decahidroquinolino, decahidroisoquinolino, octahidro-1H-indolo y octahidrobenzofuranilo. Los grupos heterociclilo están opcionalmente sustituidos con uno o dos grupos que son independientemente oxo o tia. En ciertas realizaciones, el heterociclilo bicíclico es un anillo de heterociclilo monocíclico de 5 o 6 miembros fusionado al anillo de fenilo, un cicloalquilo monocíclico de 5 o 6 miembros, un cicloalqueno monocíclico de 5 o 6 miembros, un heterociclilo monocíclico de 5 o 6 miembros o un heteroarilo monocíclico de 5 o 6 miembros, en donde el heterociclilo bicíclico está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos que son independientemente oxo o tia.

El término "nitro" como se usa en el presente documento, significa un grupo -NO_2 .

El término "oxo" como se usa en el presente documento significa un grupo =O .

El término "saturado", como se usa en el presente documento, significa que la estructura química referenciada no contiene ningún enlace múltiple carbono-carbono. Por ejemplo, un grupo cicloalquilo saturado como se define aquí incluye ciclohexilo, ciclopropilo y similares.

El término "tia" como se usa en el presente documento significa un grupo =S .

El término "insaturado", como se usa en el presente documento, significa que la estructura química referenciada contiene al menos un enlace múltiple carbono-carbono, pero no es aromático. Por ejemplo, un grupo cicloalquilo insaturado como se define en el presente documento incluye ciclohexenilo, ciclopentenilo, ciclohexadienilo y similares.

"Farmacéuticamente aceptable" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que están dentro del alcance de un juicio médico sólido, adecuados para el contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica, u otros problemas o complicaciones acordes con una relación beneficio/riesgo razonable o que hayan sido aprobados por la United States Food and Drug Administration como aceptables para uso en humanos o animales domésticos.

"Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales de adición tanto ácida como básica.

"Cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto, es suficiente para efectuar el tratamiento de una enfermedad o trastorno descrito en el presente documento. La cantidad de un compuesto que constituye una "cantidad terapéuticamente efectiva" variará dependiendo del compuesto, el trastorno y su gravedad, y la edad del sujeto por tratar, pero puede ser determinada rutinariamente por un experto en la técnica.

"Que modula" o "modular" se refiere al tratamiento, prevención, supresión, potenciación o inducción de una función, afección o trastorno. Por ejemplo, se cree que los compuestos de la presente invención pueden modular la aterosclerosis estimulando la eliminación del colesterol de las lesiones ateroscleróticas en un ser humano.

"Tratar" o "tratamiento" como se usa en el presente documento cubre el tratamiento de una enfermedad o trastorno descrito en el presente documento, en un sujeto, preferiblemente un ser humano, e incluye:

- i. inhibir una enfermedad o trastorno, es decir, detener su desarrollo;
- ii. aliviar una enfermedad o trastorno, es decir, provocar la regresión del trastorno;
- iii. ralentizar la progresión del trastorno; y/o
- iv. inhibir, aliviar o ralentizar la progresión de uno o más síntomas de la enfermedad o trastorno.

"Sujeto" se refiere a un animal de sangre caliente tal como un mamífero, preferiblemente un humano o un niño humano, que está afectado o tiene el potencial de estar afectado por una o más enfermedades y trastornos descritos en el presente documento.

- 5 "EC₅₀" se refiere a una dosificación, concentración o cantidad de un compuesto de prueba particular que provoca una respuesta dependiente de la dosis al 50% de la expresión máxima de una respuesta particular que es inducida, provocada o potenciada por el compuesto de prueba particular.

"IC₅₀" se refiere a una cantidad, concentración o dosificación de un compuesto de prueba particular que logra una inhibición del 50% de una respuesta máxima en un ensayo que mide dicha respuesta.

Métodos de Síntesis

- 10 Se encuentran disponibles muchas referencias generales que proporcionan esquemas sintéticos comúnmente conocidos y condiciones útiles para sintetizar los compuestos divulgados (véanse, por ejemplo, Smith and March, March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, Fifth Edition, Wiley-Interscience, 2001, o Vogel, A Textbook of Practical Organic Chemistry, including Qualitative Organic Analysis, Fourth Edition, New York: Longman, 1978).
- 15 Los compuestos como se describen en el presente documento pueden purificarse por cualquiera de los medios conocidos en la técnica, que incluyen medios cromatográficos, tales como HPLC, cromatografía en capa fina preparativa, cromatografía en columna instantánea y cromatografía de intercambio iónico. Se puede usar cualquier fase estacionaria adecuada, incluidas las fases normales e inversas, así como las resinas iónicas. Más típicamente, los compuestos descritos se purifican mediante cromatografía sobre sílica gel y/o alúmina. Véase, por ejemplo,
- 20 Introduction to Modern Liquid Chromatography, 2nd Edition, ed. L. R. Snyder and J. J. Kirkland, John Wiley and Sons, 1979; y Thin Layer Chromatography, ed. E. Stahl, Springer-Verlag, Nueva York, 1969.

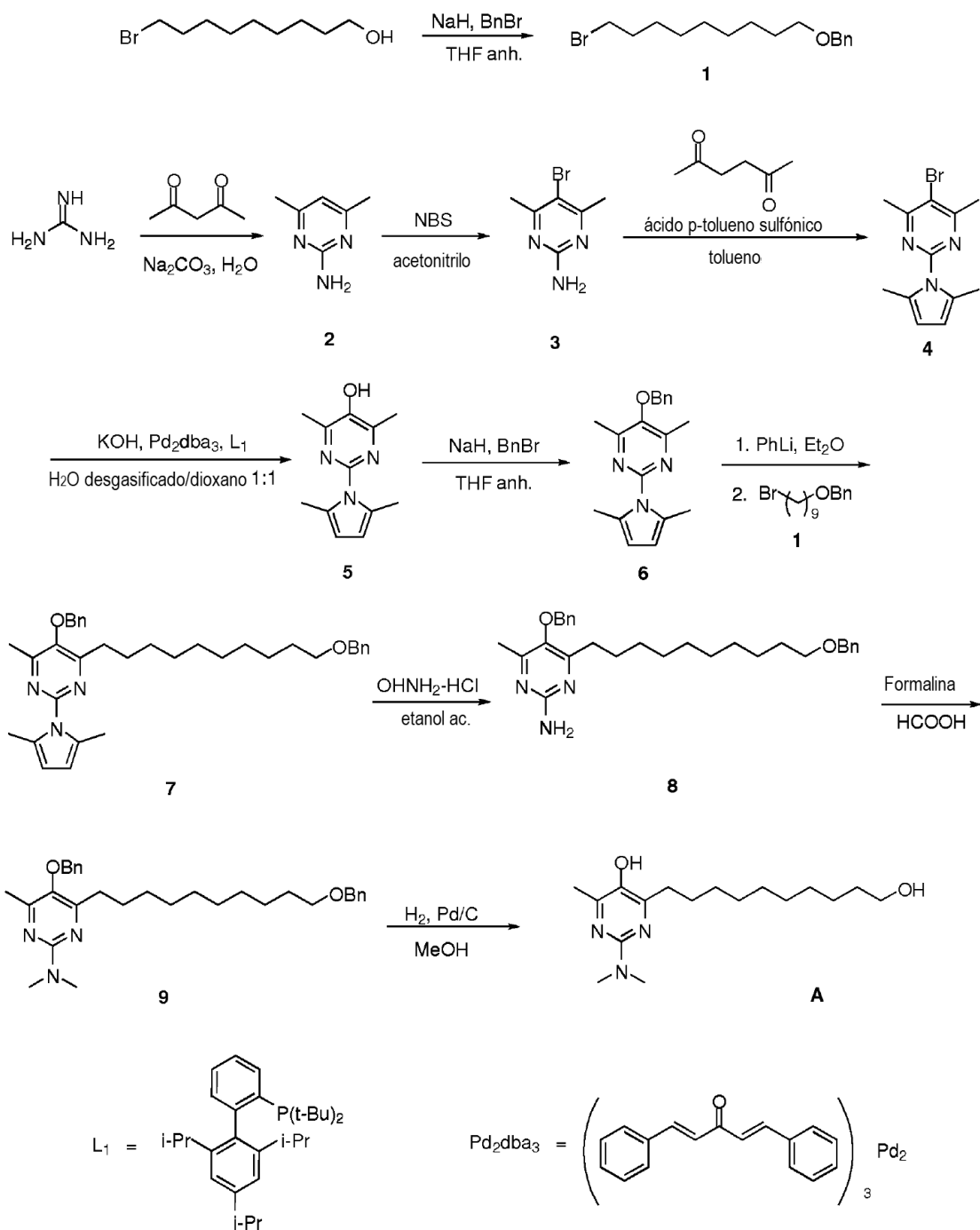
- Durante cualquiera de los procedimientos para la preparación de los presentes compuestos, puede ser necesario y/o deseable proteger grupos sensibles o reactivos en cualquiera de las moléculas en cuestión. Esto se puede lograr por medio de grupos protectores convencionales como se describe en trabajos estándar, tales como J.F.W. McOmie,
- 25 "Protective Groups in Organic Chemistry", Plenum Press, London and New York 1973, en T.W. Greene and P.G.M. Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", Third edition, Wiley, New York 1999, en "The Peptides"; Volume 3 (editors: E. Gross and J. Meienhofer), Academic Press, London and New York 1981, en "Methoden der organischen Chemie", Houben-Weyl, 4.sup.th edition, vol. 15/I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974, en H.-D. Jakubke and H. Jescheit, "Aminosäuren, Peptide, Proteine", Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach and Basel 1982, y/o en Jochen
- 30 Lehmann, "Chemie der Kohlenhydrate: Monosaccharide and Derivate", Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1974. Los grupos protectores se pueden eliminar en una etapa posterior conveniente usando métodos conocidos de la técnica.

Ejemplos

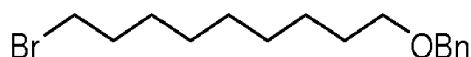
- Los compuestos de la divulgación se ilustran adicionalmente mediante los siguientes ejemplos, que se proporcionan con fines ilustrativos y no se pretende que se interpreten como limitantes de la descripción de los compuestos
- 35 específicos descritos en ellos.

- Los espectros de ¹H-RMN se registraron en un Varian Inova 500 MHz y 400 MHz, usando cloroformo-d. Los desplazamientos químicos de ¹H-RMN se reportaron con respecto al CHCl₃ residual a 7.24 ppm. Todos los disolventes eran de calidad analítica y se usaron sin purificación adicional. Todos los productos químicos fueron adquiridos de Aldrich Chemical Company y se usaron sin más purificación. Las reacciones se llevaron a cabo bajo una atmósfera
- 40 de argón a menos que se especifique lo contrario. La cromatografía en columna se llevó a cabo usando sílica gel (Silicycle R10030B, tamaño de partícula 60, malla 230-240). Se llevaron a cabo separaciones de cromatografía en capa fina analítica sobre placas de vidrio recubiertas con sílica gel (60, tamaño de partícula F254, E. Merck 5608/7). Los cromatogramas de TLC se desarrollaron utilizando irradiación con lámpara UV (onda corta) o sumergiendo las placas en permanganato de potasio al 2.5% en etanol o anisaldehído al 2% + ácido sulfúrico al 5% + 1.5% de ácido acético glacial en etanol seguido de calentamiento (pistola de calor).
- 45

Ejemplo 1: Preparación de 2-N,N-dimetilamino-5-hidroxi-4-metil-6-(10-hidroxidodecil)-pirimidina



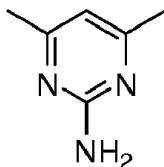
9-Bromo-1-(benciloxi)nonano (1):



A una solución en agitación que contenía 2.00 g (8.96 mmol) de 9-bromo-1-nanol en 20 mL de THF anhidro se añadieron 1.55 mL (12.60 mmol) de bromuro de bencilo seguido de 677 mg (16.94 mmol) de una suspensión al 60% de NaH en aceite mineral. La mezcla de reacción se agitó durante la noche bajo atmósfera de argón a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se inactivó cuidadosamente con bicarbonato de sodio acuoso saturado. La mezcla se vertió en 100 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 100 mL de éter. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos y luego con hexanos-acetato de etilo 4:1 dio el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 2.54 g (90%). $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ 7.86 (m, 5H),

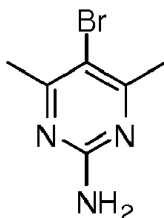
4.51 (s, 2H), 3.47 (t, 2H, $J = 6.4$), 3.40 (t, 2H, $J = 6.8$), 1.85 (m, 2H), 1.62 (m, 2H), 1.39 (m, 10H); ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ 138.70, 128.34, 127.62, 127.47, 72.86, 70.46, 34.02, 32.83, 29.76, 29.38, 29.36, 28.71, 28.15, 28.16

2-Amino-4,6-dimetilpirimidina (2):



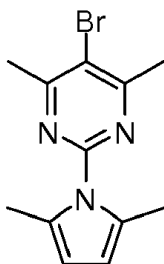
- 5 A una solución en agitación que contenía 4.00 g (36.99 mmol) de sulfato de guanidina y 8.40 g (79.25 mmol) de carbonato de sodio en 25 mL de agua se añadieron 6.00 ml (58.12 mmol) de 2,4-pentadienona. La mezcla de reacción se agitó a 100°C durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en 150 mL de agua y luego se extrajo con dos porciones de 150 mL de diclorometano. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 150 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida para proporcionar el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 4.31 g (95%). ^1H -RMN (CDCl_3) δ 6.33 (s, 1H), 5.39 (br, 2H), 2.24 (s, 6H); ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ 167.72, 162.90, 110.45, 23.66.

2-Amino-5-bromo-4,6-dimetilpirimidina (3):



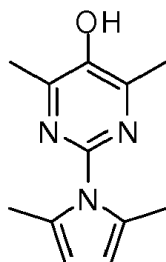
- 15 A una solución en agitación que contenía 4.31 g (34.75 mmol) de 2-amino-4,6-dimetilpirimidina (2) en 150 mL de acetonitrilo se añadieron 6.15 g (52.12 mmol) de N-bromosuccinimida. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 3 h. El precipitado formado se filtró y se secó para proporcionar el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 5.93 g (83%). ^1H -RMN (CDCl_3) δ 5.19 (br, 2H), 2.44 (s, 6H); ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ 166.28, 160.73, 109.60, 24.70.

2-(2,5-Dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-bromo-4,6-dimetilpirimidina (4):



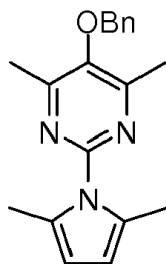
- 20
- 25 A una solución en agitación que contenía 2.00 g (9.89 mmol) de 2-amino-5-bromo-4,6-dimetilpirimidina (3) en 16 mL de tolueno anhidro se agregaron 1.36 mL (11.5 mmol) de 2,5-hexadienona seguida de 96 mg (0.50 mmol) de ácido p-toluenosulfónico. La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante la noche bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se vertió en 150 mL de agua y luego se extrajo con una porción de 200 mL de acetato de etilo. La solución orgánica se lavó con una porción de 150 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-acetato de etilo 5:1 dio el producto esperado como cristales de color amarillo claro: rendimiento 2.23 g (81%). ^1H -RMN (CDCl_3) δ 5.90 (s, 2H), 2.67 (s, 6H), 2.34 (s, 6H); ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ 166.92, 155.32, 129.56, 118.62, 108.74, 24.90, 14.50.

2-(2,5-Dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-hidroxi-4,6-dimetilpirimidina (5):



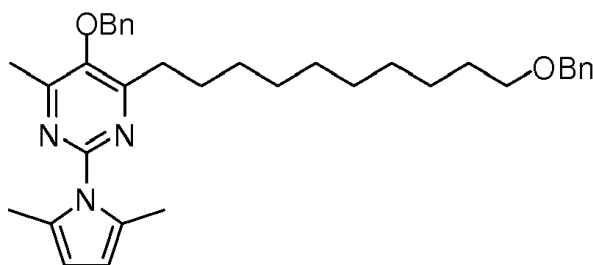
A una solución en agitación que contenía 2.00 g (7.14 mmol) de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-bromo-4,6-dimetilpirimidina (4) en 16 mL de agua desgasificada con dioxano 1:1 se añadieron 132 mg (0.14 mmol) de Pd₂dba₃ seguido de 242 mg (0.58 mmol) de 2-Di-tert-butilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (L1) y 1.2 g (21.42 mmol) de hidróxido de potasio. La mezcla de reacción se agitó a 100°C en atmósfera de argón durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en 100 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 75 mL de acetato de etilo. La capa acuosa se acidificó con HCl (pH 2-3) y luego se extrajo con dos porciones de 100 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto esperado en forma de cristales de color amarillo claro: rendimiento 1.62 g (100%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 5.76 (s, 2H), 2.47 (s, 6H), 2.20 (s, 6H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 154.15, 149.87, 145.13, 128.74, 107.32, 18.40, 13.50.

2- (2,5-Dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-benciloxi-4,6-dimetilpirimidina (6):



A una solución en agitación que contenía 1.62 g (7.46 mmol) de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-hidroxi-4,6-dimetilpirimidina (5) en 30 mL de THF anhidro se añadieron 440 mg (11.00 mmol) de suspensión de hidruro de sodio al 60% en aceite mineral seguido de 1.20 mL (10.10 mmol) de bromuro de bencilo. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante 48 h. La mezcla de reacción se vertió en 150 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 100 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-acetato de etilo 4:1 dio el producto esperado como un aceite amarillo claro: rendimiento 2.20 g (96%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 7.42 (m, 5H), 5.86 (s, 2H), 4.92 (s, 2H), 2.47 (s, 6H), 2.29 (s, 6H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 161.59, 152.34, 147.66, 136.05, 129.16, 128.59, 128.26, 107.90, 75.29, 19.10, 14.10.

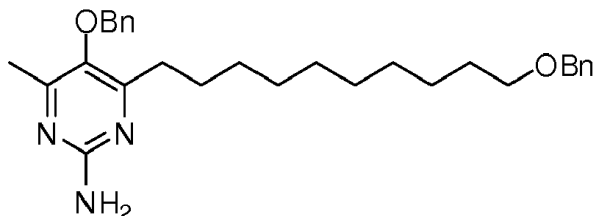
2-(2,5-Dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-pirimidina (7):



A una solución en agitación a -78°C que contenía 500 mg (1.62 mmol) de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-benciloxi-4,6-dimetilpirimidina (6) en 10 mL de THF anhidro se añadieron 1.11 mL (1.76 mmol) de una solución 1.6 M de n-BuLi en pentano seguido de 509 mg (1.62 mmol) de 9-bromo-1-(benciloxi)nonano (1). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de argón a -78°C durante 30 minutos luego, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente lentamente, y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. La reacción se inactivó con NaHCO₃ acuoso saturado y se vertió en 70 mL de agua. La mezcla se extrajo luego con dos porciones de 70 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó a continuación con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-acetato de etilo 5:1 dio el producto esperado como un aceite amarillo claro: rendimiento 175 mg (20%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 7.48-7.37 (m, 10H), 5.93 (s, 2H), 4.94 (s, 2H), 4.55 (s, 2H), 3.51 (t, 2H, J = 6.8), 2.84 (t, 2H, J = 7.6), 2.52 (s, 3H), 2.39 (s, 6H), 1.82 (m, 2H), 1.65 (m, 2H), 1.33 (m, 12H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 165.16, 161.60, 152.48,

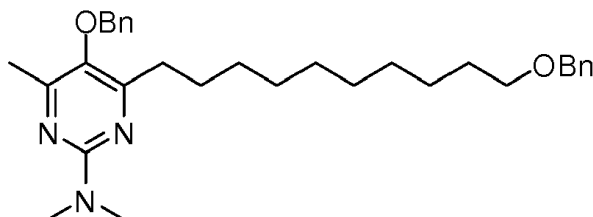
147.71, 138.79, 136.28, 129.16, 128.59, 128.26, 107.99, 75.29, 72.96, 70.70, 31.70, 29.85, 29.62, 29.52, 27.79, 26.27, 22.73, 19.32, 14.37

2-Amino-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-pirimidina (8):



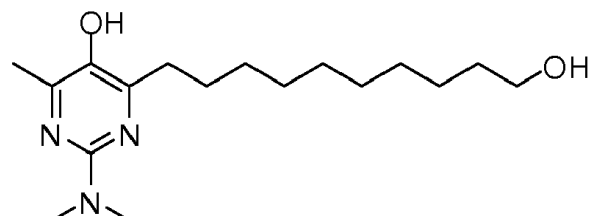
- 5 A una solución en agitación que contenía 343 mg (0.63 mmol) de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-pirimidina (7) en a 10 mL de etanol-agua 9:1 se añadieron 500 mg (7.19 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina seguido de 400 mg (7.14 mmol) de hidróxido de potasio. La mezcla de reacción se agitó luego a reflujo bajo atmósfera de argón durante la noche. Se añadió una segunda porción de 500 mg (7.19 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina y la mezcla de reacción se agitó durante la noche a reflujo bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se vertió en 70 mL de agua y luego se basificó a un pH de 9-10 con una solución de NaOH 1N. La mezcla se extrajo con dos porciones de 70 mL de diclorometano. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 70 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con acetona-hexanos 2:1 dio el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 153 mg (52%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 7.48-7.37 (m, 10H), 5.17 (br., 2H), 4.69 (s, 2H), 4.45 (s, 2H), 3.41 (t, 2H, J = 6.8), 2.55 (t, 2H, J = 7.6), 2.26 (s, 3H), 1.63-1.53 (m, 4H), 1.27 (m, 12H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 164.85, 161.14, 158.88, 142.81, 138.71, 136.77, 129.16, 128.59, 128.26, 75.91, 72.83, 70.50, 31.90, 29.77, 29.22, 29.55, 29.45, 29.41, 28.44, 28.19, 19.00.

2-N,N-dimetilamino-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-pirimidina (9):



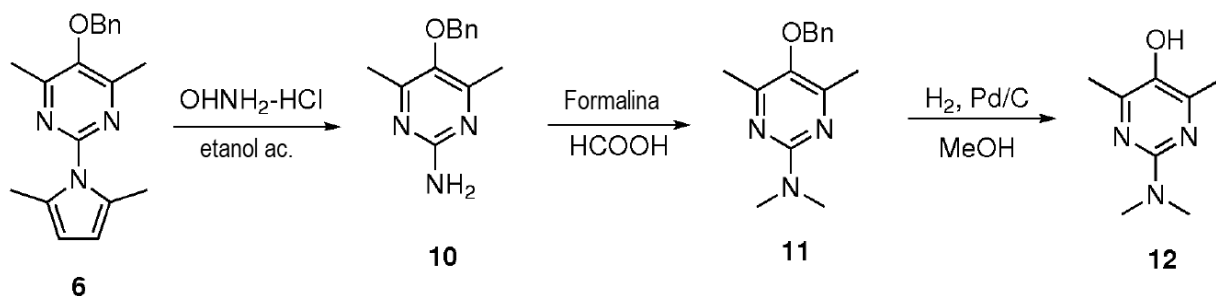
- 20 Una solución en agitación que contenía 188 mg (0.407 mmol) de 2-amino-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-pirimidina (8) en ácido fórmico-formaldehído acuoso al 35% 1:1 se agitó a reflujo durante la noche bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se vertió en 50 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 40 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con porciones de 40 mL de NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera. La solución orgánica se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con acetona-hexanos 1:2 dio el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 82 mg (41%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 7.48-7.37 (m, 10H), 4.70 (s, 2H), 4.49 (s, 2H), 3.45 (t, 2H, J = 6.4), 3.15 (s, 6H), 2.61 (t, 2H, J = 7.2), 2.34 (s, 3H), 1.63-1.53 (m, 4H), 1.27 (m, 12H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 141.24, 138.71, 137.44, 129.16, 128.59, 128.26, 75.91, 72.83, 70.50, 31.90, 29.77, 29.22, 29.55, 29.45, 29.41, 28.44, 28.19, 19.00, 14.10.

2-N,N-dimetilamino-5-hidroxi-4-metil-6-(10-hidroxidodecil)-pirimidina (A):

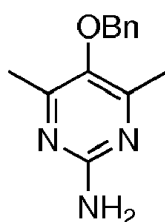


- 30 A una solución en agitación que contenía 82 mg (0.17 mmol) de 2-N,N-dimetilamino-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-pirimidina (9) en 5 mL de metanol anhidro se añadieron 3 mg de 10% de paladio sobre carbono. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-acetona 2:1 dio el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 23 mg (44%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 3.63 (t, 2H, J = 6.8), 3.15 (br., 6H), 2.61 (br., 2H), 2.34 (br., 3H), 1.69-1.53 (m, 4H), 1.27 (m, 12H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 141.24, 138.71, 137.44, 57.63, 31.90, 29.77, 29.22, 29.55, 29.45, 29.41, 28.44, 28.19, 19.00, 14.10.

Preparación de 2-N,N-dimetilamino-5-hidroxi-4,6-dimetilpirimidina (12)

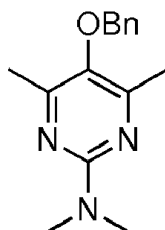


2-Amino-5-benciloxi-4,6-dimetilpirimidina (10):



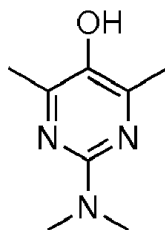
- 5 A una solución en agitación que contenía 2.85 g (9.27 mmol) de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-benciloxi-4,6-dimetilpirimidina (6) en 30 mL de etanol-agua 1:1 se añadieron 6.44 g (93 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina. La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante la noche bajo atmósfera de argón. El pH de la solución se llevó entonces a 10 y se diluyó con 20 mL de agua. La mezcla se extrajo con dos porciones de 30 mL de diclorometano. La solución orgánica combinada se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con acetona-hexanos 1:2 dio el producto esperado como un sólido blanco. Rendimiento: 2.1 g (98%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 7.39 (m, 5H), 4.80 (br. 2H), 4.74 (s, 2H), 2.29 (s, 6H). ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 160.05, 158.45, 141.50, 137.02, 37.27, 19.22.

2-N,N-dimetilamino-5-benciloxi-4,6-dimetilpirimidina (11):



- 15 Una solución en agitación que contenía 500 mg (2.18 mmol) de 2-amino-5-benciloxi-4,6-dimetilpirimidina (10) en 20 mL de ácido fórmico-formol 1:1 se agitó a reflujo durante la noche bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se vertió en 100 mL de NaOH 1 N y se extrajo con dos porciones de 100 mL de diclorometano. La solución orgánica combinada se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-acetato de etilo 3:1 dio el producto esperado como un aceite incoloro. Rendimiento: 130 mg (23%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 7.41 (m, 5H), 4.74 (s, 2H), 3.14 (s, 6H), 2.31 (s, 6H). ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 160.05, 158.45, 141.50, 137.02, 75.34, 37.27, 19.22.

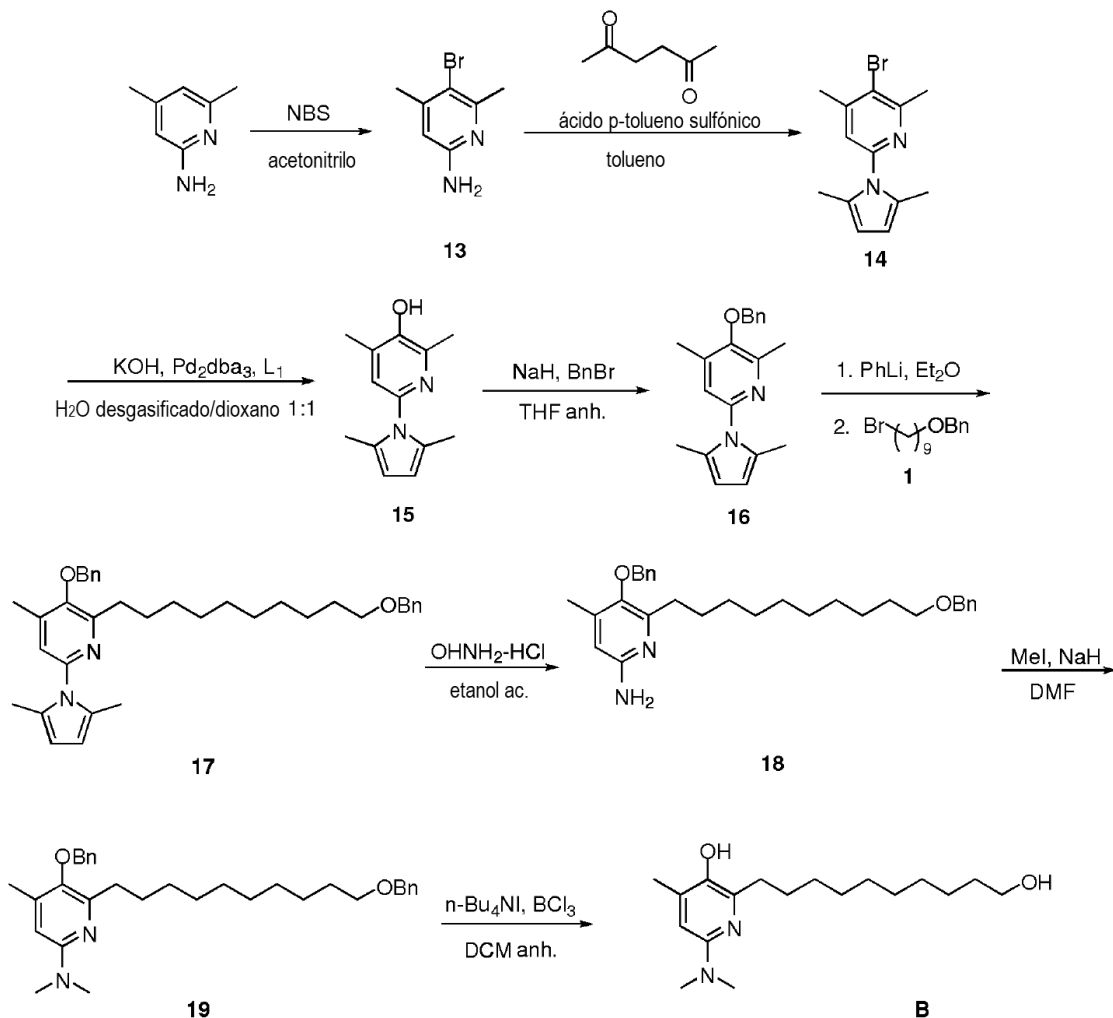
2-N,N-dimetilamino-5-hidroxi-4,6-dimetilpirimidina (12):



- 25 A una solución en agitación que contenía 130 mg (0.50 mmol) de 2-N,N-dimetilamino-5-benciloxi-4,6-dimetilpirimidina (11) en 4 mL de metanol se añadieron 50 mg de Pd/C (10%). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente

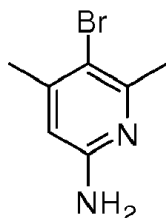
durante 5 h bajo atmósfera de hidrógeno. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 82 mg (100%). ^1H -RMN (CDCl_3) δ 3.13 (s, 6H), 2.35 (s, 6H). ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ 155.65, 155.35, 138.02, 37.89, 18.74.

Ejemplo 2: Preparación de 2-N,N-dimetilamino-5-hidroxi-4-metil-6-(10-hidroxidodecil)-piridina



5

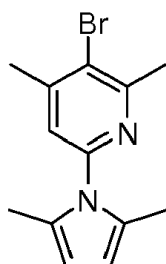
2-Amino-5-bromo-4,6-dimetilpiridina (13):



10

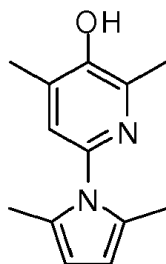
A una solución en agitación que contenía 2.00 g (16.32 mmol) de 2-amino-4,6-dimetilpiridina en 25 mL de acetonitrilo se añadieron 2.90 g (16.32 mmol) de N-bromosuccinimida. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón durante 5 h. El precipitado formado se filtró y se secó para proporcionar el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 2.76g (84%). ^1H -RMN (CDCl_3) δ 6.22 (s, 1H), 4.39 (br, 2H), 2.48 (s, 3H), 2.25 (s, 3H); ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ 156.34, 155.23, 148.64, 112.26, 108.10, 25.10, 23.30.

2-(2,5-Dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-bromo-4,6-dimetilpiridina (14):



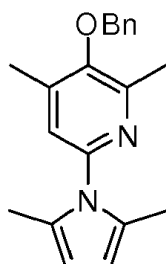
A una solución en agitación que contenía 2.76 g (13.75 mmol) de 2-amino-5-bromo-4,6-dimetilpiridina (13) en 25 mL de tolueno se añadieron 2.02 mL (17.18 mmol) de 2,5-hexadienona seguido de 130 mg (0.68 mmol) de ácido p-toluenosulfónico. La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante la noche bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se vertió en 150 mL de agua y luego se extrajo con una porción de 200 mL de acetato de etilo. La solución orgánica se lavó con una porción de 150 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-acetato de etilo 5:1 dio el producto esperado como un aceite naranja: rendimiento 2.37 g (62%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 6.93 (s, 1H), 5.88 (s, 2H), 2.70 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.12 (s, 6H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 157.35, 149.32, 128.42, 122.49, 121.22, 25.58, 23.41, 13.10.

2-(2,5-Dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-hidroxi-4,6-dimetilpiridina (15):



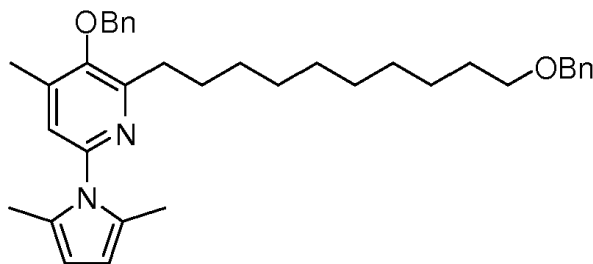
A una solución en agitación que contenía 2.37 g (8.49 mmol) de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-bromo-4,6-dimetilpiridina (14) en 30 mL de agua desgasificada con dioxano 1:1 se añadieron 311 mg (0.34 mmol) de Pd₂dba₃ seguido de 288 mg (0.68 mmol) de 2-Di-tert-butilfosfina-2',4',6'-triisopropilbifenilo (L1) y 1.42 g (25.46 mmol) de hidróxido de potasio. La mezcla de reacción se agitó a 100°C en atmósfera de argón durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en 150 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 150 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-acetato de etilo 3:1 dio el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 1.19 g (65%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 6.89 (s, 1H), 5.75 (s, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.22 (s, 3H), 2.05 (s, 6H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 148.80, 145.03, 143.12, 135.51, 128.43, 122.32, 106.01, 18.48, 15.95, 12.80.

2-(2,5-Dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-benciloxi-4,6-dimetilpiridina (16):



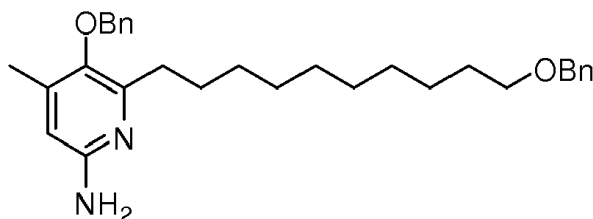
A una solución en agitación que contenía 1.18 g (5.50 mmol) de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-hidroxi-4,6-dimetilpiridina (15) en 20 mL de THF anhidro se añadieron 1.20 mL (10.10 mmol) de bromuro de bencilo seguido de 440 mg (11.00 mmol) de suspensión de hidruro de sodio al 60% en aceite mineral. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en 150 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 100 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-acetato de etilo 4:1 dio el producto esperado como un aceite amarillo claro: rendimiento 1.42 g (84%). ¹H-RMN (CDCl₃) δ 6.98 (s, 1H), 5.91 (s, 2H), 4.94 (s, 2H), 2.58 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.17 (s, 6H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 152.02, 151.03, 146.64, 141.95, 136.73, 128.60, 128.33, 127.89, 121.94, 106.44, 74.59, 19.48, 16.18, 13.08.

2-(2,5-Dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-piridina (17):



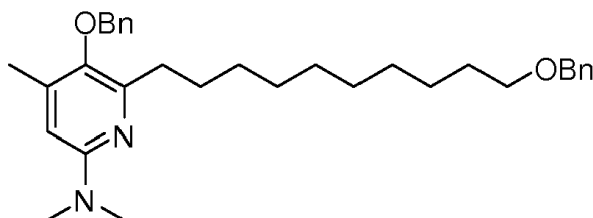
A una solución en agitación a -78°C que contenía 1.42 g (4.63 mmol) de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-benciloxi-4,6-dimetilpiridina (16) en 20 mL de THF anhidro se añadieron 5.15 mL (9.27 mmol) de una solución 1.8 M de PhLi en hexano seguido de 1.45 g (4.63 mmol) de 9-bromo-1-(benciloxi)nonano (1). La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de argón a -78°C durante 30 minutos luego, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente lentamente, y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos. La reacción se inactivó con NaHCO_3 acuoso saturado y se vertió en 150 mL de agua. La mezcla se extrajo a continuación con dos porciones de 150 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó a continuación con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-acetato de etilo 4:1 dio el producto esperado como un aceite amarillo claro: rendimiento 1.22 g (49%) ^1H -RMN (CDCl_3) δ 7.54-7.37 (m, 10H), 6.93, (s, 1H), 5.94 (s, 2H), 4.95 (s, 2H), 4.55 (s, 2H), 3.52 (t, 2H, $J = 6.4$), 2.91 (t, 2H, $J = 8.0$), 2.39 (s, 3H), 2.51 (s, 6H), 1.82 (m, 2H), 1.65 (m, 2H), 1.33 (m, 12H); ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ 155.94, 150.86, 146.89, 142.59, 138.80, 136.92, 128.69, 128.49, 128.38, 127.81, 127.65, 127.49, 121.75, 106.55, 75.30, 72.89, 70.55, 32.21, 29.85, 29.68, 29.63, 29.60, 29.59, 29.57, 29.53, 28.99, 26.27, 16.42, 13.30.

2-Amino-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-piridina (18):



A una solución en agitación que contenía 1.22 g (2.26 mmol) de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-piridina (17) en 40 mL de etanol-agua 4:1 se añadieron 5.44 g (90.40 mmol) de hidrócloruro de hidroxilamina seguido de 6.00 mL (45.20 mmol) de trietilamina. La mezcla de reacción se agitó luego a reflujo bajo atmósfera de argón durante la noche. La mezcla de reacción se vertió luego en 100 mL de NaHCO_3 acuoso saturado y se extrajo con dos porciones de 100 mL de diclorometano. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con diclorometano-metanol 9:1 dio el producto esperado como un aceite amarillento: rendimiento 722 mg (69%). ^1H -RMN (CDCl_3) δ 7.38-7.24 (m, 10H), 6.24 (s, 1H), 4.72 (s, 2H), 4.48 (s, 2H), 3.44 (t, 2H, $J = 8.0$), 2.63 (t, 2H, $J = 8.0$), 2.19 (s, 3H), 2.04 (s, 3H), 1.63-1.53 (m, 4H), 1.27 (m, 12H); ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ 176.95, 153.85, 149.42, 146.90, 143.66, 138.66, 136.73, 128.62, 128.30, 127.77, 127.61, 127.44, 109.71, 75.86, 72.81, 70.50, 29.73, 29.58, 29.55, 29.52, 29.44, 29.42, 29.26, 26.16, 22.14, 16.73.

