

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 806 276**

51 Int. Cl.:

C07D 239/16 (2006.01)
C07D 239/14 (2006.01)
C07D 239/02 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
C07D 233/28 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.12.2016** **PCT/US2016/069511**
87 Fecha y número de publicación internacional: **06.07.2017** **WO17117538**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.12.2016** **E 16829387 (6)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **15.04.2020** **EP 3294716**

54 Título: **Derivados de ácido aminobenzoico meta-azacíclicos como antagonistas pan-integrina**

30 Prioridad:

30.12.2015 US 201562273246 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.02.2021

73 Titular/es:

SAINT LOUIS UNIVERSITY (100.0%)
221 North Grand Boulevard
St. Louis, MO 63103

72 Inventor/es:

RUMINSKI, PETER, G. y
GRIGGS, DAVID, W.

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 806 276 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de ácido aminobenzoico meta-azacíclicos como antagonistas pan-integrina

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

10 La presente divulgación se refiere a los campos de productos farmacéuticos, medicina, y biología celular. Más específicamente, se refiere a agentes (compuestos) farmacéuticos que son útiles como antagonistas de receptor de integrina, con actividad biológica como antagonistas de una o más integrinas que median los procesos patológicos de angiogénesis y fibrosis. Como tal, estos compuestos que pueden usarse son útiles en composiciones farmacéuticas y en métodos para tratar enfermedades y trastornos, incluyendo afecciones mediadas por una o más de tales integrinas.

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

Las integrinas son una familia de proteínas integrales de membrana citoplasmática que median las interacciones celulares con otras células y con la matriz extracelular. Aproximadamente un tercio de los miembros de la familia de integrinas se unen directamente a un motivo de aminoácido específico, arginina-glicina-aspartato (RGD), que está contenido en la secuencia de sus ligandos de proteínas afines. Se ha establecido en la técnica que los péptidos que contienen la secuencia RGD y los compuestos sintéticos de molécula pequeña que imitan la secuencia RGD, son capaces de unirse a estos receptores de integrina con diversos grados de especificidad y, por tanto, inhiben la unión a ligandos fisiológicos normales (Millard, 2011; Sun *et al.*, 2014). Los efectos biológicos del tratamiento con tales agentes dependen de propiedades moleculares intrínsecas, reflejadas en la estructura, que determinan en qué grado una integrina particular, o combinación de integrinas, se inhibe en un tejido corporal durante un período de tiempo.

Muchas enfermedades humanas se caracterizan por uno o ambos mecanismos patológicos contribuyentes comunes: angiogénesis y fibrosis. Los diferentes subconjuntos de integrinas de unión a RGD tienen papeles predominantes en la conducción de estos procesos duales, de modo que el antagonismo simultáneo de la angiogénesis y la fibrosis requiera agentes capaces de unirse potentemente a varias integrinas diana. Esto contrasta con los agentes diseñados específicamente para unirse a una única integrina que pueden ser menos eficaces en algunas aplicaciones debido a su mecanismo de acción más restringido.

Integrinas que han demostrado tener un papel en la promoción de la angiogénesis incluyen $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$ y $\alpha 5\beta 1$. $\alpha v\beta 3$ y $\alpha v\beta 5$ se describieron inicialmente como mediadores de angiogénesis inducida por bFGF y VEGF, respectivamente, en modelos corneales o corioralantoicos. Datos posteriores de estudios con ratones que carecen de estas integrinas también respaldan un papel funcional importante para $\alpha 5\beta 1$. La integrina $\alpha 5\beta 1$ (también conocida como VLA-5) a menudo se conoce como "receptor de fibronectina clásico" que refleja su interacción bien caracterizada con esta proteína de matriz extracelular. Las células que expresan $\alpha 5\beta 1$ se unen a fibronectina en una región que incorpora las repeticiones novena y décima de fibronectina tipo III, la última de las cuales contiene el motivo RGD crítico para la unión de integrina. Además de fibronectina, se ha informado que $\alpha 5\beta 1$ interactúa con otras proteínas de la matriz extracelular que contienen RGD, incluido fibrinógeno, colágeno desnaturalizado y fibrilina-1 (Bax *et al.*, 2003; Perdih, 2010; Suehiro *et al.*, 2000). Estos ligandos son componentes de la matriz provisional que establecen las células como parte de la respuesta de curación de heridas en tejidos. Los componentes clave de esta respuesta son angiogénesis (formación de nuevos vasos sanguíneos) y fibrosis (formación de cicatrices) que son beneficiosas para la curación de lesiones agudas, pero puede ser perjudiciales en muchos contextos de enfermedad.

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

Debido a que la expresión de $\alpha 5\beta 1$ no se limita al endotelio, tiene otros roles funcionales además de la angiogénesis. Se expresa en diversos grados en muchos tipos de células, incluidos fibroblastos, células hematopoyéticas e inmunes, células de músculo liso, células epiteliales y células tumorales. La expresión en células tumorales se ha implicado en progresión de crecimiento tumoral y metástasis. (Adachi *et al.*, 2000; Blase *et al.*, 1995; Danen *et al.*, 1994; Edward, 1995). En fibroblastos humanos, $\alpha 5\beta 1$ estimula motilidad y supervivencia (Lobert *et al.*, 2010). En células estrelladas pancreáticas, interactúa con el factor de crecimiento del tejido conectivo para estimular adhesión, migración y fibrogénesis (Gao y Brigstock, 2006). Se ha demostrado que el antagonismo farmacológico de $\alpha 5\beta 1$ inhibe la migración

de unión y la proliferación de células epiteliales retinianas humanas *in vitro*, y reduce la proliferación y cicatrización de células de la retina cuando se administra por vía intravítrea a conejos con desprendimiento de retina (Li *et al.*, 2009; Zahn *et al.*, 2010).

Además de $\alpha 5\beta 1$, otra integrina de unión a RGD de la familia beta-1 que se regula por aumento después de una lesión orgánica es $\alpha 8\beta 1$. Los estudios han demostrado que esta integrina es un marcador coexpresado de miofibroblastos tisulares, los principales mediadores celulares de fibrosis. (Levine *et al.*, 2000; Bouzeghrane *et al.*, 2004). La expresión ectópica de $\alpha 8\beta 1$ conferida a las células aumentó la propagación y la adhesión en TGF β latente, una importante citocina pro-fibrótica, de una manera que dependía de RGD (Lu *et al.*, 2002).

Las integrinas de unión a RGD de la familia alfa v se han implicado en la promoción de activación biológica de citocina pro-fibrótica latente TGF β . Esto está mediado por unión al péptido asociado a latencia (LAP), especialmente por $\alpha v\beta 6$ y $\alpha v\beta 8$, pero también por $\alpha v\beta 1$, $\alpha v\beta 3$ y $\alpha v\beta 5$. Además, las integrinas alfa v median la unión, la migración, proliferación y otras funciones en diversos tipos de células asociadas al proceso de reparación de heridas. Esta redundancia funcional, expresión celular diferencial, y fenotipos de fibrosis conocidos de ratones knockout de integrina, todos sugieren que un antagonista altamente potente de todo este subconjunto puede ser particularmente útil para desarrollo terapéutico. Para lograr la activación de TGF β , estas integrinas son todas críticamente dependientes de la secuencia de aminoácidos arg-gly-asg (RGD) contenida en LAP. De hecho, los ratones que contienen una mutación en la secuencia RGD de LAP son incapaces de activación de TGF β y recapitulan el fenotipo de ratones sin TGF β . La ablación genética de la expresión de integrinas alfa v específicamente de miofibroblastos en ratones confirió protección contra el desarrollo de fibrosis en varios modelos de lesión orgánica, y esta eficacia se proporcionó de manera similar mediante el tratamiento de infusión continua con un antagonista de integrina de molécula pequeña de integrinas de unión a RGD conocidas como CWHM-12 (Henderson *et al.*, 2013). Dichos estudios apoyan el concepto de que la inhibición simultánea de múltiples integrinas puede tener una utilidad particular para prevenir o tratar varias afecciones fibróticas.

El documento US 2005/020505 se publicó el 27 de enero de 2005 y desvela isómeros R de los compuestos de aminoácidos beta, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, composiciones farmacéuticas que presentaron dichos compuestos, y métodos para inhibir o antagonizar selectivamente las integrinas $\alpha v\beta 3$ y/o $\alpha v\beta 5$ sin inhibir significativamente la integrina $\alpha v\beta 6$.

El documento WO 2014/015054 se publicó el 23 de enero de 2014 y desvela nuevos agentes farmacéuticos que son útiles como antagonistas del receptor de integrina que median los procesos patológicos de angiogénesis y fibrosis y, como tales, son útiles en composiciones farmacéuticas y métodos para tratar afecciones mediadas por estas integrinas inhibiendo o antagonizando estas integrinas.

El documento US 2014/051715 se publicó el 20 de febrero de 2014 y desvela nuevos agentes farmacéuticos que son útiles como antagonistas del receptor de integrina que median los procesos patológicos de angiogénesis y fibrosis y, como tales, son útiles en composiciones farmacéuticas y métodos para tratar afecciones mediadas por estas integrinas inhibiendo o antagonizando estas integrinas.

Nagarajan *et al.*, Bio. Org. Med. Chem., 2007, 15(11), 3783-3800 desvela compuestos de tri-péptido Arg-Gly-Asp (RGD) que imitan isómeros R de β -aminoácidos que son útiles como potentes inhibidores de $\alpha v\beta 3$.

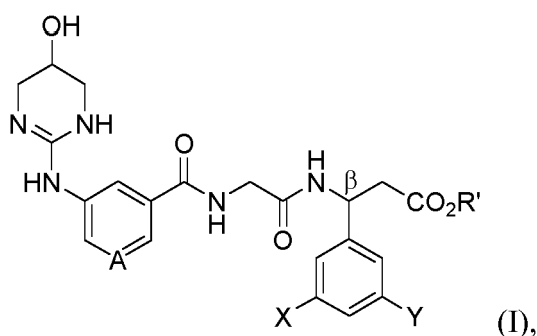
Los compuestos antagonistas del receptor de múltiples integrinas previamente descritos en la técnica generalmente carecen de potencia demostrada de amplio espectro contra todas las integrinas RGD descritas anteriormente, o las propiedades farmacocinéticas adecuadas para la actividad sostenida con la dosificación oral, o ambas. La larga vida media plasmática a concentraciones terapéuticamente significativas después de administración oral es una propiedad altamente deseable para el desarrollo de formulaciones de fármacos para tratamientos clínicos, permitiendo una administración conveniente generalmente sin necesidad de supervisión médica.

Sumario

La invención es tal como se define en las reivindicaciones.

La presente divulgación proporciona nuevos antagonistas del receptor de integrina, composiciones farmacéuticas de los mismos, métodos de fabricación de los mismos, y métodos para su uso.

La presente divulgación proporciona compuestos de fórmula:



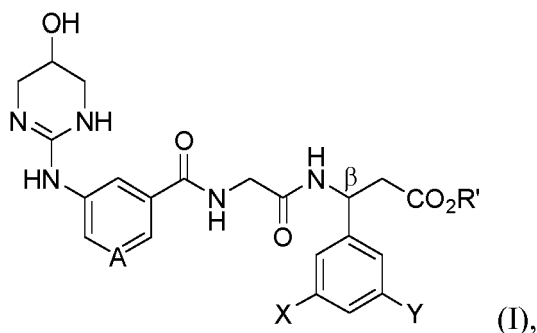
en donde:

- 5 A es C-H, C-OH, o N;
 R' es hidrógeno, alquilo_(C≤8), alquilo_(C≤8) sustituido, o un sustituyente convertible *in vivo* en hidrógeno; y
 X e Y son cada uno independientemente ciano, halo, fluoroalcoxi_(C1-2), alquilo_(C1-2), o fluoroalquilo_(C1-2), con la
 condición de que
 X e Y no sean ambos ciano o alquilo_(C1-2);

10

o una sal farmacéuticamente aceptable o tautómero de la fórmula anterior.

En algunos ejemplos, el compuesto se define adicionalmente como:



15

en donde:

- 20 A es C-OH o N;
 R' es hidrógeno, alquilo_(C≤8), alquilo_(C≤8) sustituido, o un sustituyente convertible *in vivo* en hidrógeno; y
 X e Y son cada uno independientemente ciano, halo, fluoroalcoxi_(C1-2), alquilo_(C1-2), o fluoroalquilo_(C1-2), con la
 condición de que
 X e Y no sean ambos ciano o alquilo_(C1-2)

25

o una sal farmacéuticamente aceptable o tautómero de la fórmula anterior.

En algunas realizaciones, A es N. En otras realizaciones, A es C-OH. En algunas realizaciones, R' es hidrógeno.

30

En algunas realizaciones, X es halo tal como -F, -Cl, o -Br. En algunas realizaciones, X es -F. En otras realizaciones, X es -Cl. En otras realizaciones, X es -Br. En otros ejemplos, X es fluoroalcoxi_(C1-2). En algunas realizaciones, X es -OCF₃. En otros ejemplos, X es fluoroalquilo_(C1-2). En algunas realizaciones, X es -CHF₂. En otras realizaciones, X es -CF₃. En otros ejemplos, X es alquilo_(C1-2). En algunas realizaciones, X es -CH₃.

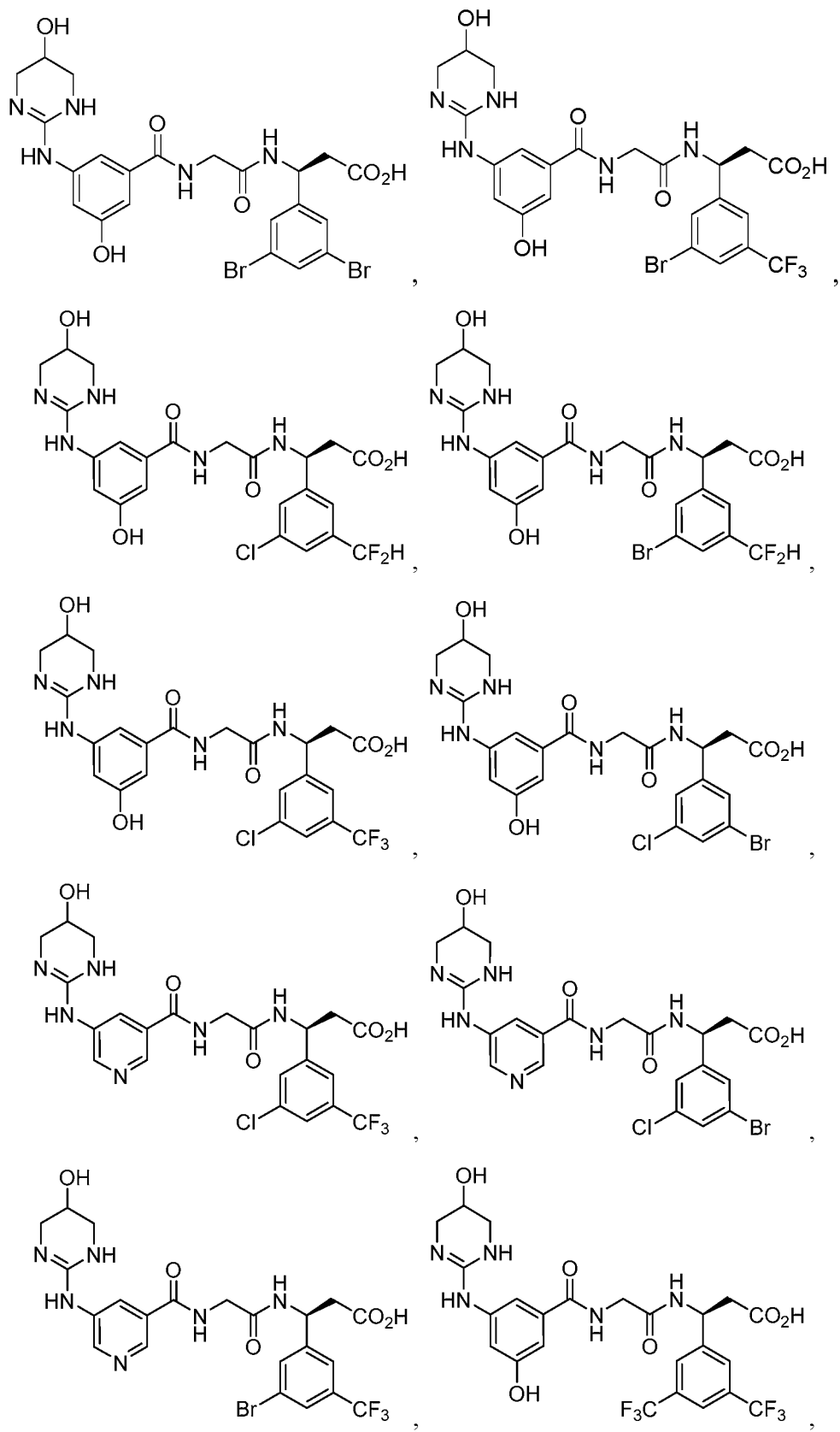
35

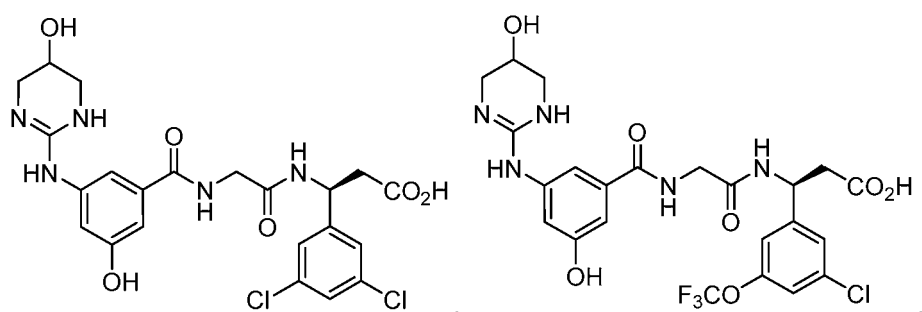
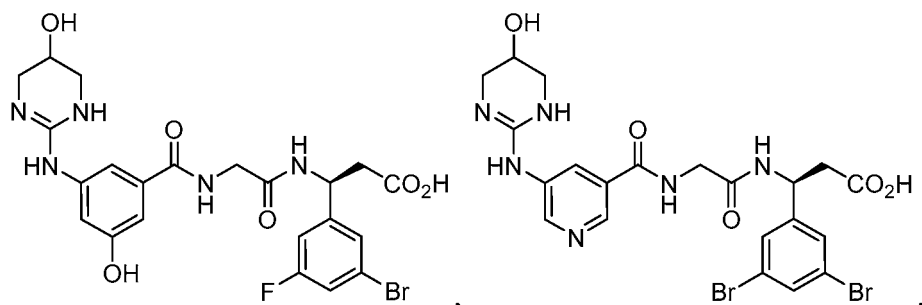
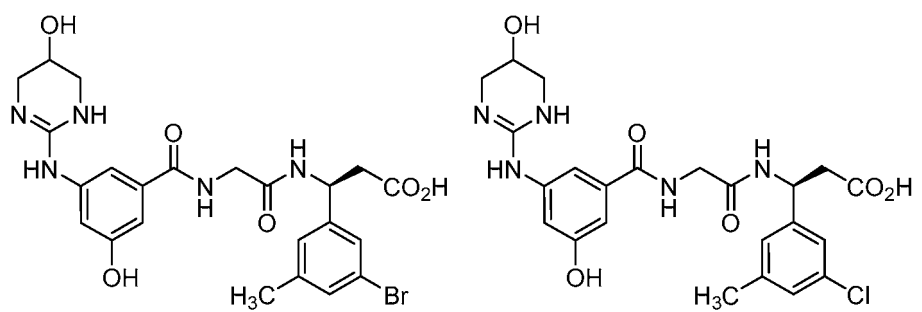
En algunas realizaciones, Y es halo tal como -F, -Cl, o -Br. En algunas realizaciones, Y es -F. En otras realizaciones, Y es -Cl. En otras realizaciones, Y es -Br. En otros ejemplos, Y es fluoroalcoxi_(C1-2). En algunas realizaciones, Y es como -OCF₃. En otros ejemplos, Y es fluoroalquilo_(C1-2). En algunas realizaciones, Y es -CHF₂. En otras realizaciones, Y es -CF₃. En otros ejemplos, Y es alquilo_(C1-2). En algunas realizaciones Y es -CH₃.

40

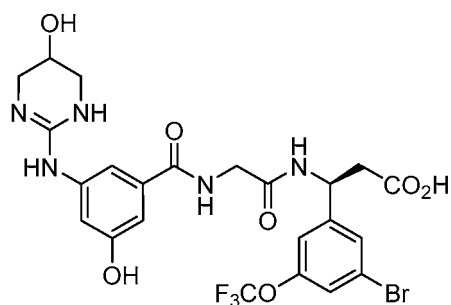
En algunas realizaciones, X e Y se seleccionan cada uno independientemente entre los grupos que consiste en -F, -Cl, -Br, -OCF₃, -CH₃, -CHF₂, y -CF₃, con la condición de que X e Y no sean ambos -CH₃.

En algunas realizaciones, el átomo de carbono marcado β está en la configuración S. En algunas realizaciones, los compuestos se definen además como:





5 o



o una sal farmacéuticamente aceptable o tautómero de cualquiera de las fórmulas anteriores.

10

En algunas realizaciones, los compuestos son eficaces para inhibir tres o más integrinas RGD seleccionadas entre el grupo que consiste en $\alpha 5 \beta 1$, $\alpha \nu \beta 1$, $\alpha 8 \beta 1$, $\alpha \nu \beta 3$, $\alpha \nu \beta 5$, $\alpha \nu \beta 6$, y $\alpha \nu \beta 8$, en donde la eficacia del compuesto corresponde a un valor CI_{50} de menos de 10 nM para cada una de las tres o más integrinas RGD medido usando un ensayo de receptor de fase sólida (SPRA) para la función de la integrina respectiva.

15

En algunas realizaciones, los compuestos poseen propiedades farmacocinéticas que permiten alcanzar concentraciones plasmáticas terapéuticamente significativas y/o sostenidas en un paciente durante dos o más horas después de administración oral. En algunas realizaciones, los compuestos tienen una vida media plasmática sostenida de al menos dos horas medida en una rata usando un bolo i.v. que comprende 1 mg de compuesto por kg de rata.

20

En otro aspecto más, la presente divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden:

- a) un compuesto descrito en este documento; y
- b) un excipiente.

En todavía otro aspecto más, la presente divulgación proporciona métodos para tratar y/o prevenir una enfermedad o un trastorno en un paciente que lo necesita, que comprende administrar al paciente un compuesto o composición descrito en este documento en una cantidad suficiente para tratar y/o prevenir la enfermedad o trastorno.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno se asocia a angiogénesis. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno se asocia a fibrosis. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno se asocia a fibrosis y/o angiogénesis.

En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno es pulmonar, hígado, renal, cardíaca, y fibrosis pancreática, esclerodermia, formación de cicatrices, retinopatía de prematuridad, vitreorretinopatía exudativa familiar, vitreorretinopatías proliferativas, degeneración macular, retinopatía diabética, cáncer, osteoporosis, enfermedades autoinmunes, hipercalcemia humoral de tumor maligno, enfermedad de Paget, enfermedad periodontal, psoriasis, artritis, reestenosis, e infección. En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno es fibrosis pulmonar. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es fibrosis hepática. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es fibrosis cardíaca. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es fibrosis renal. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es fibrosis pancreática.

En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es esclerodermia. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es cicatrización. En algunas realizaciones, la cicatrización es cicatrización dérmica. En otras realizaciones, la cicatrización es cicatrización retiniana. En otras realizaciones, la cicatrización es cicatrización corneal.

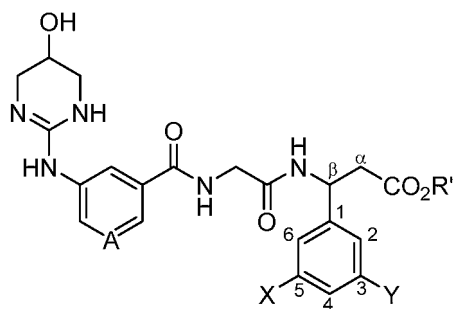
En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es retinopatía de prematuridad. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es vitreorretinopatía exudativa familiar. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es vitreorretinopatías proliferativas. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es degeneración macular. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es retinopatía diabética.

En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer incluye crecimiento de tumor sólido o neoplasia. En algunas realizaciones, el cáncer incluye metástasis tumoral. En algunas realizaciones, el cáncer es de vejiga, sangre, hueso, cerebro, mama, sistema nervioso central, cuello del útero, colon, endometrio, esófago, vesícula biliar, genitales, tracto genitourinario, cabeza, riñón, laringe, hígado, pulmón, tejido muscular, cuello, mucosa oral o nasal, ovario, páncreas, próstata, piel, bazo, intestino delgado, intestino grueso, estómago, testículo o tiroides. En algunas realizaciones, el cáncer es un carcinoma, sarcoma, linfoma, leucemia, melanoma, mesotelioma, mieloma múltiple o seminoma.

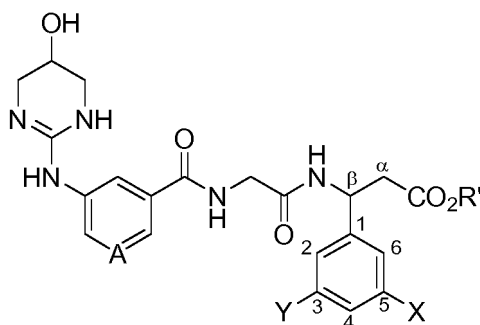
En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es osteoporosis. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es una enfermedad autoinmune. En algunas realizaciones, el trastorno autoinmune es esclerosis múltiple. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es hipercalcemia humoral de malignidad. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es enfermedad de Paget. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es enfermedad periodontal. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es psoriasis. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es artritis. En algunas realizaciones, la artritis es artritis reumatoide. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es reestenosis. En otras realizaciones, la enfermedad o trastorno es una infección.

En algunas realizaciones, el paciente es un ser humano, mono, vacas, caballo, ovejas, cabra, perros, gato, ratón, rata, un cerdo de guinea o especies transgénicas de los mismos. En algunas realizaciones, el paciente es un mono, vacas, caballo, ovejas, cabra, perros, gato, ratón, rata, o cobaya. En algunas realizaciones, el paciente es un ser humano.

En algunos aspectos, la presente divulgación contempla el hecho de que el enlace entre el anillo de fenilo y el esqueleto de aminoácidos en el aminoácido β gire libremente. Como tal, en algunos aspectos, se contempla que la estructura pueda rotar de tal manera que el grupo X esté orientado hacia el esqueleto y el Y esté orientado hacia fuera del esqueleto, así como la forma dibujada más comúnmente en la memoria descriptiva que muestra el grupo X orientado hacia el esqueleto y el Y orientado hacia fuera del esqueleto como se muestra en las estructuras posteriores. La estructura:



es equivalente a la estructura:



dada la rotación libre del enlace que une el carbono marcado β en el esqueleto y el carbono marcado 1 en el anillo aromático.

Breve descripción de los dibujos

Los siguientes dibujos forman parte de la presente memoria descriptiva y se incluyen para demostrar adicionalmente determinados aspectos de la presente divulgación. La divulgación puede entenderse mejor por referencia a uno o más de estos dibujos junto con la descripción detallada de realizaciones específicas presentadas en este documento.

FIG. 1 - Gráficos de puntos que comparan la potencia de los compuestos de comparación (comparadores) y Ejemplos que se muestran en las Tablas 1A y B para cada integrina. Las líneas horizontales indican medias grupales. El análisis estadístico se realizó mediante una prueba T estándar de dos colas para comparación de medias grupales.

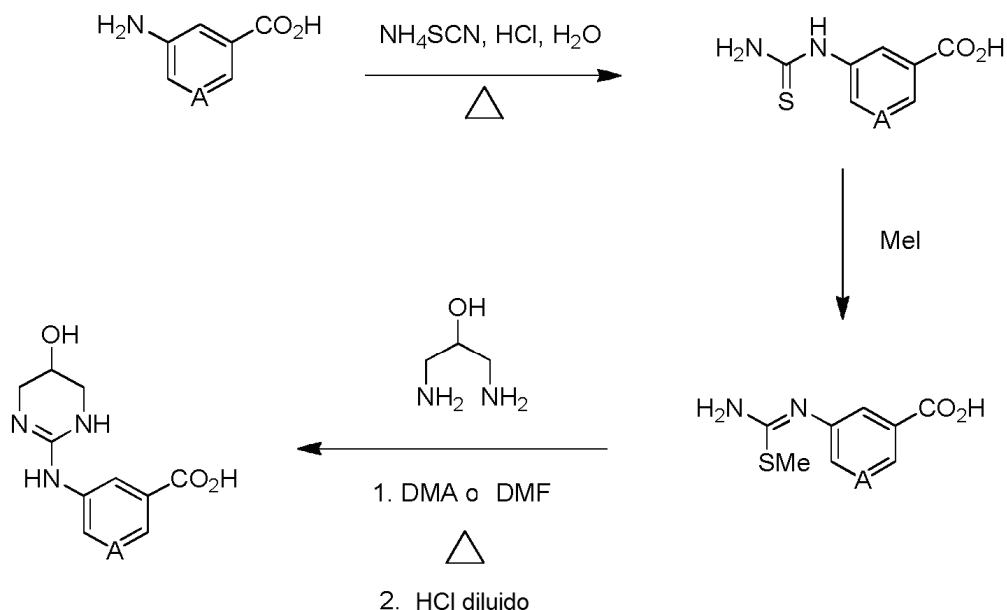
Descripción de realizaciones ilustrativas

En este documento se desvelan nuevos compuestos y composiciones con propiedades antagonistas del receptor de integrina, métodos para su fabricación, y métodos para su uso, incluso para el tratamiento y/o prevención de enfermedades.

I. Compuestos y métodos de síntesis

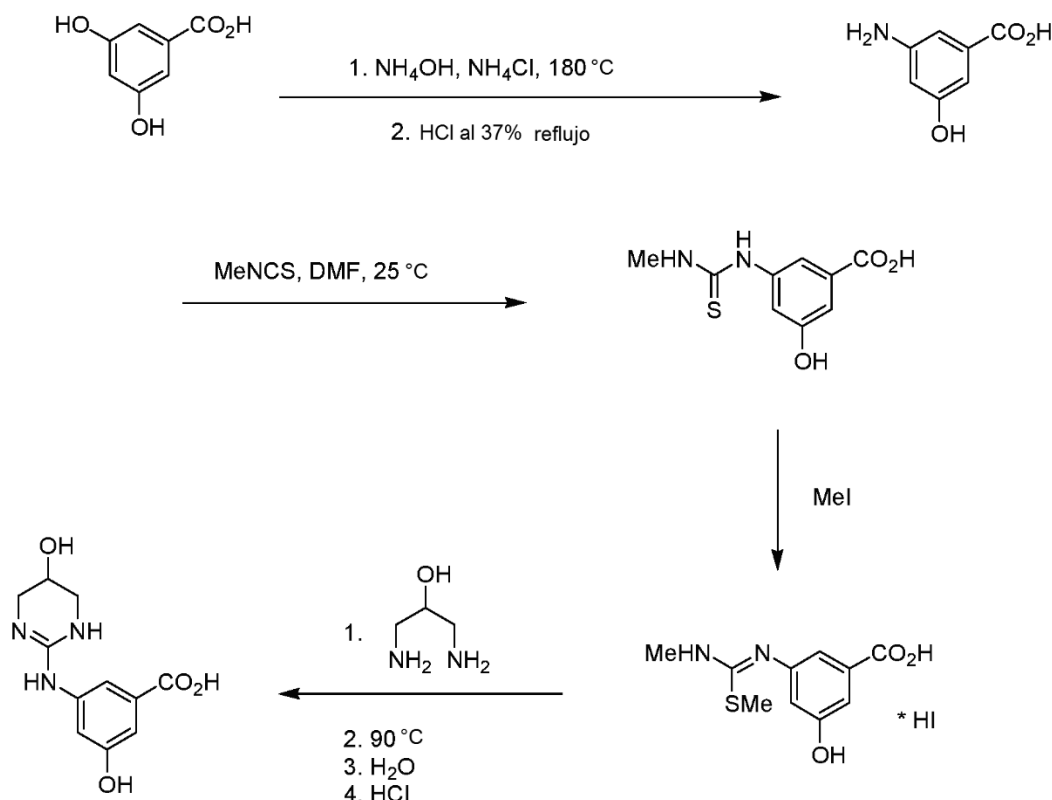
Los compuestos proporcionados por la presente divulgación pueden hacerse utilizando los métodos descritos a continuación y descritos en la sección de Ejemplos. Los compuestos de comparación mostrados en la Tabla 1 y enumerados en las Tablas 3-5 se sintetizan como se describe en la bibliografía. De manera adicional, estos compuestos de comparación también se pueden sintetizar fácilmente mediante el uso de los métodos y procedimientos descritos aquí por los expertos en la técnica. Las secuencias de síntesis generales para preparar los compuestos útiles en la presente divulgación se resumen en los Esquemas I-VIII. Tanto una explicación de, y los procedimientos reales para, los diversos aspectos de la presente divulgación se describen donde corresponde. Aquellos expertos en la técnica comprenderán fácilmente que las variaciones conocidas de las condiciones y procesos descritos en los Esquemas y Ejemplos pueden usarse para sintetizar los compuestos de la presente divulgación. Los materiales de partida y los equipos empleados estaban disponibles comercialmente preparados por métodos previamente informados y fácilmente duplicados por los expertos en la técnica.

Esquema I



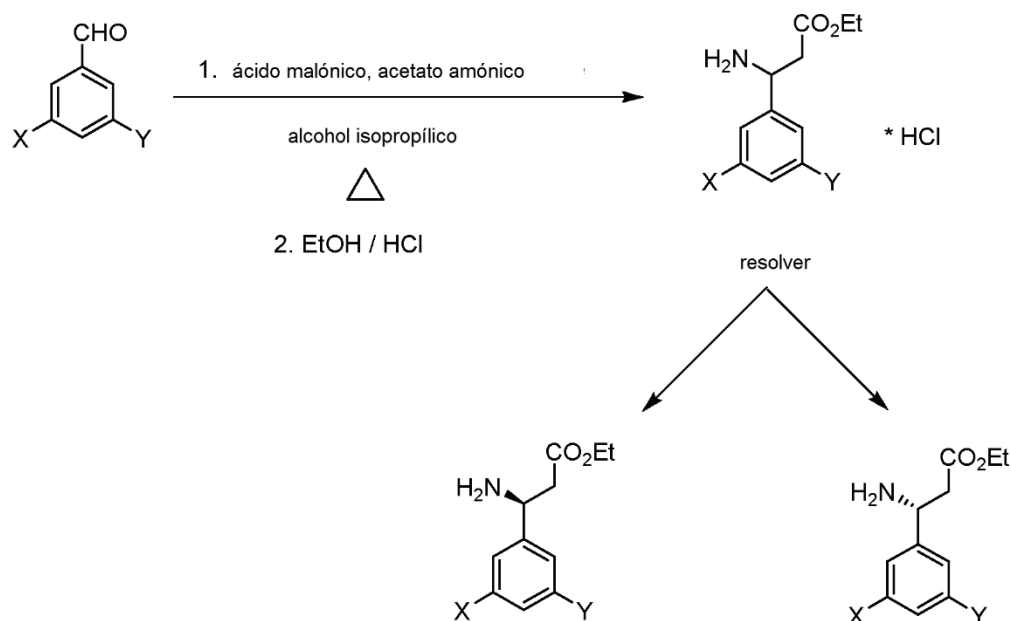
Esquema I ilustra metodología general que puede usarse para preparar la porción de ácido aromático sustituido por guanidina cíclica del lado izquierdo de la Fórmula I de la presente divulgación que luego puede acoplarse a un éster de Gly-β-aminoácido, o a éster de Gly primero, seguido de (después de hidrólisis del éster) acoplamiento al éster de β-aminoácido apropiado. En resumen, en el Esquema I, el ácido amino benzoico (o piridina) apropiado se hace reaccionar con tiocianato de amonio en ácido clorhídrico diluido caliente para dar el ácido 3-tiourea benzoico (o piridina) resultante después del tratamiento normal. Los ácidos amino benzoicos (o piridina) de partida están disponibles comercialmente o se pueden convertir en tales ácidos amino benzoicos (o piridina) mediante la reducción del ácido nitro benzoico (o piridina) correspondiente, que puede obtenerse comercialmente o sintetizarse por nitración del ácido benzoico (o piridina) apropiado, seguido de reducción al ácido amino benzoico (o piridina) deseado, o por otras metodologías reportadas que son conocidas por los expertos en la técnica. Esta tiourea intermedia se convierte en S-metil derivado por reacción con yoduro de metilo en etanol a reflujo. El 1,3-diamino-2-hidroxi propano apropiado se hace reaccionar con este intermedio resultante en DMA caliente (o DMF). Tras el enfriamiento, se forma un precipitado y el producto zwitteriónico se aísla por filtración. La sal de HCl se puede obtener liofilizando a partir de ácido clorhídrico diluido. Alternativamente, El producto puede aislarse de la mezcla de reacción original mediante eliminación de volátiles y concentración. El producto resultante se recoge en agua y el pH se ajusta aproximadamente a 5-7 donde el producto zwitteriónico precipita y se aísla por filtración. La sal de HCl se puede obtener como se indicó anteriormente simplemente disolviendo en ácido clorhídrico diluido y concentrando hasta un sólido y secando.