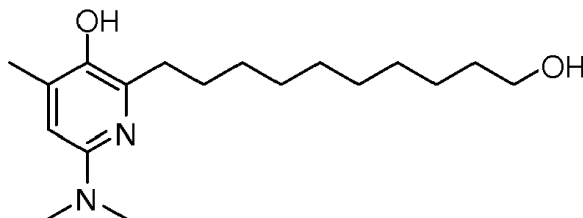
2-N,N-dimetilamino-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-piridina (19):



Una solución en agitación que contenía 722 mg (1.57 mmol) de 2-amino-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-piridina (18) en 6 mL de DMF anhidro se añadieron 1.17 mL (18.84 mmol) de yoduro de metilo seguido por 376 mg (9.40 mmol) de una suspensión al 60% de NaH en aceite mineral. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se inactivó con agua y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en 150 mL de diclorometano y se lavó con una porción de 150 mL de salmuera. La solución orgánica se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con n-pentano-acetato de etilo 3:1 dio el producto esperado como un aceite

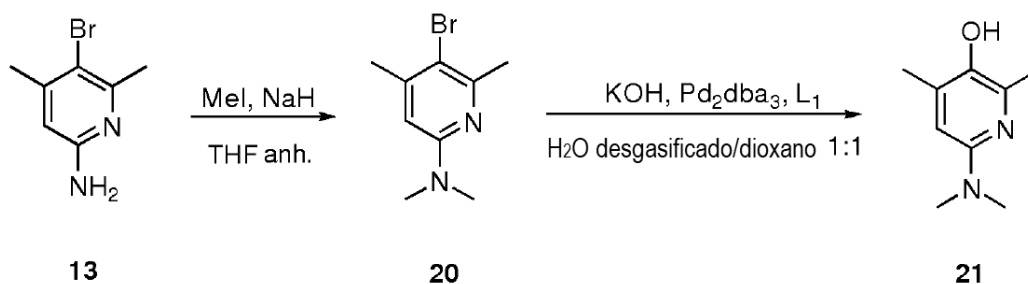
amarillento: rendimiento 320 mg (42%) ^1H -RMN (CDCl_3) δ 7.48-7.37 (m, 10H), 4.70 (s, 2H), 4.49 (s, 2H), 3.45 (t, 2H, $J = 6.4$), 3.15 (s, 6H), 2.61 (t, 2H, $J = 7.2$), 2.34 (s, 3H), 1.63-1.53 (m, 4H), 1.27 (m, 12H)

2-N,N-dimetilamino-5-hidroxi-4-metil-6-(10-hidroxidecil)piridina (B):

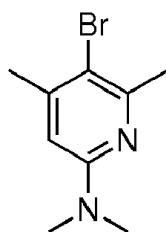


- 5 A una solución en agitación a -78°C que contenía 18 mg (0.045 mmol) de 2-N,N-dimetilamino-5-benciloxi-4-metil-6-(10-benciloxidecil)-piridina (19) en 2 mL de anhidro diclorometano se añadieron 17 mg (0.045 mmol) de $n\text{-Bu}_4\text{NI}$ seguido de 113 μL (0.113 mmol) de una solución 1M de BCl_3 en diclorometano. La mezcla de reacción se agitó mientras se calentaba lentamente a temperatura ambiente durante 30 minutos bajo atmósfera de argón. La mezcla de reacción se inactivó con agua y se vertió en 20 mL de HCl 2N. La mezcla se extrajo con una porción de 30 mL de DCM. La capa acuosa se basificó ($\text{pH} \sim 11\text{-}12$) con una solución de NaOH 2N y se extrajo con dos porciones de 20 mL de DCM. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 40 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto esperado en forma de un aceite amarillento: rendimiento 10.6 mg (76%). ^1H -RMN (CDCl_3) δ 6.21 (br, 1H), 3.63 (t, 2H, $J = 6.4$), 3.04 (br., 6H), 2.71 (br., 2H), 2.22 (br., 3H), 1.69-1.53 (m, 4H), 1.27 (m, 12H).

- 15 Preparación de 2-N,N-dimetilamino-5-hidroxi-4,6-dimetilpiridina (21)

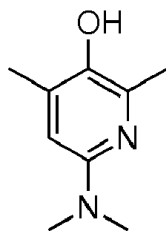


2-N,N-dimetilamino-5-bromo-4,6-dimetilpiridina (20):



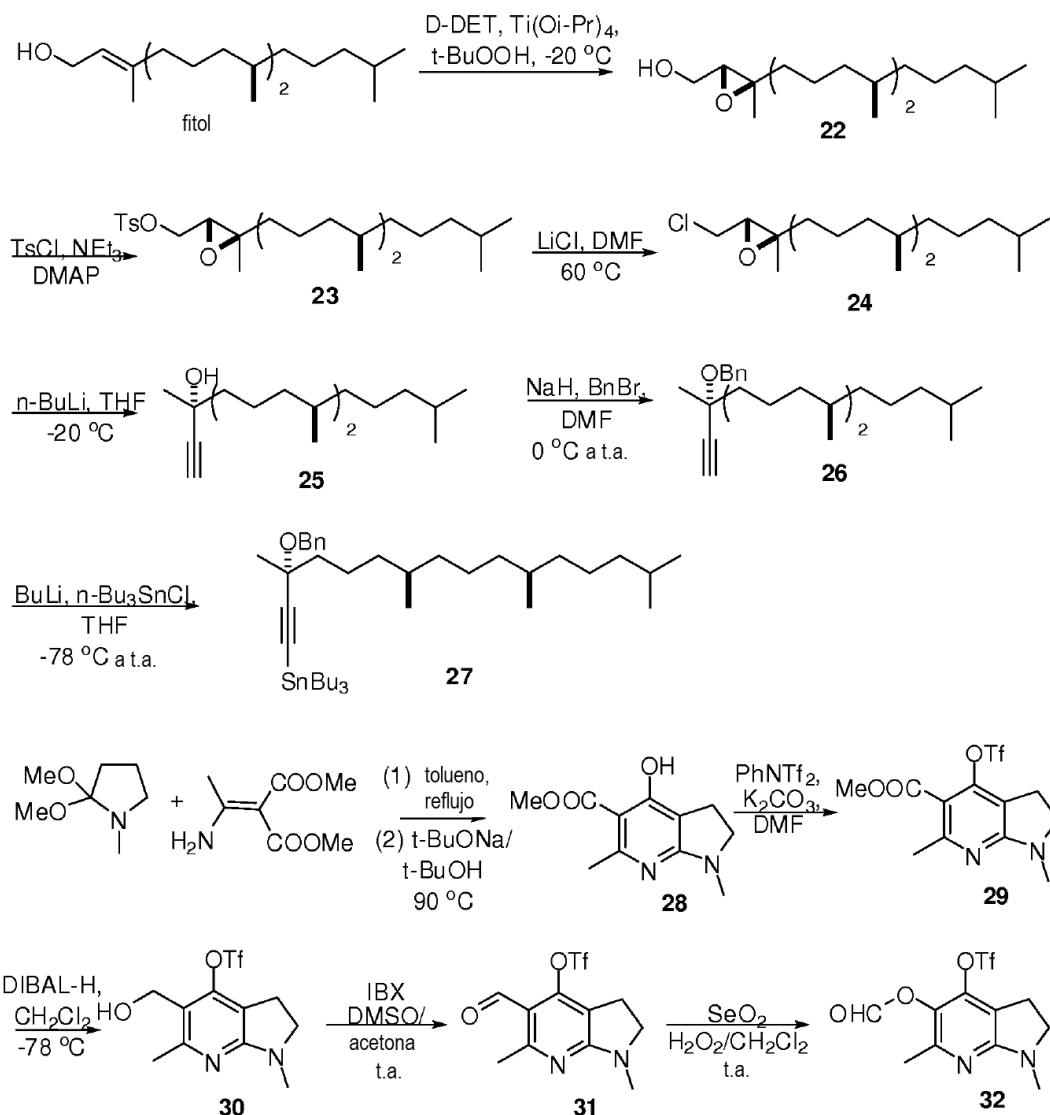
- 20 A una solución en agitación que contenía 1.12 g (5.57 mmol) de 2-amino-5-bromo-4,6-dimetilpiridina (13) en 20 mL de THF anhidro se añadieron 1.04 mL (16.71 mmol) de yoduro de metilo seguido de 668 mg (16.71 mmol) de 60% de suspensión de hidruro de sodio en aceite mineral. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de argón durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en 100 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 100 mL de éter. La solución orgánica combinada se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-éter 9:1 dio el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 700 mg (55%). ^1H -RMN (CDCl_3) δ 6.22 (s, 1H), 3.01 (s, 6H), 2.51 (s, 3H), 2.30 (s, 3H); ^{13}C -RMN (CDCl_3) δ 156.34, 155.23, 148.64, 112.26, 108.10, 74.40, 25.10, 23.30.

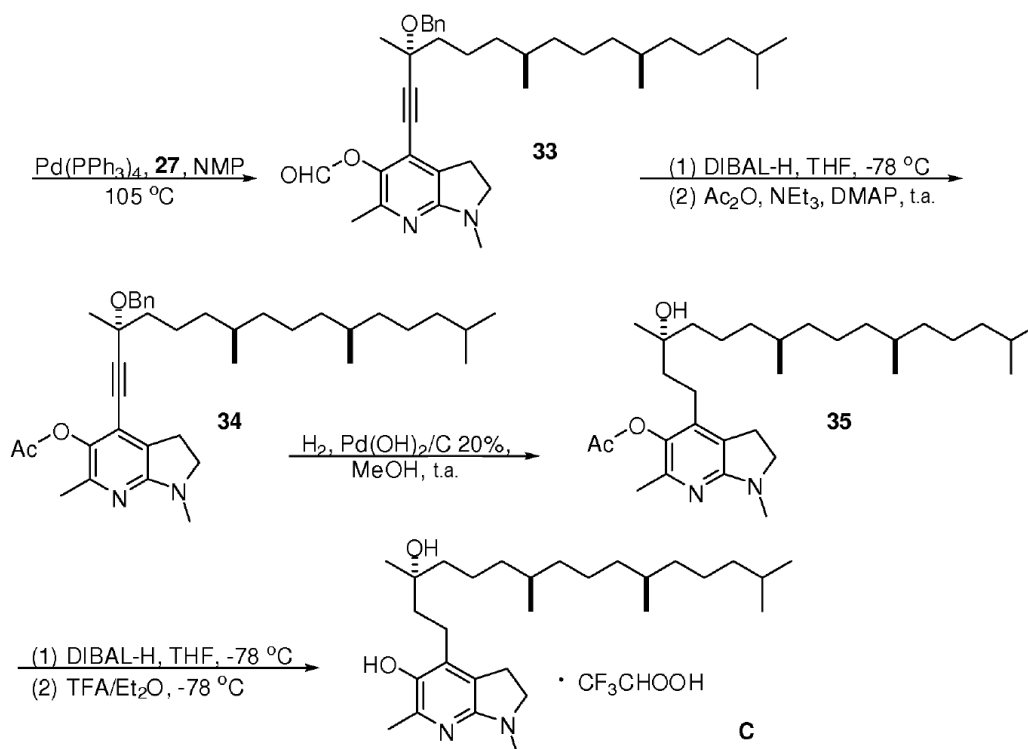
2-N,N-dimetilamino-5-hidroxi-4,6-dimetilpiridina (21):



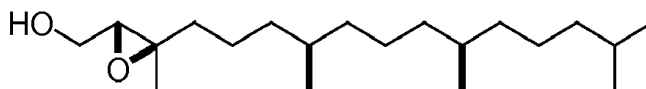
A una solución en agitación que contenía 1.12 g (5.57 mmol) de 2-N,N-dimetilamino-5-bromo-4,6-dimetilpiridina (20) en 10 mL de agua desgasificada con dioxano 1:1 se añadieron 56 mg (0.06 mmol) de Pd_2dba_3 seguido de 45 mg (0.10 mmol) de 2-di-tert-butilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (L1) y 512 mg (9.15 mmol) de hidróxido de potasio. La mezcla de reacción se agitó a 100°C en atmósfera de argón durante 4 h. La mezcla de reacción se vertió en 100 mL de agua y se extrajo con una porción de 75 mL de éter. La capa acuosa se neutralizó (pH ~7.0) con HCl y luego se extrajo con dos porciones de 75 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 75 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto esperado como un sólido parduzco claro: rendimiento 200 mg (35%). ^1H -RMN (Metanol- d_4) δ 6.27 (s, 1H), 2.90 (s, 6H), 2.29 (s, 3H), 2.16 (s, 3H).

Ejemplo 3: Preparación de 4-((3R,7R,11R)-3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametilhexadecil)-1,6-dimetil-2,3-dihidro-1H-pirrólo[2,3-b]piridin-5-ol





((2R,3R)-3-metil-3-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)oxiran-2-il)metanol ((R)-22):

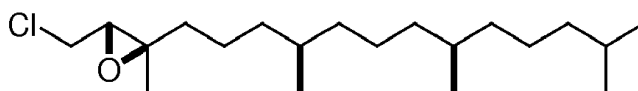


A una solución de 4.7 g de D-DET (22 mmol) y 3.5 g de 4Å MS en 300 mL de diclorometano se agregaron 13.7 g de $\text{Ti}(\text{i-PrO})_4$ (20 mmol) y 5.5 mL de t-BuOOH (5.5 M en nonano, 30 mmol) a $-20\text{ }^\circ\text{C}$ bajo protección con argón. Después de 20 minutos, se añadió a la mezcla de reacción una solución de 5.93 g de fitol natural (20 mmol) en 80 mL de diclorometano. Luego, la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 3 h. Por TLC monitorizó todo el material de partida hasta que fue consumido. La reacción se inactivó añadiendo 250 mL de mezcla de NaOH 1 N con salmuera y luego la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de Celite y luego se separó el líquido madre, el sólido se lavó con dos porciones de 400 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se secó (Na_2SO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (25 x 3.2 cm). La elución con Et_2O -hexanos 1:10 dio el producto (R)-22 como un aceite incoloro: rendimiento 5.98 g, (96%); sílica gel TLC R_f 0.26 (Et_2O -hexano 1:1); ^1H RMN (CDCl_3 , ppm): δ 0.83-0.87 (m, 12H), 1.00-1.65 (m, 21H), 1.21 (s, 3H), 2.27 (br s, 1H), 2.97 (dd, $J = 3, 4.8$ Hz, 1H), 3.68 (dd, $J = 5.4, 8.1$ Hz, 1H), 3.83 (br d, $J = 8.7$ Hz, 1H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , ppm): δ 17.04, 19.92, 20.02, 22.82, 22.90, 23.00, 24.73, 25.06, 26.06, 28.24, 37.18, 37.53, 37.59, 37.66, 39.06, 39.61, 61.65, 61.71, 63.27, 80.86.

3-metil-3-(4,8,12-trimetil-tridecil)-oxiranilmetil éster del ácido tolueno-4-sulfónico ((R)-23):

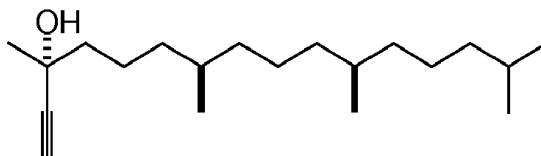
A una solución de 0.93 g de alcohol epóxido 22 (3.0 mmol) en 20 mL de diclorometano se añadieron 0.75 g de trietilamina y cantidad catalítica de DMAP. Luego se añadieron 0.68 g de TsCl por partes a la mezcla. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y luego se inactivó mediante la adición de 30 mL de agua. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre Na_2SO_4 . Después de eliminar el disolvente, el residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (25 x 3.2 cm). La elución con 1:100 a 1:10 de Et_2O -hexanos dio el producto (R)-23 como un aceite incoloro: rendimiento 1.12 g (80%); TLC con sílica gel R_f 0.20 (Et_2O -hexano 1:5); ^1H RMN (CDCl_3 , ppm): δ 0.82-0.86 (m, 12H), 0.99-1.92 (m, 21H), 1.19 (s, 3H), 2.44 (s, 3H), 2.96 (t, $J = 6.0$ Hz, 1H), 4.09 (dd, $J = 6.0, 11.0$ Hz, 1H), 4.15 (dd, $J = 5.5, 11.0$ Hz, 1H), 7.34 (d, $J = 8.0$ Hz, 2H), 7.80 (d, $J = 6.8$ Hz, 2H).

((2R,3S)-3-(clorometil)-2-metil-2-((4R,8R)-4,8,12-trimetiltridecil)oxirano ((R)-24):



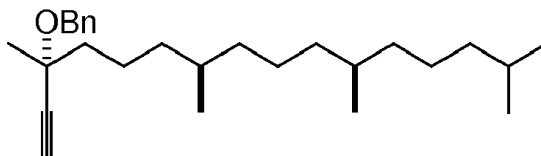
A una solución de 1.12 g de éster de tosilato epóxido ((R)-23, 2.4 mmol) en 20 mL de DMF se añadieron 0.12 g de cloruro de litio (2.6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 60°C durante 1 hora. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se vertió en 40 mL de agua y se extrajo con tres porciones de 30 mL de EtOAc. La capa orgánica combinada se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado y salmuera, luego se secó (Na₂SO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (25 x 3.2 cm). La elución con Et₂O-hexanos 1:100 dio el producto (R)-24 como un aceite incoloro: rendimiento 0.72 g (91%); sílica gel TLC R_f 0.66 (Et₂O-hexanos 1:5); ¹H RMN (CDCl₃, ppm): δ 0.83-0.88 (m, 12H), 1.00-1.70 (m, 21H), 1.31 (s, 3H), 3.03 (t, J = 6.6 Hz, 1H), 3.45 (dd, J = 7.2, 11.4 Hz, 1H), 3.70 (dd, J = 6, 11.7 Hz, 1H).

(3R,7R,11R)-3,7,11,15-tetrametilhexadec-1-in-3-ol ((R)-25):



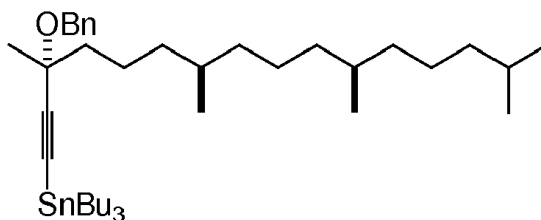
A una solución de 720 mg de cloruro de epóxido ((R)-24, 2.2 mmol) en 10 mL de THF seco se añadieron 4.4 mL de butil litio (2.5 M en hexano, 11.0 mmol) a -20°C bajo protección con argón. Después de 20 minutos, la mezcla de reacción se inactivó mediante la adición de 10 mL de cloruro de amonio acuoso saturado y se calentó a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se extrajo en tres porciones de 10 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Después de eliminar el disolvente a presión reducida, el residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (20 x 3.2 cm). La elución con Et₂O-hexanos 1:5 dio el producto (R)-25 en forma de un aceite incoloro: rendimiento 640 mg, (100%); sílica gel TLC R_f 0.16 (Et₂O-hexanos 1:1); ¹H RMN (CDCl₃, ppm): δ 0.82-0.87 (m, 12H), 0.99-1.72 (m, 21H), 1.49 (s, 3H), 2.12 (br s, 1H), 2.42 (s, 1H).

[1-Metil-1-(4R,8R,12R)-4,8,12-trimetil-tridecil-prop-2-iniloximetil]-benceno ((R)-26):



A una solución de 718 mg de (R)-25 (2.4 mmol) en 20 mL de DMF seco se añadieron 160 mg de hidruro de sodio (60% de mezcla de aceite mineral, 4.0 mmol) y se agitó a 0°C durante 20 min. Se añadieron 680 mg de bromuro de bencilo (4.0 mmol) a la mezcla de reacción mediante una jeringa. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se añadieron 20 mL de cloruro de amonio saturado acuoso y 20 mL de agua para inactivar esta reacción. La mezcla de reacción se extrajo con 3 porciones de 50 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó (MgSO₄) y luego el disolvente se eliminó a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (25 x 3.2 cm). La elución con Et₂O-hexanos 1:100 dio el producto (R)-26 como un aceite incoloro: rendimiento 750 mg, (80%); sílica gel TLC R_f 0.95 (1:20 Et₂O-hexanos); ¹H RMN (CDCl₃, ppm): δ 0.83-0.88 (m, 12H), 1.02-1.81 (m, 19H), 1.50 (s, 3H), 2.48 (s, 3H), 4.63 (dd, J = 11.5, 32.5 Hz, 2H), 7.24-7.27 (m, 1H), 7.30-7.37 (m, 4H). ¹³C RMN (CDCl₃, ppm): δ 19.67, 19.83, 21.69, 22.65, 22.71, 24.47, 24.80, 26.32, 26.37, 27.97, 32.69, 32.79, 37.11, 37.29, 37.43, 39.37, 41.82, 66.19, 73.23, 73.67, 85.51, 127.27, 127.62, 128.25, 139.11; MALDI-TOF: m/z, M+Na⁺, 407.2.

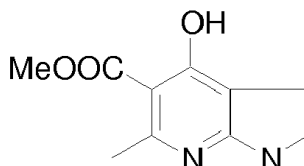
((3R,7R,11R)-3-(benciloxi)-3,7,11,15-tetrametilhexadec-1-inil) tributilestannano (27):



A una solución de 424 mg (1.4 mmol) de alquino 26 en 6 mL de THF seco se añadieron 1.12 mL (2.5 M en hexano, 2.8 mmol) a -78°C. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a 0°C y se agitó durante 20 minutos, luego se añadieron 470 mg (1.4 mmol) de n-Bu₃SnCl. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó

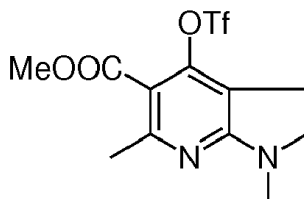
durante 4 h, luego se vertió en 10 mL de NH_4Cl acuoso saturado. La mezcla se extrajo con tres porciones de 10 mL de éter etílico. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (25 x 3.2 cm). La elución con hexanos puros dio el producto 27 en forma de un aceite incoloro: rendimiento 768 mg (100%); sílica gel TLC R_f 0.96 (1:20 Et_2O -hexanos); ^1H RMN (CDCl_3): δ 0.78-0.92 (m, 39 H), 0.96-1.84 (24 H), 4.64 (q, $J = 16.4$ Hz, 2H), 7.24-7.36 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3): δ 8.82, 11.15, 13.75, 13.80, 19.83, 22.16, 22.71, 22.81, 24.65, 24.92, 26.99, 27.51, 28.08, 29.04, 29.39, 29.85, 32.94, 37.63, 39.51, 66.24, 73.27, 74.60, 87.38, 127.12, 127.73, 128.18, 128.35, 139.77; espectro de masas, m/z 697.5 ($\text{M}+\text{Na}^+$) (teórico 697.4).

Éster metílico del ácido 4-hidroxi-1,6-dimetil-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-carboxílico (28):



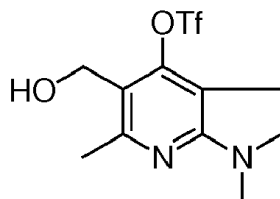
Una mezcla de 100 mg de éster dimetílico del ácido 2-(1-amino-etilideno)-malónico (57.7 μmol) y 168 mg de 2,2-dimetil-1-metilpirrolidina (115.4 μmol) en 2 mL de tolueno se calentó a reflujo durante 3 h, y luego se añadieron 160 mg de *tert*-butóxido de sodio (2.9 eq) y 1 mL de *tert*-butanol. La mezcla de reacción resultante se calentó a 90°C y se agitó durante 16 h, luego se enfrió a temperatura ambiente. A esta solución se añadieron 5 mL de cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con tres porciones de 10 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó (MgSO_4). Después de eliminar el disolvente a presión reducida, el residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (15 x 2 cm). La elución con 1:20 a 1:10 de EtOAc-hexanos dio el producto 28 como un sólido blanco: rendimiento de 115 mg, (90%); sílica gel TLC R_f 0.46 (EtOAc-Hexano 1:4); ^1H RMN (CDCl_3 , ppm): δ 2.62 (s, 3H), 2.93 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 2.98 (s, 3H), 3.55 (t, $J = 9.0$ Hz, 2H), 3.90 (s, 3H), 11.79 (s, 1H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , ppm): δ 22.48, 27.82, 31.90, 51.98, 52.35, 101.09, 102.20, 162.20, 163.75, 165.64, 172.38; HRMS (ESI+) calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3$ 223.1077, encontrado 223.1082.

1,6-dimetil-4-(trifluorometilsulfonilo)-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-carboxilato de metilo(29):



A una solución de 74 mg de éster metílico del ácido 4-hidroxi-1,6-dimetil-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-carboxílico (28, 0.33 mmol) y 150 mg de carbonato de potasio en 2.5 mL de DMF seco se añadieron 180 mg de *N*-fenil bis-trifluorometano sulfonimida (0.50 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó durante 1.5 h y luego se inactivó añadiendo 5 mL de cloruro de amonio saturado acuoso. La mezcla de reacción se extrajo con tres porciones de 5 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó (MgSO_4). El disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (15 x 2 cm). La elución con EtOAc-hexanos 1:40 dio el producto 29 como un sólido blanco: rendimiento 110 mg, (94%). Sílica gel TLC R_f 0.30 (EtOAc-hexanos 1:1); ^1H RMN (CDCl_3 , ppm): δ 2.54 (s, 3H), 3.01 (s, 3H), 3.11 (t, $J = 8.5$ Hz, 2H), 3.62 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 3.85 (s, 3H); ^{13}C RMN (CDCl_3 , ppm): δ 23.54, 24.37, 51.33, 52.04, 108.54, 10.96, 111.88, 149.34, 161.78, 164.88, 165.60; HRMS (ESI+) calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_5\text{SF}_3$ 355.0570, encontrado 355.0566.

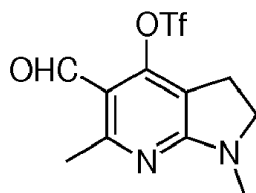
5-(Hidroximetil)-1,6-dimetil-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-4-il trifluorometanosulfonato (30):



A una solución de 169.7 mg de éster metílico 29 en 2 mL de diclorometano se añadieron 1.43 mL de DIBAL-H (1 M en tolueno, 3 eq) gota a gota a -78°C bajo protección con Ar. Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura y se agitó durante 2 h adicionales, luego se añadieron 5 mL de tartrato de sodio y potasio saturado acuoso mediante una jeringa. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 4 h adicionales. Después de la separación, la capa acuosa se extrajo con tres porciones de 5 mL de diclorometano. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio. Después de

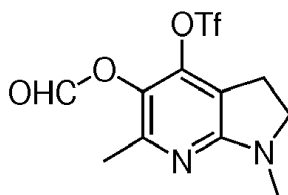
eliminar el disolvente, el residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (15 x 2 cm). La elución con EtOAc-hexanos 1:2 dio el producto 30 como un sólido blanco: rendimiento 148 mg, (95%). TLC con sílica gel R_f 0.20 (1:1 EtOAc-hexanos); ^1H RMN (CDCl_3 , ppm): δ 1.72 (br s, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.96 (s, 3H), 3.08 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.54 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 4.58 (s, 2H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , ppm): δ 22.01, 23.97, 32.29, 51.78, 76.68, 111.48, 114.08, 149.79, 159.93, 164.67; HRMS (ESI+) calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{N}_2\text{O}_4\text{SF}_3$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 327.0621, encontrado 327.0622.

Trifluorometanosulfonato de 5-formil-1,6-dimetil-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-4-ilo (31):



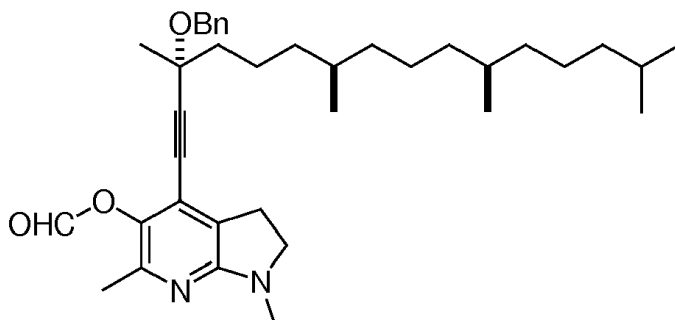
A una solución de 134 mg de alcohol 30 en 2 mL de DMSO y 2 mL de acetona se añadieron 116 mg de IBX. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, luego se enfrió a 0°C , se añadieron lentamente 5 mL de una mezcla de NaHCO_3 al 5% y $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ al 5% con una jeringa. Después de agitar durante 20 minutos adicionales, la mezcla se extrajo con tres porciones de 5 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO_4 . Después de eliminar el disolvente a presión reducida, el residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (15 x 2 cm). La elución con EtOAc-hexanos 1:10 dio el producto 31 como un cristal blanco: rendimiento 121 mg, (91%). TLC con sílica gel R_f 0.20 (EtOAc-hexanos 1:4); ^1H RMN (CDCl_3 , ppm): δ 2.70 (s, 3H), 3.09 (s, 3H), 3.18 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 3.72 (t, J = 8.5 Hz, 2H), 10.09 (s, 1H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , ppm): δ 23.21, 24.06, 31.48, 51.19, 112.28, 112.40, 120.01, 151.18, 165.51, 166.54, 185.22; ^{19}F RMN (CDCl_3 , ppm): δ -73.54 (s, 3F); HRMS (APCI+) calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4\text{SF}_3$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 325.0470, encontrado 325.0465.

Formiato de 1,6-dimetil-4-(trifluorometilsulfonilo)-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-ilo (32):



A una solución de 80 mg (0.24 mmol) de aldehído 31 en 3 mL de diclorometano se añadieron 1 mg (0.09 mmol) de SeO_2 y 1.5 mL de H_2O_2 (30% en H_2O). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 16 h, luego se enfrió a 0°C , se añadieron lentamente 12 mL de 5% de NaHCO_3 . La mezcla se agitó durante 20 minutos adicionales y luego se extrajo con tres porciones de 15 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre Na_2SO_4 . Después de eliminar el disolvente, el residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (15 x 2 cm). La elución con EtOAc-hexanos 1:10 proporcionó el producto 32 como un sólido amarillo claro: rendimiento 47.6 mg (57%). Sílica gel TLC R_f 0.28 (hexanos EtOAc 4:1); ^1H RMN (CDCl_3 , ppm): δ 2.25 (s, 3H), 2.94 (s, 3H), 3.08 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 3.57 (t, J = 8.4 Hz, 2H), 8.23 (s, 1H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , ppm): δ 19.21, 23.69, 32.36, 52.10, 113.38, 116.76, 119.95, 126.71, 150.24, 158.20, 162.82; ^{19}F RMN (CDCl_3 , ppm): δ -73.77 (s, 3F); HRMS (ESI+) calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_5\text{SF}_3$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 340.0414, encontrado 340.0413.

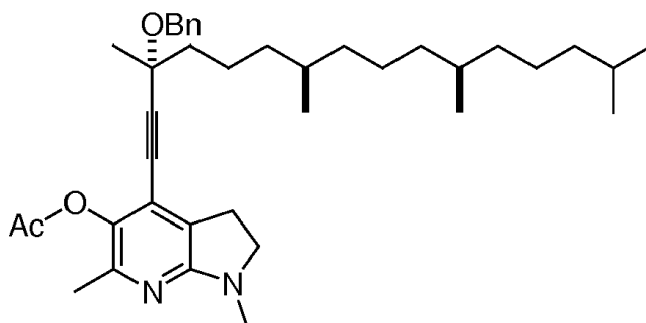
Formiato de 4-((3R,7R,11R)-3-(benciloxi)-3,7,11,15-tetrametilhexadec-1-inil)-1,6-dimetil-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-ilo (33):



A una solución de 28.0 mg (0.082 mmol) de formiato 32 en 2 mL de NMP se añadieron 9.1 mg (0.008 mmol) de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 66.0 mg (0.098 mmol) de sustituto de la cadena lateral de tributil estaño 6. La mezcla de reacción se calentó a 105°C y se agitó durante 2 h, luego se enfrió a 0°C . Se añadieron lentamente 5 mL de NaHCO_3 al 5%. La mezcla se agitó a 0°C durante 20 minutos adicionales y luego se extrajo con tres porciones de 8 mL de acetato de etilo. La capa

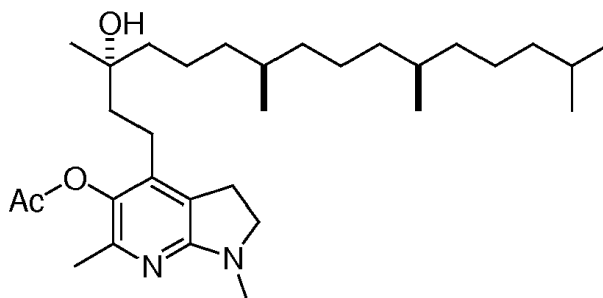
orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre Na_2SO_4 . Después de eliminar el disolvente, el residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (20 x 1.7 cm). La elución con EtOAc-hexanos 1:10 dio el producto 33 en forma de un aceite incoloro: rendimiento 42.0 mg (88%); sílica gel TLC R_f 0.38 (EtOAc-hexanos 1:4); ^1H RMN (CDCl_3 , ppm): δ 0.84-0.89 (m, 12H), 1.05-1.83 (m, 21H), 1.56 (s, 3H), 2.47 (s, 3H), 2.92 (s, 3H), 2.96 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 3.50 (t, $J = 6.4$ Hz, 2H), 4.65 (dd, $J = 9.2, 21.6$ Hz, 2H), 7.27-7.39 (m, 5H), 8.16 (s, 1H). ^{13}C RMN (CDCl_3 , ppm): δ 19.08, 19.66, 19.74, 21.92, 22.63, 22.72, 24.50, 24.80, 25.47, 26.34, 27.97, 32.75, 32.77, 32.81, 37.12, 37.30, 37.47, 39.37, 41.86, 52.34, 66.47, 74.45, 100.95, 105.00, 106.43, 124.43, 127.38, 127.53, 128.32, 130.23, 135.21, 138.96, 146.38, 159.20; HRMS (ESI+) calculado para $\text{C}_{37}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 575.4207, encontrado 575.4244.

Acetato de 4-((3R,7R,11R)-3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametilhexadecil)-1,6-dimetil-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-il (34):



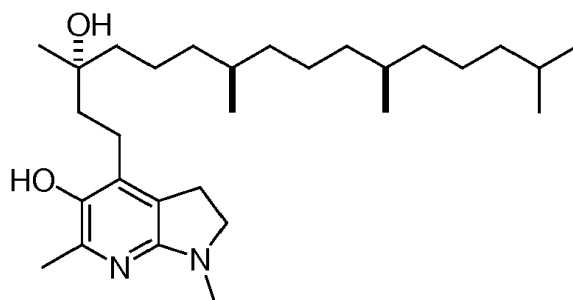
A una solución de 25 mg de éster de formiato 33 en 2 ml de CH_2Cl_2 se añadieron 220 μL (1 M en tolueno, 5 eq) de DIBAL H a -78°C . La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 1.5 h luego se añadieron 300 μL de trietilamina y 150 μL de anhídrido acético y cantidad catalítica de DMAP. La mezcla de reacción resultante se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 24 h. La reacción se inactivó con 2 mL de cloruro de amonio acuoso saturado y se extrajo con tres porciones de 5 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (20 x 1.7 cm). La elución con EtOAc-hexanos 6:100 dio el producto 34 como un aceite amarillento: rendimiento 20 mg, (78%); Sílica gel TLC R_f 0.48 (EtOAc-hexanos 1:4); ^1H RMN (C_6H_6): δ 0.87-0.93 (m, 12H), 1.02-1.99 (m, 25H), 1.52 (s, 3H), 1.95 (s, 3H), 2.37 (s, 3H), 2.49 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H), 2.67 (s, 3H), 4.76 (dd, $J = 11.6, 55.2$ Hz, 2H), 7.06-7.20 (m, 3H), y 7.44 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H); HRMS (ESI+) calculado para $\text{C}_{38}\text{H}_{56}\text{N}_2\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 589.4364, encontrado 589.4383.

Acetato de 4-((3R,7R,11R)-3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametilhexadecil)-1,6-dimetil-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-il (35):

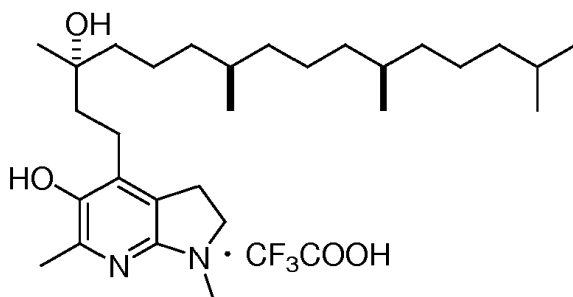


A una solución de 25.0 mg (0.05 mmol) de acetato éster 34 en 5 mL de metanol se añadieron 13 mg de catalizador de Pearlman. La mezcla de reacción se burbujeó con hidrógeno y se agitó durante 2 h, luego se cargó con un balón de hidrógeno durante la noche. La mezcla se filtró a través de una almohadilla de celite y se lavó con metanol. El disolvente se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía instantánea en una columna de sílica gel (20 x 1.7 cm). La elución con EtOAc-hexanos 1:5 dio el producto 35 en forma de un aceite incoloro: rendimiento 15.7 mg, (71%); Sílica gel TLC R_f 0.10 (EtOAc-hexanos 1:4); ^1H RMN (CDCl_3): δ 0.83-0.87 (m, 12H), 1.00-1.56 (m, 23H), 1.20 (s, 3H), 2.20 (s, 3H), 2.30 (s, 3H), 2.38 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.87 (t, $J = 8.4$ Hz, 2H), 2.89 (s, 3H) y 3.44 (t, $J = 8.0$ Hz, 2H) con un protón de OH no identificado; HRMS (ESI+) calculado para $\text{C}_{31}\text{H}_{54}\text{N}_2\text{O}_3$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 503.4207, encontrado 503.4213.

4-((3R,7R,11R)-3-hidroxi-3,7,11,15-tetrametilhexadecil)-1,6-dimetil-2,3-dihidro-1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-il (Compuesto C):

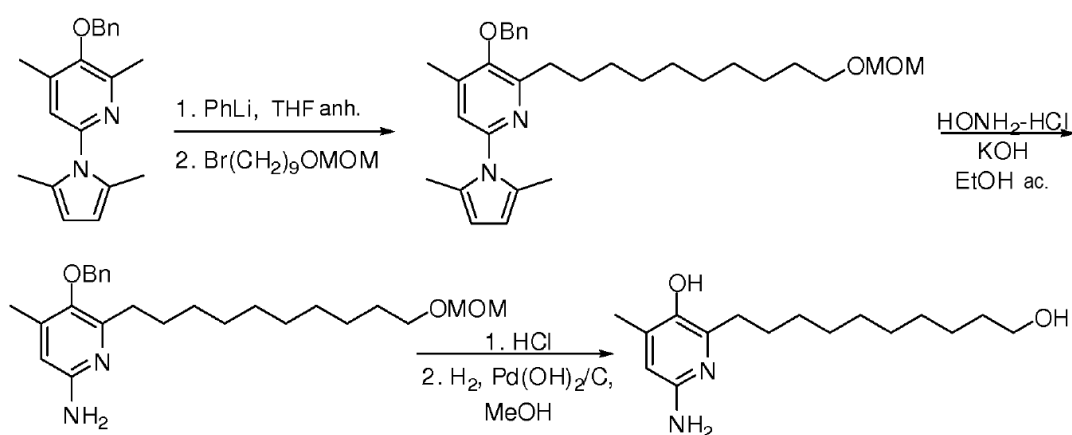


5 A una solución de 2.2 mg (4.4 μmol) de éster de acetilo 35 en 1 ml de CH_2Cl_2 se añadieron 17.5 μL (17.5 μmol) de DIBAL-H a -78°C . La mezcla de reacción se agitó a la misma temperatura durante 2 h a medida que se añadió lentamente 1 mL de tartrato de potasio de sodio acuoso saturado. La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente, se añadió lentamente y se agitó durante 3 h, luego se separó. La capa acuosa se extrajo con dos porciones de 5 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se concentró a presión reducida para dar el producto C en forma de un aceite naranja. HPLC encontró retener el tiempo en 21.82 min. Este compuesto se degeneró después de un día; espectro de masas, m/z 461.4 ($\text{M}+\text{H}^+$) (valor teórico 461.4).

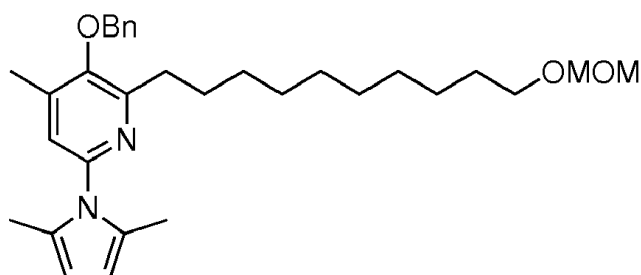


10 El compuesto obtenido anteriormente se disolvió en 1 mL de éter y se enfrió a -78°C . A esta solución se añadieron 0.1 mL de solución de éter de TFA (0.1 M en éter). La mezcla se agitó a la misma temperatura durante 1 h, luego se eliminó el disolvente. El residuo se transfirió mediante CH_3CN a viales y se liofilizó para dar el producto C como una sal de TFA: rendimiento de 2.5 mg (100%).

15 Ejemplo 4: Preparación de 6-amino-2-(10-hidroxidecil)-4-metilpiridin-3-ol

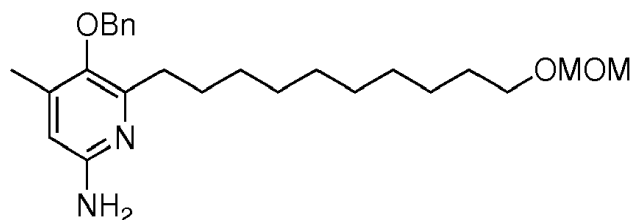


3-(Benciloxi)-6-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-2-(10-(metoximetoxi)decil)-4-metilpiridina:



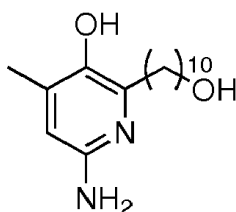
A una solución en agitación a -78°C que contenía 906 mg (2.95 mmol) de 3-(benziloxy)-6-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-2,4-dimetilpiridina en 20 mL de THF anhidro se añadieron 789 mg (2.95 mmol) de 1-bromo-9-(metoximetoxi)nonano seguido de 1.99 mL (3.54 mmol) de una solución 1.80 M de PhLi en hexano. La mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 30 minutos. luego, la mezcla de reacción se calentó lentamente a 23°C y la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos. La reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado y luego se vertió en 80 mL de agua. La mezcla se extrajo a continuación con dos porciones de 80 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó a continuación con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (15 x 5 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 4:1 proporcionó el producto esperado como un aceite amarillo claro: rendimiento 877 mg (60%); sílica gel TLC R_f 0.3 (hexanos-acetato de etilo 9:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 1.18-1.22 (br m, 12H), 1.50 (quint, 2H, $J = 6.8$ Hz), 1.65 (m, 2H), 2.06 (s, 6H), 2.26 (s, 3H), 2.75 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.28 (s, 3H), 3.43 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 4.53 (s, 2H), 4.82 (s, 2H), 5.78 (s, 2H), 6.79 (s, 1H) y 7.29-7.40 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 13.30, 13.30, 16.35, 26.19, 28.92, 29.40, 29.48, 29.50, 29.55, 29.61, 29.73, 32.13, 55.05, 67.86, 75.24, 96.36, 106.40, 106.40, 121.68, 121.68, 127.73, 127.90, 127.90, 128.89, 128.89, 138.83, 141.97, 141.97, 146.80, 150.76 y 155.88; espectro de masas (APCI), m/z 493.3426 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ ($\text{C}_{31}\text{H}_{45}\text{N}_2\text{O}_3$ requiere 493.3430).

5- (Benziloxy)-6-(10-(metoximetoxi)decil)-4-metilpiridin-2-amina:



A una solución en agitación que contenía 240 mg (0.49 mmol) de 3-(benziloxy)-6-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-2-(10-(metoximetoxi)decil)-4-metilpiridina en 10 mL de etanol-agua 9:1, se añadieron 338 mg (4.87 mmol) de hidrócloruro de hidroxilamina, seguido de 273 mg (4.87 mmol) de hidróxido de potasio. La mezcla de reacción se agitó luego a reflujo durante 6 h. luego se añadió una segunda porción de 338 mg (4.87 mmol) de hidrócloruro de hidroxilamina seguido de 273 mg (4.87 mmol) de hidróxido de potasio y la mezcla se agitó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió luego en 50 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 50 mL de diclorometano. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 60 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (10 x 3 cm). La elución con 9:1 de diclorometano-metanol proporcionó el producto esperado como un aceite amarillento: rendimiento de 113 mg (56%); sílica gel TLC R_f 0.45 (diclorometano-metanol 9:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 1.24-1.31 (br m, 12H), 1.63-1.53 (m, 4H), 2.16 (s, 3H), 2.62 (dd, 2H, $J = 8.0, 8.0$ Hz), 3.28 (s, 3H), 3.48 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 4.59 (s, 2H), 4.71 (s, 2H), 5.24 (br s, 2H), 6.16 (s, 1H) y 7.31-7.43 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 16.73, 29.19, 29.40, 29.46, 29.46, 29.48, 29.56, 29.72, 29.84, 32.24, 53.41, 67.85, 75.43, 96.34, 108.08, 127.73, 128.00, 128.00, 128.50, 128.50, 137.41, 142.46, 144.91, 153.46 y 154.13; espectro de masas (APCI), m/z 415.2957 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ ($\text{C}_{25}\text{H}_{39}\text{N}_2\text{O}_3$ requiere 415.2961).

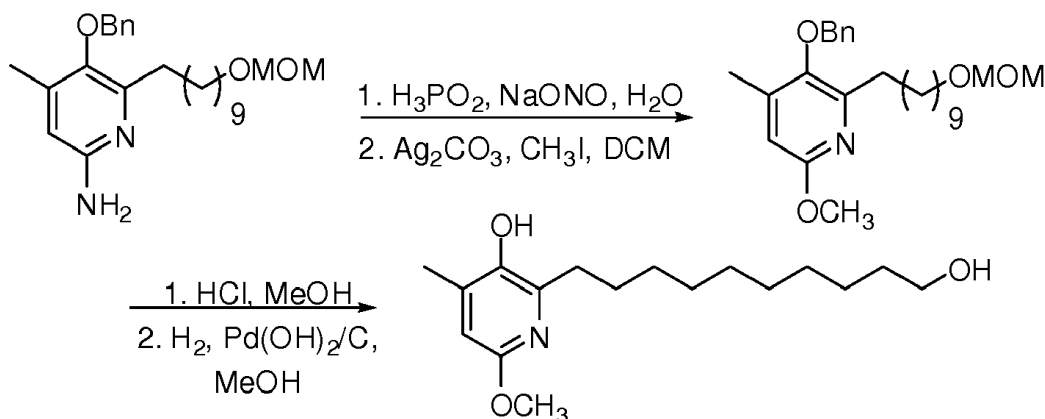
6-amino-2-(10-hidroxidedecil)-4-metilpiridin-3-ol:



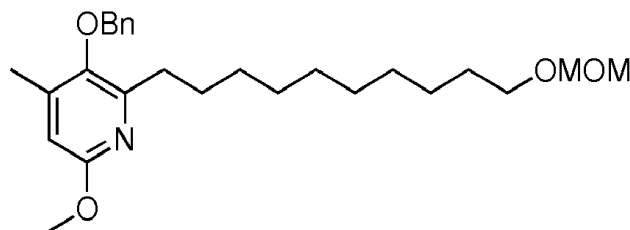
A una solución en agitación que contenía 113 mg (0.27 mmol) de 5-(benziloxy)-6-(10-(metoximetoxi)decil)-4-metilpiridin-2-amina en 10 mL de metanol se añadieron dos gotas de HCl concentrado y el la mezcla se agitó a reflujo durante 16 h. A la mezcla se añadieron 5 mg de hidróxido de paladio al 20% sobre carbono (Degussa tipo E101 NE/N). La mezcla de reacción se agitó a 23°C en atmósfera de hidrógeno durante 15 minutos. La mezcla de reacción se filtró

a través de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (10 x 1 cm). La elución con 17:3 de diclorometano-metanol proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 22 mg (29%); pf: 138-139°C; TLC con sílica gel R_f 0.20 (diclorometano-metanol 17:3); ^1H RMN (metanol- d_4) δ 1.28-1.35 (m, 12H), 1.48-1.58 (m, 4H), 2.13 (s, 3H), 2.60 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.51 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz) y 6.25 (s, 1H); ^{13}C RMN (metanol- d_4) δ 15.21, 25.51, 28.78, 29.15, 29.20, 29.22, 29.22, 29.28, 31.49, 32.23, 61.58, 108.39, 139.23, 141.68, 146.88 y 152.45; espectro de masas (APCI+), m/z 281.2231 (M+H) ($\text{C}_{16}\text{H}_{29}\text{N}_2\text{O}_2$ requiere 281.2229).

Ejemplo 5: Preparación de 2-(10-hidroxidecilo)-6-metoxi-4-metilpiridin-3-ol (Compuesto F)

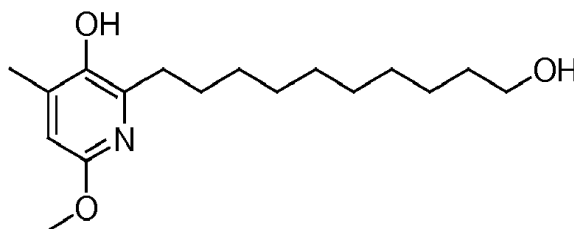


3-(benciloxi)-6-metoxi-2-(10-(metoximetoxi)decil)-4-metilpiridina:



A una solución en agitación a 0°C que contenía 65 mg (0.16 mmol) de 5-(benciloxi)-6-(10-(metoximetoxi)decil)-4-metilpiridin-2-amina en 2 mL de agua- H_3PO_2 acuoso al 50% 1:1 se añadieron 17 mg (0.24 mmol) de nitrito de sodio. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 30 minutos y luego a 23°C durante 16 horas. La mezcla de reacción se neutralizó (pH ~ 7) con NaOH acuoso y se agitó durante dos horas. La mezcla de reacción se vertió en 50 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 40 mL de DCM. La capa orgánica combinada se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en 5 mL de DCM anhidro. A la solución se añadieron 100 μL (1.60 mmol) de yoduro de metilo seguido de 66 mg (0.24 mmol) de Ag_2CO_3 . La mezcla de reacción se agitó durante la noche a 23°C y se protegió de la luz. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (8 x 1 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 3:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 18 mg (26%); sílica gel TLC R_f 0.55 (hexanos-acetato de etilo 4:1) ^1H RMN (CDCl_3) δ 1.24-1.24 (m, 12H), 1.56 (quint, 2H, $J = 7.6$ Hz), 1.70 (quint, 2H, $J = 7.6$ Hz), 2.22 (s, 3H), 2.70 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.34 (s, 3H), 3.49 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 3.86 (s, 3H), 4.60 (s, 2H), 4.74 (s, 2H), 6.37 (s, 1H) y 7.33-7.44 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 16.36, 26.19, 28.65, 29.42, 29.52, 29.54, 29.58, 29.65, 29.73, 31.77, 53.30, 55.05, 67.86, 75.31, 96.36, 108.75, 127.77, 128.07, 128.07, 128.53, 128.53, 137.29, 143.29, 146.62, 152.34 y 159.44; espectro de masas (APCI+), m/z 430.2965 (M+H) ($\text{C}_{26}\text{H}_{40}\text{N}_2\text{O}_5$ requiere 430.2957).

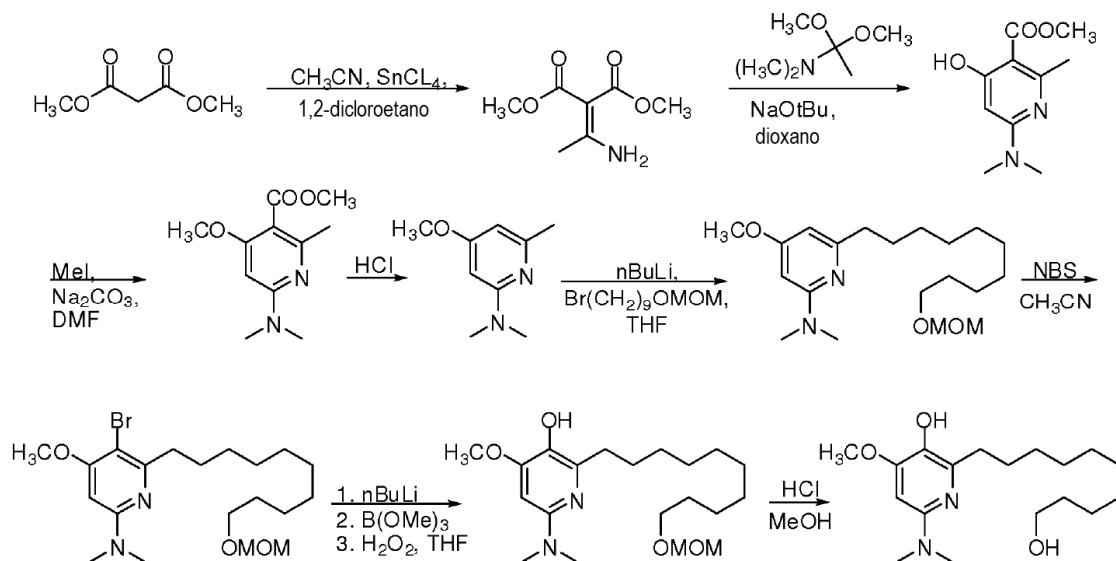
2-(10-hidroxidecilo)-6-metoxi-4-metilpiridin-3-ol (Compuesto F):



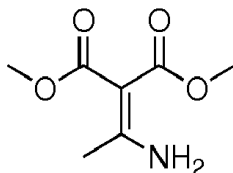
A una solución en agitación que contenía 18 mg (0.04 mmol) de 3-(benciloxi)-6-metoxi-2-(10-(metoximetoxi)decil)-4-metilpiridina en 3 mL de metanol se añadieron dos gotas de HCl concentrado. La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 16 h. A la mezcla se añadieron 3 mg de hidróxido de paladio al 20% sobre carbono (Degussa tipo E101 NE/N).

La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno durante 15 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (5 x 1 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 3:1 proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 8 mg (67%); pf: 80-81°C; sílica gel TLC R_f 0.50 (hexanos-acetato de etilo 3:1); ^1H RMN (metanol- d_4) δ 1.27 (br s, 12H), 1.49 (br s, 2H), 1.64 (br s, 2H), 2.41 (br s, 3H), 2.81 (br s, 2H), 3.51 (br s, 3H), 4.02 (br s, 1H) y 7.05 (br s, 1H); ^{13}C RMN (metanol- d_4) δ 16.59, 25.51, 28.13, 28.57, 28.92, 28.97, 29.09, 29.14, 29.24, 32.22, 56.39, 61.56, 107.60, 142.26, 145.27, 148.68 y 155.10; espectro de masas (APCI+), m/z 296.2220 (M+H) ($\text{C}_{17}\text{H}_{30}\text{NO}_3$ requiere 296.2226).

Ejemplo 6: Preparación de 6-(dimetilamino)-2-(10-hidroxidodecil)-4-metoxipiridin-3-ol (Compuesto G)

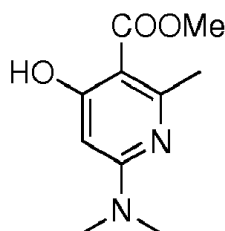


2-(1-Aminoetilideno)malonato de dimetilo:



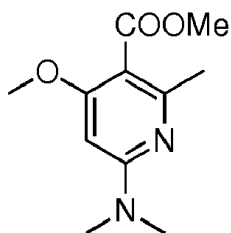
A una solución en agitación que contenía 4.36 mL (38.0 mmol) de malonato de dimetilo y 2.00 mL (38.0 mmol) de acetonitrilo en 20 mL de 1,2-dicloroetano se añadieron 8.90 mL (76.0 mmol) de SnCl_4 . La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró a continuación a presión reducida y el residuo se disolvió en 100 mL de acetona. Luego, se añadieron 70 mL carbonato de sodio acuoso saturado y la mezcla se agitó durante 20 minutos. La mezcla se vertió en 200 mL de bicarbonato de sodio acuoso saturado y se extrajo con dos porciones de 200 mL de DCM. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 200 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se recrystalizó en acetato de etilo/hexanos para proporcionar el producto esperado como cristales incoloros: rendimiento 3.96 g (60%); pf: 81-82°C; sílica gel TLC R_f 0.5 (acetato de etilo-hexanos 1:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 2.10 (s, 3H), 3.66 (s, 3H), 3.69 (s, 3H), 5.29 (br s, 1H) y 8.94 (br s, 1H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 22.0, 51.0, 51.6, 92.4, 164.0, 168.7 y 168.9; espectro de masas (APCI), m/z 174.0760 (M+H) $^+$ ($\text{C}_7\text{H}_{12}\text{NO}_4$ requiere 174.0766).

6-(dimetilamino)-4-hidroxi-2-metilnicotinato de metilo:



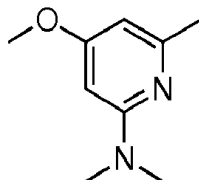
Una solución que contenía 1.10 g (6.36 mmol) de 2-(1-Aminoetilideno) malonato de dimetilo y 1.40 mL (9.56 mmol) de dimetilacetato de N,N'-dimetilacetamida en 10 mL de dioxano anhidro se agitó a reflujo durante 3 h y luego a 1.24 g se añadieron (12.7 mmol) de tert-butoxido de sodio y la mezcla se agitó a reflujo durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en 100 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 80 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 80 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (4 x 10 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 3:1 proporcionó metilo el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 689 mg (51%); pf: 61-62°C; sílica gel TLC R_f 0.47 (acetato de etilo-hexanos 3:1); ¹H RMN (CDCl₃) δ 2.58 (s, 3H), 3.06 (s, 6H), 3.87 (s, 3H), 5.97 (s, 1H) y 11.88 (s, 1H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 27.5, 37.4, 37.4, 51.6, 88.6, 99.3, 160.3, 161.9, 169.3 y 171.9; espectro de masas (APCI), m/z 211.1081 (M+H)⁺ (C₁₀H₁₅N₂O₃ requiere 211.1083).

6-(Dimetilamino)-4-metoxi-2-metilnicotinato de metilo:



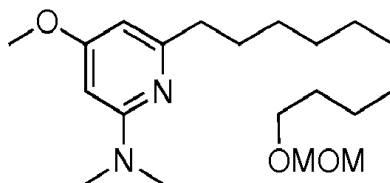
A una solución en agitación que contenía 689 mg (3.27 mmol) de 6-(dimetilamino)-4-hidroxi-2-metilnicotinato de metilo en 10 mL de DMF anhidro se añadieron 1.91 g (18.0 mmol) de carbonato de sodio anhidro seguido de 611 µL (9.81 mmol) de yoduro de metilo. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 16 h. Luego, la mezcla de reacción se vertió en 80 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 80 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 80 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (3 x 10 cm). La elución con 1:1 de hexanos-éter dietílico proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento de 340 mg (47%); pf: 65-66°C; sílica gel TLC R_f 0.15 (hexanos-dietil éter 1:1); ¹H RMN (CDCl₃) δ 2.37 (s, 3H), 3.07 (s, 6H), 3.80 (s, 3H) y 5.72 (s, 1H), 3.82 (s, 3H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 168.4, 165.2, 160.3, 156.7, 107.6, 84.5, 55.2, 51.7, 37.8, 37.8 y 23.5; espectro de masas (APCI), m/z 225.1246 (M+H)⁺ (C₁₁H₁₇N₂O₃ requiere 225.1239).

4-Metoxi-N,N,6-trimetilpiridin-2-amina:



Una solución que contiene 340 mg (1.52 mmol) de 6-(dimetilamino)-4-metoxi-2-metilnicotinato de metilo en 5 mL de HCl acuoso 6N se agitó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió en 50 mL de agua y el pH se ajustó a 12. La mezcla se extrajo con dos porciones de 40 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 40 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (2 x 6 cm). La elución con 9:1 de diclorometano-metanol proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento de 87 mg (34%); sílica gel TLC R_f 0.25 (diclorometano-metanol 9:1); ¹H RMN (CDCl₃) δ 2.33 (s, 3H), 3.02 (s, 6H), 3.75 (s, 3H), 5.77 (s, 1H) y 6.03 (s, 1H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 24.8, 38.0, 38.0, 54.7, 87.4, 98.5, 157.9, 160.8, 167.5; espectro de masas (APCI), m/z 167.1183 (M+H)⁺ (C₉H₁₅N₂O requiere 167.1184).

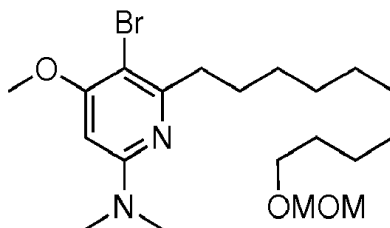
4-Metoxi-6-(10-(metoximetoxi)decil)-N,N-dimetilpiridin-2-amina:



A una solución en agitación que contenía 156 mg (0.94 mmol) de 4-metoxi-N,N,6-trimetilpiridin-2-amina en 5 mL de THF anhidro se añadieron 252 mg (0.94 mmol) de 1-bromo-9-(metoximetoxi)nonano seguido de 650 µL (1.04 mmol) de 1.6 M n-BuLi en pentano. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 15 minutos. La reacción se detuvo con cloruro de amonio acuoso saturado y se vierte en 50 mL de agua. La mezcla se extrajo con dos porciones de 50 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 50 mL de salmuera, se secó (MgSO₄)

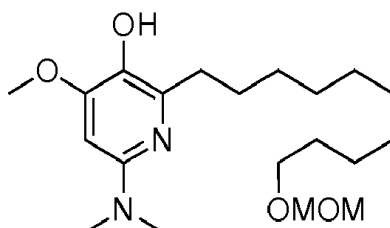
y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (3 x 10 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 1:1 proporcionó el producto esperado como un aceite amarillento: rendimiento 235 mg (70%); sílica gel TLC R_f 0.47 (hexanos-acetato de etilo 1:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 1.24 (br m, 12H), 1.55 (quint, 2H, $J = 6.4$ Hz), 1.68 (quint, 2H, $J = 7.6$ Hz), 2.55 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.03 (s, 6H), 3.46 (s, 3H), 3.49 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 3.76 (s, 3H), 4.59 (s, 2H), 5.77 (s, 1H) y 6.01 (s, 1H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 26.17, 29.25, 29.39, 29.48, 29.50, 29.55, 29.60, 29.62, 29.72, 37.96, 37.96, 54.63, 55.01, 67.85, 87.44, 96.36, 97.86, 160.77, 162.05 y 167.41; espectro de masas (APCI), m/z ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 353.2808 ($\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_3$ requiere 353.2804).

5-Bromo-4-metoxi-6-(10-(metoximetoxi)decil)-N,N-dimetilpiridin-2-amina:



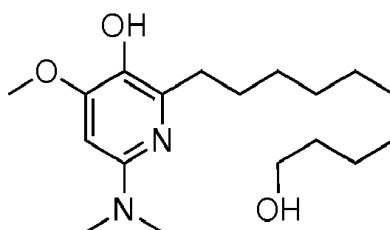
A una solución en agitación que contenía 213 mg (0.60 mmol) de 4-metoxi-6-(10-(metoximetoxi)decil)-N,N-dimetilpiridin-2-amina en 5 mL de acetonitrilo se añadieron 107 mg (0.60 mmol) de N-bromosuccinimida. La mezcla de reacción se agitó a 23°C protegida de la luz durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en 50 mL de solución de bicarbonato de sodio acuosa saturada y se extrajo con dos porciones de 50 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 50 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (3 x 10 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 4:1 proporcionó el producto esperado como un aceite amarillento: rendimiento 114 mg (44%); sílica gel TLC R_f 0.45 (hexanos-acetato de etilo 4:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 1.29 (br m, 12H), 1.56 (quint, 2H, $J = 7.2$ Hz), 1.68 (quint, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.55 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.03 (s, 6H), 3.33 (s, 3H), 3.48 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 3.85 (s, 3H), 4.59 (s, 2H) y 5.76 (s, 1H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 26.17, 28.08, 29.40, 29.47, 29.51, 29.57, 29.65, 29.72, 37.31, 38.05, 38.05, 55.02, 55.65, 67.87, 86.47, 96.35, 97.29, 158.80, 159.11 y 162.60; espectro de masas (APCI), m/z ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 431.1913 ($\text{C}_{20}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3\text{Br}$ requiere 431.1909).

6-(Dimetilamino)-4-metoxi-2-(10-(metoximetoxi)decil)piridin-3-ol:



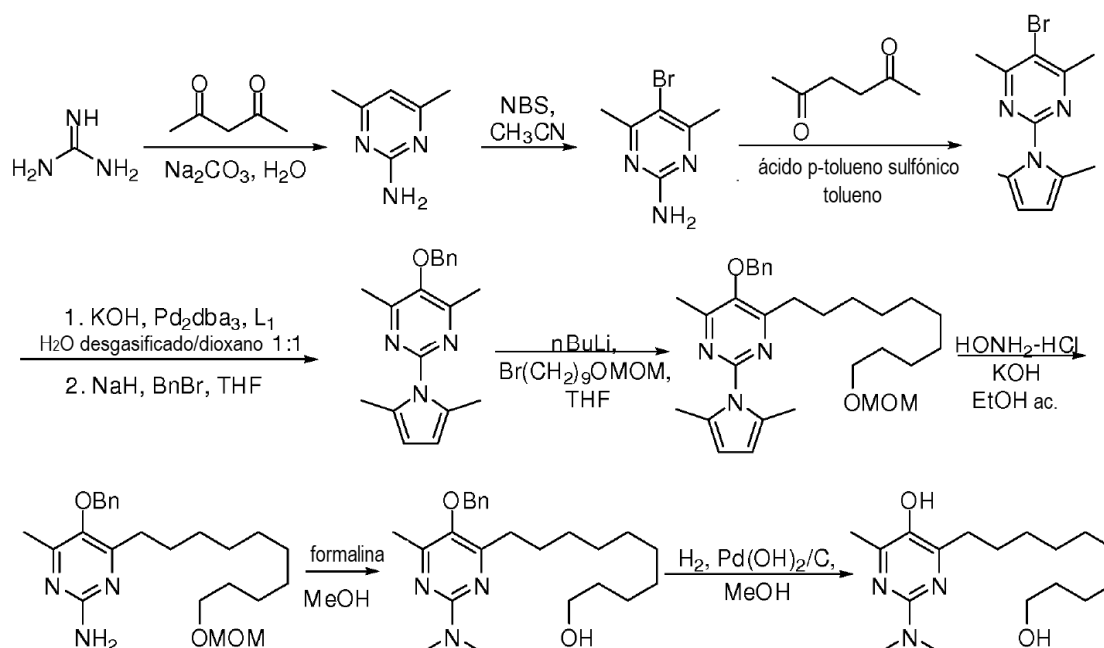
A una solución en agitación que contenía 114 mg (0.26 mmol) de 5-bromo-4-metoxi-6-(10-(metoximetoxi)decil)-N,N-dimetilpiridin-2-amina en 5 mL de THF anhidro se añadieron 413 μL (0.66 mmol) de n-BuLi 1.6 M en pentano. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 10 minutos. Luego, se añadieron 89.0 μL (0.79 mmol) de borato de trimetilo y la mezcla fue agitada a 23°C por 30 minutos. Luego, se añadieron 684 μL (12.6 mmol) de H_2O_2 acuoso al 35% seguido de 684 μL de NaOH 1N. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 2 h y luego se vertió en 20 mL de agua. La mezcla se extrajo con dos porciones de 20 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 20 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (2 x 10 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 1:1 proporcionó el producto esperado como un aceite amarillento: rendimiento de 20 mg (21%); sílica gel TLC R_f 0.1 (hexanos-acetato de etilo 1:1); ^1H RMN (metanol) δ 1.29 (br s, 12H), 1.56 (br m, 4H), 2.66 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.00 (s, 6H), 3.29 (s, 3H), 3.48 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 3.90 (s, 3H), 4.56 (s, 2H) y 6.11 (s, 1H); ^{13}C RMN (metanol- d_4) δ 25.85, 28.06, 29.07, 29.11, 29.19, 29.24, 29.37, 30.10, 35.20, 38.17, 38.17, 53.94, 54.93, 67.46, 87.91, 95.98, 132.79, 143.67, 153.94 y 157.39; espectro de masas (APCI), m/z ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 369.2760 ($\text{C}_{20}\text{H}_{37}\text{N}_2\text{O}_4$ requiere 369.2753).

6-(Dimetilamino)-2-(10-hidroxidodecil)-4-metoxipiridin-3-ol (Compuesto G):

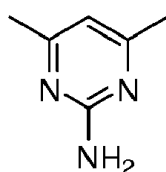


A una solución en agitación que contenía 6-(dimetilamino)-4-metoxi-2-(10-(metoximetoxi)decil)piridin-3-ol en 5 mL de metanol se añadió una gota de HCl concentrado. La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 2 h. Se añadió una gota de NH₄OH concentrado y la mezcla se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (1 x 10 cm). La elución con diclorometano-metanol 9:1 proporcionó el producto esperado como un aceite amarillento: rendimiento 7 mg (40%); sílica gel TLC R_f 0.2 (diclorometano-metanol 9:1); ¹H RMN (metanol) δ 1.29 (br m, 12H), 1.49 (quint, 2H, J = 6.8 Hz), 1.62 (quint, 2H, J = 7.2 Hz), 2.66 (dd, 2H, J = 7.6, 7.6 Hz), 3.00 (s, 6H), 3.49 (t, 2H, J = 6.8 Hz), 3.90 (s, 3H) y 6.11 (s, 1H); ¹³C RMN (metanol) δ 25.50, 28.06, 29.08, 29.13, 29.14, 29.20, 29.28, 30.09, 32.22, 38.16, 38.16, 54.90, 61.57, 87.88, 132.75, 143.86, 154.04 y 157.27; espectro de masas (APCI), m/z (M+H)⁺ 325.2489 (C₁₈H₃₃N₂O₃ requiere 325.2491).

- 10 Ejemplo 7: Preparación alternativa de 2-N,N-dimetilamino-5-hidroxi-4-metil-6-(10-hidroxidecil)-pirimidina (Compuesto A)

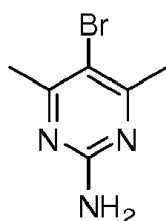


2-Amino-4,6-dimetilpirimidina:



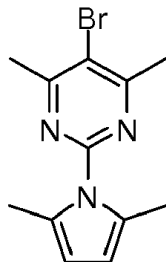
- 15 A una solución en agitación que contenía 4.00 g (37.0 mmol) de sulfato de guanidina y 8.40 g (79.3 mmol) de carbonato de sodio en 25 mL de agua se añadieron 6.00 mL (58.1 mmol) de 2,4-pentanodiona. La mezcla de reacción se agitó a 100°C durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en 150 mL de agua y luego se extrajo con dos porciones de 150 mL de diclorometano. La fase orgánica combinada se lavó con 150 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida para proporcionar el producto esperado como un sólido incoloro: rendimiento 4.31 g (95%); pf 152-153°C; sílica gel TLC R_f 0.50 (diclorometano-metanol 9:1); ¹H RMN (CDCl₃) δ 2.24 (s, 6H), 5.39 (br s, 2H) y 6.33 (s, 1H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 23.7, 23.7, 110.5, 162.9, 162.9 y 167.7; espectro de masas (APCI), m/z 124.0869 (M+H)⁺ (C₆H₁₀N₃ requiere 124.0875).

2-Amino-5-bromo-4,6-dimetilpirimidina:



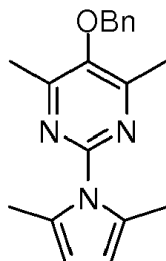
A una solución en agitación que contenía 4.31 g (34.8 mmol) de 2-amino-4,6-dimetilpirimidina en 150 mL de acetonitrilo se añadieron 6.15 g (52.1 mmol) de N-bromosuccinimida. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 3 h. El precipitado formado se filtró y se secó para proporcionar el producto esperado como un sólido incoloro: rendimiento 5.93 g (83%); pf 183-185°C; sílica gel TLC R_f 0.15 (acetato de etilo-hexanos 2:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 2.44 (s, 6H) y 5.19 (br s, 2H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 24.7, 24.7, 109.6, 160.7, 160.7 y 166.3; espectro de masas (APCI), m/z 201.9982 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{Br}$ requiere 201.9980).

5-Bromo-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4,6-dimetilpirimidina:



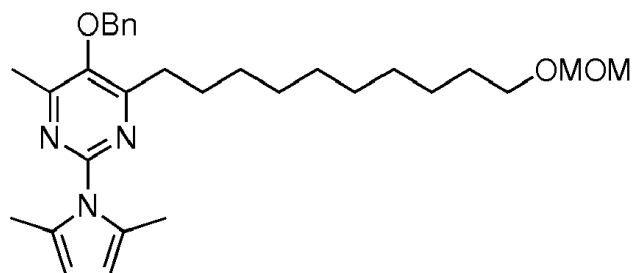
A una solución en agitación que contenía 2.00 g (9.89 mmol) de 2-amino-5-bromo-4,6-dimetilpirimidina en 16 mL de tolueno anhidro se añadieron 1.36 mL (11.5 mmol) de 2,5-hexanodiona seguido de 96 mg (0.50 mmol) de ácido p-toluenosulfónico. La mezcla de reacción se calentó y se agitó a reflujo durante 12 h. La mezcla de reacción se vertió en 150 mL de agua y luego se extrajo con 200 mL de acetato de etilo. La solución orgánica se lavó con 150 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (15 x 5 cm). La elución con 5:1 de hexanos-acetato de etilo proporcionó el producto esperado como cristales de color amarillo claro: rendimiento 2.23 g (81%); pf 64-65°C; sílica gel TLC R_f 0.65 (hexanos-acetato de etilo 6:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 2.34 (s, 6H), 2.67 (s, 6H) y 5.89 (s, 2H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 14.5, 14.5, 24.9, 24.9, 108.7, 108.7, 118.6, 129.5, 129.5, 155.3, 155.3 y 166.9; espectro de masas (APCI), m/z 280.0458 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{Br}$ requiere 280.0449).

5-(Benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4,6-dimetilpirimidina:



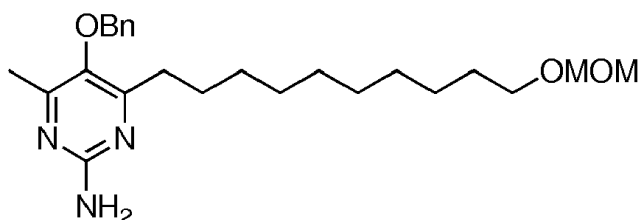
A una solución en agitación que contenía 4.87 g (17.4 mmol) de 5-bromo-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4,6-dimetilpirimidina en 50 mL de agua desgasificada con dioxano 1:1 se añadieron 632 mg (0.69 mmol) de Pd_2dba_3 seguido de 293 mg (0.69 mmol) de 2-di-tert-butilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (L1) y 2.92 g (52.1 mmol) de KOH. La mezcla de reacción se agitó a 100°C durante 3 h. La mezcla de reacción enfriada se vertió en 200 mL de agua y se extrajo con 100 mL de acetato de etilo. La capa acuosa se acidificó con HCl (pH 2-3) y luego se extrajo con dos porciones de 150 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con 150 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se disolvió en 50 mL de THF anhidro y se trató con 3.10 mL (26.0 mmol) de bromuro de bencilo seguido de 1.40 g (34.8 mmol) de una suspensión al 60% de NaH en aceite mineral. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 48 h. La mezcla de reacción se inactivó con bicarbonato de sodio acuoso saturado y se vertió en 150 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 150 mL de éter. La capa orgánica combinada se lavó con 150 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (20 x 6 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 9:1 proporcionó el producto esperado como un aceite amarillo claro: rendimiento 4.09 g (76%); sílica gel TLC R_f 0.6 (hexanos-acetato de etilo 6:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 2.29 (s, 6H), 2.47 (s, 6H), 4.92 (s, 2H), 5.86 (s, 2H) y 7.42 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 14.1, 14.1, 19.1, 19.1, 75.3, 107.9, 107.9, 128.3, 128.6, 128.6, 129.0, 129.0, 129.2, 129.2, 136.0, 147.7, 152.3, 152.3 y 161.6; espectro de masas (APCI), m/z 307.1675 (M^+) ($\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}$ requiere 307.1685).

5-(Benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidina:



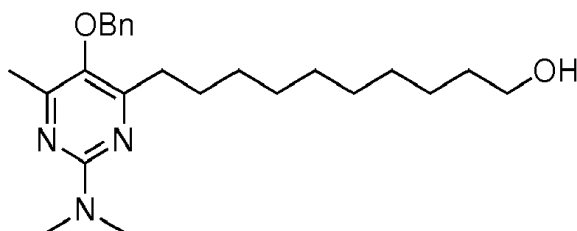
A una solución en agitación a -78°C que contenía 486 mg (1.58 mmol) de 5-(benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4,6-dimetilpirimidina y 281 mg (1.05 mmol) de 1-bromo-9-(metoximetoxi)nonano en 10 mL de THF anhidro se añadieron 987 μL (1.58 mmol) de una solución 1.6 M de n-BuLi en pentano. La mezcla de reacción se agitó en atmósfera de argón a 23°C durante 30 min. La reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado y luego se vertió en 50 mL de agua. La mezcla se extrajo a continuación con dos porciones de 50 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con 80 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (15 x 3 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 5:1 proporcionó el producto esperado como un aceite amarillo claro: rendimiento 289 mg (56%); sílica gel TLC R_f 0.55 (hexanos-acetato de etilo 5:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 1.33 (m, 12H), 1.60 (m, 2H), 1.82 (m, 2H), 2.33 (s, 6H), 2.49 (s, 3H), 2.79 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.36 (s, 3H), 3.52 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz), 4.62 (s, 2H), 4.90 (s, 2H), 5.87 (s, 2H) y 7.37-7.48 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 14.4, 14.4, 19.3, 26.2, 27.7, 29.4, 29.4, 29.5, 29.5, 29.6, 29.8, 31.6, 55.1, 67.9, 75.7, 96.4, 108.0, 108.0, 128.0, 128.58, 128.62, 128.7, 129.3, 136.2, 147.4, 147.4, 152.6, 161.6, 161.6 y 165.1; espectro de masas (APCI), m/z 494.3395 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{30}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}_3$ requiere 494.3383).

5-(Benciloxi)-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidin-2-ilamina



A una solución en agitación que contenía 230 mg (0.47 mmol) de 5-(benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidina en 15 mL de etanol-agua 9:1 se añadieron 327 mg (4.70 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina seguido de 263 mg (4.70 mmol) de KOH. La mezcla de reacción se calentó luego y se agitó a reflujo durante 5 h. Se añadió una segunda porción de 327 mg (4.70 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina seguido de 263 mg (4.70 mmol) de KOH y la mezcla de reacción se calentó y se agitó a reflujo durante 12 h. La mezcla de reacción se vertió en 70 mL de agua y luego se trató con NaOH 1N hasta que se alcanzó un pH de 9-10. La mezcla de reacción se extrajo con dos porciones de 70 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con 70 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (10 x 3 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 2:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 133 mg (76%); sílica gel TLC R_f 0.76 (diclorometano-metanol 9:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 1.27 (m, 12H), 1.53-1.63 (m, 4H), 2.26 (s, 3H), 2.54 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.31 (s, 3H), 3.46 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 4.57 (s, 2H), 4.69 (s, 2H), 5.19 (br s, 2H) y 7.35-7.37 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 18.9, 26.2, 28.4, 29.36, 29.40, 29.5, 29.67, 29.70, 31.9, 55.0, 67.8, 75.9, 96.3, 127.9, 128.3, 128.3, 128.6, 128.6, 136.8, 142.8, 158.9, 161.1, 161.1 y 164.8; espectro de masas (APCI), m/z 416.2908 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_3$ requiere 416.2913).

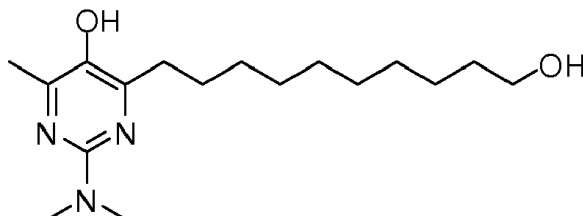
10-(5-(benciloxi)-2-(dimetilamino)-6-metilpirimidin-4-il)decan-1-ol:



Se obtuvo una solución en agitación que contenía 180 mg (0.43 mmol) de 5-(benciloxi)-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidin-2-ilamina en 10 mL de formaldehído:ácido fórmico 1: 1 acuosos al 35% calentado y agitado a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió en 20 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 40 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con 40 mL de NaHCO_3 acuoso saturado y luego con 40 mL de salmuera. La solución orgánica se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en

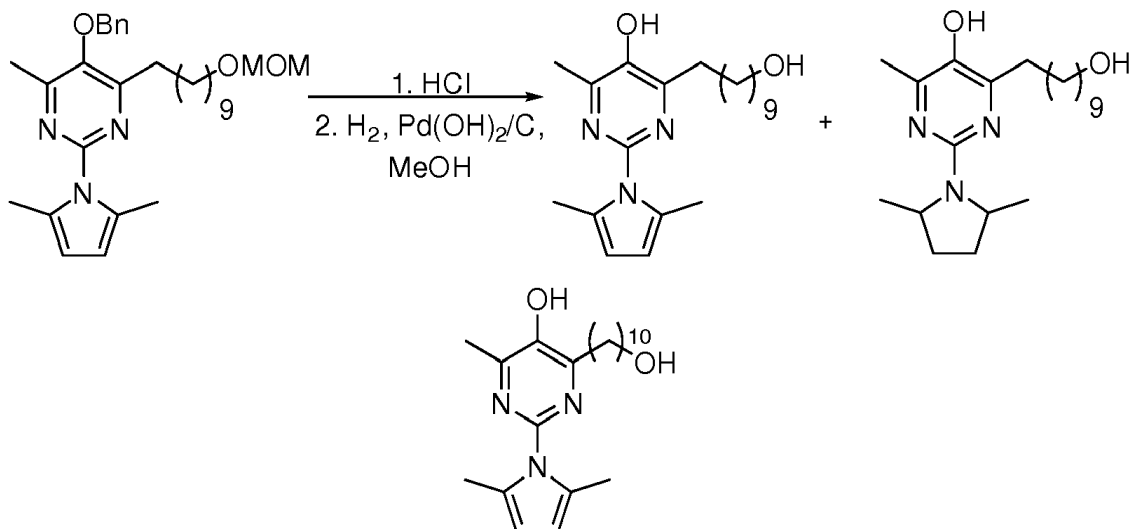
una columna de sílica gel (8 x 3 cm). La elución con acetona-hexanos 1:2 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 44 mg (44%); sílica gel TLC R_f 0.58 (1:2 acetona-hexanos); ^1H RMN (metanol- d_4) δ 1.27 (m, 12H), 1.53-1.73 (m, 4H), 2.26 (s, 3H), 2.55 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.09 (s, 6H), 3.50 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 4.71 (s, 2H) y 7.35-7.37 (m, 5H); ^{13}C RMN (metanol- d_4) δ 14.0, 17.8, 25.5, 27.6, 29.1, 29.2, 29.3, 31.3, 32.3, 36.3, 36.3, 61.6, 75.5, 127.9, 128.3, 128.6, 128.6, 137.1, 141.0, 158.4, 160.5, 161.5 y 163.7; espectro de masas (APCI), m/z 400.2969 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{24}\text{H}_{38}\text{N}_3\text{O}_2$ requiere 400.2964).