Esquema II



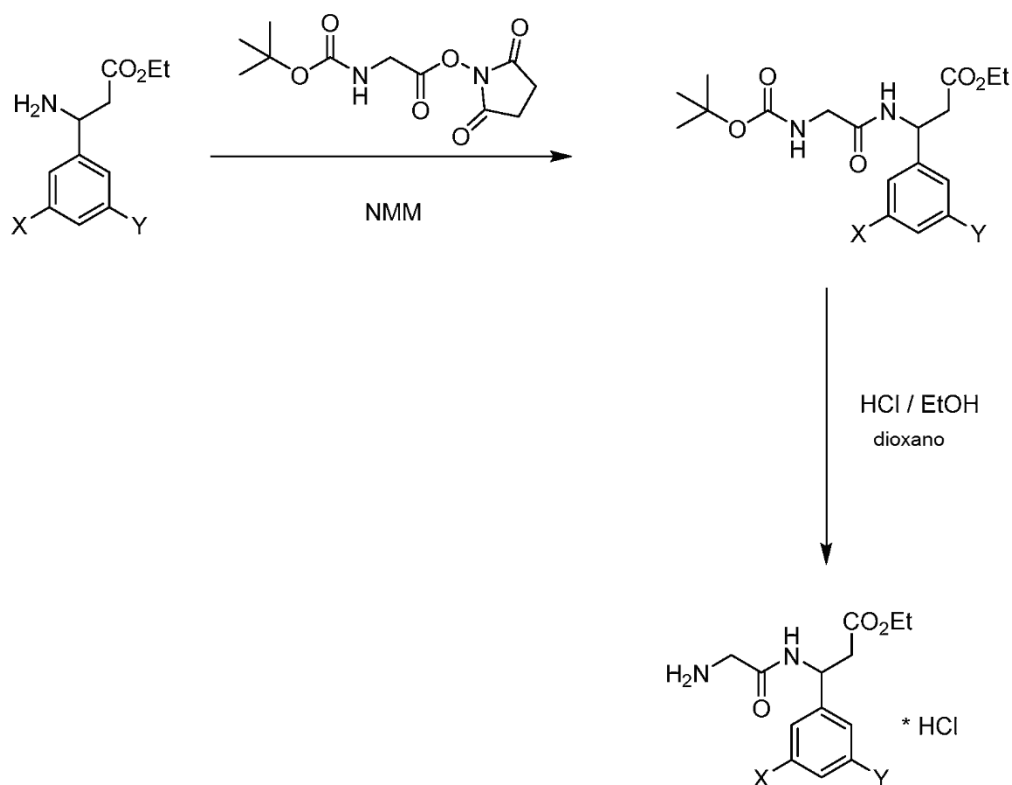
Esquema II ilustra metodología que puede usarse para preparar la porción de ácido tetrahidropirimidinobenzoico de la Fórmula I de la presente divulgación que luego puede acoplarse a un éster de Gly-β-aminoácido, o a éster de Gly primero, seguido de (después de hidrólisis del éster) acoplamiento al éster de β-aminoácido apropiado. En resumen, en el Esquema II, ácido 3,5-dihidroxibenzoico se convierte en ácido 3-amino-5-hidroxi-benzoico utilizando el procedimiento descrito en Austr. J. Chem. 1981 o Becker *et al.*, 1983. El producto se hace reaccionar con isocianato de metilo en DMF a temperatura ambiente (Organic Process Research & Development, 2004) para dar ácido 3-*N'*-metil tiourea-5-hidroxibenzoico después de procesamiento normal. Esta tiourea intermedia se convierte en el S-metil derivado por reacción con yoduro de metilo puro a menos de 40 °C. 1,3-diamino-2-hidroxipropano se hace reaccionar con este intermedio resultante en DMA caliente (o DMF). Tras el enfriamiento, se forma un precipitado y el producto zwitteriónico se aísla por filtración. La sal de HCl se puede obtener liofilizando a partir de ácido clorhídrico diluido. Alternativamente, El producto puede aislarse de la mezcla de reacción original mediante eliminación de volátiles y concentración. El producto resultante se recoge en agua y el pH se ajusta aproximadamente a 5-7 donde el producto zwitteriónico precipita y se aísla por filtración. La sal de HCl se puede obtener como se indicó anteriormente simplemente disolviendo en ácido clorhídrico diluido y concentrando hasta un sólido y secando.

Esquema III



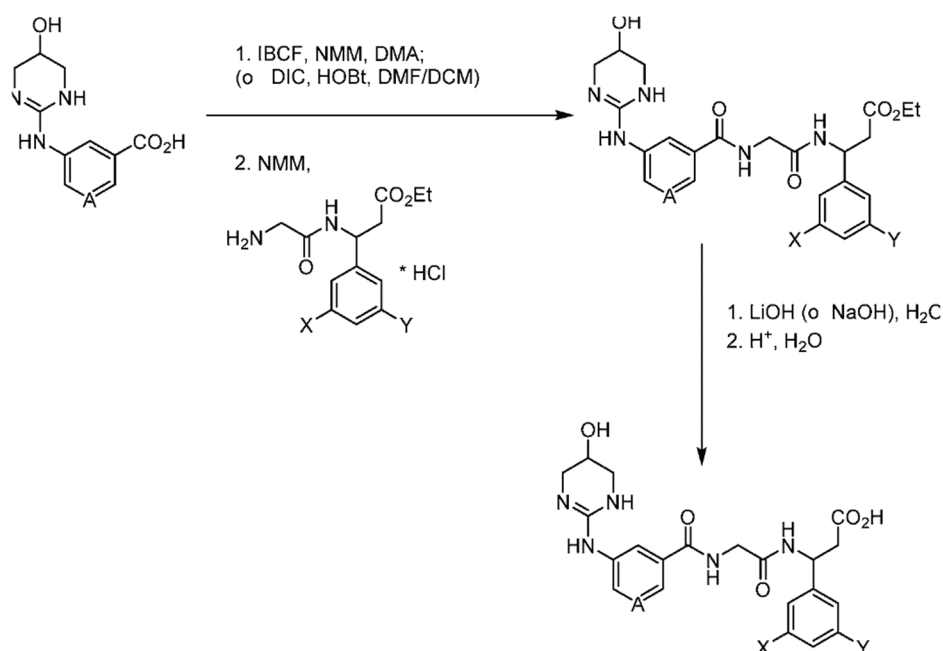
Esquema III ilustra una metodología general que puede usarse para la síntesis de la porción éster de aminoácido beta de la Fórmula I de la presente divulgación, partiendo de un benzaldehído apropiado. Este éster de aminoácido beta puede acoplarse luego a Boc-Glicina seguido de (después de eliminación del grupo protector Boc) acoplamiento al ácido aromático apropiado descrito en los Esquemas I y II, o al ácido aromático que se ha acoplado a Glicina. Brevemente en el Esquema III, al benzaldehído en isopropanol apropiado se le agrega acetato amónico seguido de ácido malónico. La mezcla de reacción se agita a reflujo, el precipitado resultante se filtra y lava con isopropanol caliente y seca para producir el beta aminoácido racémico deseado. El éster etílico se sintetiza calentando este ácido en exceso de etanol en presencia de exceso de gas HCl. Estos ésteres de aminoácidos beta racémicos se pueden resolver en los enantiómeros (*R*) y (*S*) mediante separación cromatográfica quiral, o mediante resolución enzimática como se describe en Faulconbridge *et al.*, 2000 o Landis *et al.*, 2002. En algunas realizaciones, el enantiómero (*S*) es el enantiómero preferente del grupo β -aminoácido.

Esquema IV



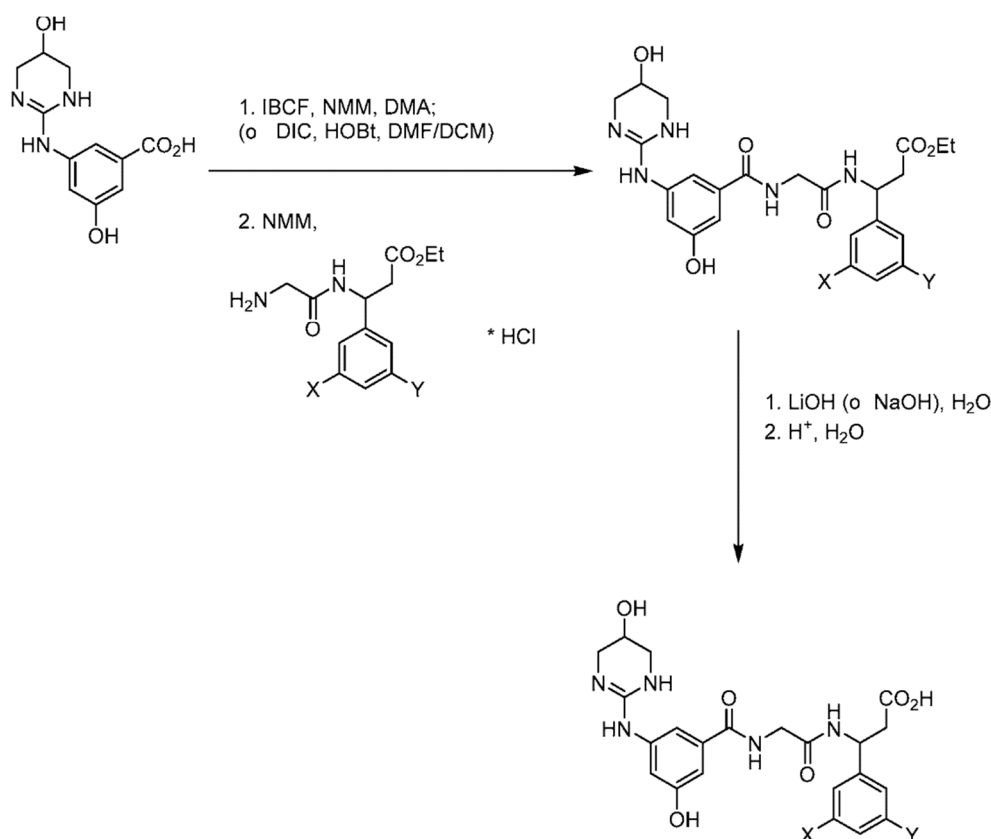
Esquema IV ilustra una metodología general que puede usarse para preparar la porción de etil-N-Gly-beta aminoácido de Fórmula I de la presente divulgación, que puede acoplarse a la porción de ácido aromático de Fórmula I descrita en los Esquemas I y II. Este método describe el acoplamiento de un éster de aminoácido beta a glicina. En resumen, el éster de aminoácido beta deseado (descrito en el Esquema III anterior) se trata con Boc Glicina activada. La retirada del grupo protector Boc (por tratamiento con etanol/HCl, por ejemplo) proporciona la amida glicina del éster de beta aminoácido correspondiente (el enantiómero (S) se proporciona utilizando el éster de (S)-beta aminoácido, descrito en el esquema anterior).

Esquema V



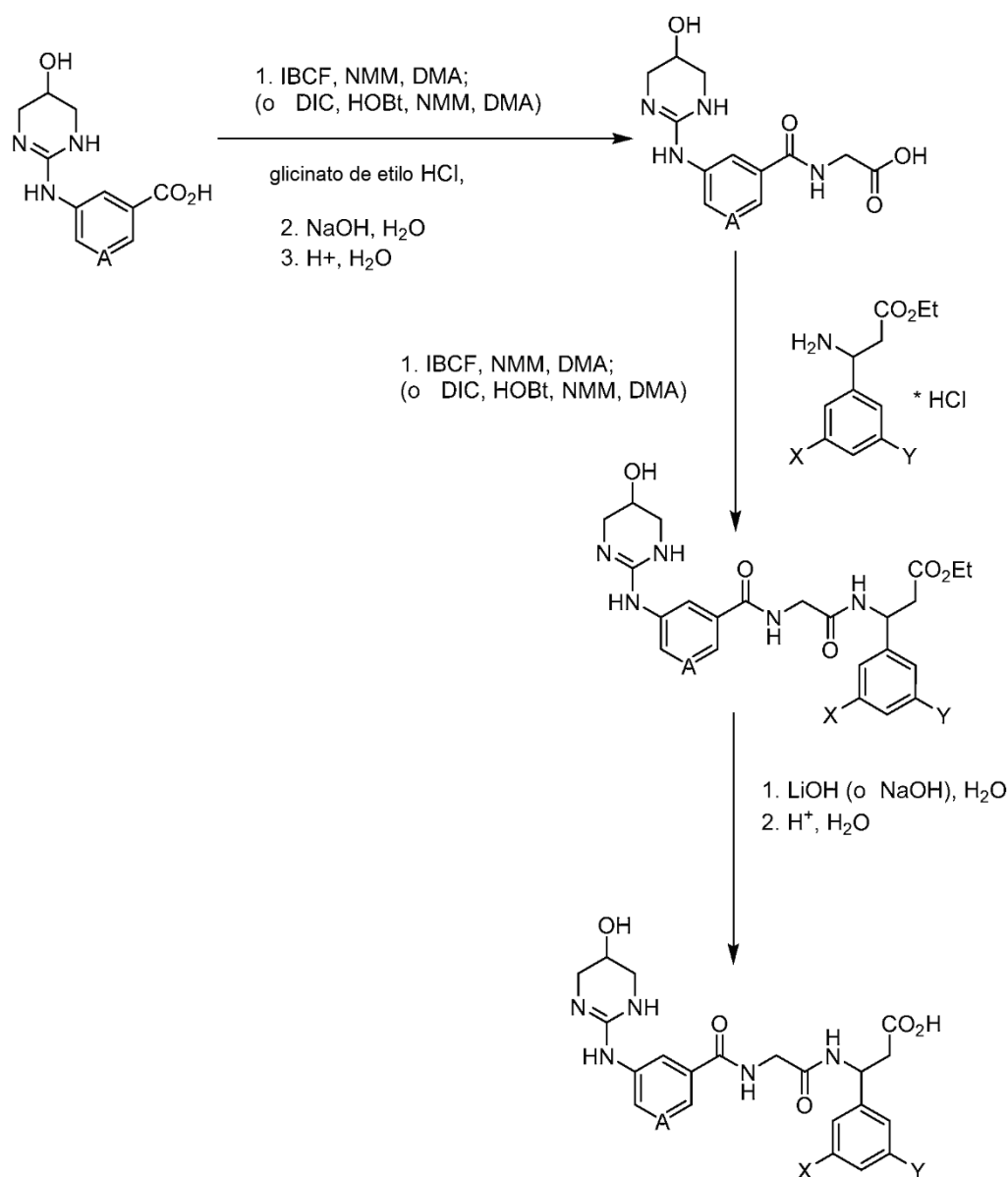
Esquema V ilustra una metodología general que puede usarse para preparar varios compuestos de la presente divulgación. En resumen, la porción de ácido aromático sustituido por guanidina cíclica del lado izquierdo de Fórmula I (descrita en los Esquemas I y II) se activa para acoplamiento usando métodos conocidos. Por tanto, después de disolver en un disolvente adecuado como DMA se agrega un equivalente de NMM. La mezcla de reacción se enfría a temperaturas de baño de hielo y se agrega IBCF. Al anhidrido intermedio mixto se agrega el éster de Gly-β-aminoácido (descrito en el Esquema IV) y NMM. Al finalizar la reacción, el producto se purifica por HPLC preparativa y el éster se hidroliza al ácido mediante tratamiento con una base, como LiOH en un disolvente adecuado (dioxano/agua o acetonitrilo/agua). Alternativamente, un ácido adecuado, tal como TFA, puede usarse. El producto se aísla por HPLC preparativa o aislando el zwitterión a pH 5-7 y convirtiéndolo en la sal deseada mediante procedimientos estándar. (El enantiómero (S) se proporciona utilizando el éster de (S)-beta aminoácido, descrito en los esquemas anteriores).

Esquema VI



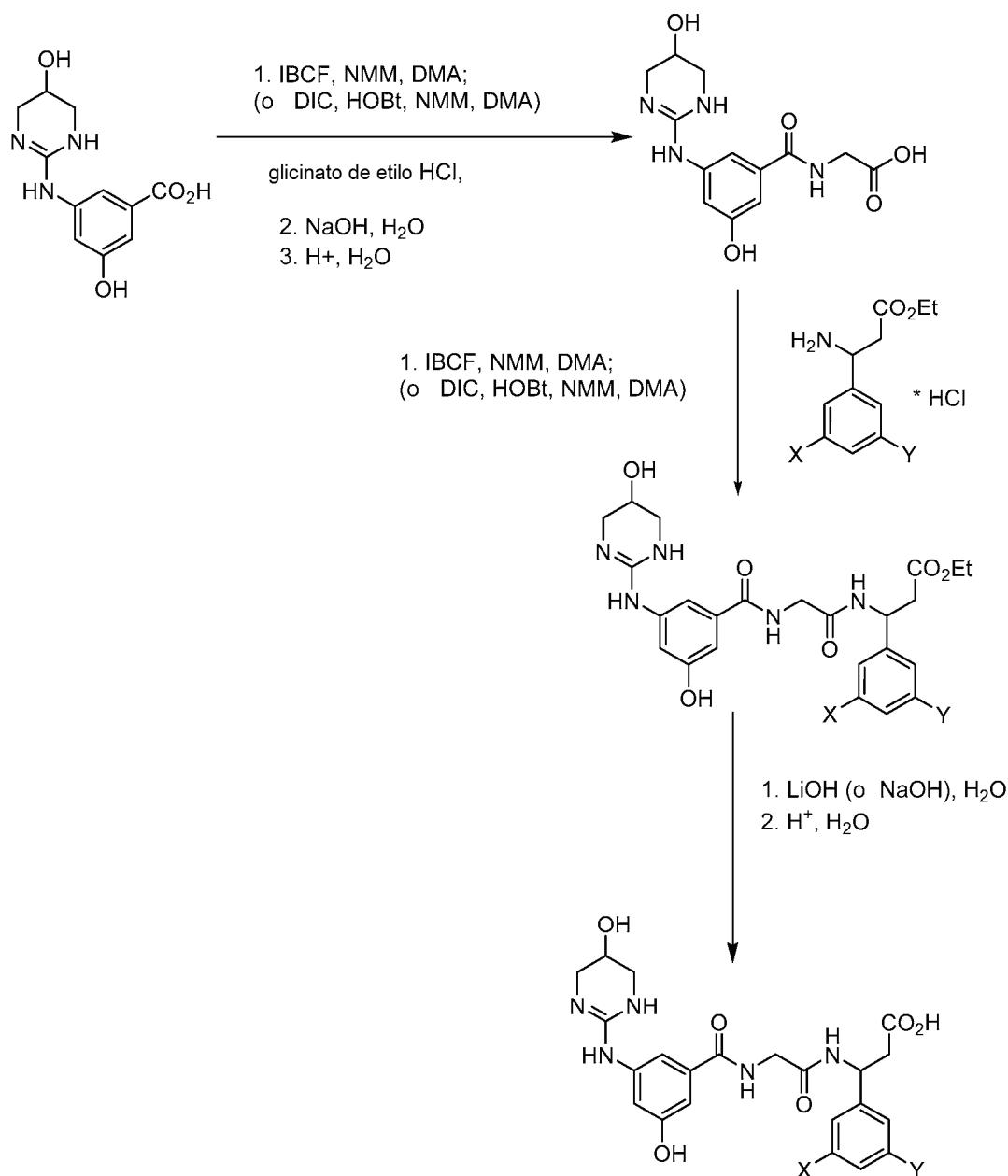
Esquema VI ilustra una metodología general que puede usarse para preparar varios compuestos de la presente divulgación. En resumen, Ácido 3-hidroxi-5-[(1,4,5,6-tetrahidro-5-hidroxi-2-pirimidinil)amino]benzoico (descrito en el Esquema II) se activa para acoplamiento usando métodos conocidos. Por tanto, después de disolver en un disolvente adecuado como DMA se agrega un equivalente de NMM. La mezcla de reacción se enfría a temperaturas de baño de hielo y se agrega IBCF. Al anhídrido intermedio mixto se agrega el éster de Gly-β-aminoácido (descrito en el Esquema IV) y NMM. Al finalizar la reacción, el producto se purifica por HPLC preparativa y el éster se hidroliza al ácido mediante tratamiento con una base, como LiOH en un disolvente adecuado (dioxano/agua o acetonitrilo/agua). Alternativamente, un ácido adecuado, tal como TFA, puede usarse. El producto se aísla por HPLC preparativa o aislando el zwitterión a pH 5-7 y convirtiéndolo en la sal deseada mediante procedimientos estándar. (El enantiómero (S) se proporciona utilizando el éster de (S)-beta aminoácido, descrito en los esquemas anteriores).