2-N,N-dimetilamino-5-hidroxi-4-metil-6-(10-hidroxidecil)-pirimidina (Compuesto A):



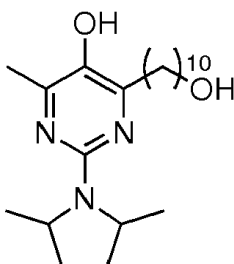
A una solución en agitación que contenía 44.0 mg (0.11 mmol) de 10-(5-(benciloxi)-2-(dimetilamino)-6-metilpirimidin-4-il) decan-1-ol en 3 mL de metanol se añadieron 3 mg de hidróxido de paladio al 20% sobre carbono (Degussa tipo E101 NE/N). La mezcla de reacción se agitó a 23°C bajo una atmósfera de hidrógeno durante 15 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró a presión reducida para proporcionar 2-(dimetilamino)-4-(10-hidroxidecil)-6-metilpirimidin-5-ol como un aceite incoloro: rendimiento de 33 mg (100%). Se obtuvo una muestra analítica por cromatografía en una columna de sílica gel (10 x 1 cm). La elución con tolueno-acetato de etilo 2:1 proporcionó el producto purificado como un aceite incoloro; sílica gel TLC R_f 0.25 (tolueno-acetato de etilo 2:1); ^1H RMN (metanol- d_4) δ 1.29-1.35 (m, 12H), 1.49 (m, 2H), 1.65 (m, 2H), 2.26 (s, 3H), 2.62 (dd, 2H, $J = 7.2, 7.2$ Hz), 3.06 (s, 6H) y 3.51 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz); ^{13}C RMN (metanol- d_4) δ 17.8, 25.5, 27.3, 29.13, 29.15, 29.15, 29.18, 29.3, 31.2, 32.2, 36.5, 36.5, 61.6, 138.0, 155.6, 157.3 y 159.4; espectro de masas (APCI), m/z 310.2490 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{17}\text{H}_{32}\text{N}_3\text{O}_2$ requiere 310.2495).

Ejemplo 8: Preparación de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4-(10-hidroxidodecil)-6-metilpirimidin-5-ol



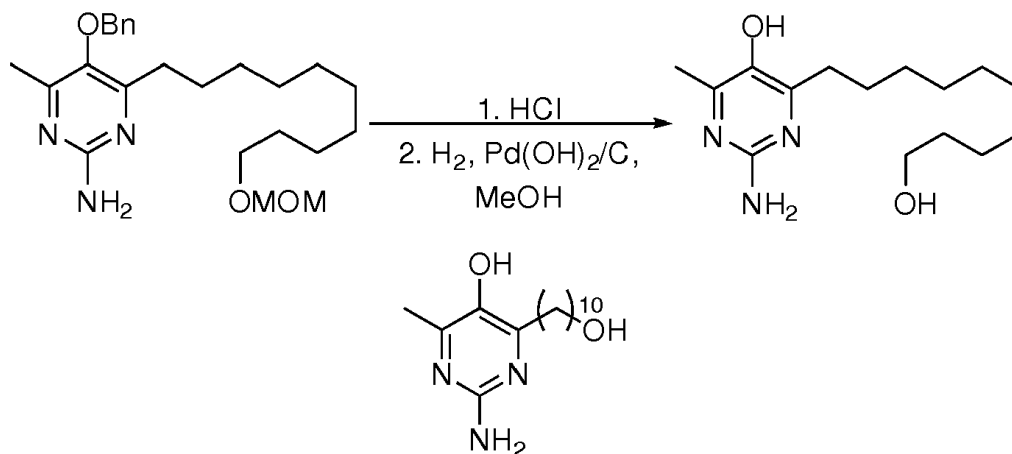
A una solución en agitación que contenía 240 mg (0.48 mmol) de 5-(Benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidina en 10 mL de metanol se agregaron dos gotas de HCl concentrado y la mezcla se agitó a reflujo durante la noche. A la mezcla se añadieron 10 mg de hidróxido de paladio al 20% sobre carbono (Degussa tipo E101 NE/E). La mezcla de reacción se agitó a 23°C en atmósfera de hidrógeno durante 15 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (13 x 3 cm). La elución con tolueno-acetato de etilo 2:1 proporcionó el producto esperado en forma de un aceite incoloro: rendimiento de 13 mg (8%); sílica gel TLC R_f 0.40 (tolueno-acetato de etilo 2:1); ^1H RMN (metanol- d_4) δ 1.29-1.35 (m, 12H), 1.49 (m, 2H), 1.71 (m, 2H), 2.11 (s, 6H), 2.45 (s, 3H), 2.80 (dd, 2H, $J = 7.2, 7.2$ Hz), 3.50 (t, 2H, $J = 6.4$ Hz) y 5.74 (s, 2H); ^{13}C RMN (metanol- d_4) δ 11.96, 11.96, 17.50, 25.49, 27.27, 28.93, 29.05, 29.12, 29.18, 29.22, 31.00, 32.22, 61.56, 106.34, 106.34, 128.37, 128.37, 146.20, 148.84, 155.40 y 158.94; espectro de masas (APCI), m/z 360.2659 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{21}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_2$ requiere 360.2651).

Ejemplo 9: Preparación de 2-(2,5-dimetilpirrolidin-1-il)-4-(10-hidroxidodecil)-6-metilpirimidin-5-ol



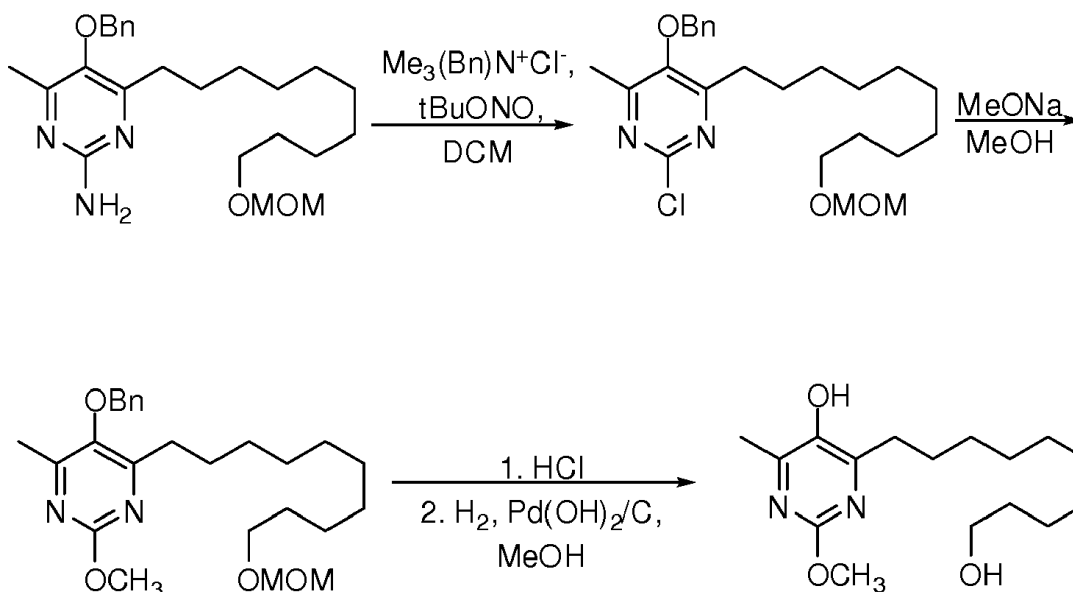
Este compuesto se obtuvo como producto secundario en la reacción para la preparación de 2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4-(10-hidroxidecil)-6-metilpirimidin-5-ol. Aceite incoloro: rendimiento 25 mg (14%); sílica gel TLC R_f 0.46 (tolueno-acetato de etilo 2:1); ¹H RMN (metanol-*d*₄) δ 1.26-1.35 (m, 16H), 1.51 (m, 2H), 1.69 (m, 4H), 1.98 (m, 2H), 2.25 (s, 3H), 2.61 (dd, 2H, *J* = 7.2, 7.2 Hz), 3.51 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz) y 4.11 (m, 2H); ¹³C RMN (metanol-*d*₄) δ 17.62, 17.62, 20.98, 20.98, 25.50, 27.11, 29.08, 29.14, 29.16, 29.16, 29.28, 31.00, 31.50, 32.22, 54.52, 54.52, 61.58, 137.80, 155.46, 155.46 y 159.12; espectro de masas (APCI), *m/z* 364.2954 (M+H)⁺ (C₂₁H₃₈N₃O₂ requiere 364.2964).

Ejemplo 10: Preparación de 2-amino-4-(10-hidroxidodecil)-6-metilpirimidin-5-ol

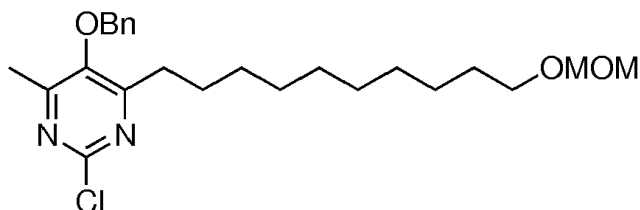


A una solución en agitación que contenía 133 mg (0.48 mmol) de 5-(benciloxi)-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidin-2-amina en 10 mL de metanol se añadieron dos gotas de HCl concentrado y el la mezcla se agitó a reflujo durante 16 h. A la mezcla se añadieron 10 mg de hidróxido de paladio al 20% sobre carbono (Degussa tipo E101 NE/N). La mezcla de reacción se agitó a 23°C en atmósfera de hidrógeno durante 15 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (13 x 3 cm). La elución con 17:3 de diclorometano-metanol proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 68 mg (69%); pf: 103-104°C; TLC con sílica gel R_f 0.20 (diclorometano-metanol 17:3); ¹H RMN (metanol-*d*₄) δ 1.29-1.35 (m, 12H), 1.50 (quint, 2H, *J* = 6.8 Hz), 1.64 (quint, 2H, *J* = 7.6 Hz), 2.37 (s, 3H), 2.71 (dd, 2H, *J* = 7.6, 7.6 Hz) y 3.51 (t, 2H, *J* = 6.4); ¹³C RMN (metanol-*d*₄) δ 16.42, 25.50, 27.07, 29.00, 29.02, 29.08, 29.13, 29.25, 30.72, 32.22, 61.56, 138.97, 153.46, 157.60 y 160.84; espectro de masas (APCI+), *m/z* 282.2170 (M+H) (C₁₅H₂₈N₃O₂ requiere 282.2182).

Ejemplo 11: Preparación de 4-(10-hidroxidodecil)-2-metoxi-6-metilpirimidin-5-ol (Compuesto E)

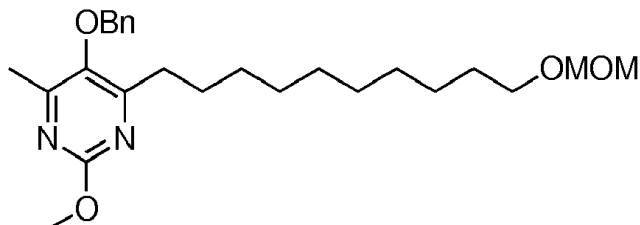


5-(Benciloxi)-2-cloro-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidina:



A una solución en agitación que contenía 240 mg (0.58 mmol) de 5-(benciloxi)-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidin-2-amina en 10 mL de DCM anhidro se añadieron 1.10 g (5.80 mmol) de cloruro de benciltrimetilamonio seguido de 696 μ L (5.80 mmol) de nitrito de t-butilo. La mezcla de reacción se agitó a 23°C protegida de la luz durante 15 h. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (3 x 10 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 4:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 44 mg (16%); sílica gel TLC R_f 0.45 (hexanos-acetato de etilo 4:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 1.24 (br s, 12H), 1.55 (quint, 2H, $J = 7.2$ Hz), 1.65 (quint, 2H, $J = 6.8$ Hz), 2.42 (s, 3H), 2.67 (dd, 2H, $J = 8.0, 8.0$ Hz), 3.33 (s, 3H), 3.47 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 4.59 (s, 2H), 4.83 (s, 2H) y 7.37 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 19.32, 26.16, 28.14, 29.25, 29.35, 29.35, 29.47, 29.51, 29.71, 31.92, 55.04, 67.85, 76.03, 96.36, 128.08, 128.73, 128.73, 128.77, 128.77, 135.73, 149.01, 154.24, 163.79 y 167.41; espectro de masas (APCI), m/z ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 435.2411 ($\text{C}_{24}\text{H}_{36}\text{N}_2\text{O}_3\text{Cl}$ requiere 435.2415)

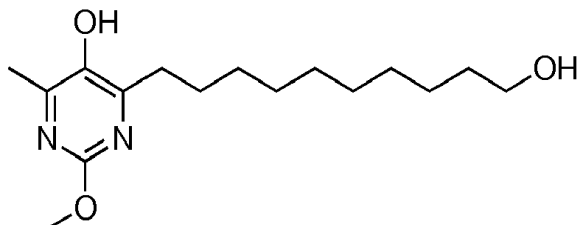
5-(Benciloxi)-2-metoxi-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidina:



A una solución en agitación que contenía 41.0 mg (0.09 mmol) de 5-(benciloxi)-2-cloro-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidina en 5 mL de metanol anhidro se añadieron 22 mg (0.94 mmol) de sodio. La mezcla se agitó luego a reflujo durante 16 h. La reacción se inactivó con agua y se vertió en 50 mL de agua. La mezcla se extrajo con dos porciones de 50 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 50 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (2 x 6 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 1:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 30 mg (74%); sílica gel TLC R_f 0.65 (hexanos-acetato de etilo 1:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 1.24 (br m, 12H), 1.55 (quint, 2H, $J = 6.8$ Hz), 1.68 (quint, 2H, $J = 7.6$ Hz), 2.37 (s, 3H), 2.65 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.33 (s, 3H), 3.48 (t, 2H, $J = 6.8$ Hz), 3.93 (s, 3H), 4.59 (s, 2H), 4.83 (s, 2H) y 7.37 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 19.21, 26.16, 27.85, 29.36, 29.40, 29.51, 29.53, 29.71, 31.71, 54.69, 55.02, 67.85, 75.80, 96.36, 127.49, 128.38, 128.38, 128.63,

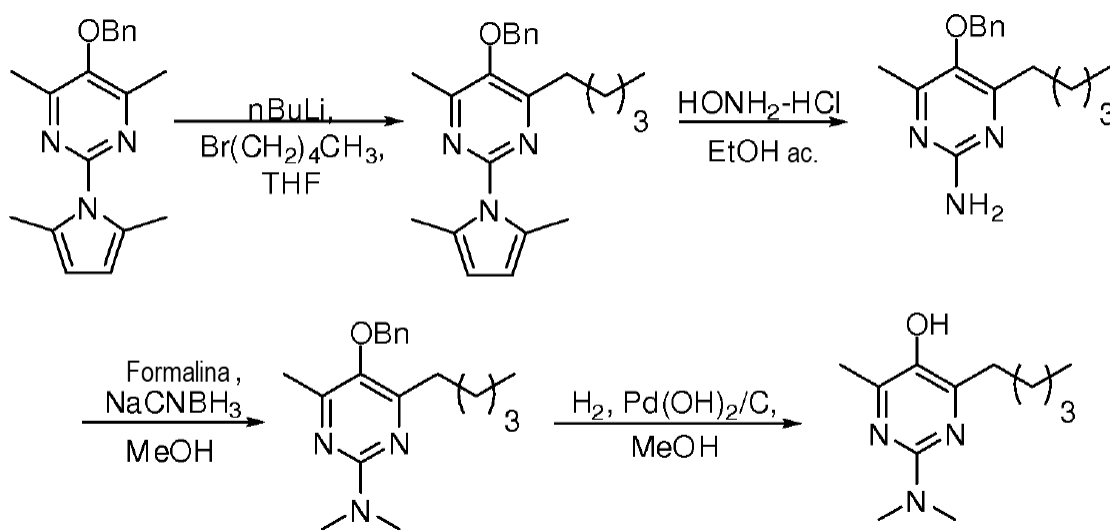
128.63, 136.50, 145.14, 160.61, 162.38 y 165.87; espectro de masas (APCI), m/z (M+H)⁺ 431.2910 (C₂₅H₃₉N₂O₄ requiere 431.2910).

4-(10-hidroxidedecil)-2-metoxi-6-metilpirimidin-5-ol (Compuesto E):



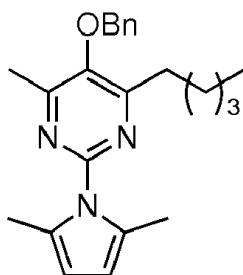
- 5 A una solución en agitación que contenía 30.0 mg (0.07 mmol) de 5-(benciloxi)-2-metoxi-4-(10-(metoximetoxi)decil)-6-metilpirimidina en 3 mL de metanol se añadió una gota de HCl concentrado. La mezcla se agitó a reflujo durante 16 h. A continuación, se añadieron 2 mg de hidróxido de paladio al 20% sobre carbono (Degussa tipo E101 NE/N) y la mezcla se agitó a 23°C durante 20 minutos. La mezcla se filtró a través de celite y se concentró a presión reducida para proporcionar el producto esperado en forma de un aceite amarillento: rendimiento de 20 mg (97%); sílica gel TLC R_f 0.45 (hexanos-acetato de etilo 4:1); ¹H RMN (metanol) δ 1.30 (br m, 12H), 1.50 (br m, 2H), 1.74 (br m, 2H), 2.56 (s, 3H), 2.89 (dd, 2H, J = 7.6, 7.6 Hz), 3.51 (t, 2H, J = 6.4 Hz) y 4.15 (s, 3H); ¹³C RMN (metanol) δ 16.16, 25.49, 26.83, 28.94, 29.04, 29.11, 29.18, 29.22, 30.82, 32.20, 56.14, 61.56, 143.11, 143.11, 152.95 y 152.95; espectro de masas (APCI), m/z (M+H)⁺ 297.2180 (C₁₆H₂₉N₂O₃ requiere 297.2178).
- 10

Ejemplo 12 (Ejemplo Comparativo): Preparación de 2-(dimetilamino)-4-metil-6-pentilpirimidin-5-ol (Compuesto H)



15

5-(benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4-metil-6-pentilpirimidina:

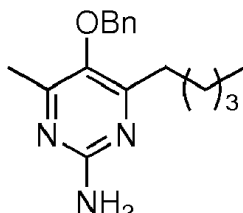


20

A una solución en agitación a -78°C que contenía 1.00 g (3.25 mmol) de 5-(Benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4,6-dimetilpirimidina y 233 µL (2.16 mmol) de 4-bromobutano en 30 mL de THF anhidro se añadieron 2.70 ml (4.32 mmol) de una solución 1.6 M de n-BuLi en pentano. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 30 minutos. La reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado y luego se vertió en 70 mL de agua. La mezcla se extrajo luego con dos porciones de 70 mL de éter dietílico. La capa orgánica combinada se lavó a continuación con una porción de

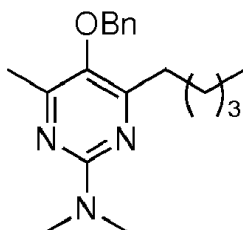
100 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (15 x 5 cm). La elución con hexanos-dietil éter 4:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 533 mg (69%); sílica gel TLC R_f 0.50 (hexanos-dietil éter 4:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.90 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz), 1.34 (m, 2H), 1.77 (m, 2H), 2.33 (s, 6H), 2.49 (s, 3H), 2.79 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 4.91 (s, 62), 5.88 (s, 2H) y 7.40-7.44 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 13.95, 14.34, 19.29, 22.47, 27.41, 31.59, 31.73, 75.72, 107.94, 107.94, 128.01, 128.01, 128.22, 128.72, 129.30, 136.22, 147.38, 147.38, 152.60, 161.62, 161.62 y 165.08; espectro de masas (APCI), m/z 364.2394 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{23}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}$ requiere 364.2389).

5-(benciloxi)-4-metil-6-pentilpirimidin-2-amina:



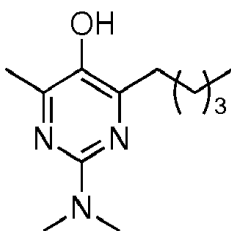
A la solución en agitación que contenía 533 mg (1.46 mmol) de 5-(benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4-metil-6-pentilpirimidina en 10 mL de etanol-agua 9:1 se añadieron 1.0 g (14.60 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina. La mezcla de reacción se agitó luego a reflujo durante 5 h. Se añadió una segunda porción de 1.0 g (14.60 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina y la mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió luego en 70 mL de agua y luego se basificó a un pH de 9-10 con una solución acuosa de IN NaOH. La mezcla se extrajo con dos porciones de 70 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 70 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (10 x 3 cm). La elución con 2:1 de hexanos-acetato de etilo proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento de 334 mg (80%); sílica gel TLC R_f 0.25 (hexanos-acetato de etilo 2:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.86 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz), 1.27 (m, 4H), 1.63 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.56 (dd, 2H, $J = 8.0, 8.0$ Hz), 4.71 (s, 2H), 5.15 (br s, 2H) y 7.35-7.37 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 13.94, 18.85, 22.41, 28.04, 31.86, 75.90, 127.90, 128.26, 128.26, 128.58, 128.58, 136.76, 142.80, 156.18, 158.79, 161.13 y 164.89; espectro de masas (APCI), m/z 286.1914 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{34}\text{H}_{52}\text{N}_3\text{O}$ requiere 286.1919).

5-(benciloxi)-N,N,4-trimetil-6-pentilpirimidin-2-amina:



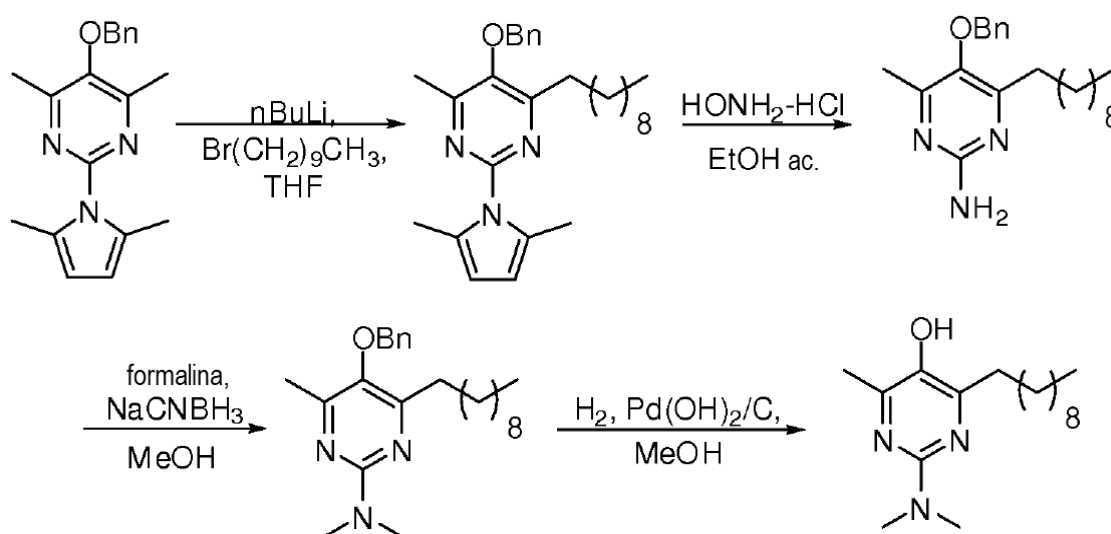
A una solución en agitación que contenía 334 mg (1.17 mmol) de 5-(benciloxi)-4-metil-6-pentilpirimidin-2-amina en 4 mL de metanol, se añadieron 4 mL de solución acuosa al 35% de formaldehído, seguido de 588 mg (9.35 mmol) de NaCNBH_3 . La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 3 h. La mezcla de reacción se inactivó con ácido acético hasta que cesó el burbujeo, luego se vertió en 20 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 40 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 40 mL de solución acuosa saturada de NaHCO_3 y una porción de 40 mL de salmuera. La solución orgánica se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (8 x 3 cm). La elución con 2:1 de hexanos-acetato de etilo proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento de 150 mg (41%); sílica gel TLC R_f 0.7 (hexanos-acetato de etilo 2:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.88 (t, 3H, $J = 7.2$ Hz), 1.33 (m, 4H), 1.69 (quint, 2H, $J = 7.6$ Hz), 2.32 (s, 3H), 2.62 (dd, 2H, $J = 8.0, 8.0$ Hz), 3.15 (s, 6H), 4.70 (s, 2H) y 7.33-7.44 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 14.00, 19.31, 22.54, 27.52, 31.67, 31.81, 37.22, 37.22, 75.73, 127.94, 128.13, 128.13, 128.55, 128.55, 137.15, 141.26, 158.60, 160.01 y 163.48; espectro de masas (APCI), m/z 314.2224 ($\text{M}+\text{H}^+$) ($\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}$ requiere 314.2232).

2-(dimetilamino)-4-metil-6-pentilpirimidin-5-ol (Compuesto H):

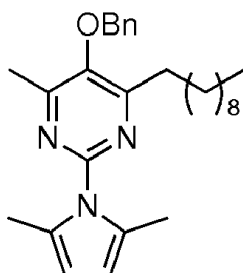


A una solución en agitación que contenía 150 mg (0.48 mmol) de 5-(benciloxi)-N,N,4-trimetil-6-pentilpirimidin-2-amina en 5 mL de metanol se añadieron 5 mg de hidróxido de paladio al 20% sobre carbono (Degussa tipo E101 NE/E). La mezcla de reacción se agitó a 23°C en atmósfera de hidrógeno durante 15 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (8 x 3 cm). La elución con 2:1 de hexano-acetato de etilo proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 60 mg (56%); pf: 61-62°C; sílica gel TLC R_f 0.50 (hexanos-acetato de etilo 2:1); ^1H RMN (metanol- d_4) δ 0.89 (t, 3H, J = 5.6 Hz), 1.33 (m, 4H), 1.66 (quint, 2H, J = 7.2 Hz), 2.26 (s, 3H), 2.62 (dd, 2H, J = 7.6, 7.6 Hz) y 3.05 (s, 6H); ^{13}C RMN (metanol- d_4) δ 12.93, 17.53, 22.16, 27.00, 31.21, 31.43, 36.49, 138.01, 155.64, 157.33 y 159.44; espectro de masas (APCI), m/z 224.1769 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{O}$ requiere 224.1763).

10 Ejemplo 13: Preparación de 4-decil-2-(dimetilamino)-6-metilpirimidin-5-ol (Compuesto I)

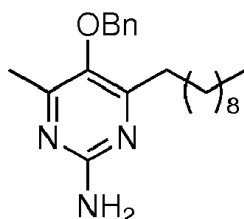


5-(benciloxi)-4-decil-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-6-metilpirimidina:



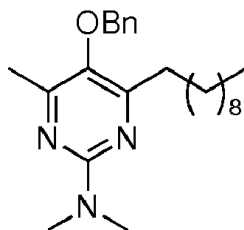
A una solución en agitación a -78°C que contenía 1.00 g (3.25 mmol) de 5-(Benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4,6-dimetilpirimidina y 415 mg (2.16 mmol) de 1-bromononano en 30 mL de THF anhidro se añadieron 2.70 ml (4.32 mmol) de una solución 1.60 M de n-BuLi en pentano. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 30 minutos. La reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado y luego se vertió en 70 mL de agua. La mezcla se extrajo luego con dos porciones de 70 mL de éter dietílico. La capa orgánica combinada se lavó a continuación con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (15 x 5 cm). La elución con hexanos-dietil éter 4:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro claro: rendimiento 502 mg (53%); sílica gel TLC R_f 0.60 (hexanos-dietil éter 4:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.89 (t, 3H, J = 7.2 Hz), 1.20-1.30 (m, 14H), 1.75 (m, 2H), 2.31 (s, 6H), 2.48 (s, 3H), 2.77 (dd, 2H, J = 7.6, 7.6 Hz), 4.90 (s, 2H), 5.86 (s, 2H) y 7.40-7.44 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 14.10, 14.33, 19.28, 22.67, 27.74, 29.29, 29.29, 29.41, 29.51, 29.57, 31.62, 31.88, 75.72, 107.91, 128.01, 128.22, 128.72, 129.30, 129.30, 136.22, 147.35, 147.35, 152.59, 161.59 y 165.09; espectro de masas (APCI), m/z 434.3172 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ ($\text{C}_{28}\text{H}_{40}\text{N}_3\text{O}$ requiere 434.3171).

5-(benciloxi)-4-decil-6-metilpirimidin-2-amina:



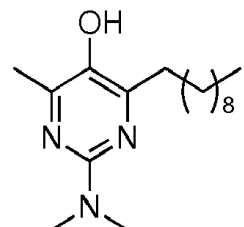
A una solución en agitación que contenía 502 mg (1.15 mmol) de 5-(benzyloxy)-4-decil-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-6-metilpirimidina en 10 mL de etanol-agua 9:1 se añadieron 800 mg (11.50 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina. La mezcla de reacción se agitó luego a reflujo durante 5 h. Se añadió una segunda porción de 800 mg (11.50 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina y la mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se vertió luego en 70 mL de agua y luego se basificó a un pH de 9-10 con una solución acuosa de 1N NaOH. La mezcla se extrajo con dos porciones de 70 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 70 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (10 x 3 cm). La elución con 3:2 de hexanos-acetato de etilo proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento de 305 mg (75%); sílica gel TLC R_f 0.25 (3:2 hexanos-acetato de etilo); ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.85 (t, 3H, J = 6.4 Hz), 1.26 (m, 14H), 1.61 (m, 2H), 2.27 (s, 3H), 2.56 (dd, 2H, J = 8.0, 8.0 Hz), 4.71 (s, 2H), 5.24 (br s, 2H) y 7.35-7.40 (m, 5H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 13.94, 18.86, 22.64, 28.41, 29.27, 29.39, 29.50, 29.55, 29.71, 31.87, 31.88, 75.88, 127, 88, 128.24, 128.24, 128.58, 128.58, 136.79, 142.8, 158.92, 161.09 y 162.82; espectro de masas (APCI), m/z 356.2704 (M+H)⁺ (C₂₂H₃₄N₃O requiere 356.2702).

5-(benzyloxy)-4-decil-N,N,6-trimetilpirimidin-2-amina:



A una solución en agitación que contenía 305 mg (0.86 mmol) de 5-(benzyloxy)-4-decil-6-metilpirimidin-2-amina en 3 mL de metanol, se añadieron 3 mL de solución acuosa al 35% de formaldehído seguido de 271 mg (4.30 mmol) de NaCNBH₃. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 3 h. La mezcla de reacción se inactivó con ácido acético hasta que cesó el burbujeo, luego se vertió en 20 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 40 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 40 mL de solución acuosa saturada de NaHCO₃ y una porción de 40 mL de salmuera. La solución orgánica se secó (MgSO₄) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (8 x 3 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 2:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 154 mg (46%); sílica gel TLC R_f 0.8 (hexanos-acetato de etilo 2:1); ¹H RMN (CDCl₃) δ 0.87 (t, 3H, J = 6.4 Hz), 1.33 (m, 14H), 1.69 (quint, 2H, J = 7.2 Hz), 2.32 (s, 3H), 2.61 (dd, 2H, J = 7.6, 7.6 Hz), 3.14 (s, 6H), 4.70 (s, 2H) y 7.33-7.44 (m, 5H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 14.07, 19.29, 22.65, 27.85, 29.30, 29.50, 29.55, 29.59, 29.62, 31.71, 31.89, 37.21, 37.21, 75.72, 127.91, 128.11, 128.11, 128.54, 137.17, 141.27, 158.60, 159.01 y 163.49; espectro de masas (APCI), m/z 384.3003 (M+H)⁺ (C₂₄H₃₈N₃O requiere 384.3015).

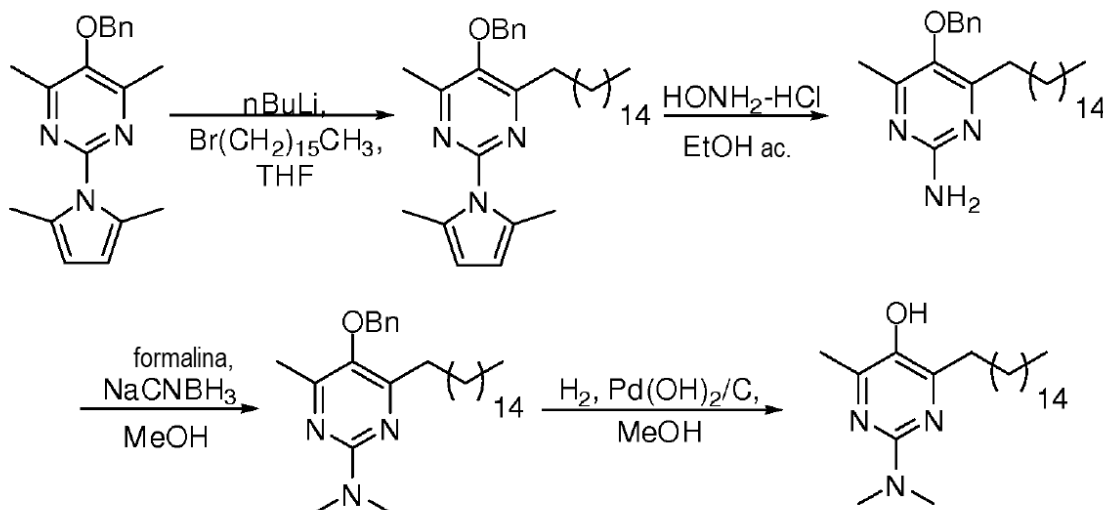
4-decil-2-(dimetilamino)-6-metilpirimidin-5-ol (Compuesto I):



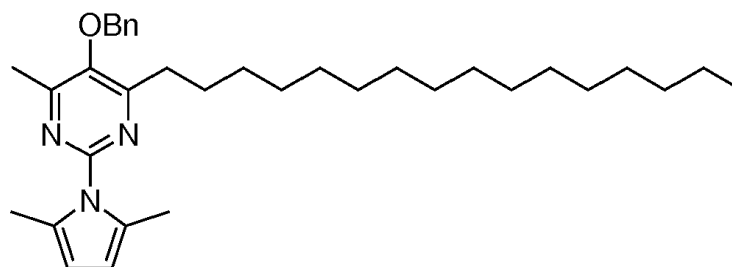
A una solución en agitación que contenía 150 mg (0.48 mmol) de 5-(benzyloxy)-4-decil-N,N,6-trimetilpirimidin-2-amina en 5 mL de metanol se añadieron 5 mg de hidróxido de paladio al 20% sobre carbono (Degussa tipo E101 NE/E). La mezcla de reacción se agitó a 23°C en atmósfera de hidrógeno durante 15 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (8 x 3 cm). La elución con hexano-acetato de etilo 4:1 proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 33 mg (28%); pf: 71-72°C; sílica gel TLC R_f 0.25 (hexanos-acetato de etilo 4:1); ¹H RMN (metanol-d₄) δ 0.87 (t, 3H, J = 6.8 Hz), 1.21-1.31 (m, 14H), 1.65 (quint, 2H, J = 7.2 Hz), 2.26 (s, 3H), 2.62 (dd, 2H, J = 7.2, 7.2 Hz) y 3.05 (s, 6H); ¹³C RMN (metanol-d₄) δ 13.01, 17.55, 22.29, 27.27, 29.02, 29.15, 29.17, 29.26, 29.29, 31.24, 31.64,

36.52, 36.52, 138.04, 155.59, 157.31 y 159.41; espectro de masas (APCI), m/z 294.2554 ($M+H$)⁺ ($C_{17}H_{32}N_3O$ requiere 294.2545).

Ejemplo 14: Preparación de 2-(dimetilamino)-4-hexadecil-6-metilpirimidin-5-ol (Compuesto J)

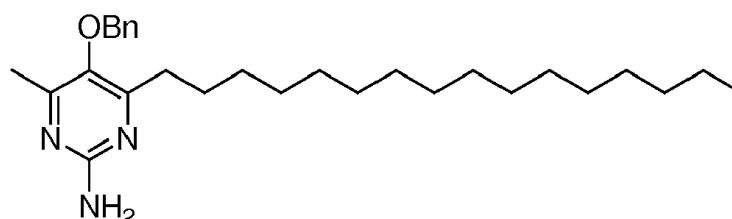


5 5-(benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4-hexadecil-6-metilpirimidina:



A una solución en agitación a -78°C que contenía 1.00 g (3.25 mmol) de 5-(benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4,6-dimetilpirimidina y 630 μ L (2.16 mmol) de 1-bromopentadecano en 20 mL de THF anhidro se añadieron 2.70 mL (4.32 mmol) de una solución 1.60 M de n-BuLi en pentano. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 30 minutos. La reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado y luego se vertió en 70 mL de agua. La mezcla se extrajo luego con dos porciones de 70 mL de éter dietílico. La capa orgánica combinada se lavó a continuación con una porción de 100 mL de salmuera, se secó ($MgSO_4$) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (15 x 5 cm). La elución con hexanos-dietil éter 4:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 269 mg (24%); sílica gel TLC R_f 0.5 (hexanos-dietil éter 4:1); 1H RMN ($CDCl_3$) δ 0.89 (t, 3H, J = 7.2 Hz), 1.20-1.30 (m, 26H), 1.75 (quint, 2H, J = 7.2 Hz), 2.29 (s, 6H), 2.47 (s, 3H), 2.76 (dd, 2H, J = 8.0, 8.0 Hz), 4.89 (s, 2H), 5.85 (s, 2H) y 7.30-7.42 (m, 5H); ^{13}C RMN ($CDCl_3$) δ 14.08, 14.30, 14.30, 19.27, 22.66, 27.72, 29.33, 29.40, 29.50, 29.55, 29.63, 29.63, 29.63, 29.67, 29.67, 29.67, 29.67, 31.61, 31.89, 75.72, 107.91, 128.01, 128.22, 128.72, 129.30, 129.30, 136.22, 147.35, 147.35, 152.59, 161.59 y 165.09; espectro de masas (APCI), m/z 518.4113 ($M+H$)⁺ ($C_{34}H_{52}N_3O$ requiere 518.4110).