Esquema VII



Esquema VII ilustra una metodología general que puede usarse para preparar varios compuestos de la presente divulgación. En resumen, la porción de ácido aromático sustituido por guanidina cíclica del lado izquierdo de Fórmula I (descrita por ejemplo en los Esquemas I y II) se activa para acoplamiento mediante métodos conocidos. Por tanto, después de disolver en un disolvente adecuado como DMA se agrega un equivalente de NMM. La mezcla de reacción se enfría a temperaturas de baño de hielo y se agrega IBCF. Al anhidrido intermedio mezclado se agrega glicinato de etilo HCl y NMM. Al finalizar la reacción, el producto se purifica por HPLC preparativa y el éster se hidroliza al ácido mediante tratamiento con una base, como NaOH en un disolvente adecuado (agua, dioxano/agua o acetonitrilo/agua), seguido de acidificación. Este aducto de Gly se activa después para acoplamiento mediante métodos conocidos. Por tanto, después de disolver en un disolvente adecuado como DMA se agrega un equivalente de NMM. La mezcla de reacción se enfría a temperaturas de baño de hielo y se agrega IBCF. Al anhidrido intermedio mixto se agrega la sal éster de beta aminoácido apropiada (descrita en el Esquema III anterior) y NMM. Al finalizar la reacción, el producto se purifica por HPLC preparativa y el éster se hidroliza al ácido mediante tratamiento con una base, como LiOH en un disolvente adecuado (dioxano/agua o acetonitrilo/agua). Alternativamente, un ácido adecuado, tal como TFA, puede usarse. El producto se aísla por HPLC preparativa o aislando el zwitterión a pH 5-7 y convirtiéndolo en la sal deseada mediante procedimientos estándar (el enantiómero (S) se proporciona usando el éster de (S)-beta aminoácido, descrito en los esquemas anteriores).

Esquema VIII

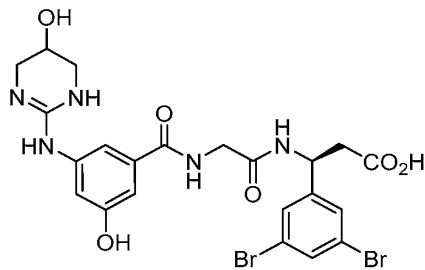
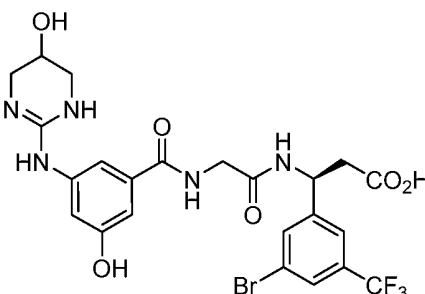
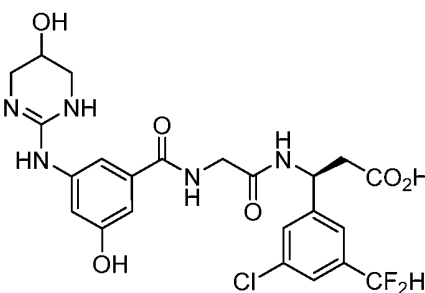
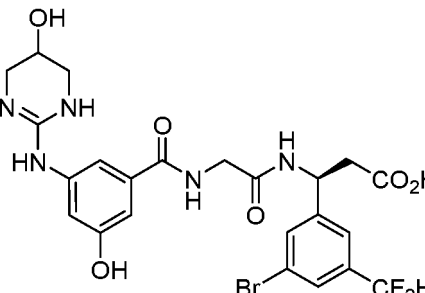
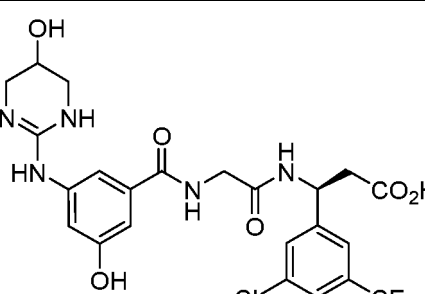


- Esquema VIII ilustra una metodología general que puede ser útil para preparar diversos compuestos descritos en este documento. En resumen, Ácido 3-hidroxi-5-[(1,4,5,6-tetrahidro-5-hidroxi-2-pirimidinil)amino]benzoico (descrito en el Esquema II) se activa para acoplamiento usando métodos conocidos. Por tanto, después de disolver en un disolvente adecuado tal como DMA, se agrega un equivalente de NMM. La mezcla de reacción se enfría a temperaturas de baño de hielo y se agrega IBCF. Al anhídrido intermedio mezclado se agrega glicinato de etilo HCl y NMM. Al finalizar la reacción, el producto se purifica por HPLC preparativa y el éster se hidroliza al ácido mediante tratamiento con una base, como NaOH en un disolvente adecuado (agua, dioxano/agua o acetonitrilo/agua), seguido de acidificación. Este aducto de Gly se activa después para acoplamiento mediante métodos conocidos. Por tanto, después de disolver en un disolvente adecuado como DMA se agrega un equivalente de NMM. La mezcla de reacción se enfría a temperaturas de baño de hielo y se agrega IBCF. Al anhídrido intermedio mixto se agrega la sal éster de beta aminoácido apropiada (descrita en el Esquema III anterior) y NMM. Al finalizar la reacción, el producto se purifica por HPLC preparativa y el éster se hidroliza al ácido tratando con una base, como LiOH en un disolvente adecuado (dioxano/agua o acetonitrilo/agua). Alternativamente, un ácido adecuado, tal como TFA, puede usarse. El producto se aísla por HPLC preparativa o aislando el zwitterión a pH 5-7 y convirtiéndolo en la sal deseada mediante procedimientos estándar (el enantiómero (S) se proporciona usando el éster de (S)-beta aminoácido, descrito en los esquemas anteriores).

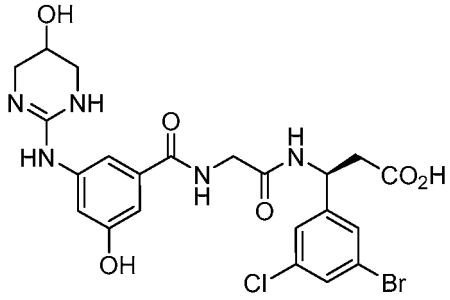
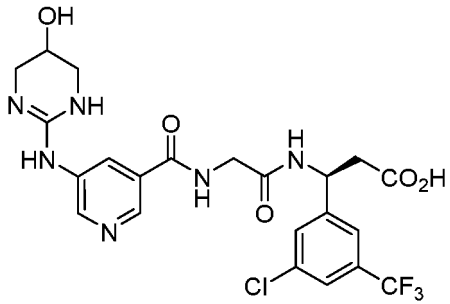
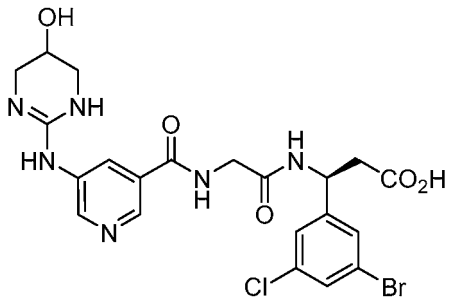
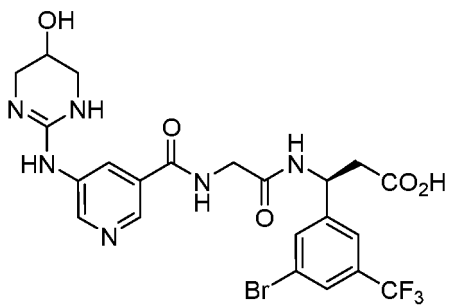
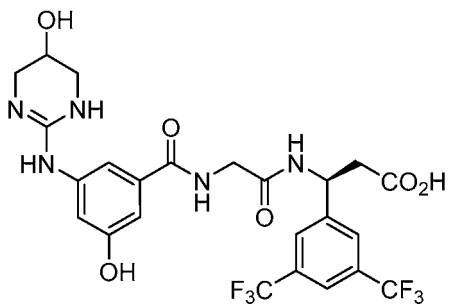
En algunas realizaciones, los compuestos de la presente divulgación son los descritos en la Tabla 1A (posterior), los

Ejemplos, y las reivindicaciones.

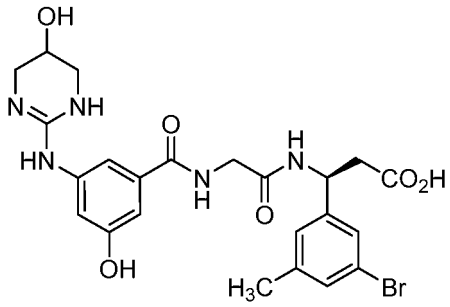
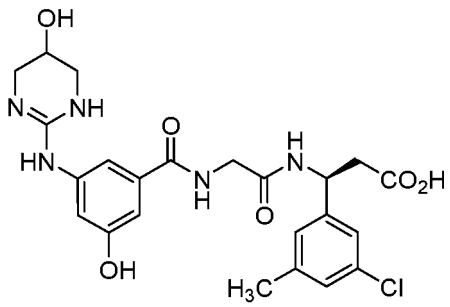
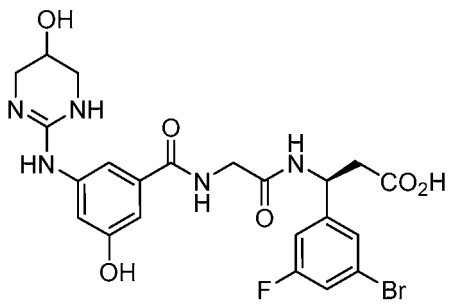
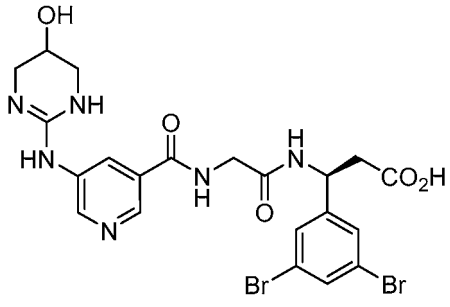
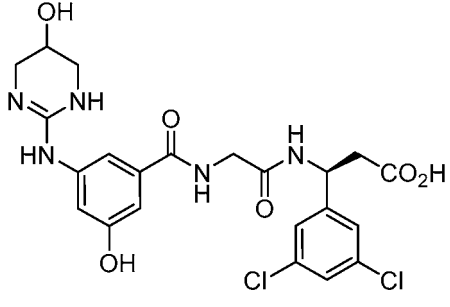
Tabla 1A: Compuestos de ejemplo de la presente divulgación

Número de ejemplo	Estructura del compuesto
1	 <chem>Oc1ccc(NC2=NC(=O)NCC2)cc1C(=O)NCC(=O)N[C@@H](Cc1cc(Br)cc(Br)c1)C(=O)O</chem>
2	 <chem>Oc1ccc(NC2=NC(=O)NCC2)cc1C(=O)NCC(=O)N[C@@H](Cc1cc(Br)cc(C(F)(F)F)c1)C(=O)O</chem>
3	 <chem>Oc1ccc(NC2=NC(=O)NCC2)cc1C(=O)NCC(=O)N[C@@H](Cc1cc(Cl)cc(CF2)cc1)C(=O)O</chem>
4	 <chem>Oc1ccc(NC2=NC(=O)NCC2)cc1C(=O)NCC(=O)N[C@@H](Cc1cc(Br)cc(CF2)cc1)C(=O)O</chem>
5	 <chem>Oc1ccc(NC2=NC(=O)NCC2)cc1C(=O)NCC(=O)N[C@@H](Cc1cc(Cl)cc(C(F)(F)F)c1)C(=O)O</chem>

(continuación)

Número de ejemplo	Estructura del compuesto
6	
7	
8	
9	
10	

(continuación)

Número de ejemplo	Estructura del compuesto
11	
12	
13	
14	
15	

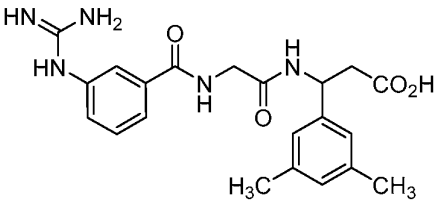
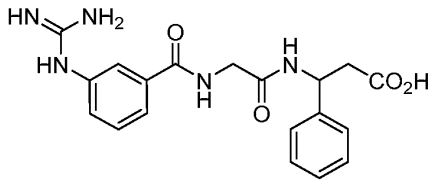
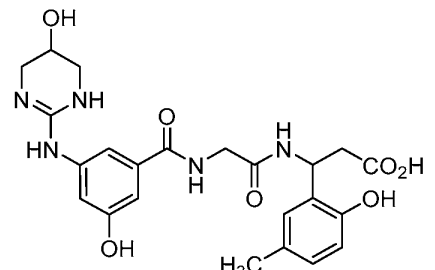
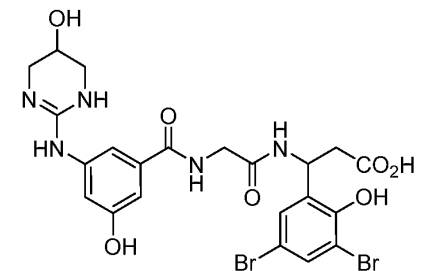
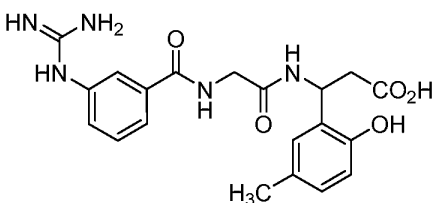
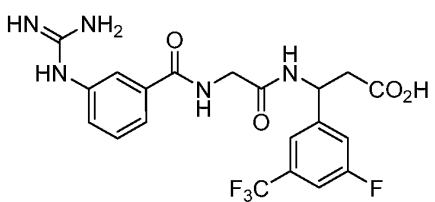
(continuación)

Número de ejemplo	Estructura del compuesto
16	
17	

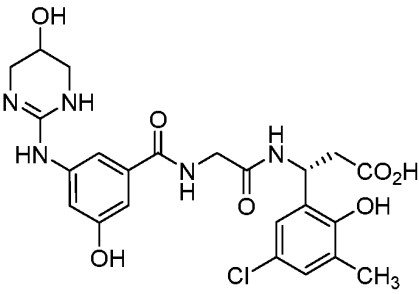
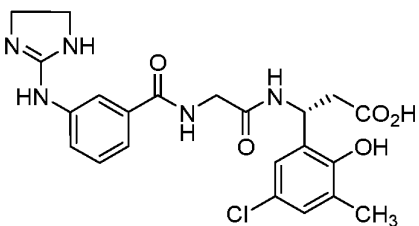
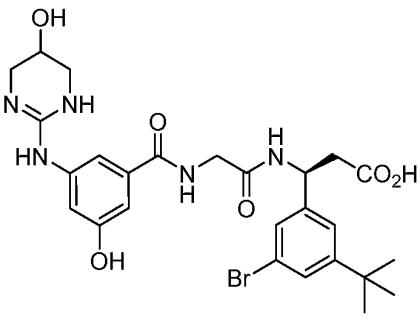
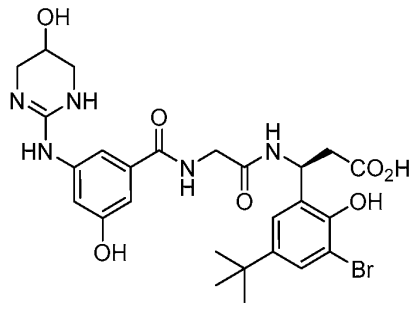
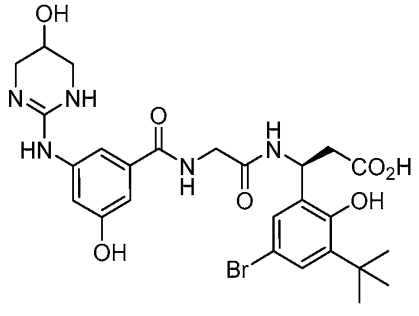
Tabla 1B: Compuestos de comparación

Número de comparación	Estructura del compuesto
C1	
C2	
C3	

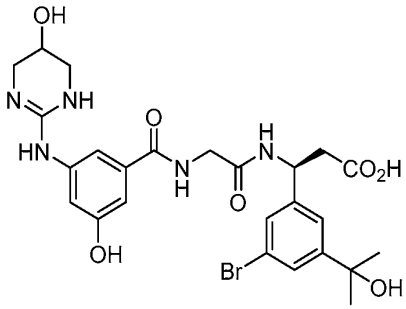
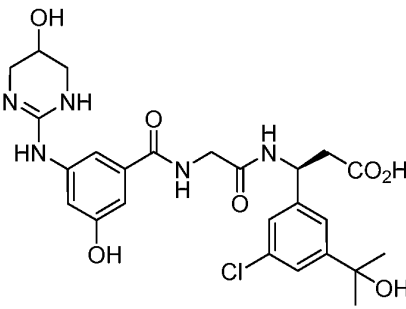
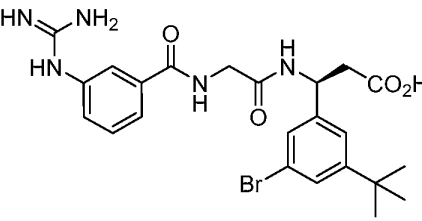
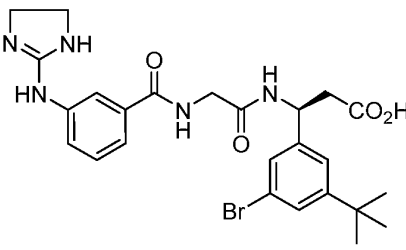
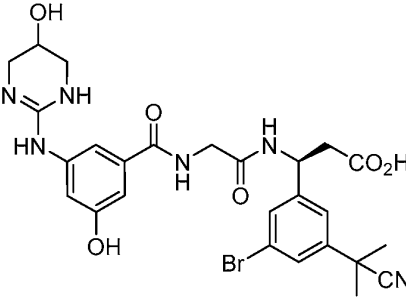
(continuación)