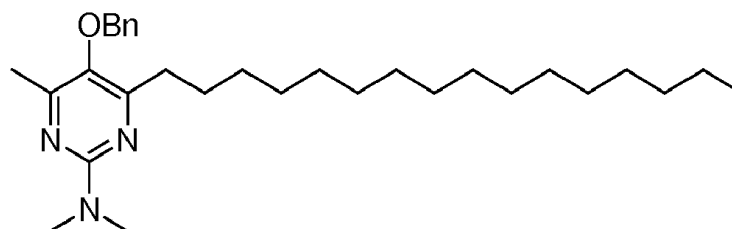
20 5-(benciloxi)-4-hexadecil-6-metilpirimidin-2-amina:



A la solución en agitación que contenía 269 mg (0.52 mmol) de 5-(benciloxi)-2-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-4-hexadecil-6-metilpirimidina en 10 mL de etanol se agregaron 723 mg (10.40 mmol) de hidrocloreto de hidroxilamina. La mezcla de reacción se agitó luego a reflujo durante 5 h. La mezcla de reacción se vertió luego en 70 mL de agua y luego se

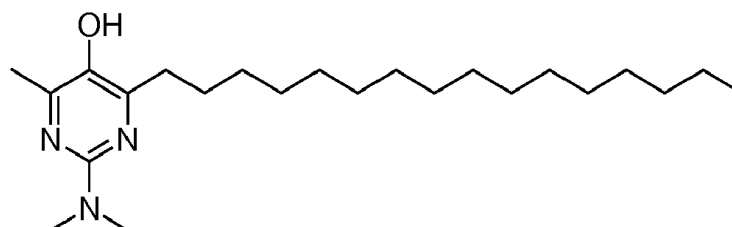
basificó a un pH de 9-10 con una solución acuosa de 1N NaOH. La mezcla se extrajo con dos porciones de 70 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 70 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (10 x 3 cm). La elución con 3:2 de hexanos-acetato de etilo proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 231 mg (100%); sílica gel TLC R_f 0.25 (hexanos-acetato de etilo 1:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.85 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz), 1.26 (m, 26H), 1.61 (quint, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.28 (s, 3H), 2.56 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 4.72 (s, 2H), 5.03 (br s, 2H) y 7.35-7.40 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 14.08, 18.91, 22.66, 28.42, 29.33, 29.41, 29.52, 29.63, 29.63, 29.63, 29.67, 29.67, 29.67, 29.73, 31.90, 75.88, 127, 88, 128.24, 128.24, 128.58, 128.58, 136.79, 142.87, 158.79, 161.12 y 164.87; espectro de masas (APCI), m/z 440.3646 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ ($\text{C}_{28}\text{H}_{46}\text{N}_3\text{O}$ requiere 440.3641).

5- (benciloxi)-4-hexadecil-N,N,6-trimetilpirimidin-2-amina:



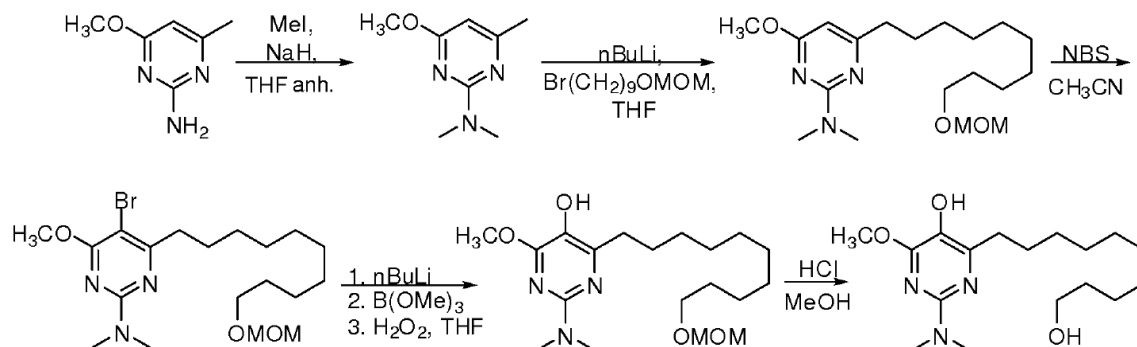
A una solución en agitación que contenía 230 mg (0.52 mmol) de 5-(benciloxi)-4-hexadecil-6-metilpirimidin-2-amina en 4 mL de metanol, se añadieron 4 mL de solución acuosa al 35% de formaldehído seguido de 263 mg (4.18 mmol) de NaCNBH_3 . La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 3 h. La mezcla de reacción se inactivó con ácido acético hasta que cesó el burbujeo, luego se vertió en 20 mL de agua y se extrajo con dos porciones de 40 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 40 mL de solución acuosa saturada de NaHCO_3 y una porción de 40 mL de salmuera. La solución orgánica se secó (MgSO_4) y luego se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (8 x 3 cm). La elución con 4:1 de hexanos-acetato de etilo proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento de 100 mg (41%); sílica gel TLC R_f 0.75 (hexanos-acetato de etilo 4:1); ^1H RMN (CDCl_3) δ 0.86 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz), 1.23-1.28 (br m, 26H), 1.68 (quint, 2H, $J = 6.8$ Hz), 2.31 (s, 3H), 2.61 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.14 (s, 6H), 4.69 (s, 2H) y 7.40-7.46 (m, 5H); ^{13}C RMN (CDCl_3) δ 14.05, 19.29, 22.64, 27.72, 27.84, 29.31, 29.50, 29.55, 29.62, 29.64, 29.64, 29.64, 29.66, 29.66, 29.66, 31.59, 31.70, 31.89, 37.21, 37.21, 75.67, 127.90, 128.16, 128.16, 128.54, 128.54, 137.17, 141.27, 158.60, 159.01 y 163.62; espectro de masas (APCI), m/z 468.3950 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ ($\text{C}_{30}\text{H}_{50}\text{N}_3\text{O}$ requiere 468.3954).

2-(dimetilamino)-4-hexadecil-6-metilpirimidin-5-ol (Compuesto J):

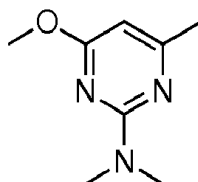


A una solución en agitación que contenía 100 mg (0.21 mmol) de 5-(benciloxi)-4-hexadecil-N,N,6-trimetilpirimidin-2-amina en 5 mL de metanol se añadieron 5 mg de hidróxido de paladio al 20% sobre carbono (Degussa tipo E101 NE/E). La mezcla de reacción se agitó a 23°C en atmósfera de hidrógeno durante 15 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (8 x 3 cm). La elución con hexano-acetato de etilo 4:1 proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 20 mg (25%); pf: 86-87°C; sílica gel TLC R_f 0.45 (hexanos-acetato de etilo 4:1); ^1H RMN (metanol- d_4) δ 0.89 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz), 1.28-1.34 (m, 26H), 1.67 (quint, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.28 (s, 3H), 2.63 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz) y 3.07 (s, 6H); ^{13}C RMN (metanol- d_4) δ 12.96, 17.52, 22.27, 27.23, 29.00, 29.12, 29.12, 29.20, 29.20, 29.20, 29.30, 29.30, 29.30, 29.30, 29.30, 29.30, 31.21, 31.61, 36.50, 36.50, 138.02, 155.61, 157.31 y 159.41; espectro de masas (APCI), m/z 378.3491 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ ($\text{C}_{23}\text{H}_{44}\text{N}_3\text{O}$ requiere 378.3484).

Ejemplo 15: Preparación de 2-(dimetilamino)-4-(10-hidroxidodecil)-6-metoxipirimidin-5-ol (Compuesto D)

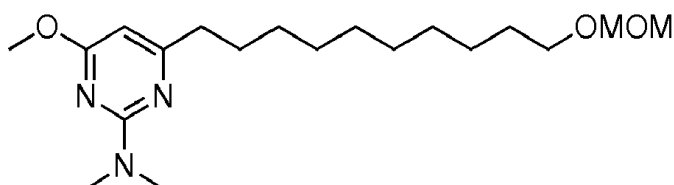


4-metoxi-N,N,6-trimetilpirimidin-2-amina:



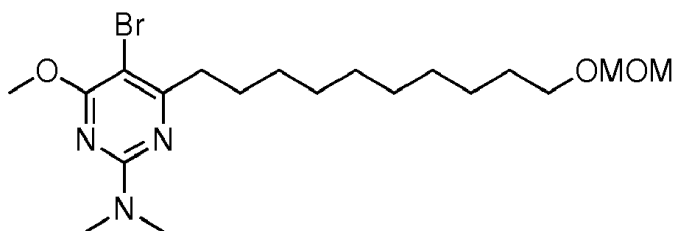
5 A una solución en agitación que contenía 1.0 g (7.19 mmol) de 4-metoxi-6-metilpirimidin-2-amina en 10 mL de DMF anhidro se añadieron 1.35 mL (21.6 mmol) de yoduro de metilo seguido de 853 mg (21.6 mmol) de 60 % de suspensión de hidruro de sodio en aceite mineral. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 20 min. La mezcla de reacción se inactivó con agua y se concentró a presión reducida para eliminar la mayor cantidad de DMF posible. El residuo se disolvió en 70 mL de acetato de etilo y se lavó con porciones de 50 mL de agua y salmuera, respectivamente. La solución orgánica se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (15 x 5 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 4:1 proporcionó el producto esperado en forma de un aceite incoloro: rendimiento 755 mg (63%); sílica gel TLC R_f 0.25 (hexanos-acetato de etilo 4: 1); ¹H RMN (CDCl₃) δ 2.22 (s, 3H), 3.12 (s, 6H), 3.83 (s, 3H) y 5.76 (s, 1H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 24.07, 36.76, 36.76, 52.68, 93.74, 162.24, 167.70 y 170.24; espectro de masas (APCI+), *m/z* 168.1135 (M+H) (C₈H₁₄N₃O requiere 168.1137).

4-metoxi-6-(10-(metoximetoxi)decil)-N,N-dimetilpirimidin-2-amina:



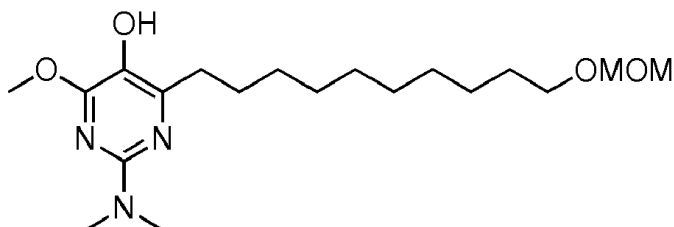
15 A una solución en agitación que contenía 933 mg (5.58 mmol) de 4-metoxi-N,N,6-trimetilpirimidin-2-amina y 1.5 g (5.58 mmol) de 1-Bromo-9-(metoximetoxi)nonano en 20 mL de THF anhidro se añadieron 5.23 mL (8.37 mmol) de n-BuLi 1.6 M en hexanos. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 20 min. La mezcla de reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado y se vertió en 100 mL de agua. El compuesto se extrajo con dos porciones de 80 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 80 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (15 x 5 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 9:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 1.41 g (71%); sílica gel TLC R_f 0.45 (hexanos-acetato de etilo 9:1); ¹H-RMN (CDCl₃) δ 1.24-1.32 (br m, 10H), 1.82 (m, 4H), 2.48 (dd, 2H, *J* = 8.0, 8.0 Hz), 3.14 (s, 6H), 3.33 (s, 3H), 3.48 (t, 2H, *J* = 6.8 Hz), 3.85 (s, 3H), 4.59 (s, 2H) y 5.76 (s, 1H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 26.18, 28.46, 28.66, 29.29, 29.39, 29.45, 29.54, 29.72, 36.77, 37.81, 37.81, 52.74, 55.04, 67.85, 93.03, 96.35, 162.35, 170.25 y 172.03; espectro de masas (APCI+), *m/z* 354.2766 (M+H) (C₁₉H₃₆N₃O₃ requiere 254.2757).

5-bromo-4-metoxi-6-(10-(metoximetoxi)decil)-N,N-dimetilpirimidin-2-amina:



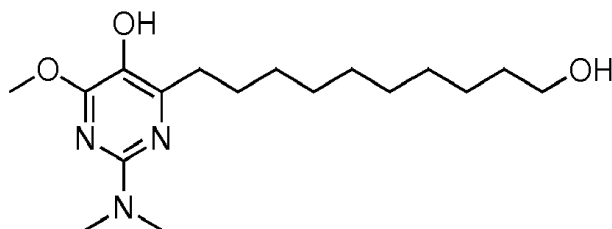
A una solución en agitación que contenía 1.41 g (3.99 mmol) de 4-metoxi-6-(10-(metoximetoxi)decil)-N,N-dimetilpirimidin-2-amina en 10 mL de acetonitrilo se añadieron 852 mg (4.79 mmol) de N-bromosuccinimida. La mezcla de reacción se agitó a 23°C y se protegió de la luz durante 5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en 100 mL de acetato de etilo. La solución orgánica se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con 9:1 de hexanos-acetato de etilo proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 910 mg (53%); sílica gel TLC R_f 0.65 (hexanos-acetato de etilo 9:1); ¹H RMN (CDCl₃) δ 1.31-1.26 (br m, 10H), 1.54-1.64 (m, 4H), 2.67 (dd, 2H, J = 7.6, 7.6 Hz), 3.11 (s, 6H), 3.33 (s, 3H), 3.48 (t, 2H, J = 6.8 Hz), 3.92 (s, 3H) y 4.59 (s, 2H); ¹³C-RMN (CDCl₃) δ 26.18, 27.59, 29.34, 29.40, 29.40, 29.47, 29.55, 29.72, 36.68, 36.93, 53.96, 55.04, 67.85, 91.16, 96.35, 160.06, 165.05 y 169.04; espectro de masas (APCI+), m/z 432.1857 (M+H) (C₁₉H₃₅N₃O₃Br requiere 432.1862).

2-(dimetilamino)-4-metoxi-6-(10-(metoximetoxi)decil)pirimidin-5-ol:



A una solución en agitación a -5°C que contenía 120 mg (0.25 mmol) de 5-bromo-4-metoxi-6-(10-(metoximetoxi)decil)-N,N-dimetilpirimidin-2-amina en 3 mL de THF anhidro se añadieron 390 µL (0.62 mmol) de una solución 1.6 M de n-BuLi en hexanos. La mezcla de reacción se agitó a -5°C durante 20 minutos. Luego a la mezcla se añadieron 84 µL (0.75 mmol) de trimetoxi boro y la mezcla de reacción se agitó durante 1 h. Luego a la mezcla de reacción se agregaron 0.55 mL de 30% de H₂O₂ acuoso seguido de 0.18 mL de NaOH acuoso 3N. La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos y se vertió en 50 mL de agua. La mezcla se neutralizó con HCl acuoso diluido y se extrajo con dos porciones de 50 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 80 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (10 x 3 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 2:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento 47 mg (51%); sílica gel TLC R_f 0.50 (hexanos-acetato de etilo 2:1); ¹H RMN (CDCl₃) δ 1.29-1.21 (br m, 10H), 1.64-1.54 (m, 4H), 2.58 (br s, 2H), 3.07 (s, 6H), 3.33 (s, 3H), 3.48 (t, 2H, J = 6.8 Hz), 3.92 (s, 3H) y 4.59 (s, 2H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 26.14, 27.65, 29.29, 29.37, 29.42, 29.45, 29.52, 29.69, 31.19, 37.21, 37.21, 53.24, 55.03, 67.86, 96.32, 126.92, 154.98, 155.94 y 158.04; espectro de masas (APCI+), m/z 370.2700 (M+H) (C₁₉H₃₆N₃O₃ requiere 370.2706).

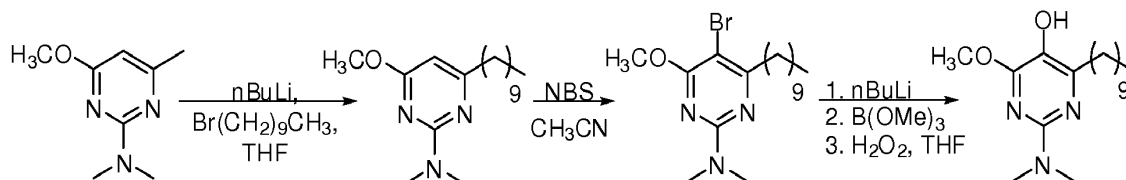
2-(dimetilamino)-4-(10-hidroxidodecil)-6-metoxipirimidin-5-ol (Compuesto D):



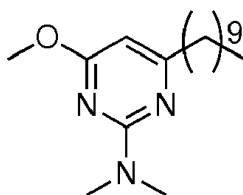
A una solución en agitación que contenía 20 mg (0.054 mmol) de 2-(dimetilamino)-4-metoxi-6-(10-(metoximetoxi)decil)pirimidin-5-ol en 5 mL de metanol se añadieron 2 gotas de HCl concentrado. La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 16 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (8 x 1 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 1:2 proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 7 mg (40%); pf: 104-105°C; sílica gel TLC R_f 0.15 (hexanos-acetato de etilo 1:2); ¹H RMN (metanol-d₄) δ 1.28-1.32 (br m, 10H), 1.49 (m, 2H), 1.64 (m, 2H), 2.76 (dd, 2H, J = 7.6, 7.6 Hz), 3.22 (s, 6H), 3.51 (t, 2H, J = 6.8 Hz) y 4.07 (s, 3H); ¹³C RMN (metanol-d₄) δ 25.55, 27.49, 27.72, 29.02, 29.03, 29.17, 29.19, 29.31, 32.26,

37.20, 37.20, 54.45, 61.59, 128.10, 146.40, 151.34 y 162.67; espectro de masas (APCI+), m/z 326.2442 (M+H) ($C_{17}H_{32}N_3O_3$ requiere 326.2444).

Ejemplo 16: Preparación de 4-decil-2-(dimetilamino)-6-metoxipirimidin-5-ol (Compuesto L).

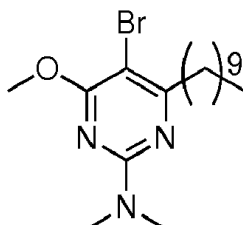


5 4-decil-6-metoxi-N,N-dimetilpirimidin-2-amina:



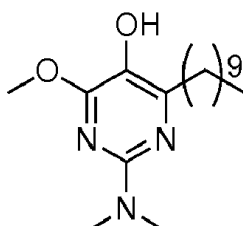
A una solución en agitación que contenía 1.06 g (6.34 mmol) de 4-metoxi-N,N,6-trimetilpirimidin-2-amina y 1.32 g (6.34 mmol) de 1-bromononano en 20 mL de THF anhidro se agregaron 5.15 mL (8.34 mmol) de 1.6 M n-BuLi en hexanos. La mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 20 min. La mezcla de reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado y se vertió en 100 mL de agua. El compuesto se extrajo con dos porciones de 80 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 80 mL de salmuera, se secó ($MgSO_4$) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (15 x 5 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 9:1 proporcionó el producto esperado como un aceite incoloro: rendimiento de 1.22 g (66%); sílica gel TLC R_f 0.7 (hexanos-acetato de etilo 9:1); 1H -RMN ($CDCl_3$) δ 0.85 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz), 1.28-1.23 (br m, 14H), 1.82 (quint, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.46 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.14 (s, 6H), 3.85 (s, 3H) y 5.77 (s, 1H); ^{13}C RMN ($CDCl_3$) δ 14.09, 22.66, 28.46, 29.31, 29.32, 29.48, 29.54, 29.59, 31.88, 36.78, 37.83, 37.83, 52.75, 93.03, 162.29, 170.25 y 173.93.

5-bromo-4-decil-6-metoxi-N,N-dimetilpirimidin-2-amina:



A una solución en agitación que contenía 1.22 g (4.16 mmol) de 4-decil-6-metoxi-N,N-dimetilpirimidin-2-amina en 20 mL de acetonitrilo se añadieron 808 mg (4.54 mmol) de N-bromosuccinimida. La mezcla de reacción se agitó a 23°C y se protegió de la luz durante 5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en 100 mL de acetato de etilo. La solución orgánica se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó ($MgSO_4$) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-éter 9:1 proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 1.27 g (82%); pf: 45-46°C; sílica gel TLC R_f 0.75 (9:1 hexanos-éter etílico); 1H -RMN ($CDCl_3$) δ 0.86 (t, 3H, $J = 6.8$ Hz), 1.33-1.24 (br m, 14H), 1.65 (quint, 2H, $J = 7.2$ Hz), 2.68 (dd, 2H, $J = 7.6, 7.6$ Hz), 3.12 (s, 6H) y 3.92 (s, 3H); ^{13}C RMN ($CDCl_3$) δ 14.09, 22.67, 27.62, 29.32, 29.37, 29.45, 29.57, 29.60, 31.89, 36.70, 36.94, 36.94, 53.97, 91.17, 160.07, 165.06 y 169.05.

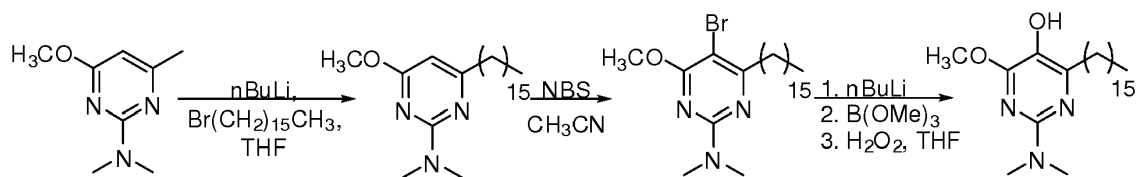
4-decil-2-(dimetilamino)-6-metoxipirimidin-5-ol: (Compuesto L)



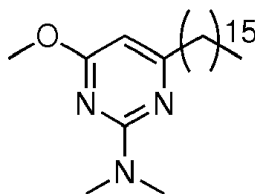
30

A una solución en agitación a -5°C que contenía 500 mg (1.34 mmol) de 5-bromo-4-decil-6-metoxi-N,N-dimetilpirimidin-2-amina en 10 mL de THF anhidro se añadieron 202 μ l (1.34 mmol) de N,N,N,N-tetrametil etilendiamina seguido de 2.09 mL (3.35 mmol) de una solución 1.6 M de n-BuLi en hexanos. La mezcla de reacción se agitó a -5°C durante 20 minutos. A continuación, a la mezcla se añadieron 440 μ l (4.02 mmol) de trimetoxiboro y la mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 1 h. Luego a la mezcla de reacción se agregaron 3.46 mL de H₂O₂ acuoso al 30%. La mezcla de reacción se agitó luego durante 30 minutos y se vertió en 100 mL de agua. La mezcla se neutralizó con HCl acuoso diluido y se extrajo con dos porciones de 100 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (10 x 3 cm). La elución con 4:1 de hexanos-acetato de etilo proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento de 111 mg (27%); pf: 59-60°C; sílica gel TLC R_f = 0.60 (hexanos-acetato de etilo 4:1); ¹H-RMN (metanol-d₄) δ 0.87 (t, 3H, J = 6.4 Hz), 1.33-1.24 (br m, 14H), 1.62 (quint, 2H, J = 7.2 Hz), 2.58 (dd, 2H, J = 7.6, 7.6 Hz), 3.09 (s, 6H) y 3.91 (s, 3H); ¹³C RMN (metanol-d₄) δ 13.05, 22.32, 27.62, 29.05, 29.15, 29.17, 29.29, 29.31, 30.58, 31.67, 36.32, 36.32, 52.23, 126.96, 155.92, 155.94 y 159.48.

Ejemplo 17: Preparación de 2-(dimetilamino)-4-hexadecil-6-metoxipirimidin-5-ol (Compuesto K)

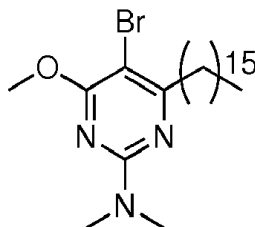


4-hexadecil-6-metoxi-N,N-dimetilpirimidin-2-amina:



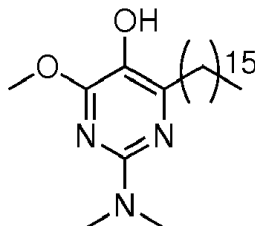
A una solución en agitación que contenía 1.12 g (6.70 mmol) de 4-metoxi-N,N,6-trimetilpirimidin-2-amina y 2.62 g (6.70 mmol) de 1-pentadecano en 20 mL de THF anhidro se agregaron 6.28 mL (10.1 mmol) de 1.6 M n-BuLi en hexanos. La mezcla de reacción se agitó durante 20 min a 23°C. La mezcla de reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado y se vertió en 100 mL de agua. El compuesto se extrajo con dos porciones de 80 mL de acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lavó con una porción de 80 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (15 x 5 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 9:1 proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 1.58 g (62%); pf: 49-50°C; sílica gel TLC R_f 0.5 (9:1 hexanos-éter etílico); ¹H-RMN (CDCl₃) δ 0.86 (t, 3H, J = 6.8 Hz), 1.30-1.20 (br m, 26H), 1.63 (quint, 2H, J = 7.2 Hz), 2.46 (dd, 2H, J = 7.6, 7.6 Hz), 3.14 (s, 6H), 3.85 (s, 3H) y 5.77 (s, 1H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 14.10, 22.67, 28.49, 29.33, 29.49, 29.55, 29.64, 29.68, 29.68, 29.68, 29.68, 29.68, 29.68, 29.68, 31.90, 36.78, 37.83, 37.83, 52.75, 93.03, 162.28, 179.25 y 171.93.

5-bromo-4-hexadecil-6-metoxi-N,N-dimetilpirimidin-2-amina:



A una solución en agitación que contenía 1.56 g (4.13 mmol) de 4-hexadecil-6-metoxi-N,N-dimetilpirimidin-2-amina en 30 mL de acetonitrilo se añadieron 888 mg (4.99 mmol) de N-bromosuccinimida. La mezcla de reacción se agitó a 23°C y se protegió de la luz durante 5 h. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió en 100 mL de acetato de etilo. La solución orgánica se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel. La elución con hexanos-éter 9:1 proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 1.80 g (95%); pf: 66-67°C; sílica gel TLC R_f 0.60 (9:1 hexanos-éter etílico); 0.86 (t, 3H, J = 6.8 Hz), 1.34-1.20 (br m, 26H), 1.65 (quint, 2H, J = 7.2 Hz), 2.68 (dd, 2H, J = 7.6, 7.6 Hz), 3.12 (s, 6H) y 3.93 (s, 3H); ¹³C RMN (CDCl₃) δ 14.10, 26.67, 27.62, 29.34, 39.37, 29.45, 29.57, 29.63, 29.65, 29.68, 29.68, 29.68, 29.68, 29.68, 29.68, 31.90, 36.71, 36.95, 36.95, 53.98, 91.17, 160.08, 165.07 y 169.06.

2-(dimetilamino)-4-hexadecil-6-metoxipirimidin-5-ol (Compuesto K):



A una solución en agitación a -5°C que contenía 500 mg (1.10 mmol) de 5-bromo-4-hexadecil-6-metoxi-N,N-dimetilpirimidin-2-amina en 10 mL de THF anhidro se añadieron 166 μL (1.10 mmol) de N,N,N,N-tetrametil etilendiamina seguido de 1.72 ml (2.75 mmol) de una solución 1.6 M de n-BuLi en hexanos. La mezcla de reacción se agitó a -5°C durante 20 minutos. A continuación, a la mezcla se añadieron 369 μL (3.30 mmol) de trimetoxiboro y la mezcla de reacción se agitó a 23°C durante 1 h. Luego a la mezcla de reacción se agregaron 2.84 ml de 30% de H_2O_2 acuoso. La mezcla de reacción se agitó luego durante 30 minutos y se vertió en 100 mL de agua. La mezcla se neutralizó con HCl acuoso diluido y se extrajo con dos porciones de 100 mL de acetato de etilo. La solución orgánica combinada se lavó con una porción de 100 mL de salmuera, se secó (MgSO_4) y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en una columna de sílica gel (10 x 3 cm). La elución con hexanos-acetato de etilo 4:1 proporcionó el producto esperado como un sólido blanco: rendimiento 240 mg (55%); p_r : $78-79^{\circ}\text{C}$; sílica gel TLC R_f = 0.50 (hexanos-acetato de etilo 4:1); ^1H -RMN ($\text{dms}\text{-}d_6$) δ 0.81 (t, 3H, J = 6.0 Hz), 1.23-1.19 (br m, 26H), 1.52 (quint, 2H, J = 6.8 Hz), 2.46 (dd, 2H, J = 7.2, 7.2 Hz), 2.97 (s, 6H) y 3.82 (s, 3H); ^{13}C RMN ($\text{dms}\text{-}d_6$) δ 14.38, 22.53, 27.65, 29.14, 29.27, 29.32, 29.38, 29.43, 29.46, 29.46, 29.46, 29.46, 29.46, 29.46, 31.20, 31.73, 37.27, 37.27, 53.13, 127.10, 155.54, 156.81 y 159.70.

Ejemplo 18:

I. Ensayo de peroxidación de lípidos

Oxidación de ácido cis-parinárico para medir la peroxidación de lípidos

Se han desarrollado varios métodos para analizar la peroxidación de lípidos *in vitro* (Kuypers et al (1987) Biochim Biophys Acta. 25, 266-274; Pap et al (1999) FEBS Lett 453, 278-282; Drummen et al. (2002) Free Radic Biol Med. 33, 473-490). Casi todos estos métodos se basan en la inhibición de reacciones de oxidación inducidas por radicales libres. Un ensayo de fluorescencia ampliamente utilizado para la peroxidación de lípidos utiliza ácido cis-parinárico soluble en lípidos como sonda. El ácido cis-parinárico pierde su fluorescencia ($\lambda_{\text{exc/em}}$: 320/432 nm) tras la interacción con los radicales peroxilo y retiene su fluorescencia en presencia de inhibidores de radicales. El ácido cis-parinárico es, sin embargo, sensible al aire, fotolábil y absorbe la luz en la región UV del espectro ($\lambda \sim 320$ nm). Sin embargo, esta región del espectro es en donde también se ha encontrado que la mayoría de los compuestos absorben y emiten luz. En términos prácticos, los resultados obtenidos usando cis-parinárico como una sonda para la peroxidación de lípidos se confunden debido a la superposición de los espectros de emisión de compuestos con el espectro de emisión cis-parinárico.

Oxidación de C_{11} -BODIPY $^{581/591}$ para medir la peroxidación de lípidos

Para superar el problema del solapamiento espectral usando ácido cis-parinárico, se usó un ensayo de fluorescencia para la peroxidación de lípidos usando una sonda lipófila perteneciente a la clase BODIPY de colorantes fluorescentes. La fluorescencia del C_{11} -BODIPY $^{581/591}$ (4,4-difluoro-5(4-fenil-1,3-butadienil)-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene-3-ácido propiónico) cambia de rojo a verde después de la oxidación. Las concentraciones de la solución madre de C_{11} -BODIPY $^{581/591}$ (Molecular Probes, Eugene, ORE, USA) se determinaron midiendo la absorción de C_{11} -BODIPY $^{581/591}$ a 582 nm usando un coeficiente de extinción molar de $140.000 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (R.P. Haugland, (1999) Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals, Molecular Probes, Inc., Eugene, OR). El inductor de la peroxidación lipídica 2,2'-azobis (dihidrocloruro de 2-amidino-propano) (AAPH) y el compuesto antioxidante α -tocoferol se obtuvieron de Sigma (St. Louis, MO, Estados Unidos). Las bicapas de fosfolípidos se prepararon a partir de 1-estearoil-2-oleoil-fosfatidilcolina (SOPC) y 1,2-dilinoil-oleoil-fosfatidilcolina (DLPC) y se adquirieron a partir de los lípidos polares Avanti®, INC (Alabaster, AL, Estados Unidos).

Preparación de liposomas

Se prepararon liposomas de fosfatidilcolina (PC) como se describió anteriormente (Guey-Shuang et al (1982) Lipids. 17, 403-413). En resumen, se disolvieron DLPC (25 mg) y SOPC (25 mg) en cloroformo y el disolvente se eliminó mediante evaporación de nitrógeno (~ 2 horas para dar una película delgada de PC en un matraz de fondo redondo. La película lipídica se hidrató con 50 mL de Tris-HCl 10 mM (pH 7.4), KCl 100 mM, se agitaron y se sometieron a sonicación durante 15 segundos. Los liposomas obtenidos se filtraron varias veces a través de un filtro de membrana de $0.2 \mu\text{M}$.

Medición de la oxidación de C_{11} -BODIPY $^{581/591}$.

Se incorporó C₁₁-BODIPY^{581/591} en liposomas y se oxidó mediante radicales peroxilo derivados de la descomposición de AAPH en presencia y en ausencia de los compuestos. Los liposomas (1 mg/mL), suspendidos en Tris-HCl 10 mM (pH 7.4), KCl 100 mM, se transfirieron a una cubeta de cuarzo de 1 mL y se colocaron en un fluorómetro Varian Cary Eclipse (Varian, Cary, NC) equipado con un soporte de cubeta termostatizado a 40°C. Los liposomas se preincubaron durante 10 minutos con C₁₁-BODIPY^{581/591} 200 nM para permitir su incorporación en la fase lipídica de los liposomas. Después de la adición de AAPH (10 mM), se siguió la disminución de la fluorescencia roja a $\lambda_{exc} = 570$ nm, $\lambda_{em} = 600$ nm. Las unidades de fluorescencia relativa se normalizaron a una intensidad del 100%. Los resultados obtenidos se verificaron mediante la repetición de experimentos N=3 experimentos independientes.

Medición de la oxidación de C₁₁-BODIPY^{581/591} en cultivo celular

- 10 La peroxidación de lípidos en células de leucemia CEM se detectó utilizando la sonda lipófila sensible a oxidantes C₁₁-BODIPY^{581/591}. En resumen, las células CEM (5 x 10⁵ células/mL) se trataron con los compuestos de prueba a concentraciones finales de 1 y 2.5 μ M, y se incubaron a 37°C durante 4 o 24 h en una atmósfera humidificada que contenía 5% de CO₂ en aire. Las células se trataron con C₁₁-BODIPY^{581/591} 500 nM en medio RPMI-1640 exento de rojo de fenol y se incubaron a 37°C en la oscuridad durante 30 minutos. Las células se lavaron dos veces con solución salina regulada con fosfato y se indujo el estrés oxidativo con DEM 5 mM en medio RPMI-1640 sin fenol rojo durante 90 minutos. Las células tratadas se recolectaron por centrifugación a 300 x g durante 3 minutos y luego se lavaron dos veces con solución salina regulada con fosfato. Las células se resuspendieron en 250 μ L de solución salina regulada con fosfato y se analizaron mediante FACS (citómetro de flujo FACS Calibur, Becton Dickinson) para controlar el cambio en la intensidad de la señal de fluorescencia C₁₁-BODIPY^{581/591}-verde (oxidada).

- 20 Ensayo para especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)

- La peroxidación de lípidos por peróxido de hidrógeno en membranas mitocondriales de corazón bovino se determinó midiendo la cantidad de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico liberadas. Las mitocondrias de corazón bovino (1 mg de proteína) preparadas como lo describe Smith (38) se añadieron a 800 μ L de regulador de fosfato 50 mM, pH 8.0, y se sometieron a estrés oxidativo mediante la adición de glucosa 25 mM y 1 U/mL glucosa oxidasa de *Aspergillus niger*. Las muestras se incubaron con o sin compuestos de ensayo a 37°C durante 30 minutos. Se añadieron 200 μ L de ácido tiobarbitúrico al 1% (p/v) y ácido perclórico al 35% (v/v), así como hidroxitolueno butilado al 0.1% (p/v) (a partir de una solución madre al 2% en DMSO). Las muestras se calentaron a 100°C durante 15 minutos. Se tomaron alícuotas de un mL de cada muestra y se diluyeron en 2 mL de agua, luego se extrajeron una vez con 2 mL de n-butanol. Se tomaron alícuotas por triplicado de 500 μ L de la fase de butanol y se transfirieron a una cubeta de cuarzo. Los TBARS se determinaron fluorométricamente a partir del espectro de emisión (λ_{ex} 515 nm; λ_{em} 550 nm) usando un fluorímetro Varian. La concentración de malondialdehído se determinó basándose en una curva estándar creada usando diluciones seriadas de 1,1,3,3-tetraetoxipropano 10 mM hidrolizado en H₂SO₄ al 1% (v/v) a 4°C durante la noche. La concentración de malondialdehído se expresó como nmoles de malondialdehído por mg de proteína. La proteína en alícuotas de los homogeneizados se determinó por el método del ácido bicinonínico.

- 35 II. Ensayo de Especies de Oxígeno Reactivo (ROS)

- La producción de ROS celular se puede controlar usando diacetato de 2',7'-diclorodihidrofluoresceína (DCFH-DA) (LeBel et al (1992) Chem. Res. Toxicol. 5, 227-231) (Molecular Probes, Eugene, ORE, Estados Unidos), un colorante fluorescente sensible a oxidantes y permeable para membranas. La DCFH-DA es un derivado no fluorescente de fluoresceína que emite fluorescencia después de ser oxidada por peróxido de hidrógeno y otras ROS. La fluorescencia emitida es directamente proporcional a la concentración de peróxido de hidrógeno. La DCFH-DA es no iónica y no polar y es absorbida fácilmente por las células. Una vez dentro de la célula, la DCFH-DA se hidroliza mediante esterasas celulares a DCFH no fluorescente que atrapa el colorante en la célula. En presencia de ROS, incluido el peróxido de hidrógeno, la DCFH se oxida al compuesto altamente fluorescente diclorofluoresceína (DCF). La fluorescencia de la DCF intracelular se usa como un índice de producción celular de ROS.

- 45 El estrés oxidativo celular se indujo por agotamiento farmacológico de glutatión (GSH) usando el dietilmalaeto químico (DEM). La producción de ROS se evaluó controlando la fluorescencia de DCF. Las células CEM leucémicas (ATCC®, número de catálogo CRL-2264) se cultivaron en RPMI (GIBCO, Grand Island, NY, Estados Unidos) con suplementos de FCS al 10%, glutamina 2 mM (HyClone, South Logan, Utah, Estados Unidos) y mezcla de antibióticos penicilina-estreptomina al 1% (Cellgro, Manassas, VA, Estados Unidos). Las células se mantuvieron en la fase logarítmica a una concentración de entre 1 x 10⁵ y 1 x 10⁶ células/mL. Se sembraron células CEM (1 x 10⁶ células/mL) (1 mL) en placa de doce pozos y se trataron con los compuestos de la invención (concentración final 1 y 5 μ M) y se incubaron durante dos horas a 37°C, 5% de CO₂. Los compuestos ensayados se prepararon preparando primero soluciones madre (2.5 mM) en dimetilsulfóxido (DMSO). Las células se trataron con DEM 5 mM durante 30 minutos y se recolectaron por centrifugación a 300 x g durante 3 minutos y luego se lavaron dos veces con regulador de solución salina equilibrada de Hanks (HSSB) (Sigma, St. Louis, MO, Estados Unidos). Las células se resuspendieron en regulador HSSB + glucosa 10 mM y se incubaron a 37°C en la oscuridad durante 20 min con DCFH-DA 10 μ M. Las células se recolectaron por centrifugación a 300 x g durante 3 minutos y luego se lavaron dos veces con regulador HSSB. Las muestras se analizaron inmediatamente por citometría de flujo (Becton-Dickinson FACS Calibur), (software Cell Quest, BD Biosciences) usando un láser de excitación de 488 nm y un filtro de emisión de 538 nm de canal FL1-H. En cada análisis, se registraron 10000 eventos después de que los desechos celulares se descartaran

electrónicamente. Los resultados obtenidos se verificaron mediante la repetición de experimentos N=3 experimentos independientes. Se usó peróxido de hidrógeno auténtico como control positivo.

III. Ensayo de potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$)

Medición del potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\psi_m$) (FACS). Para la determinación de $\Delta\psi_m$, se pretrataron células de leucemia CEM con o sin los compuestos de prueba. Las células se trataron con DEM 5 mM durante 120 minutos, se recolectaron por centrifugación a 300 x g durante 3 minutos y luego se lavaron dos veces con solución salina regulada con fosfato. Las células se resuspendieron en regulador HSSB y se incubaron a 37°C en la oscuridad durante 15 minutos con TMRM 250 nM (un colorante catiónico que se acumula dentro de las mitocondrias de acuerdo con el potencial de $\Delta\psi_m$ Nernst). Las células se recolectaron por centrifugación a 300 x g durante 3 minutos y luego se lavaron dos veces con solución salina regulada con fosfato. Las muestras se analizaron inmediatamente mediante citometría de flujo usando un láser de excitación a 488 nm y el canal FL2-H. Los resultados obtenidos se verificaron en tres experimentos independientes. Se usó el protonóforo FCCP (30 μ M) para disipar el gradiente de protones quimiosmótico ($\Delta\mu H^+$) y sirvió como control para la pérdida de $\Delta\psi_m$. En cada análisis, se registraron 10000 eventos.