Número de comparación	Estructura del compuesto
C4	
C5	
C6	
C7	
C8	
C9	

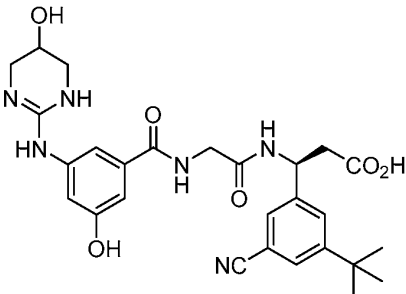
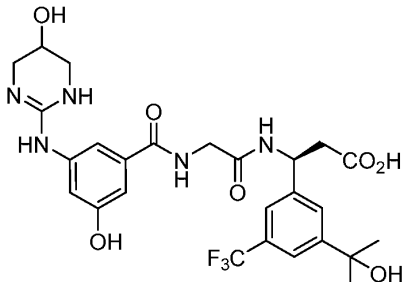
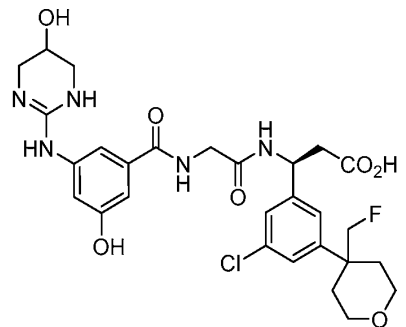
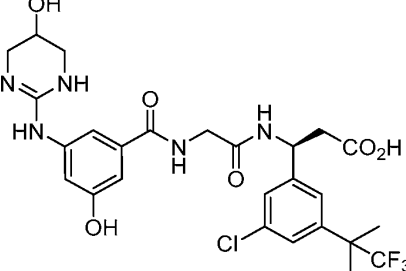
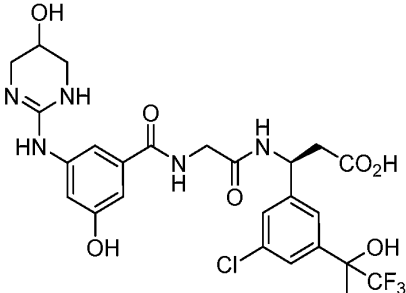
(continuación)

Número de comparación	Estructura del compuesto
C10	
C11	
C12	
C13	
C14	

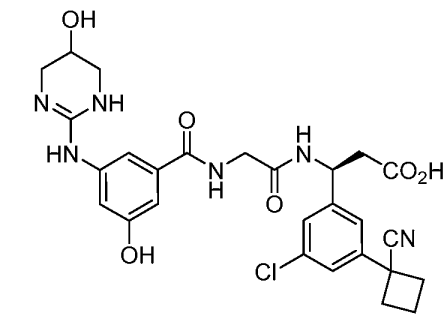
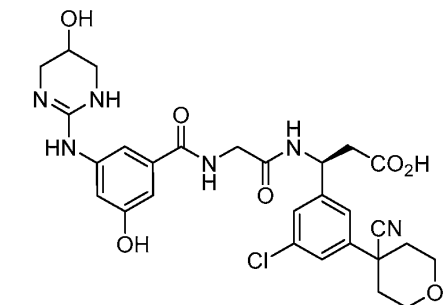
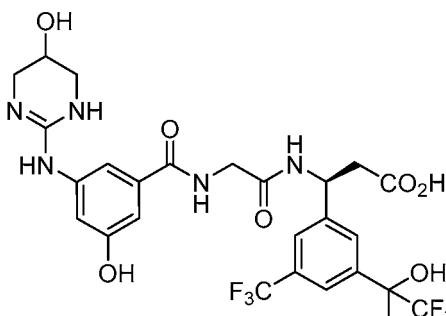
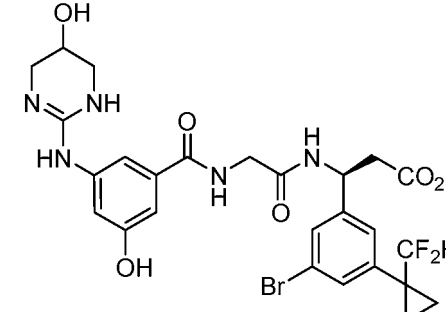
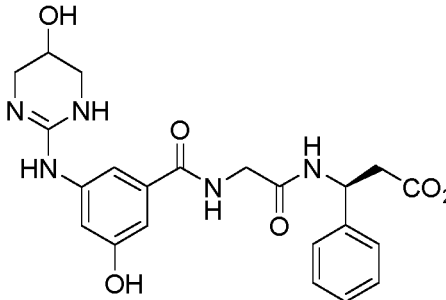
(continuación)

Número de comparación	Estructura del compuesto
C15	
C16	
C17	
C18	
C19	

(continuación)

Número de comparación	Estructura del compuesto
C20	
C21	
C22	
C23	
C24	

(continuación)

Número de comparación	Estructura del compuesto
C25	
C26	
C27	
C28	
C29	

(continuación)

Número de comparación	Estructura del compuesto
C30	

Todos estos métodos descritos anteriormente pueden modificarse y optimizarse adicionalmente mediante los principios y técnicas que se enseñan en las patentes estadounidenses 6.013.651 y 6.028.223, así como los principios y técnicas de química orgánica aplicados por una persona experta en la técnica. Dichos principios y técnicas se muestran, por ejemplo, en March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure (2007).

Los compuestos empleados en los métodos de la descripción pueden contener uno o más átomos de carbono sustituidos asimétricamente o átomos de nitrógeno, y pueden aislarse en forma ópticamente activa o racémica. Por tanto, todo quiral, diastereomérico, forma racémica, forma epimérica, y todas las formas isoméricas geométricas de una estructura están destinadas, a menos que se indique específicamente la forma estereoquímica o isomérica específica. En algunas realizaciones, la porción de β-aminoácido de fórmula I está en la configuración (S). En algunas realizaciones, el enantiómero (S) es el enantiómero preferente del grupo β-aminoácido. Los compuestos pueden aparecer como racematos y mezclas racémicas, enantiómeros individuales, mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales. En algunas realizaciones, se obtiene un único diastereómero. Los centros quirales de los compuestos de la presente divulgación pueden tener la configuración S o R, definida por IUPAC 1974 Recommendations. Por ejemplo, las mezclas de estereoisómeros pueden separarse mediante las técnicas enseñadas en la sección de Ejemplos a continuación, así como sus modificaciones. También se incluyen formas tautoméricas, así como las sales farmacéuticamente aceptables de tales isómeros y tautómeros.

Los átomos que componen los compuestos de la presente divulgación están destinados a incluir todas las formas isotópicas de tales átomos. Los compuestos de la presente divulgación incluyen aquellos con uno o más átomos que han sido modificados isotópicamente o enriquecidos, en particular, aquellos con isótopos farmacéuticamente aceptables o aquellos útiles para investigación farmacéutica. Los isótopos, como se usa en este documento, incluyen los átomos que tienen el mismo número atómico pero distintos números másicos. A modo de ejemplo general y sin limitación, isótopos de hidrógeno incluyen deuterio y tritio, e isótopos de carbono incluyen ^{13}C y ^{14}C . Igualmente, se contempla que uno o más átomos de carbono de un compuesto de la presente divulgación pueden reemplazarse por un átomo(s) de silicio. Además, se contempla que uno o más átomos de oxígeno de un compuesto de la presente divulgación pueden reemplazarse por un átomo(s) de azufre o selenio.

Los compuestos de la presente divulgación también pueden existir como profármaco. Como se sabe que los profármacos potencian numerosas calidades deseables de los compuestos farmacéuticos (por ejemplo, solubilidad, biodisponibilidad, con fabricación, etc.), los compuestos empleados en algunos métodos de la divulgación pueden, si se desea, suministrarse como profármaco. Por tanto, la divulgación contempla profármacos de compuestos de la presente divulgación, así como métodos de suministro profármacos. Los profármacos de los compuestos empleados en la divulgación pueden prepararse modificando grupos funcionales presentes en el compuesto de tal forma que se escindan las modificaciones, ya sea por manipulación rutinaria o *in vivo*, en el compuesto precursor. En consecuencia, profármacos incluyen, por ejemplo, compuestos descritos en este documento en que un hidroxilo, amino, o grupo carboxi está unido a cualquier grupo que, cuando el profármaco se administra a un sujeto, se corta para formar un hidroxilo, amino, o ácido carboxílico, respectivamente.

Debe reconocerse que el anión o catión particular que forma parte de cualquier sal de la presente divulgación no es crítico, siempre que la sal, como un todo, sea farmacológicamente aceptable. Se presentan ejemplos adicionales de sales farmacéuticamente aceptables y sus métodos de preparación y uso en Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use (2002).

Debe reconocerse que los compuestos de la presente divulgación incluyen aquellos que se han modificado aún más para incluir sustituyentes que son convertibles en hidrógeno *in vivo*. Esto incluye aquellos grupos que pueden ser convertibles a un átomo de hidrógeno por medios enzimáticos o químicos que incluyen, pero sin limitación, hidrólisis e hidrogenólisis. Los ejemplos incluyen grupos hidrolizables, tales como grupos acilo, grupos que tienen un grupo

oxicarbonilo, restos de aminoácido, residuos peptídicos, o-nitrofenilsulfenilo, trimetilsililo, tetrahidropirano, difenilfosfinilo, y similares. Ejemplos de grupos acilo incluyen formilo, acetilo, trifluoroacetilo, y similares. Ejemplos de grupos que tienen un grupo oxicarbonilo incluyen etoxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo ($-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$, Boc), benciloxicarbonilo, *p*-metoxi-benciloxicarbonilo, viniloxicarbonilo, β -(*p*-toluenosulfonil)etoxicarbonilo, y similares.

Residuos de aminoácidos adecuados incluyen, pero sin limitación, residuos de Gly (glicina), Ala (alanina), Arg (arginina), Asn (asparagina), Asp (ácido aspártico), Cys (cisteína), Glu (ácido glutámico), His (histidina), Ile (isoleucina), Leu (leucina), Lys (lisina), Met (metionina), Phe (fenilalanina), Pro (prolina), Ser (serina), Thr (treonina), Trp (triptófano), Tyr (tirosina), Val (valina), Nva (norvalina), Hse (homoserina), 4-Hyp (4-hidroxiprolina), 5-Hyl (5-hidroxilisina), Orn (ornitina) y β -Ala. Ejemplos de residuos de aminoácidos adecuados también incluyen residuos de aminoácidos que están protegidos con un grupo protector. Ejemplos de grupos protectores adecuados incluyen aquellos específicos empleados en síntesis de péptidos, incluyendo grupos ácido (tales como formilo y acetilo), grupos arilmetoxicarbonilo (tales como benciloxicarbonilo y *p*-nitrobenciloxicarbonilo), grupo *tert*-butoxicarbonilo ($-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$, Boc), y similares. Los residuos de péptidos adecuados incluyen residuos de péptidos que comprenden de dos a cinco residuos de aminoácidos. Los residuos de estos aminoácidos o péptidos pueden estar presentes en configuraciones estereoquímicas de la forma D, la forma L o sus mezclas. Además, el residuo de aminoácido o péptido puede tener un átomo de carbono asimétrico. Ejemplos de residuos de aminoácidos adecuados que tienen un átomo de carbono asimétrico incluyen residuos de Ala, Leu, Phe, Trp, Nva, Val, Met, Ser, Lys, Thr y Tyr. Los residuos de péptidos que tienen un átomo de carbono asimétrico incluyen los residuos de péptidos que tienen uno o más residuos de aminoácidos constituyentes que tienen un átomo de carbono asimétrico. Ejemplos de grupos protectores de aminoácidos adecuados incluyen aquellos específicos empleados en la síntesis de péptidos, incluyendo grupos ácido (tales como formilo y acetilo), grupos arilmetoxicarbonilo (tales como benciloxicarbonilo y *p*-nitrobenciloxicarbonilo), grupo *tert*-butoxicarbonilo ($-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), y similares. Otros ejemplos de sustituyentes "convertibles en hidrógeno *in vivo*" incluyen grupos hidrogenizables eliminables reductivamente. Ejemplos de grupos hidrogenizables eliminables reductivamente adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos arilsulfonilo (tales como *o*-toluenosulfonilo); grupos metilo sustituido con fenilo o benciloxi (tales como bencilo, tritilo y benciloximetilo); grupos arilmetoxicarbonilo (tales como benciloxicarbonilo y *o*-metoxi-benciloxicarbonilo); y grupos haloetoxicarbonilo (tales como β , β , β -tricloroetoxicarbonilo y β -yodoetoxicarbonilo).

Los compuestos de la divulgación también pueden tener la ventaja de que pueden ser más eficaces que, ser menos tóxicos que, actuar durante más tiempo que, ser más potentes que, producir menos efectos secundarios que, ser absorbido más fácilmente que, y/o tener un mejor perfil farmacocinético (por ejemplo, mayor biodisponibilidad oral y/o aclaramiento menor) que, y/o tener otras propiedades farmacológicas, físicas o químicas útiles sobre, los compuestos conocidos en la técnica anterior, ya sea para uso en las indicaciones indicadas en el presente documento o de otra manera.

II. ACTIVIDAD BIOLÓGICA

En algunas realizaciones, los compuestos de la presente divulgación pueden usarse para antagonizar múltiples integrinas de unión a RGD. En algunas de estas realizaciones, los compuestos pueden usarse para tratar o prevenir enfermedades en las que más de una integrina promueve la angiogénesis aberrante. Por ejemplo, los compuestos pueden ser especialmente útiles cuando un segundo proceso de enfermedad, que es co-dependiente o independiente de la angiogénesis, está mediado por integrinas RGD que pueden verse afectadas simultáneamente con el antagonista antiangiogénico. Se sabe que los tumores dependen de la formación de nuevos vasos sanguíneos para mantener el crecimiento más allá de unos pocos milímetros de diámetro. La angiogénesis aberrante en la retina es una característica de muchos trastornos cegadores como degeneración macular húmeda relacionada con la edad, vitreorretinopatías, retinopatía de prematuridad, y retinopatía diabética. La angiogénesis se ha asociado a progresión de fibrosis pulmonar y hepática, y con crecimiento de pannus sinovial en artritis reumatoide.

Las integrinas $\alpha\text{v}\beta 3$ y $\alpha\text{v}\beta 5$ se han implicado en promoción de angiogénesis (Avraamidas *et al.*, 2008), de modo que su antagonismo además de otras integrinas puede predecirse para proporcionar un bloqueo superior de este proceso. También se sabe que integrina $\alpha\text{v}\beta 3$ desempeña un papel en la metástasis de células tumorales, y en reabsorción ósea elevada asociada a osteoporosis y algunos cánceres. Los antagonistas de la divulgación poseen actividad variable contra al menos cinco integrinas que se ha informado que se unen al complejo de citocina TGF β latente *in vitro*: $\alpha\text{v}\beta 1$, $\alpha\text{v}\beta 3$, $\alpha\text{v}\beta 5$, $\alpha\text{v}\beta 6$ y $\alpha\text{v}\beta 8$. Véase (Asano *et al.*, 2005; Mu *et al.*, 2002; Munger *et al.*, 1999; Wipff *et al.*, 2007; y Munger *et al.*, 1998). TGF β se coexpresa frecuentemente con la citocina angiogénica VEGF e induce su síntesis (Ferrari *et al.*, 2006). Además de tener actividad reguladora vascular, TGF β es un poderoso inductor de fibrosis en muchos tejidos como pulmón, hígado, riñón y piel (Nishimura, 2009). Prácticamente todo el TGF β es secretado por células en un complejo que contiene el péptido asociado a latencia (LAP). Las integrinas $\alpha\text{v}\beta 3$, $\alpha\text{v}\beta 5$, y $\alpha\text{v}\beta 6$, interactúan con el motivo RGD contenido en LAP, produciendo un cambio conformacional en el complejo que permite que TGF β se una a receptores celulares que activan vías profibróticas. Integrin $\alpha\text{v}\beta 8$ también activa TGF β de una manera dependiente de RGD, pero utiliza un mecanismo dependiente de proteasa distinto de las otras integrinas.

El TGF β latente está presente de forma ubicua en tejidos, y se activa por las integrinas de una manera restringida espacial y temporalmente. Por tanto, la regulación positiva de la integrina epitelial $\alpha\text{v}\beta 6$ en pulmones o hígado puede promover depósito de colágeno localizado y cicatrización, como se ha observado en pacientes con fibrosis pulmonar idiopática (Horan *et al.*, 2008) o fibrosis hepática (Popov *et al.*, 2008). Igualmente, $\alpha\text{v}\beta 5$, y en menor medida $\alpha\text{v}\beta 3$,

están presentes en células mesenquimales y son capaces de activar TGF β mesenquimatoso (Wipff *et al.*, 2007; Scotton *et al.*, 2009). Integrina $\alpha\text{v}\beta 8$ se expresa en sus conjuntos de epitelial, neuronal, inmune, y tipos celulares mesenquimales. En la piel, la activación de TGF β que acompaña al proceso de curación de heridas media deposición de matriz y promueve formación de cicatrices. Compuestos de la presente divulgación, en virtud de su capacidad para

inhibir simultáneamente varias integrinas activadoras de TGF β , tienen el potencial para una mayor eficacia en el tratamiento de fibrosis que los compuestos inhibidores más restringidos descritos anteriormente. Además, los compuestos proporcionados en el presente documento, incluyendo, por ejemplo, aquellos que tienen buena potencia $\alpha 5\beta 1$, puede usarse para tratar y/o prevenir enfermedades caracterizadas por patologías angiogénicas y fibróticas aberrantes.

TGF β es un inductor importante de la formación de células T reguladoras FoxP3⁺ (T_{reg}) (Yoshimura, 2011). En algunas realizaciones, compuestos de la presente divulgación, incluidos los que inhiben activación de TGF β y/o reducen actividad de T_{reg} pueden usarse para aliviar la supresión inmune en estados de enfermedad como cáncer, cuando se administran solos o junto con terapias existentes. La mitigación de actividad de T_{reg} con tales compuestos también tienen el potencial de mejorar la actividad de vacunas que están destinadas a prevenir o tratar cáncer y enfermedades infecciosas. TGF β , en presencia de IL-6, promueve la conversión de células T ingenuas en células TH17 (Yoshimura, 2011). Estas células promueven varias enfermedades autoinmunes. Se ha informado que los ratones que carecen de toda la expresión de $\alpha\text{v}\beta 8$ en células dendríticas tienen una protección casi completa contra encefalitis autoinmune experimental, un modelo de esclerosis múltiple (Melton *et al.*, 2010). Por tanto, compuestos de la presente divulgación, incluidos aquellos que inhiben la activación de TGF β y/o reducen la actividad de Th17, pueden usarse para prevenir o tratar enfermedades autoinmunes cuando se administran solos o junto con terapias existentes.

Antagonismo de la integrina $\alpha\text{IIb}\beta 3$ (también conocida como receptor de fibrinógeno), se sabe que bloquea la agregación plaquetaria como parte del proceso de coagulación de la sangre. Por tanto, para evitar un aumento del sangrado cuando se tratan afecciones o estados de enfermedad mediados por integrina $\alpha 5\beta 1$ y otras integrinas, sería beneficioso utilizar compuestos que selectivamente ahorren $\alpha\text{IIb}\beta 3$.

Como se ha analizado anteriormente, las integrinas son una familia de proteínas integrales de membrana citoplasmática que median interacciones celulares con otras células y con la matriz extracelular (ECM). Estas proteínas también juegan un papel en la señalización celular y por tanto regulan la forma celular, motilidad, y el ciclo celular. Las integrinas no solo realizan la señalización "de afuera hacia adentro" típica de los receptores, sino también operan un modo "de adentro hacia afuera". Por tanto, transducen información del ECM a la célula y revelan el estado de la célula al exterior, permitiendo respuestas rápidas y flexibles a los cambios en el medio ambiente, por ejemplo para permitir la coagulación de la sangre por plaquetas.

Hay muchos tipos de integrina, y muchas células tienen múltiples tipos en su superficie. Las proteínas son de vital importancia para todos los animales y se han encontrado en todos los animales investigados, desde esponjas hasta mamíferos. Como tales compuestos que buscan las integrinas han encontrado numerosos usos en diferentes animales, incluidos los animales de compañía, animales de ganado, animales de zoológico y animales salvajes. Las integrinas han sido ampliamente estudiadas en humanos. Las integrinas funcionan junto con otras proteínas como cadherinas, moléculas de adhesión celular de la superfamilia de inmunoglobulina, selectinas y sindecanos para mediar en la interacción célula-célula y célula-matriz y comunicación. Las integrinas se unen a la superficie celular y componentes de ECM como fibronectina, vitronectina, colágeno, y laminina.

Cada integrina está formada por heterodimerización no covalente de subunidades alfa y beta glicoproteína, cuya combinación transmite distintas actividades biológicas, como la unión celular, la migración, la proliferación, diferenciación y supervivencia. En la actualidad, Se han descrito 24 integrinas en mamíferos que se forman mediante el emparejamiento de 18 subunidades α y 8 subunidades β , como se expone en la Tabla 2.

Tabla 2: Integrinas

Gen	Proteína	Sinónimo	Tipo
ITGA1	CD49a	VLA1	Alfa
ITGA2	CD49b	VLA2	Alfa
ITGA3	CD49c	VLA3	Alfa
ITGA4	CD49d	VLA4	Alfa
ITGA5	CD49e	VLA5	Alfa
ITGA6	CD49f	VLA6	Alfa
ITGA7	ITGA7	FLJ25220	Alfa
ITGA8	ITGA8		Alfa
ITGA9	ITGA9	RLC	Alfa
ITGA10	ITGA10		Alfa
ITGA11	ITGA11	HsT18964	Alfa
ITGAD	CD11D	FLJ39841	Alfa
ITGAE	CD103	HUMINAE	Alfa
ITGAL	CD11a	LFA1A	Alfa

(continuación)

Gen	Proteína	Sinónimo	Tipo
ITGAM	CD11b	MAC-1	Alfa
ITGAV	CD51	VNRA, MSK8	Alfa
ITGAW	ITGAW		Alfa
ITGAX	CD11c		Alfa
ITGB1	CD29	FNRB, MSK12, MDF2	Beta
ITGB2	CD18	LFA-1, MAC-1, MFI7	Beta
ITGB3	CD61	GP3A, GPIIIa	Beta
ITGB4	CD104		Beta
ITGB5	ITGB5	FLJ26658	Beta
ITGB6	ITGB6		Beta
ITGB7	ITGB7		Beta
ITGB8	ITGB8		Beta

Además, las variantes de algunas de las subunidades se forman por empalme diferencial; por ejemplo, existen cuatro variantes de la subunidad beta-1. A través de diferentes combinaciones de estas subunidades α y β , se generan unas 24 integrinas únicas, aunque el número varía según diferentes estudios.

III. Métodos terapéuticos

La presente divulgación se refiere a los campos de productos farmacéuticos, medicina, y biología celular. Más específicamente, se refiere a agentes farmacéuticos (compuestos) y composiciones farmacéuticas de los mismos que pueden usarse como antagonistas del receptor de integrina, incluyendo en algunas realizaciones, antagonistas de los receptores de múltiples integrinas. Como tal, estos compuestos pueden usarse en composiciones farmacéuticas y en métodos para tratar afecciones mediadas por una o más de tales integrinas, por ejemplo, inhibiendo o antagonizando una o más de estas integrinas. En varios aspectos de la presente divulgación, los compuestos proporcionados en este documento pueden usarse en varios productos biológicos, áreas profilácticas o terapéuticas, incluyendo aquellos uno o más las $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 8\beta 1$, $\alpha \nu \beta 1$, $\alpha \nu \beta 3$, $\alpha \nu \beta 5$, $\alpha \nu \beta 6$, y $\alpha \nu \beta 8$ integrinas juegan un papel.

En otro aspecto, esta divulgación proporciona métodos para inhibir o antagonizar una o más de $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 8\beta 1$, $\alpha \nu \beta 1$, $\alpha \nu \beta 3$, $\alpha \nu \beta 5$, $\alpha \nu \beta 6$ y $\alpha \nu \beta 8$ integrinas usando uno o más de los compuestos desvelados aquí, así como sus composiciones farmacéuticas. En algunas realizaciones, estos métodos inhiben las condiciones patológicas asociadas a ellos, como angiogénesis, incluida la angiogénesis tumoral, fibrosis y enfermedades fibróticas, tales como pulmonar, renal, cardíaca, músculo, y fibrosis hepática, formación de cicatrices, tales como retinal, formación de cicatrices corneal y dérmica, retinopatía, incluyendo retinopatía diabética y degeneración macular, vitreorretinopatía, incluyendo retinopatía de prematuridad (ROP) y vitreorretinopatía exudativa familiar (FEVR), osteoporosis, hipercalcemia humoral de tumor maligno, enfermedad de Paget, metástasis tumoral, crecimiento del tumor sólido (neoplasia), artritis, incluyendo artritis reumatoide, enfermedad periodontal, psoriasis, migración celular de músculo liso y reestenosis, enfermedad autoinmunitaria, tales como esclerosis múltiple y patógenos infecciosos mediante administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto provisto en este documento. En algunas realizaciones, el compuesto se administra como parte de una composición farmacéutica que comprende además un vehículo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, los compuestos y/o composiciones farmacéuticas de los mismos pueden administrarse por vía oral, parenteralmente, o por inhalación nebulización iónica, o tópicamente en formulaciones de dosificación unitarias que contienen vehículos farmacéuticamente aceptables convencionales, adyuvantes y vehículos. El término parenteral como se usa en este documento incluye, por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraesternal, técnicas de infusión o intraperitonealmente. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente divulgación se administran por cualquier ruta adecuada como una composición farmacéutica adaptada a dicha ruta, y en una dosis eficaz para el tratamiento previsto. Las dosis terapéuticamente efectivas de los compuestos requeridas para prevenir o detener el progreso de o para tratar una afección médica se determinan fácilmente por un experto habitual en la técnica utilizando enfoques preclínicos y clínicos familiares para las artes medicinales.

Basado en técnicas experimentales de laboratorio estándar y procedimientos bien conocidos y apreciados por los expertos en la técnica, así como comparaciones con compuestos de utilidad conocida, los compuestos descritos anteriormente pueden usarse en el tratamiento de pacientes que padecen las condiciones patológicas anteriores. Un experto en la técnica reconocerá que la selección del compuesto más apropiado de la descripción está dentro de la capacidad de un experto en la técnica y dependerá de varios factores, incluida la evaluación de los resultados obtenidos en ensayos estándar y modelos animales.

En otro aspecto, los compuestos proporcionados en este documento pueden usarse en varios productos biológicos, áreas profilácticas o terapéuticas, incluyendo aquellos en donde uno o más de las $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 8\beta 1$, $\alpha \nu \beta 1$, $\alpha \nu \beta 3$, $\alpha \nu \beta 5$, $\alpha \nu \beta 6$, y $\alpha \nu \beta 8$ integrinas juegan un papel. La divulgación implica además tratar o inhibir afecciones patológicas asociadas a ellas, como la angiogénesis, incluida la angiogénesis tumoral, fibrosis y enfermedades fibróticas tales como fibrosis pulmonar, renal, cardíaca, músculo, y fibrosis hepática, esclerodermia, formación de cicatrices, tales

como retinal, formación de cicatrices corneal y dérmica, retinopatía, incluyendo retinopatía diabética y degeneración macular, vitreorretinopatía, incluyendo retinopatía de prematuridad (ROP) y vitreorretinopatía exudativa familiar (FEVR), osteoporosis, hipercalcemia humoral de tumor maligno, enfermedad de Paget, metástasis tumoral, crecimiento del tumor sólido (neoplasia), artritis, incluyendo artritis reumatoide, enfermedad periodontal, psoriasis, migración de células musculares lisas y reestenosis en un mamífero que necesita dicho tratamiento. De manera adicional, tales agentes farmacéuticos son útiles como agentes antivirales, y antimicrobianos. Además, dichos agentes farmacéuticos son útiles como moduladores del sistema inmunitario mediante inhibición de la activación de TGF- β resultante de la inhibición o antagonización de las integrinas objetivo. Dicha modulación inmune afecta la actividad inmune y las funciones de las células T reguladoras y T efectoras, y como tales pueden ser útiles en el tratamiento de patologías relacionadas con el sistema inmune, incluyendo enfermedades autoinmunes como esclerosis múltiple, así como en el tratamiento de tumores y patógenos infecciosos.

IV. Formulaciones Farmacéuticas y Vías de Administración

Es otro objetivo de la divulgación proporcionar composiciones farmacéuticas que utilizaron uno o más de los compuestos descritos en este documento. Dichas composiciones son útiles para inhibir o antagonizar integrinas, incluyendo, por ejemplo, $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 8\beta 1$, $\alpha v\beta 1$, $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 6$, y $\alpha v\beta 8$ integrinas. En algunas realizaciones, esta divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que tienen un compuesto que es eficaz para inhibir o antagonizar una o más de $\alpha 5\beta 1$, $\alpha 8\beta 1$, $\alpha v\beta 1$, $\alpha v\beta 3$, $\alpha v\beta 5$, $\alpha v\beta 6$ y $\alpha v\beta 8$ integrinas usando uno o más de los compuestos desvelados aquí, así como sus composiciones farmacéuticas. En algunas de estas realizaciones, tales composiciones farmacéuticas comprenden además uno o más no tóxicos, vehículos farmacéuticamente aceptables y/o diluyentes y/o adyuvantes.

Con el fin de administrar a un paciente que necesite dicho tratamiento, formulaciones farmacéuticas (también denominadas preparaciones farmacéuticas, composiciones farmacéuticas, productos farmacéuticos, productos medicinales, medicinas, medicaciones, o medicamentos) comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención formulada con uno o más excipientes y/o vehículos de fármacos apropiados para la vía de administración indicada. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente invención están formulados de manera adecuada para el tratamiento de pacientes humanos y/o veterinarios. En algunas realizaciones, la formulación comprende mezclar o combinar uno o más de los compuestos de la presente invención con uno o más de los siguientes excipientes: lactosa, sacarosa, polvo de almidón, ésteres de celulosa de ácidos alcanóicos, ésteres alquílicos de celulosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de sodio y calcio de ácidos fosfórico y sulfúrico, gelatina, goma arábiga, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, y/o polivinil alcohol. En algunas realizaciones, por ejemplo, para la administración oral, la formulación farmacéutica puede ser comprimida o encapsulada. En algunas realizaciones, los compuestos pueden disolverse o mezclarse en agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, alcohol bencílico, cloruro sódico, y/o varios tampones. Las formulaciones farmacéuticas pueden estar sujetas a operaciones farmacéuticas convencionales, tales como la esterilización y/o pueden contener vehículos de fármacos y/o excipientes tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, agentes encapsulantes como lípidos, dendrímeros, polímeros, proteínas como albúmina, o ácidos nucleicos, y tampones, etc.

Las composiciones farmacéuticas útiles en la presente divulgación pueden estar sujetas a operaciones farmacéuticas convencionales como esterilización y/o pueden contener vehículos farmacéuticos convencionales y excipientes tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, tampones, etc.

Los compuestos de la presente divulgación pueden administrarse por varios métodos, por ejemplo, oralmente o por inyección (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, intraperitoneal, etc.). Dependiendo de la vía de administración, los compuestos activos pueden recubrirse con un material para proteger el compuesto de la acción de los ácidos y otras condiciones naturales que pueden inactivar el compuesto. También pueden administrarse por perfusión/infusión continua de una enfermedad o sitio de la herida.

Para administrar el compuesto terapéutico por una vía distinta a la administración parenteral, puede ser necesario recubrir el compuesto o administrarlo conjuntamente con, un material para impedir su inactivación. Por ejemplo, el compuesto terapéutico se puede administrar a un paciente en un vehículo apropiado, por ejemplo, liposomas o un diluyente. Los diluyentes farmacéuticamente aceptables incluyen soluciones salinas y soluciones acuosas tamponadas. Los liposomas incluyen emulsiones CGF agua-en-aceite-en-agua, así como liposomas convencionales.

El compuesto terapéutico también puede administrarse por vía parenteral, por vía intraperitoneal, intraespinal o intracerebral. Se pueden preparar dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos, y en aceites. En condiciones normales de almacenamiento y uso, estas preparaciones pueden contener un conservante para impedir el crecimiento de microorganismos.

Las composiciones farmacéuticas pueden ser adecuadas para uso inyectable incluyendo soluciones acuosas estériles (donde son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones inyectables estériles o dispersión. En todos los casos, la composición debe ser estéril y debe ser fluida hasta el punto de que pueda inyectarse fácilmente. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y ha de preservarse frente a la acción contaminante de microorganismos, tales como bacterias y hongos. El portador puede

ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (tales como, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. La fluidez adecuada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en el caso de una dispersión y mediante el uso de tensioactivos.

Puede lograrse la prevención de la acción de microorganismos mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, puede ser útil incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio o polialcoholes tales como manitol y sorbitol, en la composición. Puede lograrse la absorción prolongada de las composiciones inyectables incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse incorporando el compuesto terapéutico en la cantidad necesaria en un disolvente adecuado con uno o una combinación de los ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtración. En general, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto terapéutico en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación incluyen secado al vacío y liofilización que produce un polvo de el ingrediente activo (es decir, el compuesto terapéutico) más cualquier ingrediente adicional deseado de una solución previamente filtrada estéril del mismo.

EL compuesto terapéutico puede administrarse por vía oral, por ejemplo, con un diluyente inerte o un transportador comestible asimilable. El compuesto terapéutico y otros ingredientes también puede atraparse en una cápsula de gelatina de vaina dura o blanda, compactarse formando comprimidos o incorporarse directamente a la dieta del sujeto. Para la administración terapéutica oral, el compuesto terapéutico puede incorporarse con excipientes y usarse en la forma de comprimidos ingeribles, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. El porcentaje del compuesto terapéutico en las composiciones y preparaciones puede, por supuesto, variarse. La cantidad de compuesto terapéutico en tales composiciones terapéuticamente útil es tal que se obtendrá una dosificación adecuada.

En algunas realizaciones, es ventajoso formular composiciones parenterales como unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de dosificación unitaria usada en el presente documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto terapéutico calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el transportador farmacéutico necesario. La memoria descriptiva para las formas de unidad de dosificación de la divulgación está dictada por y directamente dependiente de (a) las características únicas del compuesto terapéutico y el efecto terapéutico particular que se va a lograr, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de la composición de tales un compuesto terapéutico para el tratamiento de una condición seleccionada en un paciente.

En algunas realizaciones, el compuesto terapéutico también se puede administrar tópicamente a la piel, ojos o mucosa. Alternativamente, si se desea la entrega local a los pulmones, el compuesto terapéutico puede administrarse por inhalación en una formulación de polvo seco o aerosol.

Los compuestos activos se administran a una dosis terapéuticamente efectiva suficiente para tratar una afección asociada a una afección en un paciente. Por ejemplo, la eficacia de un compuesto puede evaluarse en un sistema modelo animal que puede predecir la eficacia en el tratamiento de la enfermedad en un humano u otro animal, como los sistemas modelo que se muestran en los ejemplos y dibujos.

Se puede extrapolar un rango de dosis efectiva de un agente terapéutico a partir de dosis efectivas determinadas en estudios en animales para varios animales diferentes. En general, se puede calcular una dosis equivalente humana (HED) en mg/kg según la siguiente fórmula (véase, por ejemplo, Reagan-Shaw *et al.*, 2008):

$$\text{HED (mg/kg)} = \text{Dosis animal (mg/kg)} \times (\text{K}_m \text{ Animal} / \text{K}_m \text{ Humano})$$

Uso de los factores K_m en resultados de conversión en valores HED más precisos, que se basan en el área de superficie corporal (BSA) en lugar de solo en la masa corporal. Valores K_m para humanos y varios animales se conocen bien. Por ejemplo, K_m para un humano de 60 kg medio (con BSA de 1,6 m²) es 37, mientras que un niño de 20 kg (BSA 0,8 m²) tendría un K_m de 25. K_m para algunos modelos animales pertinentes también son bien conocidos, incluyendo: K_m de ratones de 3 (dado un peso de 0,02 kg y BSA de 0,007); K_m de hámster de 5 (dado un peso de 0,08 kg y BSA de 0,02); K_m de rata de 6 (dado un peso de 0,15 kg y BSA de 0,025) y K_m de mono de 12 (dado un peso de 3 kg y BSA de 0,24).

Las cantidades precisas de la composición terapéutica dependen del juicio del profesional y son propias de cada individuo. No obstante, una dosis calculada de HED proporciona una guía general. Otros factores que afectan la dosis incluyen el estado físico y clínico del paciente, la vía de administración, el objetivo previsto del tratamiento y la potencia, estabilidad y toxicidad de la formulación terapéutica particular.

La cantidad de dosificación real de un compuesto de la presente divulgación o composición que comprende un compuesto de la presente divulgación administrada a un sujeto puede determinarse por factores físicos y fisiológicos tales como el tipo de animal tratado, la edad, el sexo, el peso corporal, la gravedad de la afección, el tipo de enfermedad a tratar, las intervenciones terapéuticas anteriores o concurrentes, la idiopatía del sujeto y la vía de administración.

5 Estos factores pueden ser determinados por un experto en la materia. El facultativo responsable de la administración determinará la concentración de principio activo (o principios activos) en una composición y la(s) dosis adecuada(s) para el sujeto individual. La dosis puede ser ajustada por el cada médico en caso de cualquier complicación.

10 Una cantidad eficaz normalmente variará de aproximadamente 0,001 mg/kg a aproximadamente 1000 mg/kg, de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 750 mg/kg, de aproximadamente 100 mg/kg a aproximadamente 500 mg/kg, de aproximadamente 1,0 mg/kg a aproximadamente 250 mg/kg, de aproximadamente 10,0 mg/kg a aproximadamente 150 mg/kg en una o más administraciones de dosis diarias, durante uno o varios días (dependiendo, por supuesto, del modo de administración y los factores mencionados anteriormente). Otros intervalos de dosis adecuados incluyen 1 mg a 10000 mg por día, 100 mg a 10000 mg por día, 500 mg a 10000 mg por día y 500 mg a 1500 mg por día. En algunas realizaciones particulares, la cantidad es inferior a 10.000 mg por día con un intervalo de 750 mg a 9000 mg por día.