IV. Ensayo de viabilidad celular con azul de tripano

Viabilidad celular determinada por ensayo de exclusión con azul de tripano: Esta técnica se usó para evaluar los efectos citoprotectores de los compuestos de la invención en células cultivadas tratadas farmacológicamente para inducir la muerte celular por agotamiento de GSH. Se usó DEM para reducir el GSH celular e inducir estrés oxidativo. La viabilidad de las células CEM tratadas con DEM se determinó por su capacidad para excluir el colorante azul de tripano. Las células viables excluyen el azul de tripano; mientras que las células no viables toman el tinte y se tiñen de azul. En resumen, las células CEM se cultivaron en medio RPMI 1640 (GIBCO, Grand Island, NY, Estados Unidos) suplementado con suero de ternera fetal al 10%, glutamina 2 mM (HyClone, South Logan, Utah, Estados Unidos), mezcla de penicilina-estreptomicina al 1% (Cellgro, Manassan, VA, Estados Unidos). Las células se sembraron a una densidad de 1×10^6 células/mL y se trataron con diferentes concentraciones de los compuestos de la invención. Las células se incubaron a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% en aire durante tres horas con DEM 5 mM. La viabilidad celular se determinó tiñendo las células con azul de tripano al 0.4% usando un hemacitómetro. Se contaron al menos 500 células para cada grupo experimental. En el momento del ensayo, >95% de las células tratadas con DEM tenían azul de tripano positivo; mientras que, en cultivos de células de control no tratadas con DEM, >95% de las células eran viables. La viabilidad celular se expresó como el porcentaje de control. Los datos se expresan como medias \pm S.E.M (n=3).

V. Ensayos de viabilidad celular (FACS)

La viabilidad celular y la citotoxicidad se determinaron mediante tinción simultánea de células vivas y muertas utilizando un ensayo de fluorescencia de dos colores, el kit de viabilidad/citotoxicidad Live/Dead® (Molecular Probes). Este ensayo se usa para medir dos parámetros reconocidos de viabilidad celular, actividad de esterasa intracelular e integridad del plasma. Se usó el pigmento de ADN impermeante a la membrana homodímero-1 de etidio (EthD-1) para identificar células muertas cuya integridad de membrana plasmática se interrumpió. El colorante permeable a la membrana calceína AM se usó para marcar las células vivas. Penetra en las células en donde se metaboliza mediante esterasas citoplásmicas y se convierte en una sonda fluorescente, pero impermeante a la membrana, que se retiene en células viables. Se incubaron células de leucemia CEM humanas durante la noche en medio RPMI (control) y en presencia del compuesto de prueba y luego se trataron con DEM durante 3 horas. Las células se tiñeron con 0.2 μ M de calceína AM y 0.4 μ M de EthD-1. Después de 15 minutos, se llevó a cabo un Análisis por citometría de flujo usando excitación a 488 nm. La población de células vivas del canal FL1-H verde fluorescente (539 nm) aparece en el cuadrante inferior derecho y la población de células muertas del canal FL2-H rojo fluorescente (585 nm) aparece en el cuadrante superior izquierdo (Figura 11). En cada análisis, se registraron 10000 eventos. Los resultados obtenidos se verificaron en tres experimentos independientes.

VI. Ensayo de viabilidad celular con calceína-AM

Se usó un ensayo de viabilidad celular usando el colorante acetoximetilo (AM) de calceína para determinar los efectos de los compuestos de la invención sobre la muerte celular mediada por GSH en fibroblastos derivados de pacientes con FRDA primaria (Jauslin et al. (2002) Human Molecular Genetics. 11, 3055-3063) Se trataron fibroblastos de FRDA con L-butionina (S, R)-sulfoximina (BSO) para inhibir la síntesis de novo de GSH (Griffith et al. (1979) J. Biol. Chem. 254, 7558-7560) causando estrés oxidativo, daño a la membrana plasmática y muerte celular. Los fibroblastos de los pacientes de ataxia de Friedreich, pero no las células de control, mueren después del agotamiento de GSH en la incubación con BSO (Jauslin et al. (2002) Human Molecular Genetics. 11, 3055-3063). La viabilidad celular se determinó usando calceína AM (Molecular Probe, Eugene, OR). En células vivas, la calceína AM no fluorescente se hidroliza mediante esterasas intracelulares para producir el anión calceína fluorescente fuertemente verde.

Cultivo celular y reactivos: Los fibroblastos primarios se derivaron de un paciente donante con un diagnóstico molecular de FRDA y un donante control sin enfermedad mitocondrial. Estas líneas celulares se obtuvieron de Coriell Cell Repositories (Camden, NJ, USA, números de catálogo GM04078 y GM08402, respectivamente). Los fibroblastos se cultivaron en medio esencial mínimo de Eagle (MEM) al 64% (v/v), sin rojo de fenol con sal equilibrada de Eagle (EBS)

y 25% de M199 con EBS (GIBCO, Grand Island, NY, Estados Unidos) suplementado con 10% (v/v) de suero fetal de ternera (HyClone, South Logan, Utah, Estados Unidos), 1% de mezcla de antibióticos penicilina y estreptomina (Cellgro, Manassan, VA, Estados Unidos), 10 ng/mL de insulina (Sigma, St. Louis, MO, Estados Unidos), 10 ng/mL de factor de crecimiento de fibroblastos básico β FGF (Lonza, Walkersville, MD, Estados Unidos) y glutamina 2 mM (HyClone, South Logan, Utah, Estados Unidos). BSO (L-butionina (S, R)-sulfoximina) y (+)- alfa-tocoferol se adquirieron de Sigma Chemicals y la calceína AM se adquirió de Molecular Probes. Las células se cultivaron en matraces de cultivo de 75 cm² (T75) y se incubaron a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% en aire. Las células se alimentaron dos veces por semana y se dividieron cada tres días en una proporción de 1:3 al alcanzar la confluencia. Los compuestos de la invención y las formas reducidas y oxidadas de idebenona y alfa-tocoferol se reconstituyeron en DMSO o etanol para proporcionar soluciones madre de 2.5 mM.

Generación de idebenol a partir de idebenona

Se preparó idebenol ($\epsilon_{290}=3.94 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) por reducción química de idebenona ($\epsilon_{275}=14 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ en etanol absoluto) como lo describe Trounce (Trounce et al. (1996) *Methods Enzymol.* 484-509). En resumen, se añadieron 5 mg de idebenona a 2 mL de etanol reducido con exceso de borohidruro de potasio (cambio de color de amarillo a incoloro). La solución resultante se acidificó a pH 2 con HCl 6M. El idebenol se recuperó en dietil éter ciclohexano (2:1, v/v) y se evaporó a sequedad bajo gas nitrógeno, se disolvió en 1 mL de etanol acidificado a pH 2 con HCl 0.1 N y se almacenó a -80°C.

Los compuestos de intervención se cribaron de acuerdo con el protocolo anterior (Jauslin et al. (2002) *Human Molecular Genetics*. 11, 3055-3063): se sembraron fibroblastos en placas microtitulación de cultivo celular de 96 pozos de pared negra (Costar, Corning, NY, Estados Unidos) a una densidad de 3000 células por pozo (100 μ L). Las placas se incubaron durante la noche a 37°C en una atmósfera humidificada de CO₂ al 5% en aire para permitir la unión de las células a la placa de cultivo. Se realizaron diluciones en serie de compuestos de intervención y de referencia a partir de sus soluciones madre respectivas para dar un volumen total de 150 μ L en cada pozo. Las placas se incubaron durante la noche en cultivo celular. Al día siguiente, se añadieron 50 μ L de una solución de BSO 4 mM (en medio de cultivo) a cada pozo para proporcionar una concentración final de BSO de 1 mM. La viabilidad celular se evaluó después de que aparecieron los primeros signos de toxicidad en las células tratadas con BSO (típicamente después de 24-30 horas) mediante el examen de cultivos en microscopía de contraste de fases. El medio de cultivo celular se descartó por aspiración y cada pozo de la placa de cultivo celular se lavó con HSSB precalentado para eliminar la actividad de esterasa sérica. A continuación, las células se trataron con 200 μ L de calceína-AM 1.2 μ M en HSSB durante 60 min a 37°C en la oscuridad para permitir que el colorante entrara en la célula y se escindiera por esterasas. El control/fondo negativo fue 200 μ L de regulador HSSB. Las intensidades de fluorescencia se midieron con un espectrofluorómetro Spectramax M5 (Molecular Devices, Sunnyvale, CA, Estados Unidos) utilizando excitación y emisión de 485 nm y 525 nm, respectivamente. Los compuestos de intervención se analizaron por triplicado. Los vehículos solventes que usaron DMSO o etanol no afectaron la viabilidad celular a las concentraciones (0.5-1%) utilizadas en el ensayo. La viabilidad de los fibroblastos no tratados con BSO se estableció como 100%, y la viabilidad de las células tratadas con BSO y tratadas con muestra se calculó con relación a este valor. La viabilidad celular se expresó como el porcentaje de control. Los datos se expresan como medias \pm S.E.M (n=3).

VII. Ensayo de reducción de citocromo c

La rata de reducción del citocromo c (10 μ M) se midió controlando el cambio en la absorbancia a 550 nm. En resumen, la reacción se inició mediante la adición de 100 μ M de los compuestos de la invención a una mezcla que contiene regulador de fosfato 50 mM, EDTA 0.1 mM, pH 7.8 y citocromo c 10 μ M (Sigma, St. Louis, MO, Estados Unidos). Para la reducción del citocromo c por superóxido, se usó xantina oxidasa (0.01 UI/mL) (Sigma, St. Louis, MO, Estados Unidos) en presencia de xantina (50 μ M).

VIII. Ensayo de concentración de ATP intercelular total

Se han informado las reducciones de la actividad de la cadena respiratoria mitocondrial en pacientes con deficiencia de CoQ₁₀ (Quinzii GM, López LC, Von-Moltke J, Naini A, Krishna S, Schuelke M, Salvati L, Navas P, DiMauro S, e Hirano, M. La disfunción de la cadena respiratoria y el estrés oxidativo se correlacionan con la gravedad de la deficiencia de CoQ₁₀ primaria. *FASEB J.* 2008; 22: 1874-1885). El uso de análogos de CoQ₁₀ para normalizar y restaurar las actividades de la cadena respiratoria podría proporcionar un enfoque terapéutico valioso. Hemos evaluado la eficacia de la fosforilación oxidativa en los linfocitos deficientes en CoQ₁₀ (GM17932) en presencia de análogos de CoQ₁₀ probados al medir el contenido total de ATP celular usando (ViaLight®-Plus ATP, kit de reactivos de monitorización, Lonza).

Se obtuvieron líneas celulares de linfocitos y linfocitos deficientes en CoQ₁₀ de Coriell Cell Repositories (Camden, NJ, número de catálogo GM-17932, GM-158151, respectivamente). Los linfocitos deficientes en CoQ₁₀ se cultivaron en medios sin glucosa suplementados con galactosa durante dos semanas para forzar la producción de energía predominantemente mediante fosforilación oxidativa en lugar de glucólisis (Quinzii et al., Robinson BH, Petrova-Benedict R, Buncic JR, Wallace DC. Nonviability of cells with oxidative defects in galactose medium: A screening test for affected patient fibroblast. *Biochem. Med. Metab. Biol.* 1992;48:122-126). Los linfocitos se cultivaron en medio libre de glucosa en RPMI 1640 (Gibco, Grand Island, NY) suplementado con galactosa 25 mM, glutamina 2 mM y penicilina-

estreptomycin al 1% (Cellgro) y 10% de suero fetal bovino dializado FBS ($<0.5 \mu\text{g}/\text{mL}$) (GEMINI, Bioproducto), En pocas palabras, los linfocitos (2×10^5 células/mL), se sembraron (1 mL en placas de 12 pozos) y se trataron con los compuestos de prueba en concentraciones finales de 5, 10 μM y 25 μM y se incubaron a 37°C durante 48 h en una atmósfera humidificada que contenía 5% de CO_2 en el aire. Los compuestos de prueba se prepararon obteniendo primero soluciones madre 20 mM en DMSO. Las células se transfirieron (100 μL) a placas de cultivo celular de paredes negras para microtitulación de 96 pozos (Costar, Corning, NY). El nivel intracelular total de ATP se midió en un iluminador (lector de microplacas de luminiscencia Clarity™) con el kit de ensayo de bioluminiscencia ATP (kit de reactivo de monitorizo ViaLight®-ATP, Lonza) siguiendo las instrucciones del fabricante. La curva estándar de ATP se obtuvo por dilución en serie de solución de ATP 1 mM. Después de la calibración contra el estándar de ATP, el contenido de ATP del extracto celular se determinó y normalizó para el contenido de proteína en la célula. La Figura 1 muestra que el contenido celular de ATP es significativamente menor en CoQ_{10} deficiente que el linfocito normal.

IX. Ensayo de inhibición de NADH oxidasa

Se obtuvieron mitocondrias de corazón de vaca mediante un procedimiento a gran escala. Las partículas submitocondriales invertidas (SMP) se prepararon por el método de Matsuno-Yagi and Hatefi (J. Biol. Chem. 260 (1985), página 14424), y se almacenaron en un regulador que contenía sacarosa 0.25 M y Tris-HCl 10 mM (pH 7.4) a -80°C . Se evaluaron los efectos inhibidores de los compuestos en el complejo mitocondrial del corazón bovino (I, III, IV). La concentración máxima de dimetil sulfoxido nunca superó el 2% y no tuvo influencia en la actividad enzimática de control. Las SMP de corazón de vaca se diluyeron a 0.5 mg/mL. Las actividades enzimáticas se analizaron a 30°C y se monitorizaron espectrofotométricamente con un Beckman Coulter DU-530 (340 nm, $\epsilon = 6.22 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). La actividad de NADH oxidasa se determinó en un medio de reacción (2.5 mL) que contenía Hepes 50 mM, pH 7.5, que contenía MgCl_2 5 mM. La concentración final de proteína mitocondrial fue de 30 μg . Después del preequilibrio de las SMP con inhibidor durante 5 min, las velocidades iniciales se calcularon a partir de la porción lineal de las trazas.

Resultados

Los compuestos A, B y C (ejemplos 1 a 3) han sido probados por su capacidad de inactivar la peroxidación de lípidos usando el sistema de liposoma C_{11} -BODIPY^{581/591} como se ilustra en la Figura 1. El Compuesto C (Figura 1A) fue mucho más efectivo que el α -tocoferol en la inhibición de la peroxidación de lípidos, como se habría predicho (Wijtmans y otros (2004) J. Org. Chem. 69, 9215-9223). Se encontró que la cadena lateral de fitol en C era muy importante para inhibir la peroxidación de lípidos en este sistema de ensayo; la estructura redox del núcleo (1,4,6-trimetil-2,3-dihidro-1H-pirrol [2,3-b]piridin-5-ol) fue mucho menos efectiva en el mismo sistema de ensayo (Figura 1B). El compuesto B fue tan eficaz como C, pero el compuesto A proporcionó protección completa a una concentración de 15 μM (Figura 1C). El compuesto A fue mucho más efectivo que la idebenona y su forma reducida para prevenir la peroxidación de lípidos. De nuevo, el núcleo redox del compuesto A (compuesto 12) en sí mismo era menos activo que su compuesto de contraparte A (con cola alifática). Los compuestos A, B y C también se estudiaron por su capacidad para extinguir el superóxido ROS. Esto se hizo analizando los efectos de A-C en células CEM que se habían tratado con maleato de dietilo (DEM) 5 mM para reducir químicamente el glutatión en las células, exponiéndolos así a un aumento del estrés oxidativo. Como se muestra en la Figura 2, A-C protegen a todas las células cuando se usan a una concentración de 5 μM . En comparación, el α -tocoferol (un inhibidor de la peroxidación lipídica) fue ineficaz, y tanto las formas oxidadas como las reducidas de idebenona tuvieron un efecto limitado. El Compuesto A también proporcionó protección completa cuando se usó a una concentración de 1 μM (Figura 3). La inhibición de ROS tuvo el efecto citoprotector esperado en las células CEM cultivadas; como se muestra en la Figura 4, los compuestos A y B fueron superiores a los alcanzados con idebenona (valores de EC_{50} para A, e idebenona fueron $202 \pm 23 \text{ nM}$, $300 \pm 22 \text{ nM}$ y $765 \pm 36 \text{ nM}$, respectivamente). Los efectos de A, B y C en la protección de las células de ROS y los efectos citotóxicos del estrés oxidativo a concentraciones nM/ μM bajas contrasta fuertemente con las concentraciones de mM del glutatión reactivo endógeno que la naturaleza usa para el mismo propósito. Sugiere que los MRQ como A, B y C deben funcionar catalíticamente para lograr sus efectos.

La capacidad del compuesto A para proteger los fibroblastos de la piel de ataxia de Friedreich frente al daño oxidativo (fibroblastos FRDA tratados con BSO) se ilustra en la Figura 5. Una vez más, este compuesto A (diamante sólido) fue más efectivo que la idebenona (triángulo sólido) y mucho más eficaz que el compuesto A análogo que carece de la cadena lateral de idebenona (asterisco) (los valores de EC_{50} para A e idebenona fueron $390 \pm 28 \text{ nM}$ y $710 \pm 80 \text{ nM}$, respectivamente). El Compuesto C y el α -tocoferol también se probaron para su capacidad para rescatar el modelo de fibroblastos FRDA tratado con BSO (Jauslin et al. (2002) Human Molecular Genetics.11, 3055-3063) como se ilustra en la Figura 5. El compuesto C (cuadrado sólido) fue ligeramente más eficaz que el α -tocoferol (círculo sólido) (los valores de EC_{50} a concentraciones nM altas/ μM bajas para el compuesto C y α -tocoferol fueron $833 \pm 75 \text{ nM}$ y $1030 \pm 116 \text{ nM}$, respectivamente).

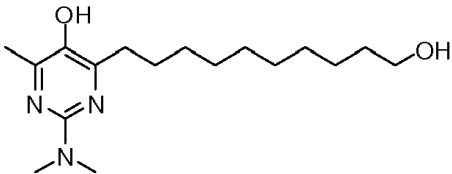
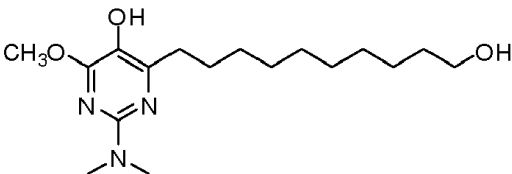
Los MRQ no solo son un potente antioxidante, sino que también reducen el citocromo c (Figura 6). Cabe señalar que los potenciales de reducción de los mediadores en la cadena de transporte de electrones mitocondrial se vuelven más positivos a medida que se avanza por la cadena. Así, el citocromo c, el portador de electrones entre los complejos mitocondriales III y IV, tiene un potencial redox de +0.23V, y es capaz de aceptar electrones del superóxido (potencial redox -0.16V). Esto se ilustra en la Figura 6, en donde se genera superóxido mediante el uso de xantina oxidasa, y se reduce de manera eficiente el citocromo c. Mientras que la reducción del citocromo c por el superóxido no da como resultado la producción óptima de ATP (4 protones se bombean a través de la membrana mitocondrial en virtud de

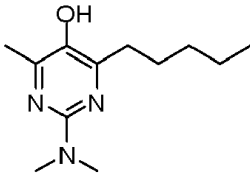
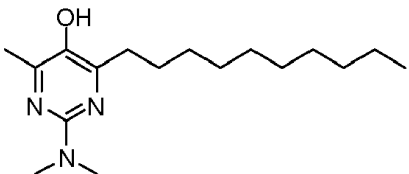
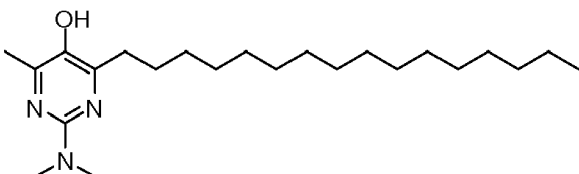
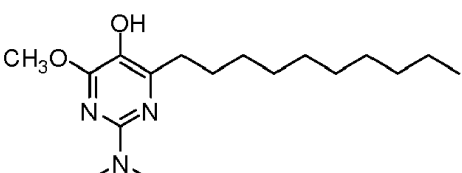
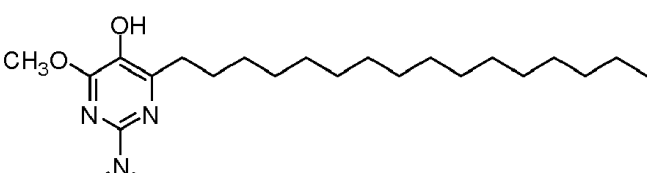
dos electrones que pasan por los complejos I y IV, los protones se bombean por dos electrones que transitan por el complejo III), la reducción del citocromo c por superóxido servirá para revivir el potencial estrés reductivo, y puede producir hasta 40% de ATP tanto como la producida por mitocondrias completamente funcionales. Los compuestos A y B reducen claramente el citocromo c (figura 6). Sería posible que los MRQ omitieran los puntos bloqueados del flujo de electrones en la cadena respiratoria (complejo III) enviando electrones directamente al citocromo c, aumentando así la tasa metabólica y la respiración celular.

La Figura 7 ilustra que los compuestos A y B son más efectivos que la idebenona en la supresión de ROS de una manera dependiente de la dosis en células tratadas con DEM, y que las cadenas laterales de estos compuestos son esenciales para esa actividad. Las Figuras 9 y 10 ilustran la misma comparación para los compuestos C y α -tocoferol, con las mismas conclusiones. Como se muestra en la Figura 8, el compuesto D también es muy eficaz en la supresión de ROS. Las Figuras 11 y 12 ilustran las propiedades muy favorables de los compuestos A, B y D en el mantenimiento del potencial de membrana mitocondrial en células tratadas con DEM, mientras que la idebenona era menos eficaz a este respecto. La Figura 13 ilustra el mismo principio para el compuesto C, que es superior al tocoferol en el mantenimiento del potencial de membrana mitocondrial. La Figura 14 muestra que los compuestos A, B y D son superiores a la idebenona en el mantenimiento de la viabilidad de las células tratadas con DEM. Las Figuras 15 y 17 hacen la misma comparación entre el compuesto C y el α -tocoferol, que demuestran la superioridad del compuesto C, así como la necesidad de la cadena lateral de alquilo. La misma comparación se realiza en la Figura 16 para los profármacos de O-acetato de ambos compuestos, ilustrando de nuevo la superioridad del compuesto C. La Figura 18 muestra que el compuesto C es claramente superior al α -tocoferol en la peroxidación de lípidos de extinción en un tiempo y dosis moda dependiente. La Figura 19 compara varios análogos en su capacidad para suprimir ROS y muestra que los compuestos I y J son especialmente efectivos, y pueden funcionar a una concentración bastante baja (250 nm). La Figura 20 muestra la diferencia en las concentraciones de ATP celular total en linfocitos deficientes en CoQ₁₀ y normales cultivados en ausencia de glucosa (para asegurar que toda la producción de ATP sea de origen mitocondrial).

La Tabla 1 muestra la concentración de ATP total (como % de control) en la línea celular de linfocitos deficientes en CoQ₁₀ como se determina a partir de los niveles de ATP intracelular usando la reacción luciferina-luciferasa. Para hacer cumplir la síntesis de ATP dependiente de la cadena respiratoria, las células se cultivaron durante 48 horas en medios sin glucosa suplementados con galactosa 25 mM y suero bovino fetal dializado al 10% (concentración de glucosa inferior a 0.5 μ g/mL). La Figura 20 ilustra los niveles de ATP intracelular total en linfocitos normales y deficientes en CoQ₁₀ medidos utilizando la reacción luciferina-luciferasa. Los niveles de ATP mostrados en la Tabla 1 son relativos al valor del 100% obtenido para las células deficientes en CoQ₁₀ en la Figura 20.

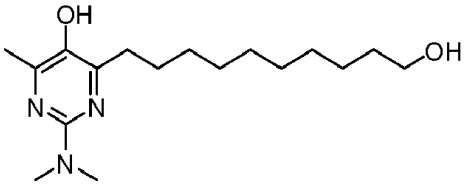
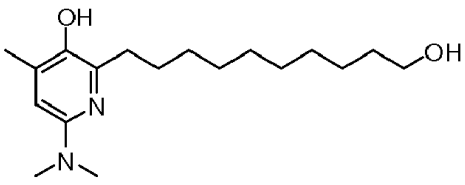
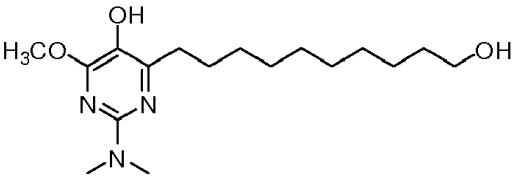
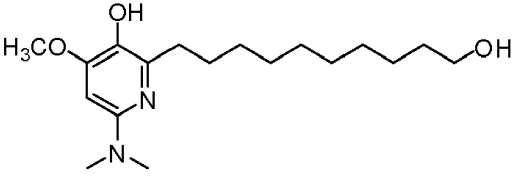
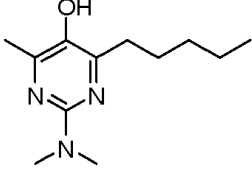
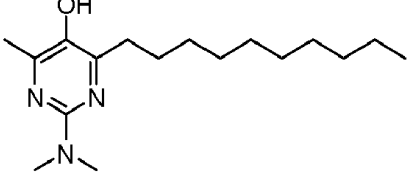
Tabla 1

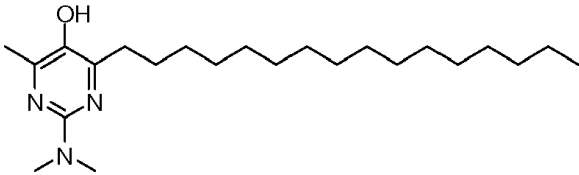
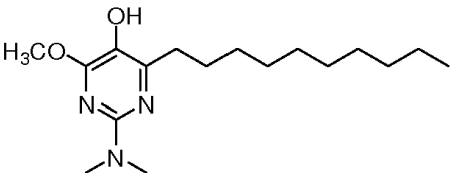
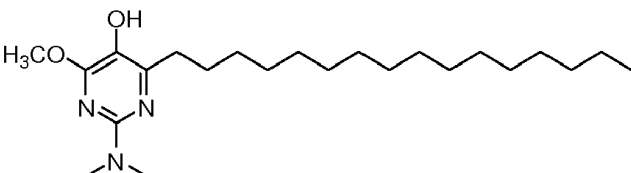
Compuesto	Concentración total de ATP (% de control)		
	5 μ M	10 μ M	25 μ M
	102.4 \pm 1.2	87.9 \pm 4.3	46.1 \pm 1.2
	101.6 \pm 1.4	96.8 \pm 4.0	48.7 \pm 0.8

Compuesto	Concentración total de ATP (% de control)		
	5 μ M	10 μ M	25 μ M
	109.3 \pm 2.3	111.1 \pm 1.5	105.6 \pm 2.4
	106.6 \pm 2.7	98.7 \pm 1.1	75.3 \pm 1.8
	111.5 \pm 1.8	106.9 \pm 2.7	101.6 \pm 3.1
	109.4 \pm 5.0	110.5 \pm 6.5	68.3 \pm 2.7
	122.3 \pm 1.9	116.4 \pm 0.5	113.0 \pm 1.6

La Tabla 2 muestra los efectos citoprotectores de los compuestos de la divulgación en células cultivadas de FRDA. Las células se pretrataron con los compuestos y luego se agotaron de glutatión. La viabilidad celular se expresa como porcentaje del número total de células.

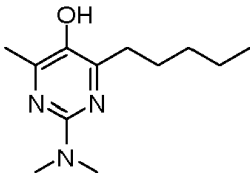
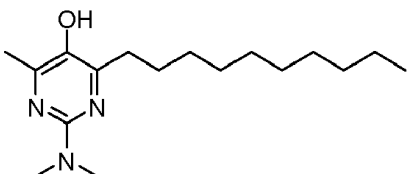
Tabla 2

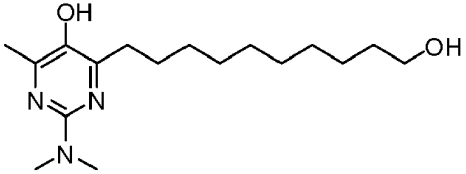
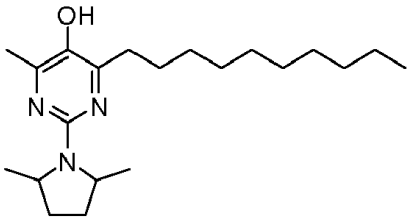
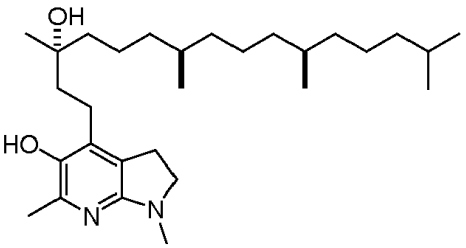
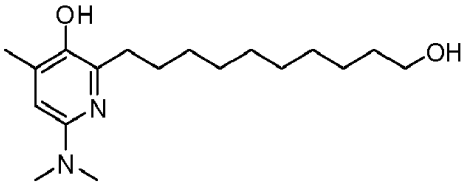
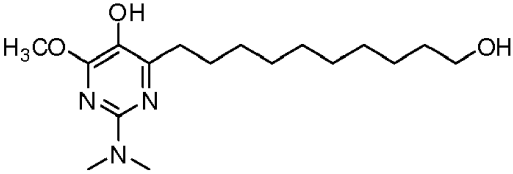
Compuestos	Células viables (%)		
	0.1 μ M	0.5 μ M	2.5 μ M
	63.6 \pm 8.4	83.5 \pm 0.7	82.7 \pm 8.1
	54.0 \pm 5.2	76.5 \pm 2.1	81.7 \pm 5.0
	55.6 \pm 5.7	80.0 \pm 4.0	78.3 \pm 7.5
	33.0 \pm 4.2	28.3 \pm 2.1	29.5 \pm 2.1
	46.0 \pm 3.5	78.7 \pm 4.0	81.3 \pm 5.1
	54.5 \pm 3.3	84.0 \pm 3.6	76.3 \pm 5.0

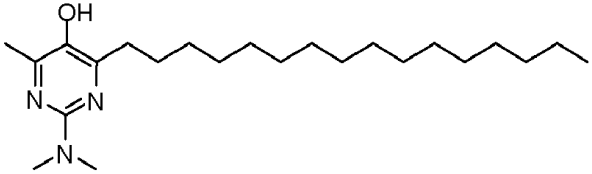
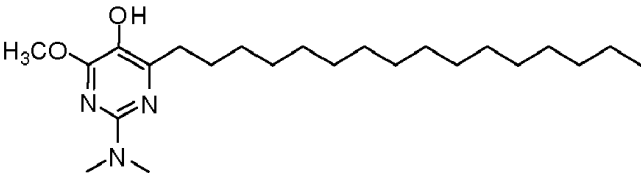
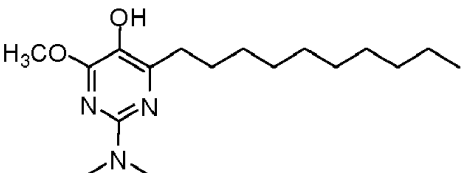
Compuestos	Células viables (%)		
	0.1 μ M	0.5 μ M	2.5 μ M
	61.3 \pm 2.9	84.4 \pm 3.4	88.0 \pm 1.0
	40.3 \pm 1.5	83.7 \pm 1.5	82.7 \pm 2.5
	43.7 \pm 3.1	66.3 \pm 1.5	80.5 \pm 5.0

La Tabla 3 muestra la actividad de inhibición de la NADH oxidasa de los compuestos en los complejos mitocondriales de corazón bovino I, II y III. La actividad se expresa como porcentaje de control.

Tabla 3

Compuestos	Control	Actividad de NADH oxidasa (%)				IC ₅₀ (μ M)
		10 μ M	5 μ M	2.5 μ M	1 μ M	
	100				85	
	100				40	0.829

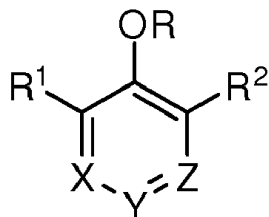
Compuestos	Control	Actividad de NADH oxidasa (%)				IC ₅₀ (μM)
		10 μM	5 μM	2.5 μM	1 μM	
	100	15	22	42	50	2.23
	100				40	10.7
	100	15		50	50	
	100	20	38	58	90	
	100	25	50	40	62.5	

Compuestos	Control	Actividad de NADH oxidasa (%)				IC ₅₀ (μM)
		10 μM	5 μM	2.5 μM	1 μM	
	100	62	62	62	62	
	100	70	70	70	90	
	100	10	38		38	

Se entiende que los ejemplos y las realizaciones descritos en el presente documento son solo para fines ilustrativos y que se sugerirán diversas modificaciones o cambios a la luz de los mismos a las personas expertas en la técnica.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

5 R es hidrógeno, o -CO(alquilo C₁-C₆);

R¹ es alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆ o alcoxi C₁-C₆, cada uno opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados entre halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁶, -NR⁶₂, -CO₂R⁶ y -CONR⁶₂; en donde cada R⁶ es independientemente hidrógeno o alquilo C₁-C₆;

10 R² es alquilo C₇-C₂₀, alqueno C₂-C₂₀ o alquino C₂-C₂₀, en donde el alquilo C₇-C₂₀ está opcionalmente sustituido con uno a cuatro -OR⁷, en donde cada R⁷ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁-C₆ o halo(alquilo C₁-C₆), y en donde cada uno de alqueno C₂-C₂₀ y alquino C₂-C₂₀ está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; en donde cada R⁷ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁-C₆ o halo (alquilo C₁-C₆);

X es CR³ o N; en donde R³ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

15 Y es CR⁴ o N; en donde R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo (alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷, -CON (R⁷)₂, anillo arilo, heteroarilo o heterociclilo, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionado de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂; y

Z es CR⁵ o N; en donde R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo (alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON (R⁷)₂, o

20 en donde R⁴ y R⁵ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo heteroarilo o heterociclilo de 5-7 miembros, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo (alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂,

con la condición de que al menos uno de X, Y y Z sea N.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R es hidrógeno.

25 3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R¹ es alquilo C₁-C₆ no sustituido o alcoxi C₁-C₆ no sustituido.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde R² es alquilo C₇-C₂₀ opcionalmente sustituido con uno a cuatro grupos -OH.

5. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde

X es CR³ o N; en donde R³ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

30 Y es CR⁴ o N; en donde R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂; y

Z es CR⁵ o N; en donde R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂, o

en donde R⁴ y R⁵ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo heteroarilo o heterociclilo de 5-7 miembros, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂.

35 6. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde

X es N;

Y es CR⁴, en donde R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂; y

Z es N.

7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde R⁴ es -OCH₃ o -N(CH₃)₂.

8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde

X es CR³, en donde R³ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂;

Y es CR⁴, en donde R⁴ es hidrógeno, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ o -CON(R⁷)₂; y

Z es N.

5 9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 8, en donde R³ es hidrógeno o -OCH₃.

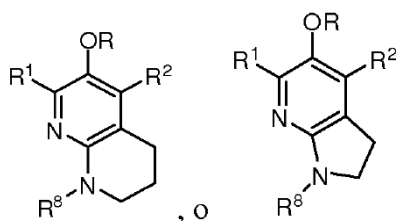
10. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, en donde R⁴ es -OH, -O(alquilo C₁-C₆), -NH₂, -NH(alquilo C₁-C₆) o -N(alquilo C₁-C₆)₂.

11. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde

X es N; Y es CR⁴; y Z es CR⁵, en donde

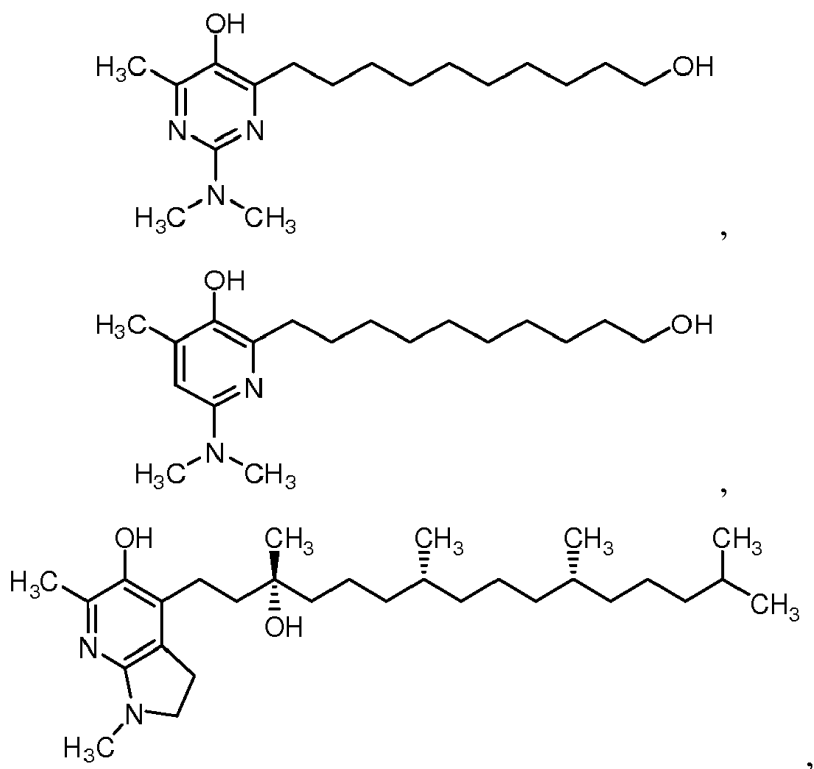
10 R⁴ y R⁵ junto con los átomos a los que están unidos forman un anillo heteroarilo o heterociclilo de 5-7 miembros, que está opcionalmente sustituido con uno a cuatro sustituyentes seleccionados de halógeno, ciano, nitro, alquilo C₁-C₆, halo(alquilo C₁-C₆), -OR⁷, -NR⁷₂, -CO₂R⁷ y -CON(R⁷)₂.

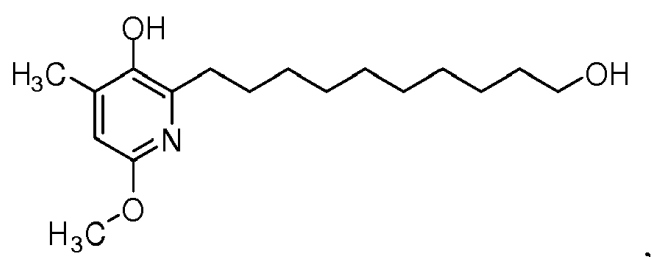
12. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 11, que tiene la siguiente estructura:



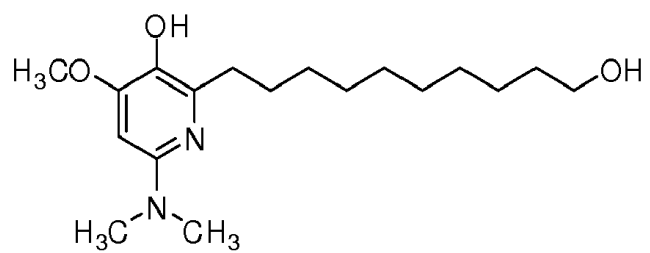
15 en donde R⁸ es hidrógeno o alquilo C₁-C₆.

13. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es:

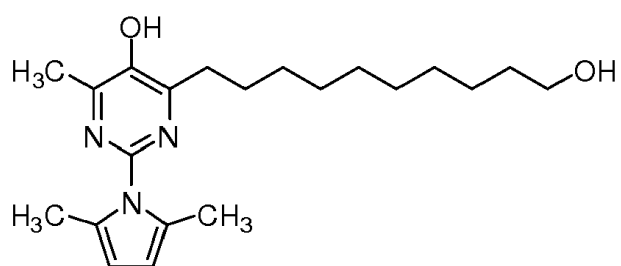




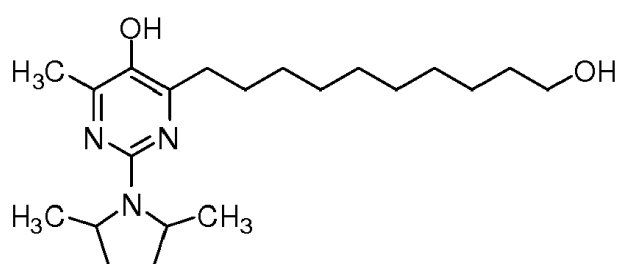
,



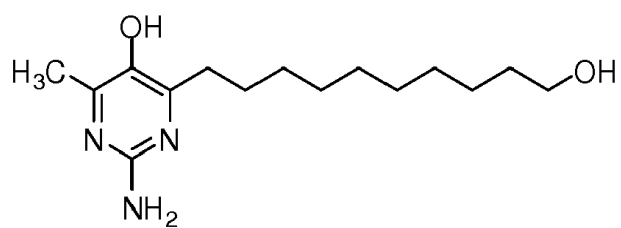
,



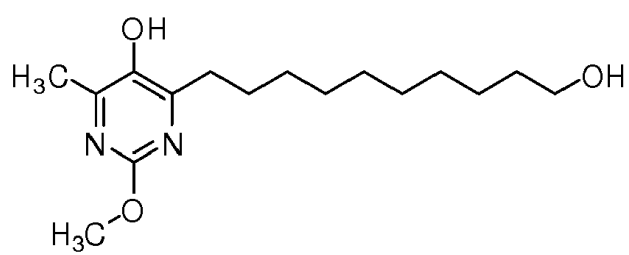
,



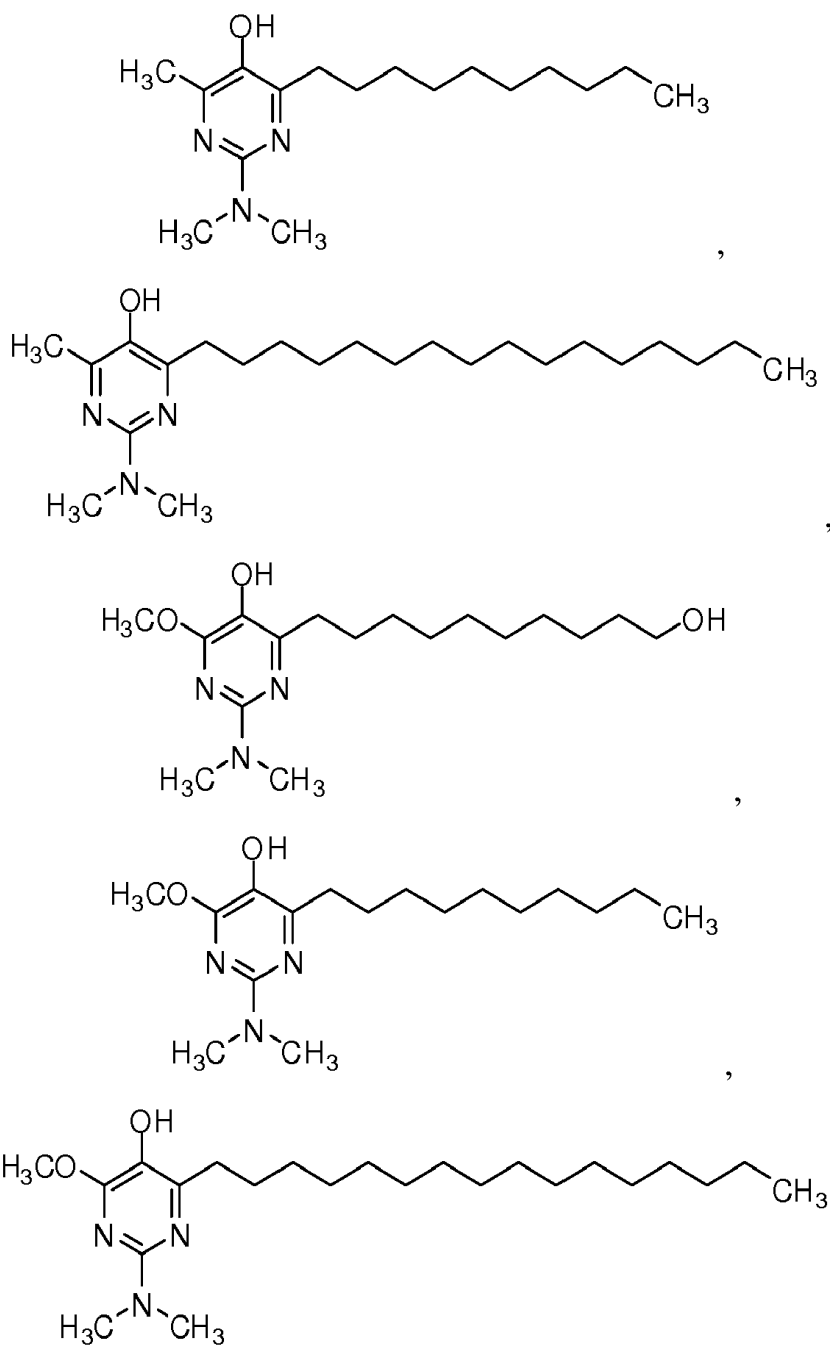
,



,



,



5

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

14. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13 y un vehículo, excipiente y/o diluyente aceptable.

10

15. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para uso en el tratamiento o la supresión de enfermedades seleccionadas del grupo que consiste en ataxia de Friedreich, neuropatía óptica hereditaria de Leber, síndrome de Kearns-Sayre, encefalomiopatía mitocondrial con acidosis láctica y episodios similares a un ictus, y síndrome de Leigh.