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

25 En otros ejemplos no limitantes, una dosis también puede comprender de aproximadamente 1 microgramo/kg/peso corporal, aproximadamente 5 microgramos/kg/peso corporal, aproximadamente 10 microgramos/kg/peso corporal, aproximadamente 50 microgramos/kg/peso corporal, aproximadamente 100 microgramos/kg/peso corporal, aproximadamente 200 microgramos/kg/peso corporal, aproximadamente 350 microgramos/kg/peso corporal, aproximadamente 500 microgramos/kg/peso corporal, aproximadamente 1 miligramo/kg/peso corporal, aproximadamente 5 miligramos/kg/peso corporal, aproximadamente 10 miligramos/kg/peso corporal, aproximadamente 50 miligramos/kg/peso corporal, aproximadamente 100 miligramos/kg/peso corporal, aproximadamente 200 miligramos/kg/peso corporal, aproximadamente 350 miligramos/kg/peso corporal, aproximadamente 500 miligramos/kg/peso corporal, a aproximadamente 1000 mg/kg de peso corporal o más por administración y cualquier intervalo que pueda derivarse a partir de los mismos. En ejemplos no limitantes de un intervalo derivable de los números enumerados en el presente documento, un rango de aproximadamente 5 mg/kg/peso corporal a aproximadamente 100 mg/kg/peso corporal, aproximadamente 5 microgramos/kg/peso corporal a aproximadamente 500 miligramos/kg/peso corporal, *etc.*, puede administrarse, basándose en los números descritos anteriormente.

40 En ciertas realizaciones, la composición farmacéutica de la presente divulgación también comprende, por ejemplo, al menos aproximadamente el 0,1 % de un compuesto de la presente divulgación. En otras realizaciones, el compuesto de la presente divulgación puede comprender entre aproximadamente 1 % y aproximadamente 75 % del peso de la unidad, o entre aproximadamente 25 % y aproximadamente 60 %, por ejemplo y cualquier intervalo derivado de los mismos.

45 Se contemplan dosis únicas o múltiples de los agentes. Los intervalos de tiempo deseados para la administración de dosis múltiples se pueden determinar por un experto en la materia que no emplee más que la experimentación rutinaria. Como ejemplo, a los sujetos se les puede administrar dos dosis diarias a intervalos de aproximadamente 12 horas. En algunas realizaciones, el agente se administra una vez al día.

50 El(los) agente(s) se puede(n) administrar en un programa de rutina. Como se usa en el presente documento, un programa de rutina se refiere a un período de tiempo designado predeterminado. El programa de rutina puede abarcar períodos de tiempo idénticos o que difieran en longitud, siempre que el horario esté predeterminado. Por ejemplo, el programa de rutina puede implicar la administración dos veces al día, cada día, cada dos días, cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días, cada seis días, semanalmente, mensualmente o un número determinado de días o semanas entre ellos. Alternativamente, el programa de rutina predeterminado puede incluir la administración dos veces al día durante la primera semana, seguido de una frecuencia diaria durante varios meses, *etc.* En otras realizaciones, la divulgación proporciona que el(los) agente(s) pueden tomarse por vía oral y que el tiempo de espera no depende de la ingesta de alimentos. Por tanto, por ejemplo, el agente puede tomarse todas las mañanas y o todas las noches, independientemente de cuándo el sujeto haya comido o vaya a comer.

V. Terapia de combinación

65 Además de usarse como monoterapia, los compuestos de la presente divulgación también pueden encontrar uso en terapias de combinación. La terapia de combinación efectiva se puede lograr con una composición única o una formulación farmacológica que incluya ambos agentes, o con dos composiciones o formulaciones distintas,

administradas al mismo tiempo, en donde una composición incluye un compuesto de esta divulgación, y la otra incluye el segundo agente(s). Alternativamente, la terapia puede preceder o seguir el tratamiento del otro agente por intervalos que van desde minutos a meses.

- 5 Los ejemplos no limitantes de dicha combinación incluyen la combinación de uno o más compuestos de la divulgación con otro agente, por ejemplo, un agente antiinflamatorio, un agente quimioterápico, radioterapia, un antidepresivo, un agente antipsicótico, un anticonvulsivo, un estabilizador del estado de ánimo, un agente antiinfeccioso, un agente antihipertensivo, un agente reductor del colesterol u otro modulador de lípidos en la sangre, un agente para promover la pérdida de peso, un agente antitrombótico, un agente para tratar o prevenir eventos cardiovasculares como el infarto de miocardio o apoplejía, un agente antidiabético, un agente para reducir el rechazo de trasplantes o la enfermedad de injerto contra huésped, un agente antiartrítico, un agente analgésico, un agente antiasmático u otro tratamiento para enfermedades respiratorias, o un agente para el tratamiento o la prevención de trastornos de la piel. Los compuestos de la divulgación pueden combinarse con agentes diseñados para mejorar la respuesta inmune de un paciente al cáncer, incluidas las vacunas contra el cáncer (pero sin limitación).

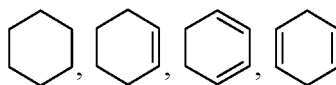
VI. Definiciones

20 Cuando se usa en el contexto de un grupo químico: "hidrógeno" significa -H; "hidroxi" significa -OH; "oxo" significa =O; "carbonilo" significa -C(=O)-; "carboxi" significa -C(=O)OH (también escrito -COOH o -CO₂H); "halo" significa independientemente -F, -Cl, -Br o -I; y "amino" significa -NH₂.

En el contexto de fórmulas químicas, el símbolo "-" significa un enlace sencillo, "=" significa un doble enlace, y "≡" significa triple enlace. El símbolo "----" representa un enlace opcional, que si está presente es sencillo doble. El símbolo "----" representa un enlace sencillo o un doble enlace. Por tanto, por ejemplo, la fórmula



incluye



y



35 Y se entiende que ninguno de estos átomos de anillo forma parte de más de un doble enlace. Además, se observa que el símbolo de enlace covalente cuando se conecta uno o dos átomos estereogénicos, no indica ninguna química estereo preferida. Al contrario, Cubre todos los estereoisómeros y sus mezclas. El símbolo "~~~~", cuando se dibuja

40 perpendicularmente a través un enlace (por ejemplo, ---CH_3 para metilo) indica un punto de unión del grupo. Se observa que el punto de unión se identifica normalmente solo de esta manera para grupos más grandes para ayudar al lector a identificar inequívocamente un punto de unión. El símbolo "◄" significa un enlace sencillo donde el grupo unido al extremo grueso de la cuña está "fuera de la página". El símbolo "||||" significa un enlace sencillo donde el grupo unido al extremo grueso de la cuña está "dentro de la página". El símbolo "~~~~" significa un enlace sencillo donde la geometría alrededor de un doble enlace (por ejemplo, *E* o *Z*) es indefinida. Ambas opciones, así como también las combinaciones de los mismos están destinadas. Cualquier valencia indefinida en un átomo de una estructura mostrada en esta solicitud representa implícitamente un átomo de hidrógeno unido a ese átomo. Un punto en negrita en un átomo de carbono indica que el hidrógeno unido a ese carbono está orientado fuera del plano del papel.

50 Para los grupos químicos y clases de compuestos, El número de átomos de carbono en el grupo o clase es el siguiente: "C_n" define el número exacto (n) de átomos de carbono en el grupo/clase. "C_{≤n}" define el número máximo (n) de átomos de carbono que pueden estar en el grupo/clase, con el número mínimo lo más pequeño posible para el grupo/clase en cuestión, por ejemplo, se entiende que el número mínimo de átomos de carbono en el grupo "alqueno(C_{≤8})" o la clase "alqueno(C_{≤8})" es dos. Compare con "alcoxi(C_{≤10})", que indica grupos alcoxi que tienen de 1 a 10 átomos de carbono. "C_n-n" define tanto el número mínimo (n) como máximo (n') de átomos de carbono en el grupo. 55 Por tanto, "alquilo(C₂₋₁₀)" indica los grupos alquilo que tienen de 2 a 10 átomos de carbono. Estos indicadores de número de carbono pueden preceder o seguir los grupos químicos o la clase que modifica y puede no estar encerrada entre paréntesis, sin significar ningún cambio en el significado. Por tanto, los términos "olefina C5", "olefina C5", "olefina(C5)", y "olefina_{C5}" son todos sinónimos.

El término "saturado" cuando se usa para modificar un compuesto o grupo químico significa que el compuesto o grupo químico no tiene carbono-carbono doble y no tiene triples enlaces carbono-carbono, excepto como se indica a continuación. Cuando el término se usa para modificar un átomo, significa que el átomo no es parte de ningún doble o triple enlace. En el caso de versiones sustituidas de grupos saturados, uno o más enlaces dobles de oxígeno de carbono o un enlace doble de nitrógeno de carbono puede estar presente. Y cuando tal enlace está presente, entonces

- 5 dobles enlaces carbono-carbono que pueden ocurrir como parte del tautomería ceto-enólica o tautomería imina/enamina no se descartan. Cuando el término "saturado" se usa para modificar una solución de una sustancia, significa que no más de esa sustancia puede disolverse en esa solución.
- 10 El término "alifático" cuando se usa sin el modificador "sustituido" significa que el compuesto o grupo químico así modificado es acíclico o cíclico, pero compuesto o grupo hidrocarburo no aromático. En compuestos/grupos alifáticos, los átomos de carbono se pueden unir en cadenas rectas, cadenas ramificadas, o anillos no aromáticos (alíclicos). Los compuestos/grupos alifáticos pueden estar saturados, que están unidos por enlaces carbono-carbono individuales (alcanos/alquilo), o insaturados, con uno o más dobles enlaces carbono-carbono (alquenos/alqueno) o con uno o más
- 15 enlaces triples carbono-carbono (alquinos/alquino).

El término "aromático" cuando se usa para modificar un compuesto o un grupo químico se refiere a un anillo plano insaturado de átomos con $4n + 2$ electrones en un sistema cíclico π totalmente conjugado.

- 20 El término "alquilo" cuando se usa sin el modificador "sustituido" se refiere a un grupo alifático saturado monovalente con un átomo de carbono como punto de unión, una estructura acíclica lineal o ramificada, y no hay átomos distintos de carbono e hidrógeno. Los grupos $-\text{CH}_3$ (Me), $-\text{CH}_2\text{CH}_3$ (Et), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ (*n*-Pr o propilo), $-\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (*i*-Pr, *i*-Pr o isopropilo), $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ (*n*-Bu), $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ (*sec*-butilo), $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ (isobutilo), $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ (*terc*-butilo, *t*-butilo, *t*-Bu o *t*-Bu), y $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_3$ (*neo*-pentilo) son ejemplos no limitativos de grupos alquilo. El término "alcanodiilo" cuando se usa sin el modificador "sustituido" se refiere a un grupo alifático saturado divalente, con uno o dos átomos
- 25 de carbono saturados como punto(s) de unión, una estructura acíclica lineal o ramificada, sin dobles o triples enlaces carbono-carbono, y sin átomos que no sean carbono e hidrógeno. Los grupos $-\text{CH}_2$ - (metileno), $-\text{CH}_2\text{CH}_2$ -, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2$ - y $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ - son ejemplos no limitantes de grupos alcanodiilo. El término "alquilideno" cuando se usa sin el modificador "sustituido" se refiere al grupo divalente $=\text{CRR}'$ en donde R y R' son independientemente hidrógeno o alquilo. Los ejemplos no limitantes de grupos alquilideno incluyen: $=\text{CH}_2$, $=\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)$, y $=\text{C}(\text{CH}_3)_2$. Un
- 30 "alcano" se refiere a la clase de compuestos que tienen la fórmula H-R, en donde R es alquilo como se definió anteriormente este término. Cuando cualquiera de estos términos se usa con el modificador "sustituido", uno o más átomos de hidrógeno ha sido reemplazado por $-\text{OH}$, $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CN}$, $-\text{SH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{NHCH}_3$, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$, o $-\text{S}(\text{O})_2\text{NH}_2$. Los siguientes grupos son ejemplos no limitantes de grupos alquilo sustituidos:
- 35 $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CH}_2\text{CN}$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{OCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_3)_2$, y $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$. El término "haloalquilo" eso su conjunto de alquilo sustituido, en donde el reemplazo de átomo de hidrógeno se limita a halo (es decir $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, o $-\text{I}$) de modo que ningún otro átomo además de carbono, hidrógeno y halógeno está presente. El grupo, $-\text{CH}_2\text{Cl}$ es un ejemplo no limitativo de un
- 40 haloalquilo. El término "fluoroalquilo" es un subconjunto de alquilo sustituido, en donde el reemplazo de átomo de hidrógeno se limita a fluoro de modo que ningún otro átomo además de carbono, hidrógeno y flúor está presente. Los grupos $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CF}_3$, y $-\text{CH}_2\text{CF}_3$ son ejemplos no limitantes de grupos fluoroalquilo.

- El término "alcoxi" cuando se usa sin el modificador "sustituido" se refiere al grupo $-\text{OR}$, en que R es un alquilo, como ese término se define anteriormente. Los ejemplos no limitantes incluyen: $-\text{OCH}_3$ (metoxi), $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$ (etoxi), $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$ (isopropoxi), $-\text{OC}(\text{CH}_3)_3$ (*terc*-butoxi), $-\text{OCH}(\text{CH}_2)_2$, $-\text{O}$ -ciclopentilo, y $-\text{O}$ -ciclohexilo. El término "fluoroalcoxi" cuando se usa sin el modificador "sustituido", se refiere a grupos, definidos como $-\text{OR}$, en donde R es fluoroalquilo. El término "alquiltio" y "aciltio" cuando se usa sin el modificador "sustituido" se refiere al grupo $-\text{SR}$, en donde R es un alquilo y acilo, respectivamente. El término "alcohol" corresponde a un alcano, como se ha definido anteriormente, en donde al menos uno de los átomos de hidrógeno se ha reemplazado por un grupo hidroxilo. El término "éter" corresponde a un alcano, como se ha definido anteriormente, en donde al menos uno de los átomos de hidrógeno se ha reemplazado por un grupo alcoxi. Cuando cualquiera de estos términos se usa con el modificador "sustituido", uno o más átomos de hidrógeno ha sido reemplazado por $-\text{OH}$, $-\text{F}$, $-\text{Cl}$, $-\text{Br}$, $-\text{I}$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NO}_2$, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2\text{CH}_3$, $-\text{CN}$, $-\text{SH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{NHCH}_3$, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NHCH}_3$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{NHC}(\text{O})\text{CH}_3$, $-\text{S}(\text{O})_2\text{OH}$, o $-\text{S}(\text{O})_2\text{NH}_2$.
- 55

El término "eficaz" como se usa este término en la memoria descriptiva y/o reivindicaciones, significa adecuado para lograr un resultado deseado, esperado o previsto. "Cantidad eficaz", "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" cuando se usa en el contexto del tratamiento de un paciente o sujeto con un compuesto significa la cantidad del compuesto que, cuando se administra a un sujeto o paciente para tratar una enfermedad, es suficiente para llevar a cabo dicho tratamiento contra la enfermedad.

- Como se usa en este documento, el término " CI_{50} " se refiere a una dosis inhibitoria que es el 50 % de la respuesta máxima obtenida. Esta medida cuantitativa indica qué cantidad de un fármaco particular u otra sustancia (inhibidor) se necesita para inhibir un determinado producto biológico, proceso bioquímico o químico (o componente de un proceso, es decir una enzima, célula, receptor celular o microorganismo) a la mitad.
- 65

Un "isómero" de un primer compuesto es un compuesto separado en el que cada molécula contiene los mismos átomos constituyentes que el primer compuesto, pero donde la configuración de esos átomos en tres dimensiones difiere.

Como se usa en este documento, el término "paciente" o "sujeto" se refiere a un organismo mamífero vivo, tal como un ser humano, mono, vacas, ovejas, cabra, perros, gato, ratón, rata, un cerdo de guinea o especies transgénicas de los mismos. En ciertas realizaciones, el paciente o sujeto es un primate. Los ejemplos no limitantes de sujetos humanos son adultos, juveniles, niños y fetos.

Como se usa generalmente en este documento, "farmacéuticamente aceptable" se refiere a los compuestos, materiales, composiciones y/o formas farmacéuticas que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuado para usar en contacto con los tejidos, órganos, y/o fluidos corporales de seres humanos y animales sin toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica u otros problemas o complicaciones proporcionales a una relación beneficio/riesgo razonable.

"Sales farmacéuticamente aceptables" significa sales de compuestos de la presente divulgación que son farmacéuticamente aceptables, como se ha definido anteriormente, poseen la actividad farmacológica deseada. Dichas sales incluyen sales de suplementos de ácidos formados con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similar; o con ácidos orgánicos tales como ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido 4,4'-metilenobis(3-hidroxi-2-eno-1-carboxílico), ácido 4-metilbicyclo[2.2.2]oct-2-eno-1-carboxílico, ácido acético, ácidos alifáticos mono y dicarboxílicos, ácido sulfúricos alifáticos, ácido sulfúricos aromáticos, ácido benzenosulfónico, ácido benzoico, ácido alcanforsulfónico, ácido carbónico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido etanosulfónico, ácido fumárico, ácido glucoheptónico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido glicólico, ácido heptanoico, ácido hexanoico, ácido hidroxinaftoico, ácido láctico, ácido laurilsulfúrico, ácido maleico, ácido málico, ácido malónico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido mucónico, ácido *o*-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido oxálico, ácido *p*-clorobenzenosulfónico, ácidos alcanóicos sustituidos con fenilo, ácido propiónico, ácido *p*-toluenosulfónico, ácido pirúvico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido terc-butilacético, ácido trimetilacético, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables también incluyen sales de adición de bases que pueden formarse cuando los protones ácidos presentes son capaces de reaccionar con bases orgánicas o inorgánicas. Bases inorgánicas aceptables que incluyen hidróxido sódico, carbonato sódico, hidróxido potásico, hidróxido de aluminio e hidróxido de calcio. Bases orgánicas aceptables incluyen etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina, *N*-metilglucamina y similares. Debe reconocerse que el anión o catión particular que forma parte de cualquier sal de la presente divulgación no es crítico, siempre que la sal, como un todo, sea farmacológicamente aceptable. Se presentan ejemplos adicionales de sales farmacéuticamente aceptables y sus métodos de preparación y uso en Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, and Use (P. H. Stahl & C. G. Wermuth eds., Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002).

La expresión "vehículo farmacéuticamente aceptable", como se usa en este documento significa un material farmacéuticamente aceptable, composición o vehículo, tal como una carga líquida o sólida, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación, implicado en llevar o transportar un agente químico.