FIGURA 1A

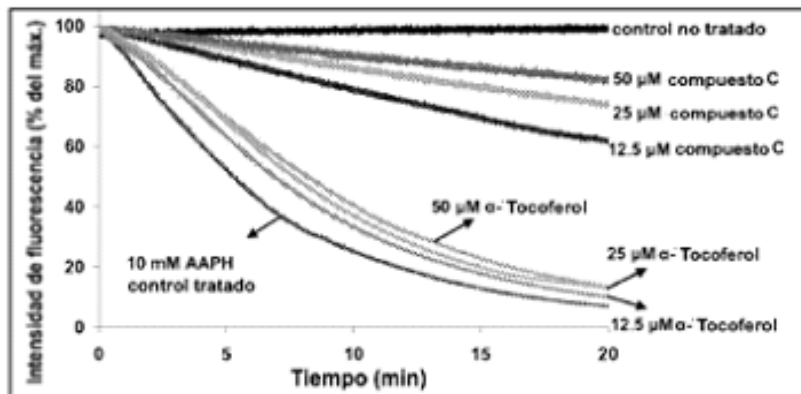


FIGURA 1B

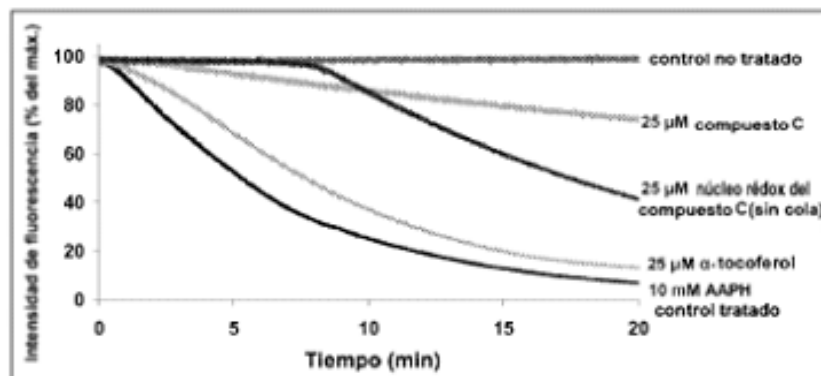


FIGURA 1C

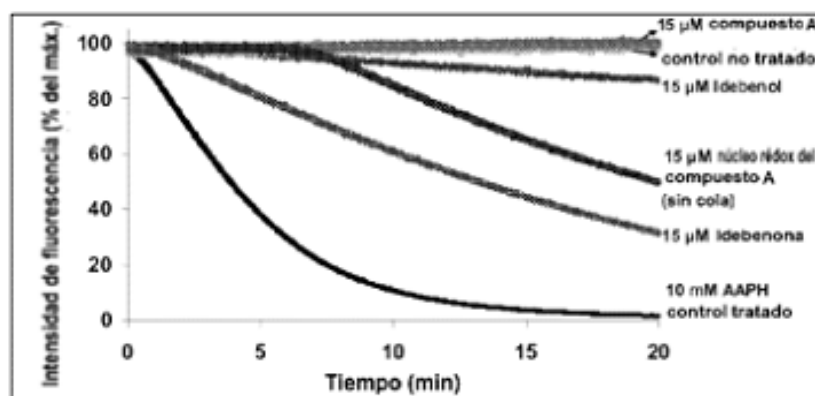


FIGURA 2

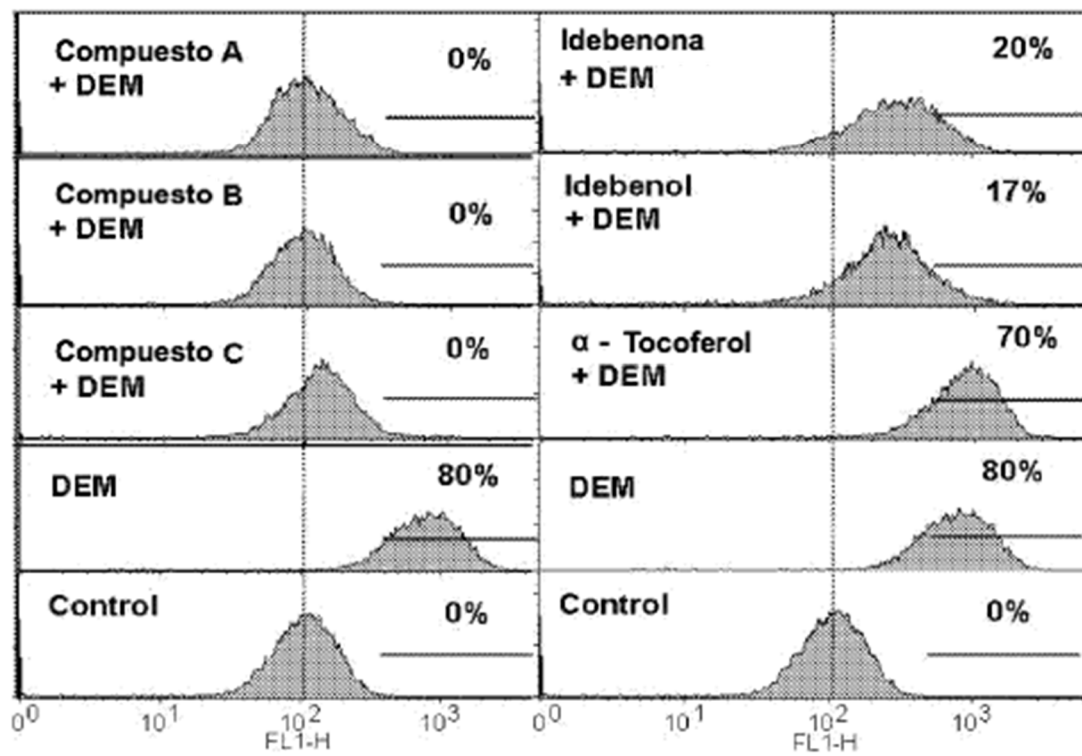


FIGURA 3

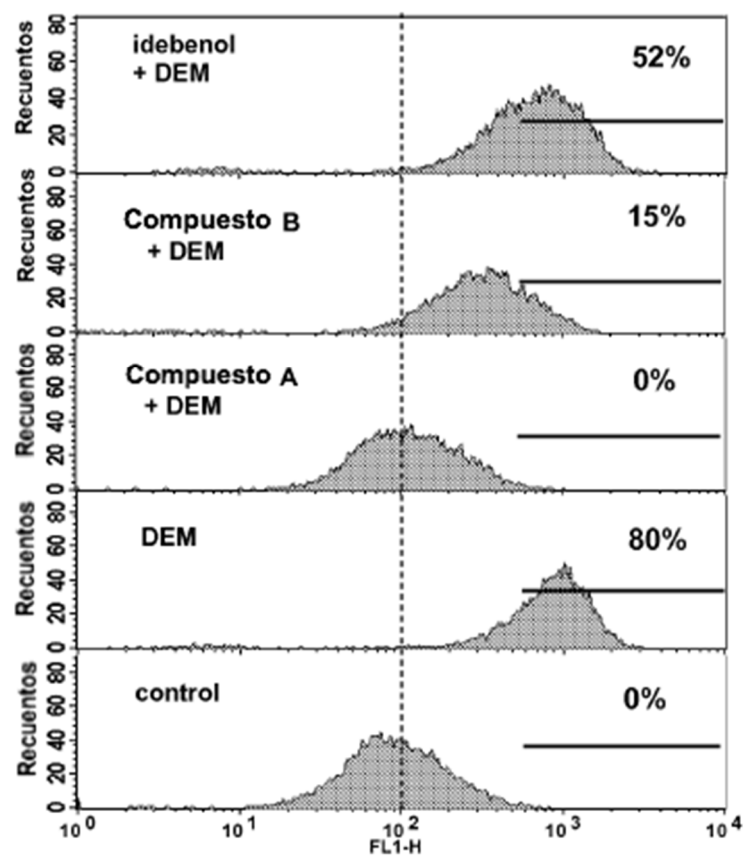


FIGURA 4

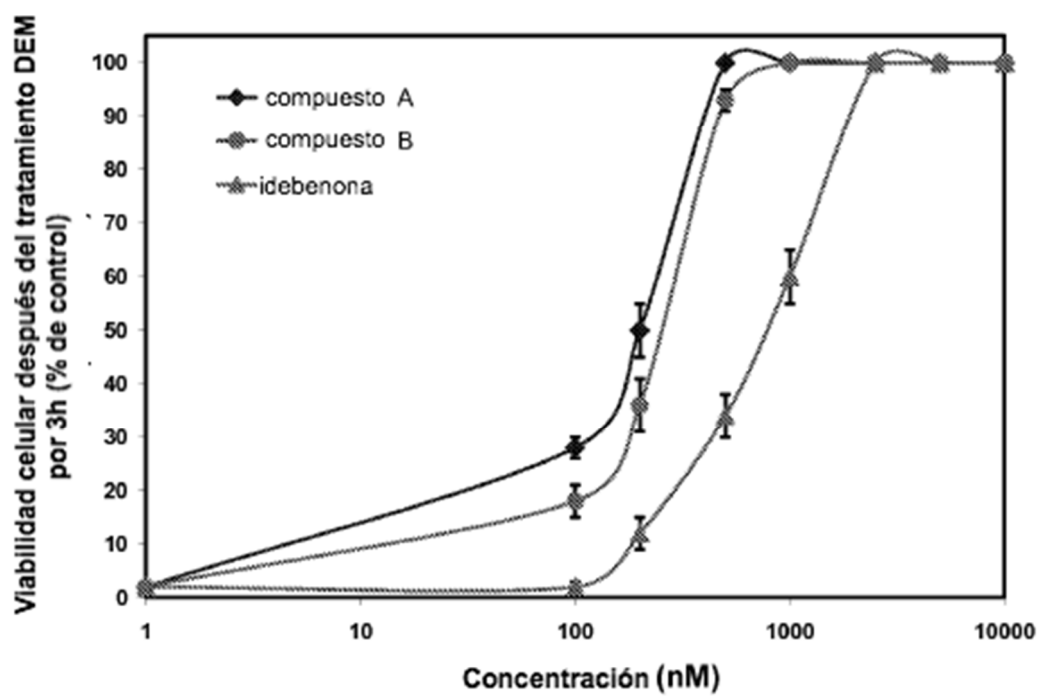


FIGURA 5

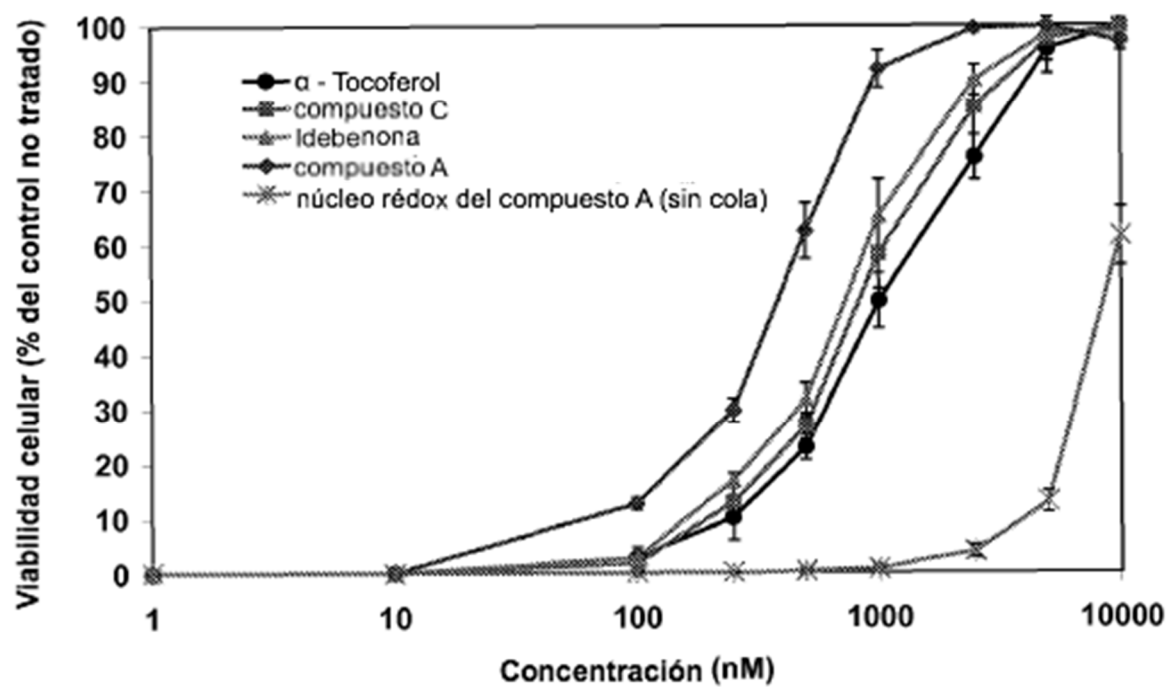


FIGURA 6

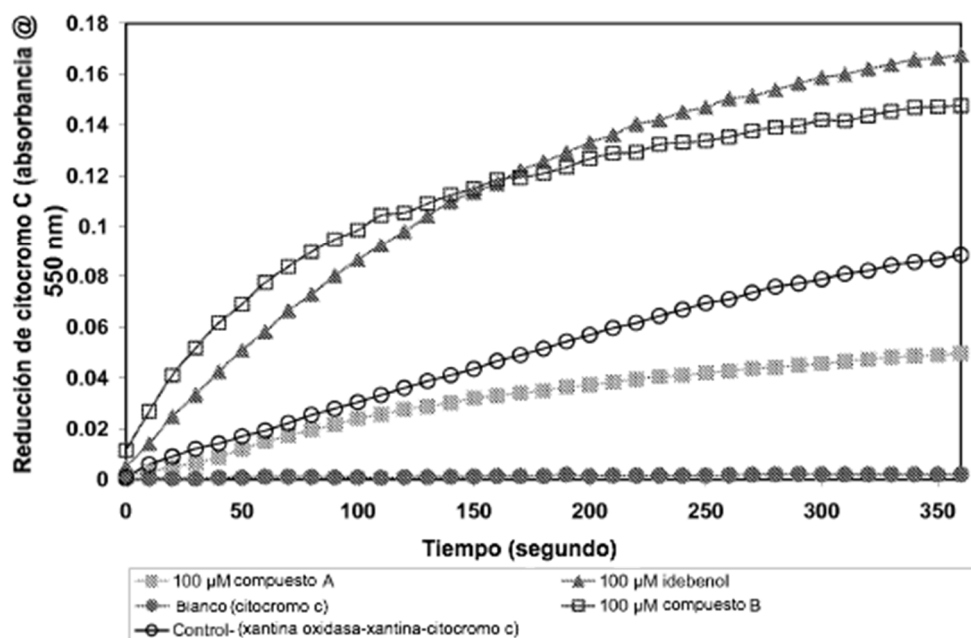


FIGURA 7 A

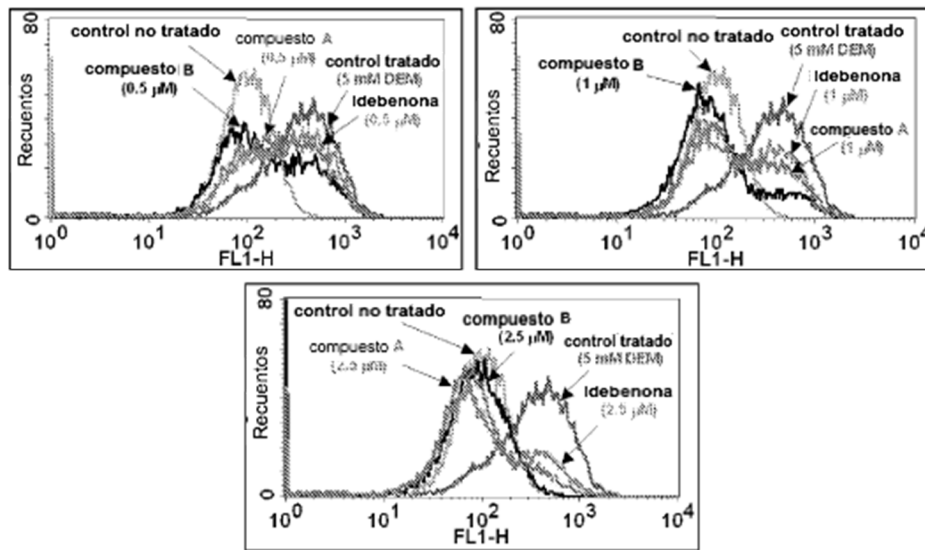


FIGURA 7 B

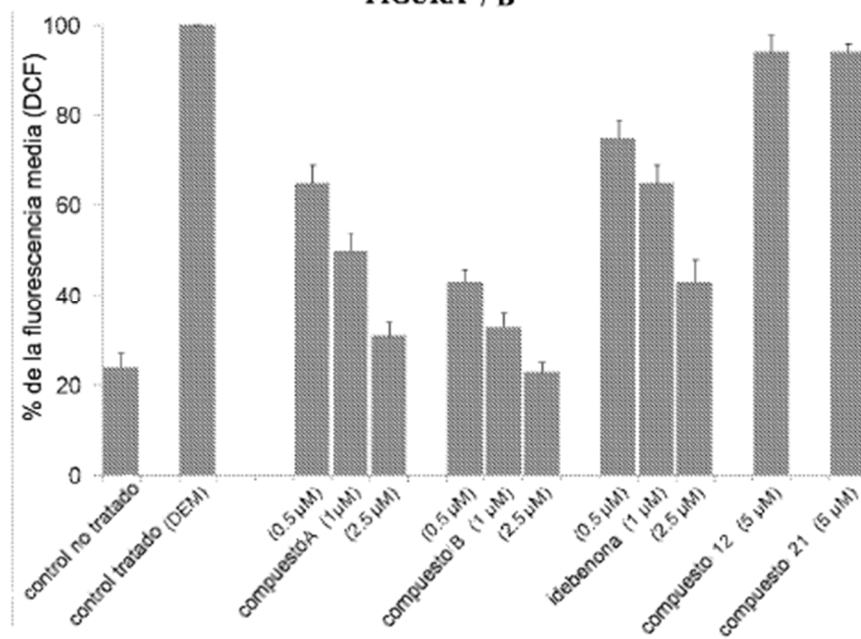


FIGURA 8

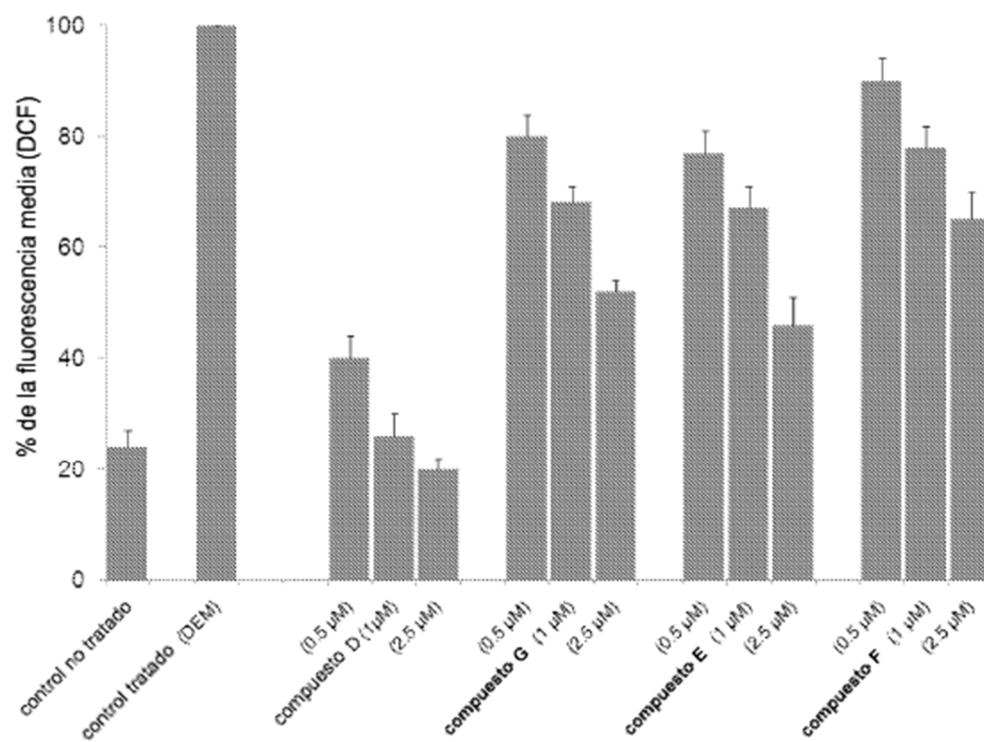


FIGURA 9

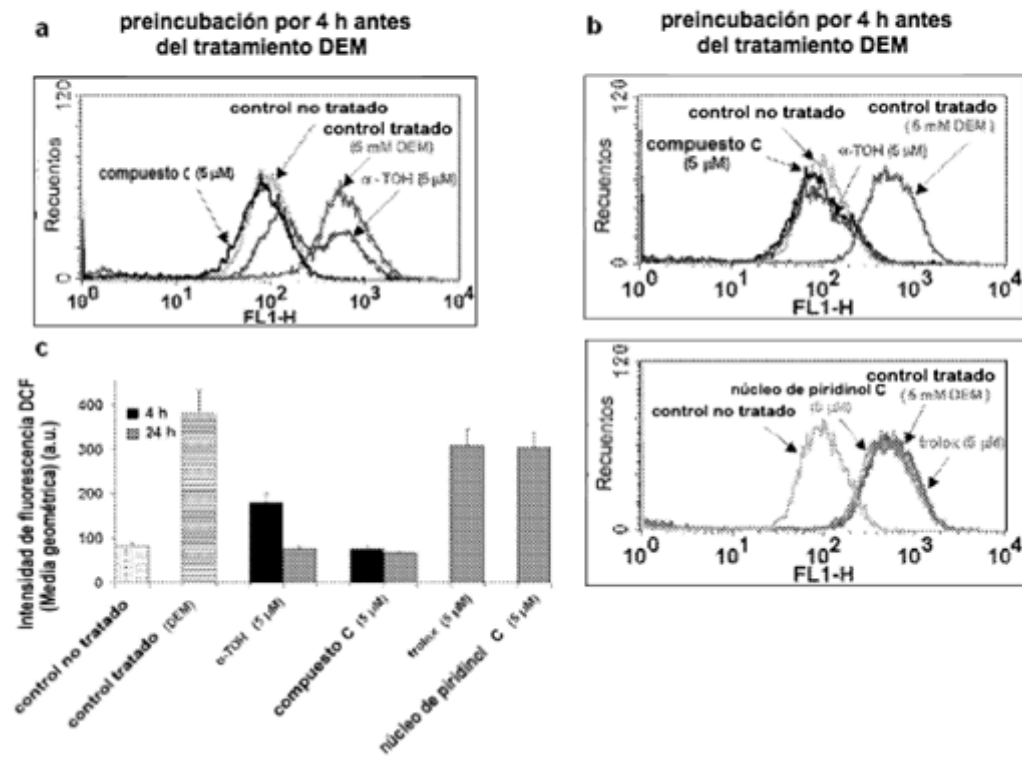


FIGURA 10

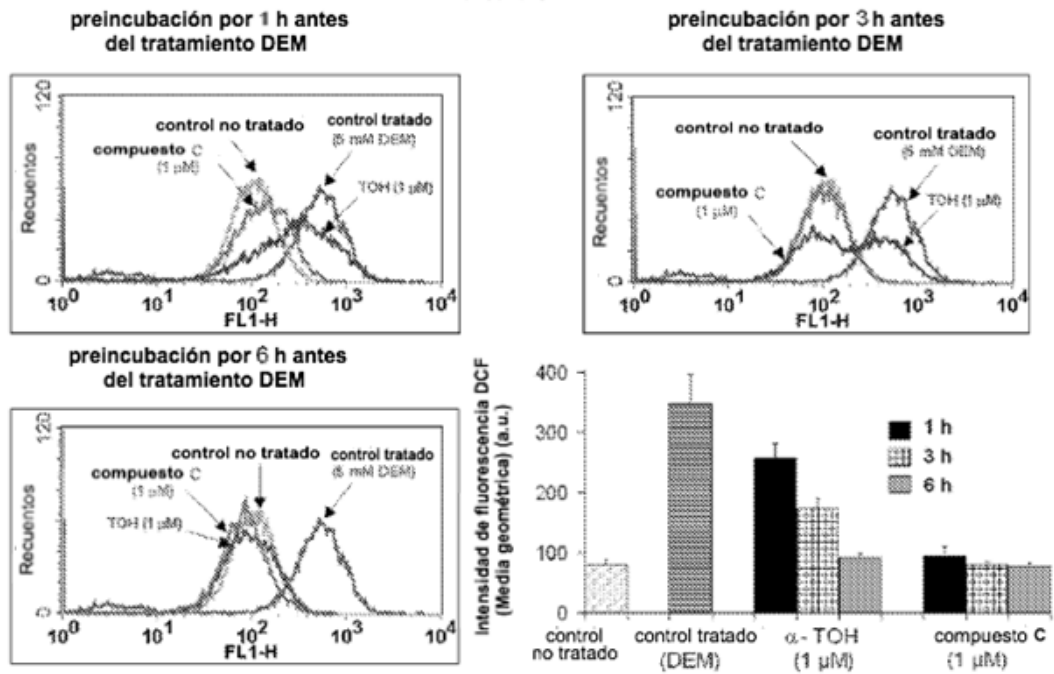


FIGURA 11

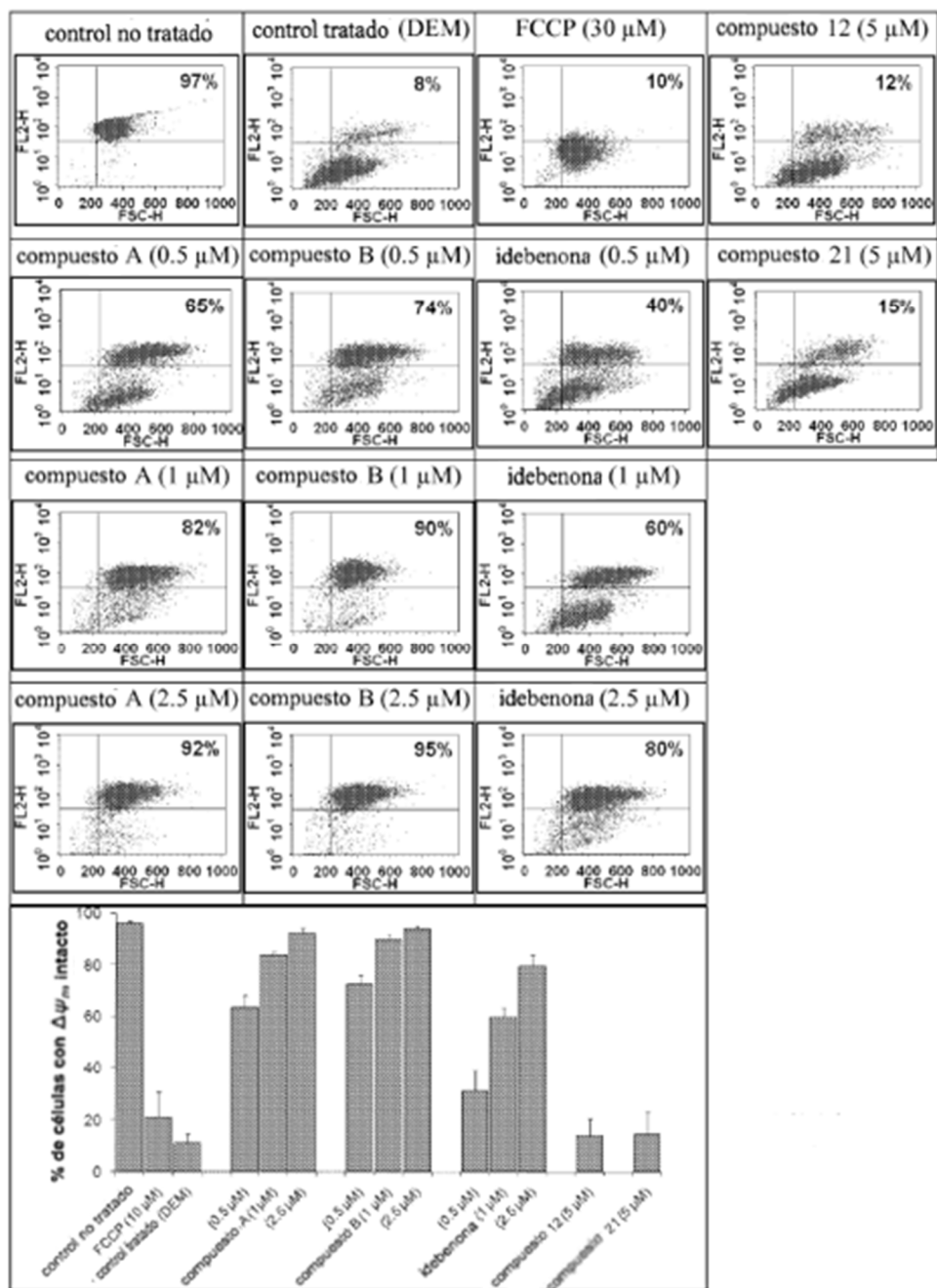


FIGURA 12

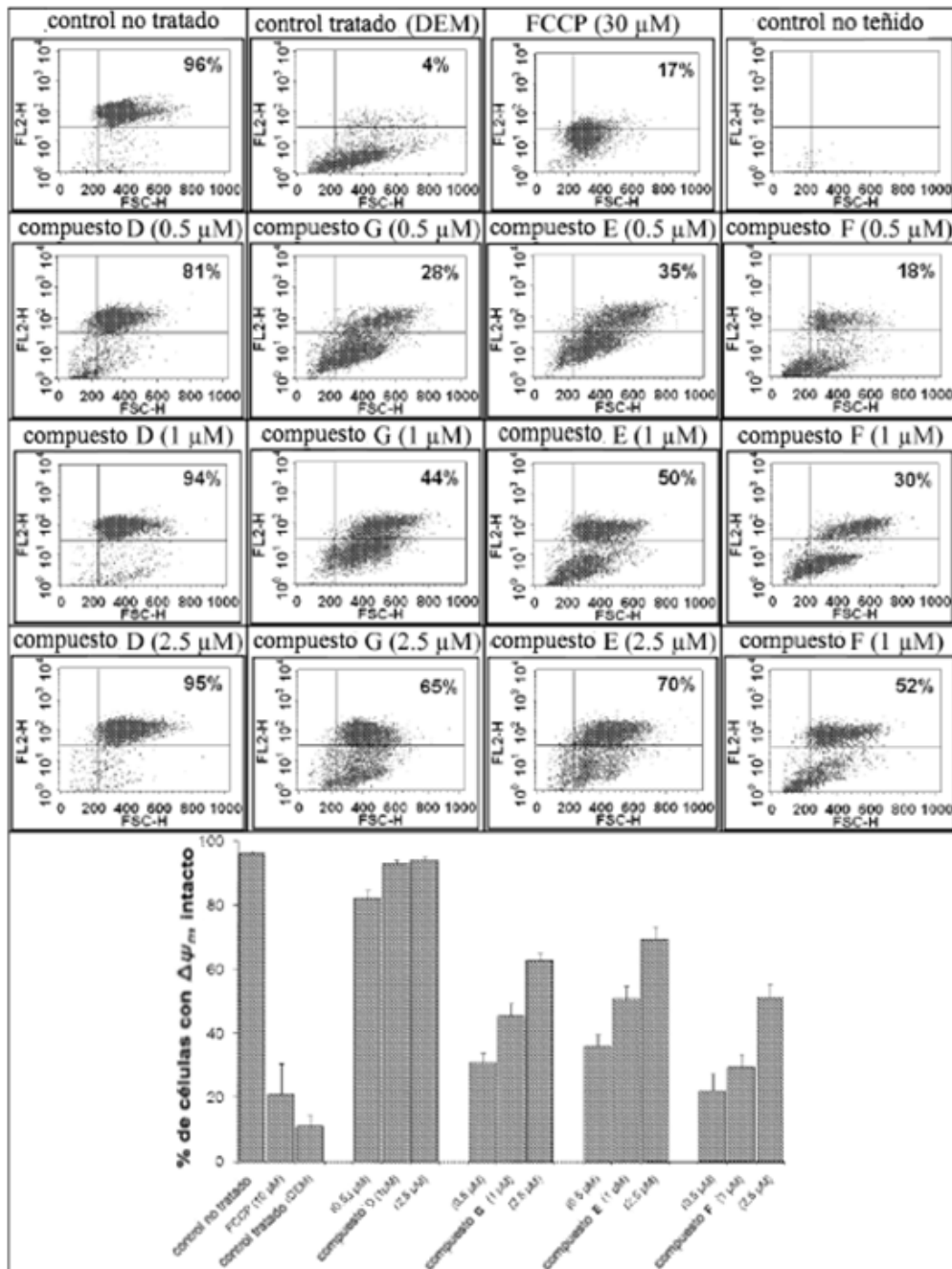


FIGURA 13 A

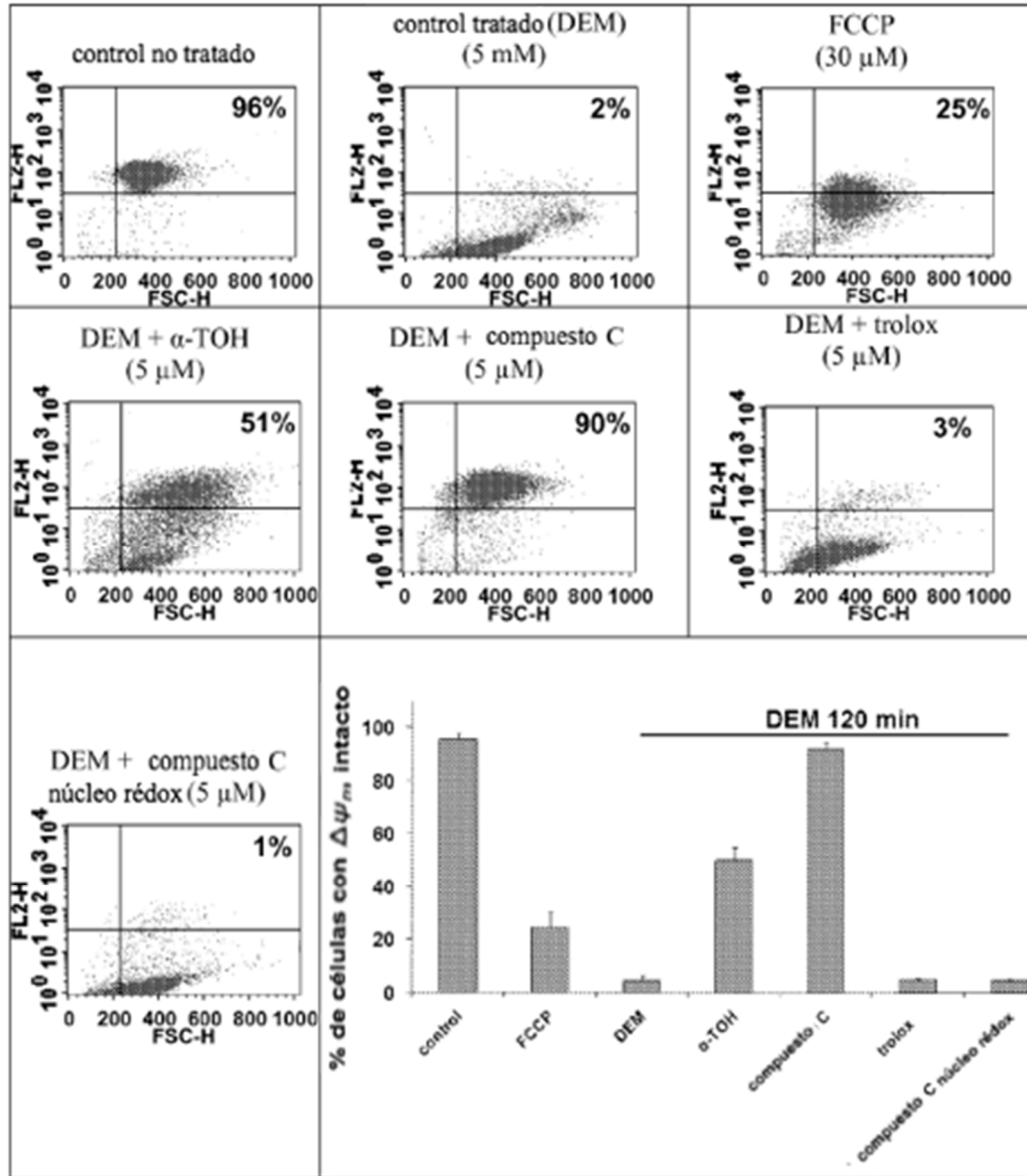


FIGURA 13 B

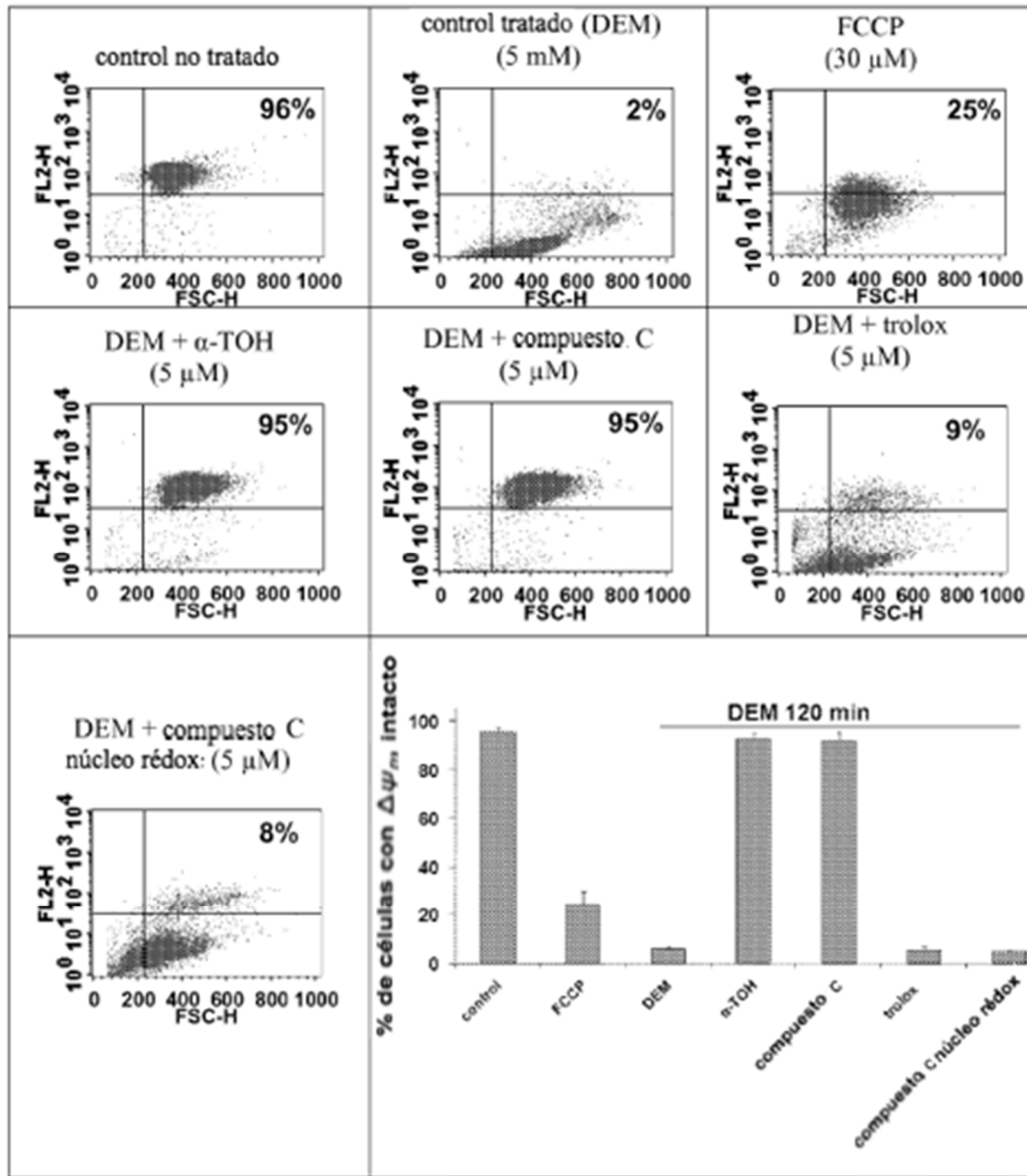


FIGURA 13 C

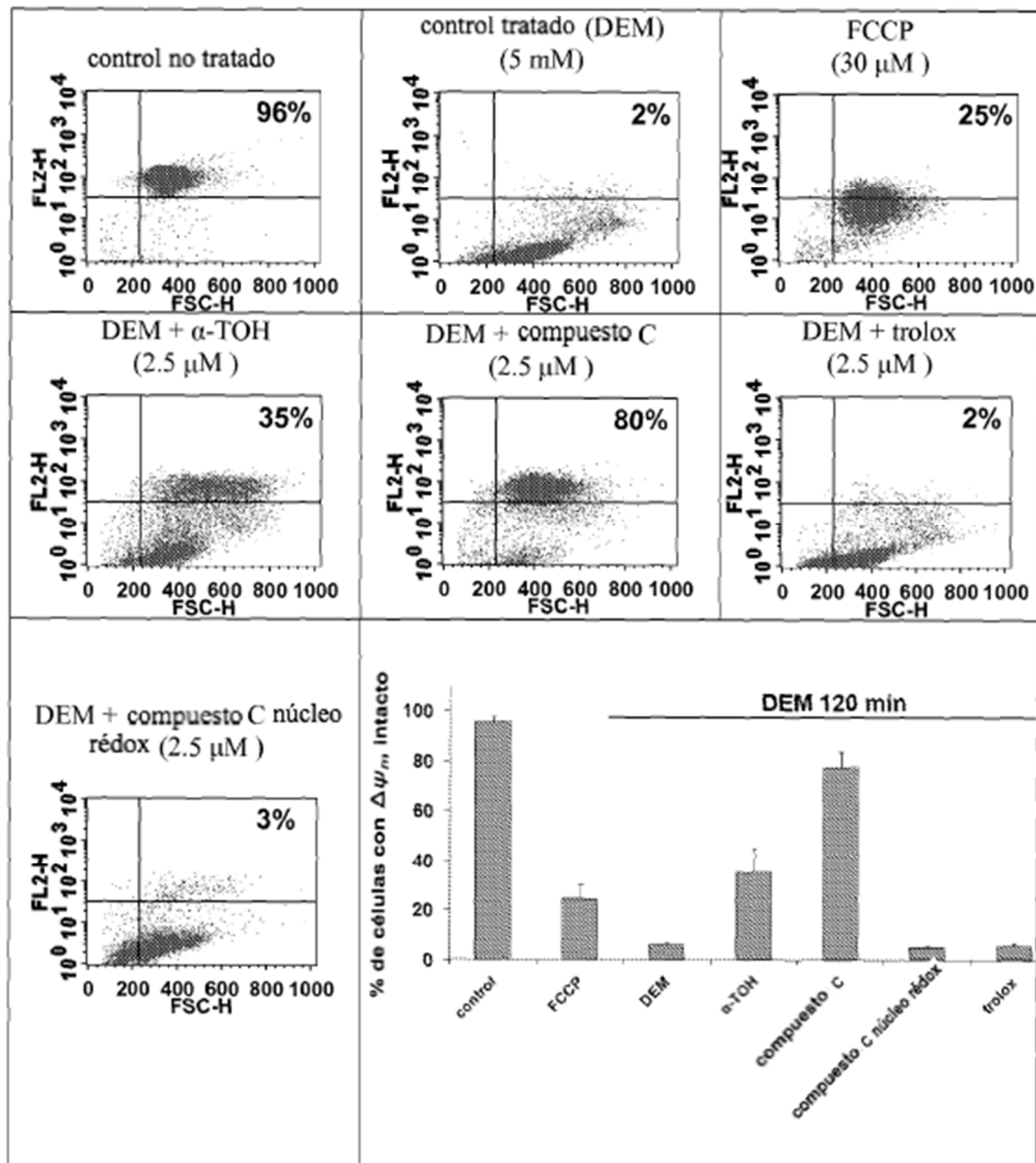


FIGURA13 D

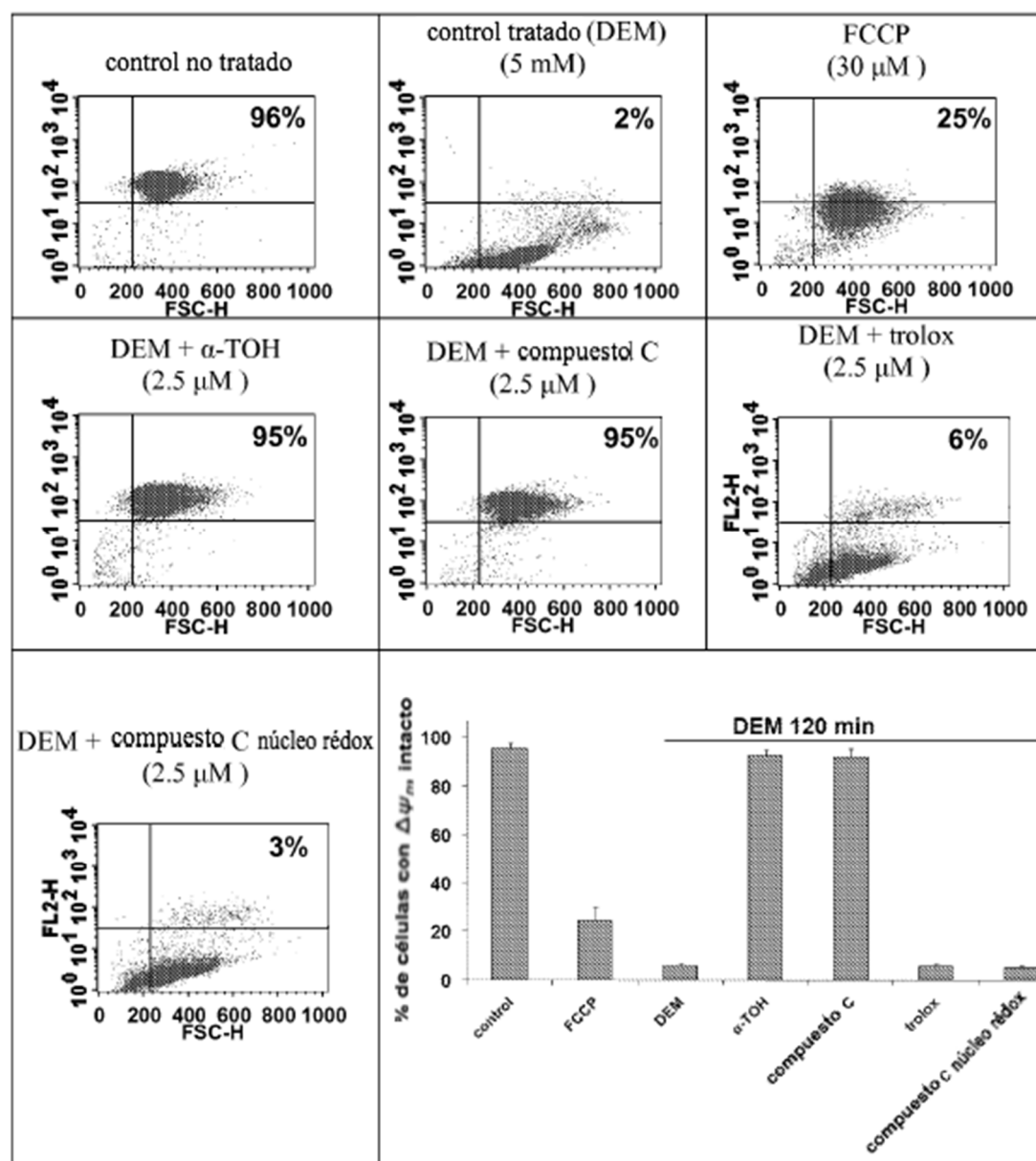


FIGURA 13 E

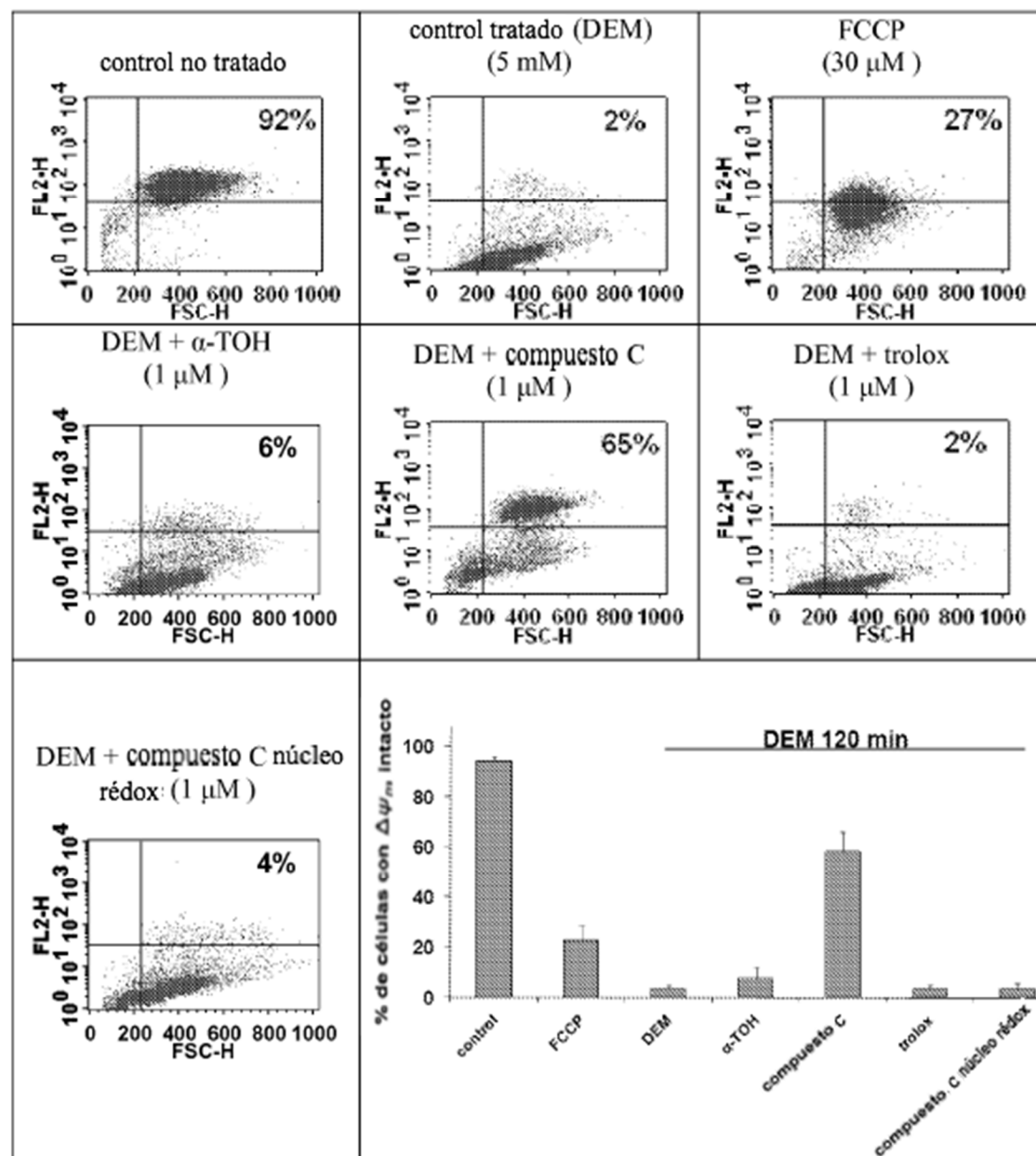


FIGURA 13 F

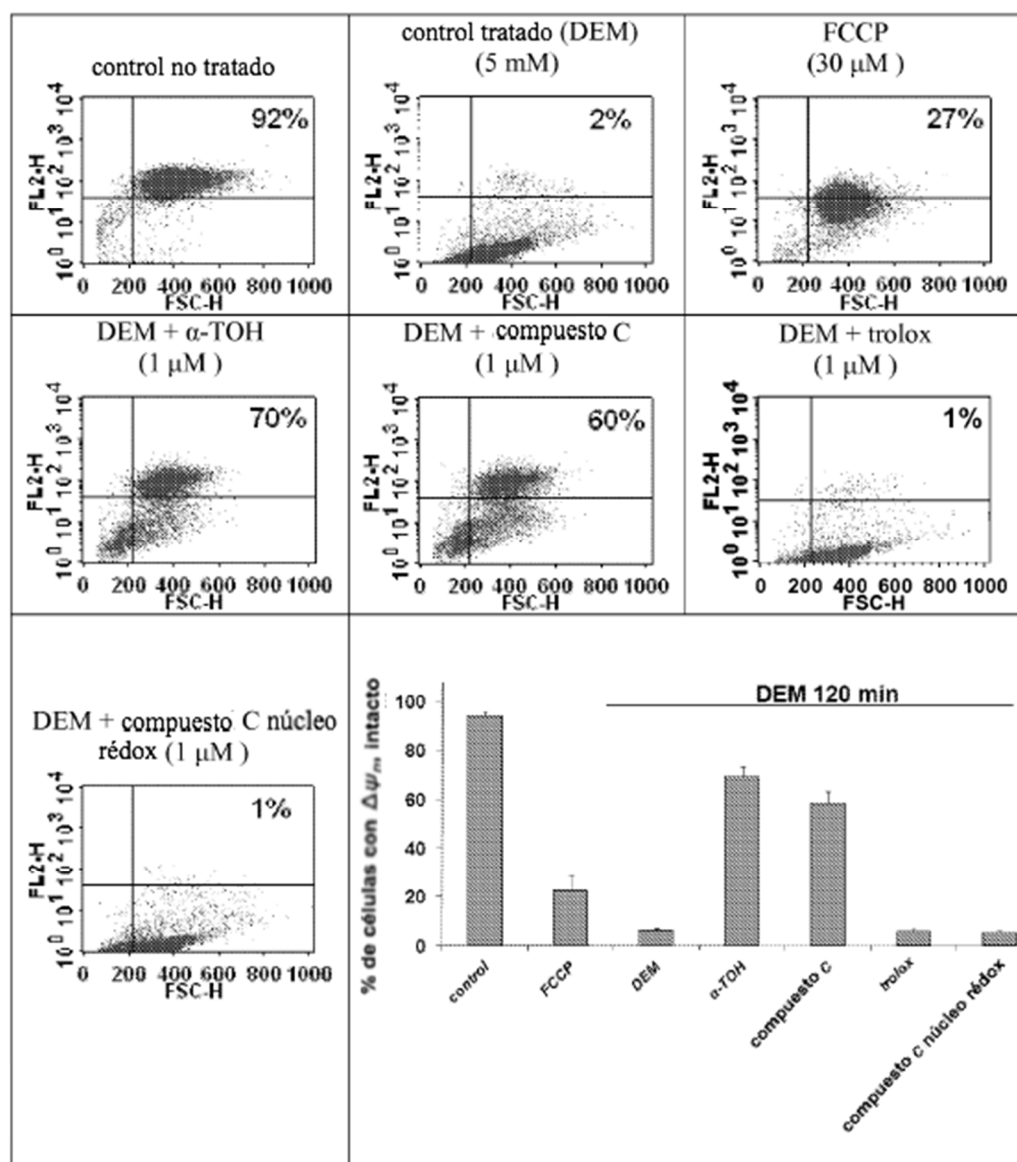


FIGURA 14

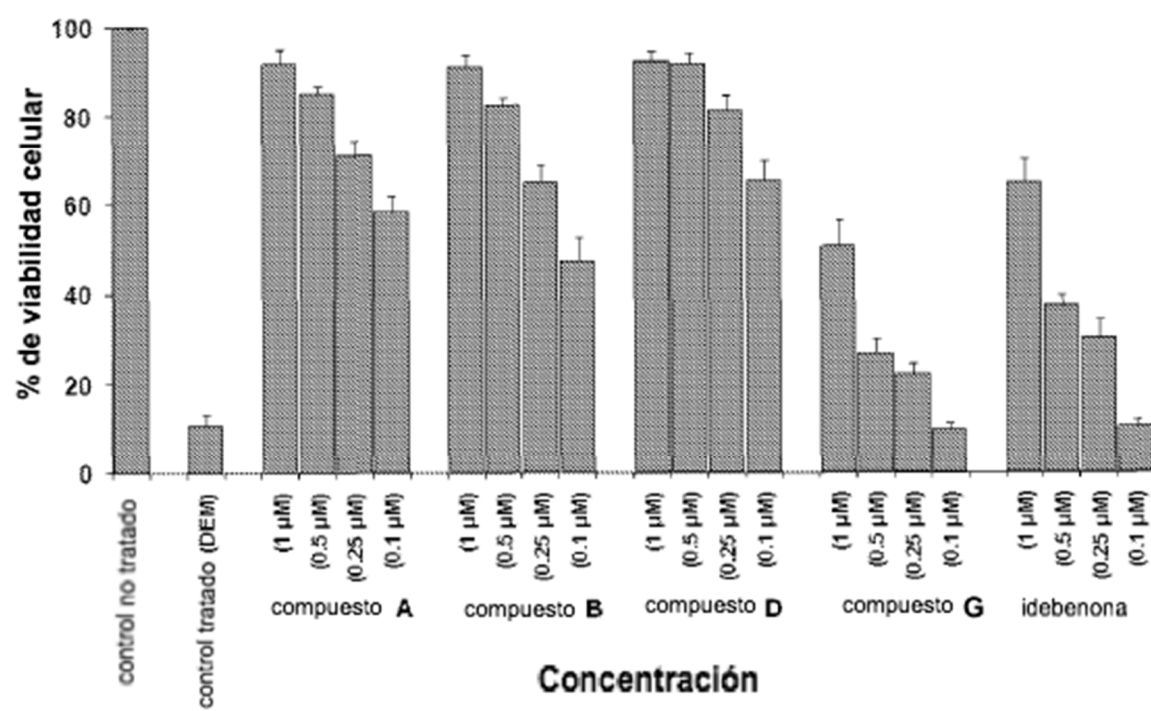


FIGURA 15

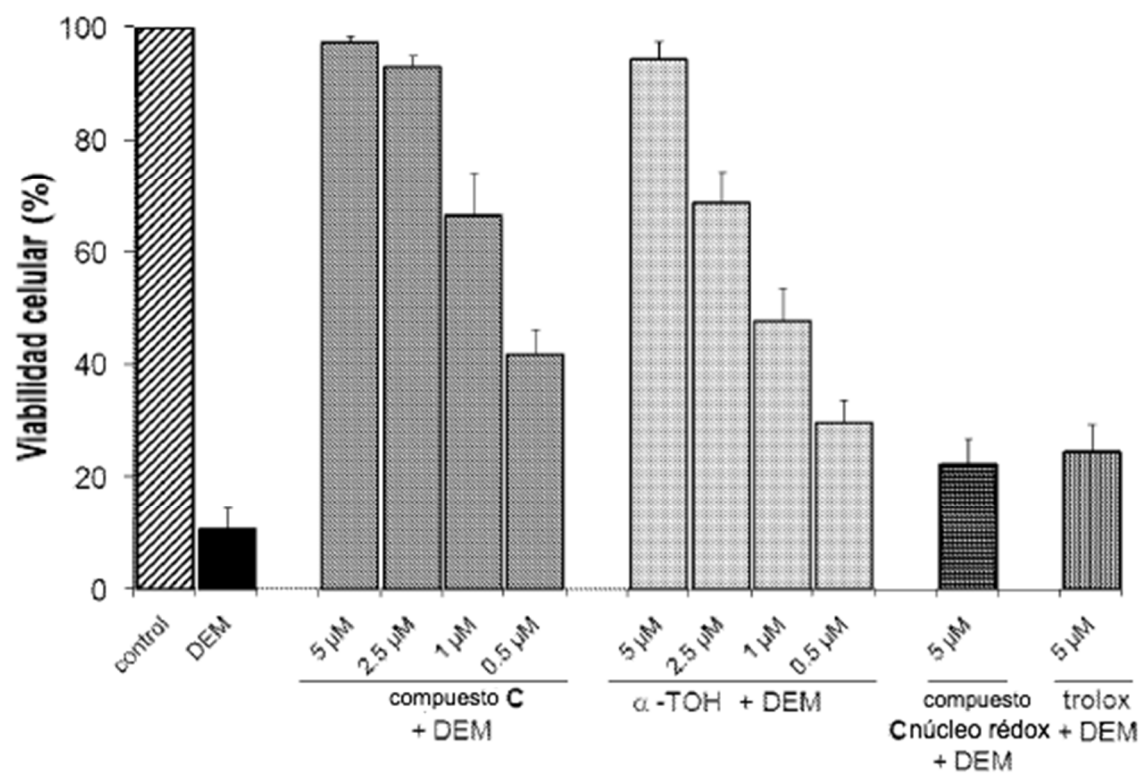


FIGURA 16

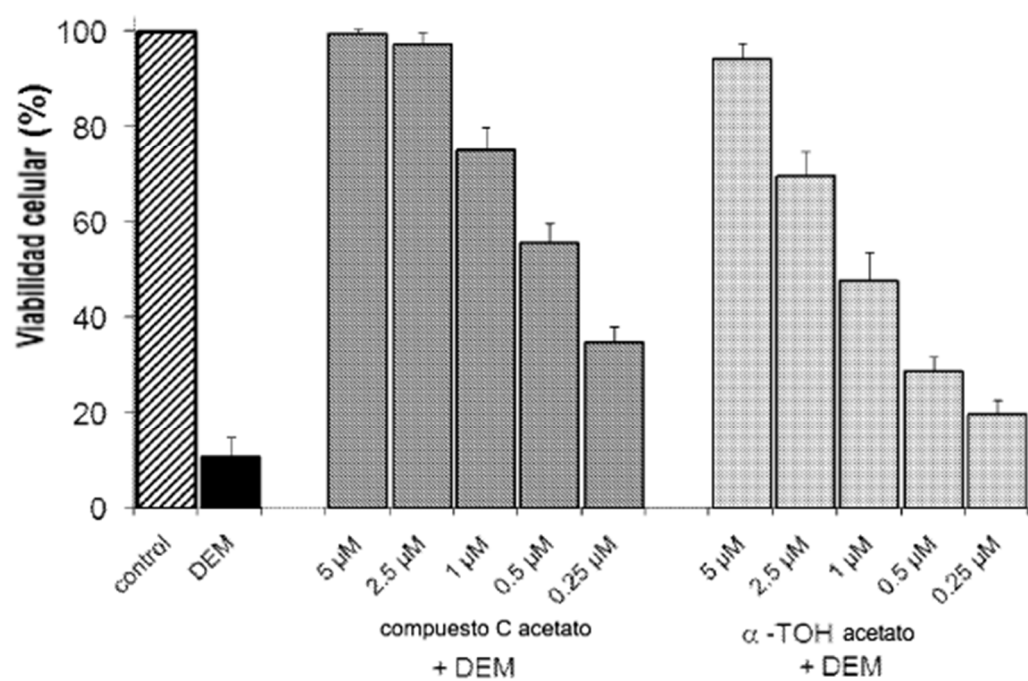


FIGURA 17

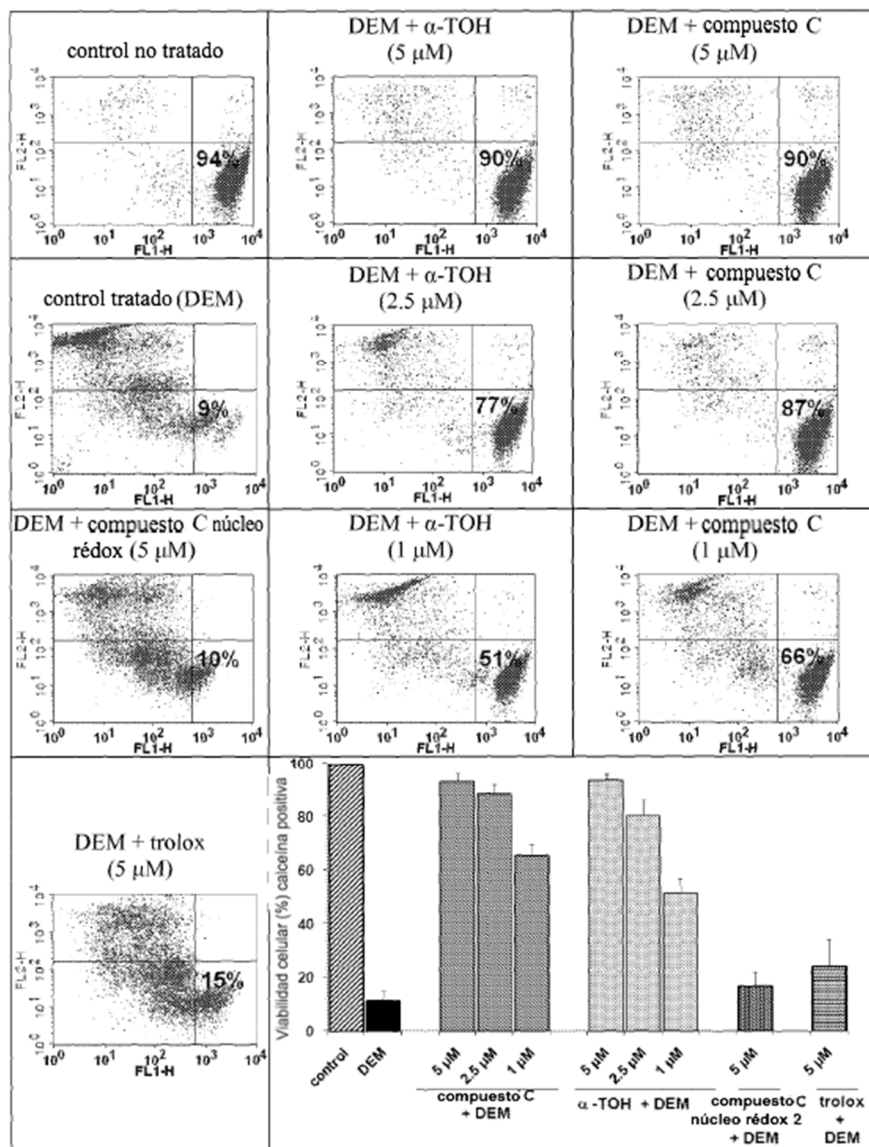


FIGURA 18 A

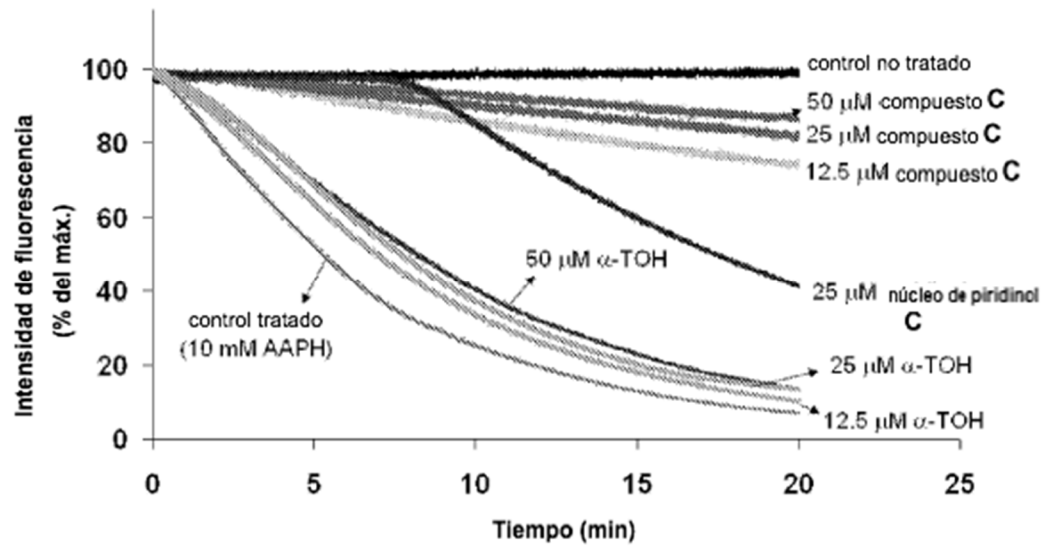


FIGURA 18 B

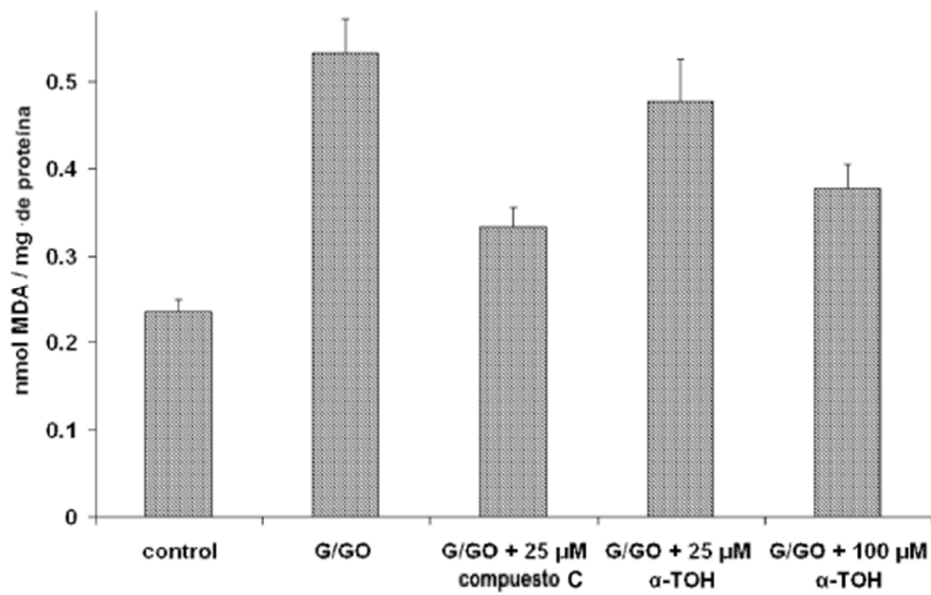


FIGURA 18 C

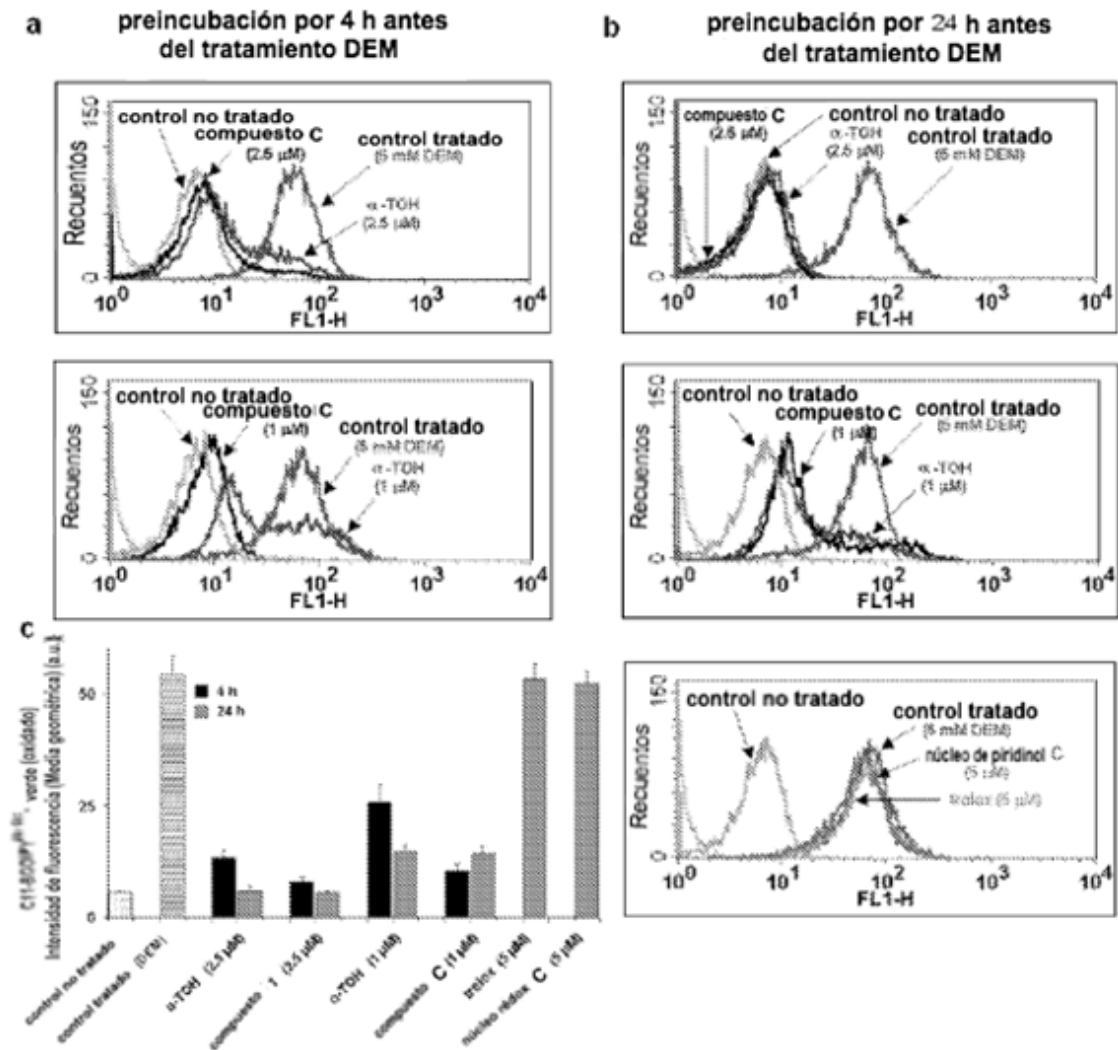


FIGURA 19

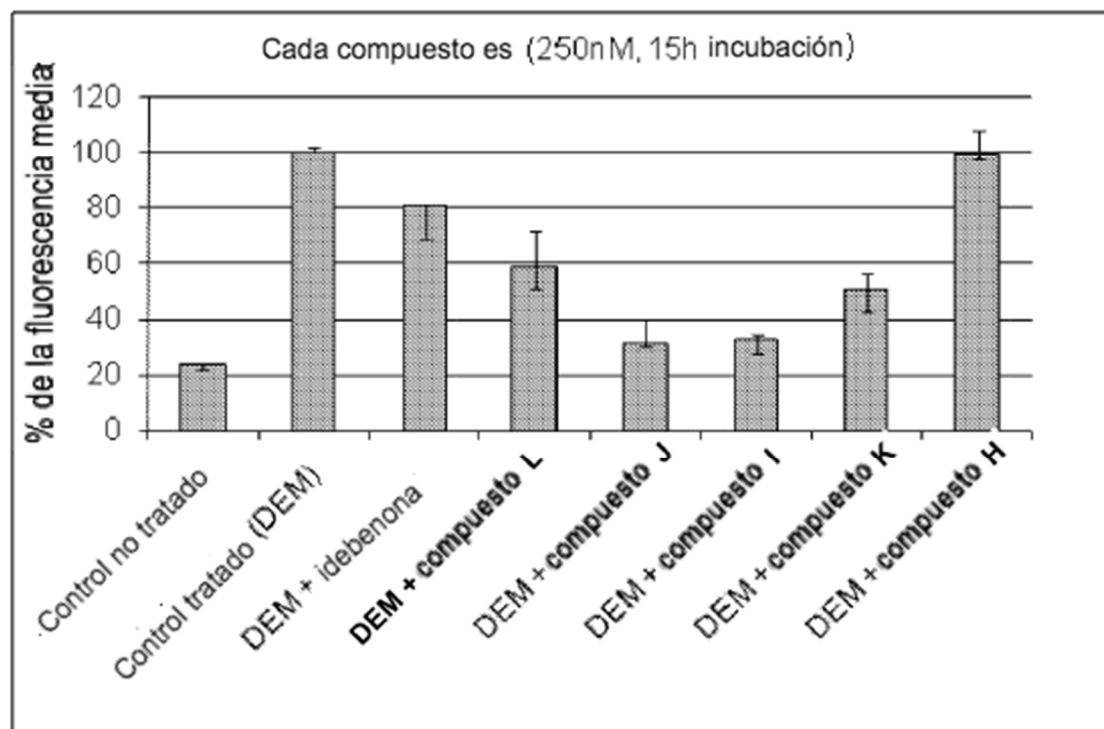


FIGURA 20