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

"Profármaco" significa un compuesto que es convertible *in vivo* metabólicamente en un inhibidor según la presente divulgación. El profármaco en sí mismo puede no tener tampoco actividad con respecto a una proteína diana dada. Por ejemplo, un compuesto que comprende un grupo hidroxilo puede administrarse como un éster que se convierte por hidrólisis *in vivo* al hidroxilo compuesto. Ésteres adecuados que pueden convertirse *in vivo* en hidroxilo compuestos incluyen acetatos, citratos, lactatos, fosfatos, tartratos, malonatos, oxalatos, salicilatos, propionatos, succinatos, fumaratos, maleatos, metileno-bis-β-hidroxinaftoato, gentisatos, isetionatos, di-*p*-toluilitartratos, metanosulfonatos, etanosulfonatos, benzenosulfonatos, *p*-toluenosulfonatos, ciclohexilsulfamatos, quinatos, ésteres de aminoácidos, y similares. Igualmente, un compuesto que comprende un grupo amina puede administrarse como una amida que se convierte por hidrólisis *in vivo* en el amino compuesto.

Un "estereoisómero" o "isómero óptico" es un isómero de un compuesto dado en donde los mismos átomos están unidos a los mismos otros átomos, pero donde la configuración de esos átomos en tres dimensiones difiere. Los "enantiómeros" son estereoisómeros de un compuesto dado que son imágenes especulares entre sí, como las manos izquierda y derecha. Los "diastereómeros" son estereoisómeros de un compuesto dado que no son enantiómeros. Las moléculas quirales contienen un centro quiral, también conocido como estereocentro o centro estereogénico, que es cualquier punto, aunque no necesariamente un átomo, en una molécula que lleva grupos tales que un intercambio de cualquiera de los dos grupos conduce a un estereoisómero. En compuestos inorgánicos, el centro quiral es

frecuentemente un carbono, átomo de fósforo azufre, aunque también es posible que otros átomos sean estereocentros en compuestos orgánicos e inorgánicos. Una molécula puede tener múltiples estereocentros, dándole muchos estereoisómeros. En compuestos cuyo estereoisomerismo se deba a centros estereogénicos tetraédricos (por ejemplo, carbono tetraédrico), el número total de estereoisómeros hipotéticamente posibles no excederá 2^n , donde n es el número de estereocentros tetraédricos. Las moléculas con simetría frecuentemente tienen menos del número máximo posible de estereoisómeros. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina mezcla racémica. Alternativamente, una mezcla de enantiómeros puede enriquecerse enantioméricamente para que un enantiómero esté presente en una cantidad superior a 50 %. Normalmente, enantiómeros y/o diastereómeros pueden resolverse o separarse mediante técnicas conocidas en la técnica. Se contempla que para cualquier estereocentro o eje de quiralidad cuya estereoquímica no se haya definido, ese estereocentro o eje de quiralidad puede estar presente en su forma *R*, forma *S*, o como una mezcla de formas *R* y *S*, incluyendo mezclas racémicas y no racémicas. Como se usa en este documento, la frase "sustancialmente libre de otros estereoisómeros" significa que la composición contiene ≤ 15 %, más preferentemente ≤ 10 %, incluso más preferentemente ≤ 5 %, o más preferentemente ≤ 1 % de otro(s) estereoisómero(s).

"Sustituyente convertible en hidrógeno *in vivo*" significa cualquier grupo que sea convertible en un átomo de hidrógeno por medios enzimáticos o químicos incluyendo, pero sin limitación, hidrólisis e hidrogenólisis. Los ejemplos incluyen grupos hidrolizables, tales como grupos acilo, grupos que tienen un grupo oxicarbonilo, restos de aminoácido, residuos peptídicos, *o*-nitrofenilsulfenilo, trimetilsililo, tetrahidropiraniilo, difenilfosfinilo, y similares. Ejemplos de grupos acilo incluyen formilo, acetilo, trifluoroacetilo, y similares. Ejemplos de grupos que tienen un grupo oxicarbonilo incluyen etoxicarbonilo, *tert*-butoxicarbonilo ($-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), benciloxicarbonilo, *p*-metoxibenciloxicarbonilo, viniloxicarbonilo, β -(*p*-toluenosulfonil)etoxicarbonilo, y similares. Residuos de aminoácidos adecuados incluyen, pero sin limitación, residuos de Gly (glicina), Ala (alanina), Arg (arginina), Asn (asparagina), Asp (ácido aspártico), Cys (cisteína), Glu (ácido glutámico), His (histidina), Ile (isoleucina), Leu (leucina), Lys (lisina), Met (metionina), Phe (fenilalanina), Pro (prolina), Ser (serina), Thr (treonina), Trp (triptófano), Tyr (tirosina), Val (valina), Nva (norvalina), Hse (homoserina), 4-Hyp (4-hidroxiprolina), 5-Hyl (5-hidroxilisina), Om (ornitina) y β -Ala. Ejemplos de residuos de aminoácidos adecuados también incluyen residuos de aminoácidos que están protegidos con un grupo protector. Ejemplos de grupos protectores adecuados incluyen aquellos específicos empleados en síntesis de péptidos, incluyendo grupos ácido (tales como formilo y acetilo), grupos arilmetoxicarbonilo (tales como benciloxicarbonilo y *p*-nitrobenciloxicarbonilo), grupostert-butoxicarbonilo ($-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), y similares. Los residuos de péptidos adecuados incluyen residuos de péptidos que comprenden de dos a cinco residuos de aminoácidos. Los residuos de estos aminoácidos o péptidos pueden estar presentes en configuraciones estereoquímicas de la forma D, la forma L o sus mezclas. Además, el residuo de aminoácido o péptido puede tener un átomo de carbono asimétrico. Ejemplos de residuos de aminoácidos adecuados que tienen un átomo de carbono asimétrico incluyen residuos de Ala, Leu, Phe, Trp, Nva, Val, Met, Ser, Lys, Thr y Tyr. Los residuos de péptidos que tienen un átomo de carbono asimétrico incluyen los residuos de péptidos que tienen uno o más residuos de aminoácidos constituyentes que tienen un átomo de carbono asimétrico. Ejemplos de grupos protectores de aminoácidos adecuados incluyen aquellos específicos empleados en la síntesis de péptidos, incluyendo grupos ácido (tales como formilo y acetilo), grupos arilmetoxicarbonilo (tales como benciloxicarbonilo y *p*-nitrobenciloxicarbonilo), grupostert-butoxicarbonilo ($-\text{C}(\text{O})\text{OC}(\text{CH}_3)_3$), y similares. Other ejemplos de sustituyentes "convertibles en hidrógeno *in vivo*" incluyen grupos hidrogenolizables eliminables reductivamente. Ejemplos de grupos hidrogenolizables eliminables reductivamente adecuados incluyen, pero sin limitación, grupos arilsulfonilo (tales como *o*-toluenosulfonilo); grupos metilo sustituido con fenilo o benciloxi (tales como bencilo, trilito y benciloximetilo); grupos arilmetoxicarbonilo (tales como benciloxicarbonilo y *o*-metoxi-benciloxicarbonilo); y grupos haloetoxicarbonilo (tales como β , β , β -tricloroetoxicarbonilo y β -yodoetoxicarbonilo).

"Tratamiento" o "tratar" incluye (1) inhibir una enfermedad en un sujeto o paciente que experimenta o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad (por ejemplo, detener el desarrollo de la patología y/o sintomatología), (2) mejorar una enfermedad en un sujeto o paciente que está experimentando o muestra la patología o sintomatología de la enfermedad (por ejemplo, revertir la patología y/o sintomatología), y/o (3) efectuar cualquier disminución medible en una enfermedad en un sujeto o paciente que está experimentando o que muestra la patología o la sintomatología de la enfermedad.

Otras abreviaturas utilizadas en este documento son las siguientes: RMN ^1H es resonancia magnética nuclear protón, AcOH es ácido acético, Ar es argón, ACN o CH_3CN es acetonitrilo, análisis CHN es análisis elemental de carbono/hidrógeno/nitrógeno, análisis CHNCl es análisis elemental de carbono/hidrógeno/nitrógeno/cloro, análisis CHNS es análisis elemental de carbono/hidrógeno/nitrógeno/azufre, DI agua es agua desionizada, DIC es diisopropil carbodiimida, DMA es *N,N*-dimetilacetamida, DMAP es 4-(*N,N*-dimetilamino)piridina, DMF es *N,N*-dimetilformamida, EDCI es 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida clorhidrato, EtOAc es acetato de etilo, EtOH es etanol, FAB MS es espectroscopía de masas de bombardeo atómico rápido, g es gramo(s), HOBT es 1-hidroxibenzotriazol hidrato, HPLC es cromatografía líquida de alto rendimiento, IBCF es iso-butilcloroformiato, KSCN es tiocianato potásico, L es litro, LiOH es hidróxido de litio, MEM es metoxietoximetilo, MEMCl es cloruro de metoxietoximetilo, MeOH es metanol, mg es miligramo, MgSO_4 es sulfato de magnesio, ml es mililitro, ml es mililitro, MS es espectroscopía de masas, MTBE es metil *tert*-butil éter, N_2 es nitrógeno, NaHCO_3 es bicarbonato sódico, NaOH es hidróxido sódico, Na_2SO_4 es sulfato sódico, NMM es *N*-metilmorfolina, NMP es *N*-metil pirrolidinona, RMN es resonancia magnética nuclear, P_2O_5 es pentóxido de fósforo, PTSA es ácido para-toluenosulfónico, RPHPLC es cromatografía líquida de alto rendimiento fase inversa, RT es temperatura ambiente, TFA es ácido trifluoroacético, THF es tetrahidrofurano, TMS es trimetilsililo, y Δ

significa calentar la mezcla de reacción.

VII. Ejemplos

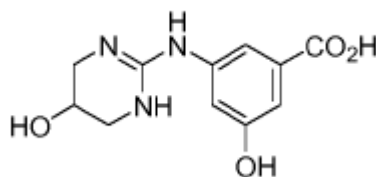
5 A. Instrumentación y métodos generales.

Los análisis analíticos de HPLC se realizaron en un sistema Agilent 1100 y los análisis LC-MS se realizaron en el sistema Agilent 1100 Series LC/MSD. Las purificaciones preparativas de HPLC de fase inversa se realizaron en un sistema Biotage SP4 HPFC usando un detector UV variable de doble longitud de onda en una columna Biotage KP-C18-HS 120 g SNAP usando un gradiente de acetonitrilo/agua que contenía 0,05% de TFA. Todos los compuestos finales se analizaron por HPLC analítica y los picos se monitorizaron a 210, 254 y 280 nM para determinar la pureza. Espectros RMN ^1H y ^{19}F se registraron en DMSO- d_6 en un espectrómetro Bruker *Avance-III*/400 MHz equipado con una sonda Broad Band RMN. La señal del disolvente deuterado se usa como referencia interna. The desplazamientos químicos se expresan en ppm (δ) y constantes de acoplamiento (J) se informan en hercios (Hz). RMN ^{19}F detecta una señal para la sal TFA de productos finales (~74 ppm) procedente de TFA en los disolventes de HPLC de preparación durante la purificación final. Las reacciones se realizaron en una atmósfera de nitrógeno seco a menos que se indique otra cosa.

20 B. Preparación de compuestos

Ejemplo A

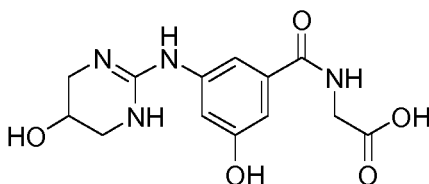
Preparación de ácido 3-Hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)aminobenzoico



Ácido 3-Hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)aminobenzoico se sintetizó según procedimientos bibliográficos (véase Organic Process Research & Development, 8:571-575, 2004).

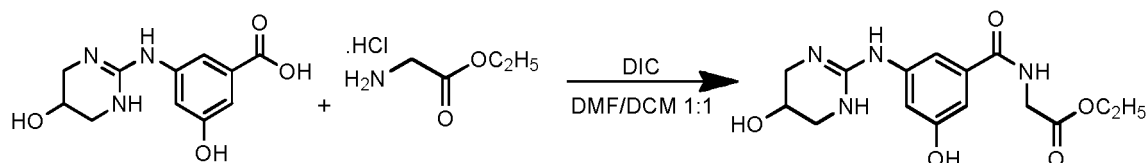
30 Ejemplo B

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

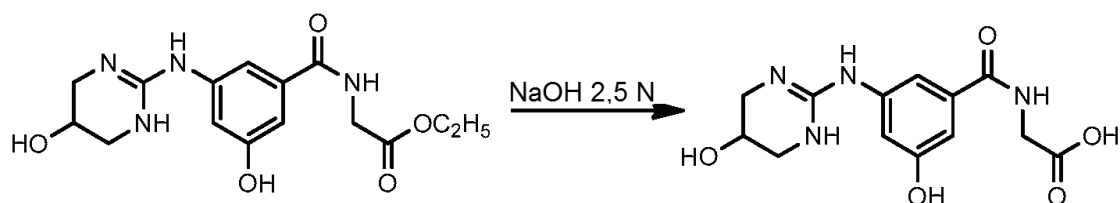


Ácido 2-(3-Hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético se preparó según el siguiente procedimiento:

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



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

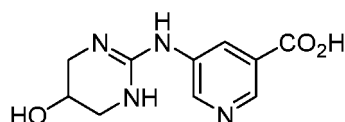


La mezcla cruda anterior de reacción se enfrió a 10 °C (baño hielo) y una solución 2,5 N NaOH (90,0 ml) se añadió lentamente con agitación, la temperatura de solución se mantuvo inferior a 20 °C, para dar una solución/suspensión amarillo pálido. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. La mezcla de reacción se acidificó con HCl 5N con agitación a pH 5 para dar un precipitado incoloro y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante otros 15 min y se filtró para dar un sólido incoloro. El sólido se lavó con agua (1 x25 ml) y después con acetonitrilo (1 x25 ml). El sólido se secó *al vacío* para dar un polvo incoloro (9,686 g, rendimiento 88 %).

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

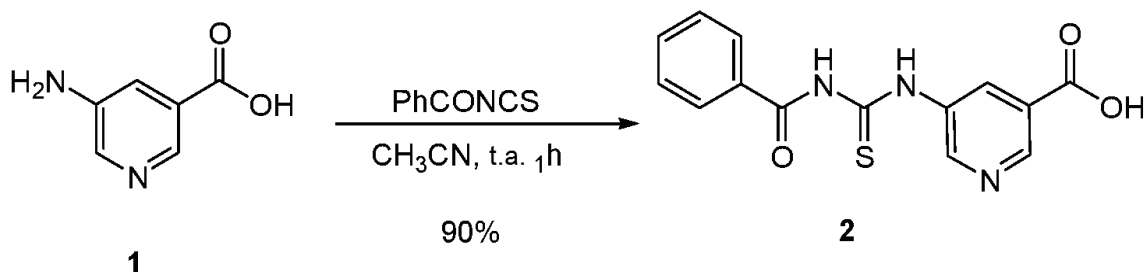
Ejemplo C

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



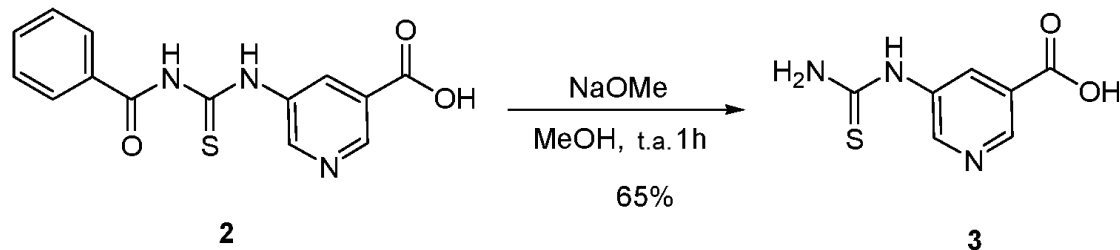
Ácido 5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino) nicotínico se preparó según el siguiente procedimiento:

Etapa 1



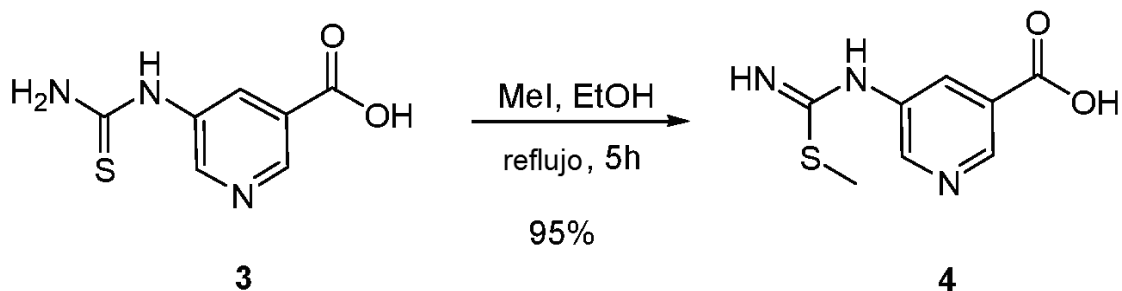
Una mezcla de **compuesto 1** (40 g, 0,3 mol) y benzoilisotiocianato (95 g, 0,58 mol) en CH₃CN (2,0 l) se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. TLC no mostró material inicial restante. El precipitado se filtró y se lavó con CH₃CN, secó para proporcionar **Compuesto 2** (80 g, 90 %) como un sólido amarillo claro.

Etapa 2



En una solución agitada de **compuesto 2** (80 g, 0,27 mol) en CH₃OH anhidro (500 ml) se añadió NaOMe (28,5 g, 0,53 mol) lentamente a temperatura ambiente. Una solución clara resultó en 20 minutos, y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. El residuo se retiró y el residuo se trituró con t-BuOMe para dejar un polvo amarillo claro. El polvo se diluyó con H₂O, acidificó a pH=2-3. Sólido amarillo formado se filtró, secó para proporcionar **Compuesto 3** (33,7 g, 65 %).

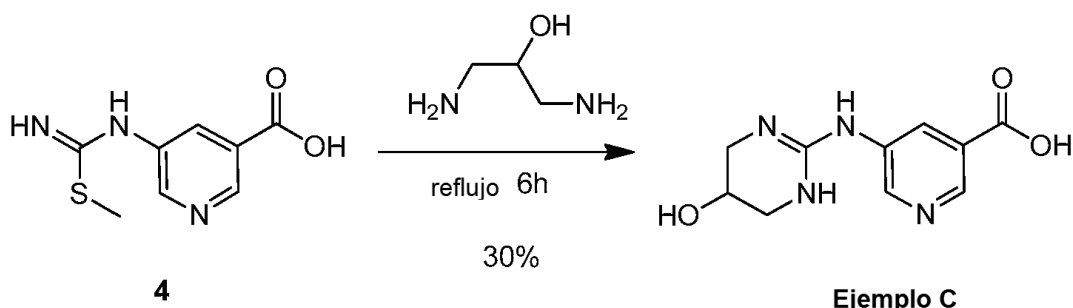
Etapa 3



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

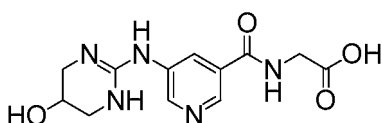
Etapa 4

10



- 15 Una mezcla de **compuesto 4** (15,5 g, 0,074 mol) y el hidroxí diamino propano (20 g, 0,22 mol) en DMF (100 ml) se calentó a reflujo y agitó durante 5 h. El sólido formado se filtró y secó. **Ejemplo C** (5,2 g, 30 %) se obtuvo como un sólido blanco.

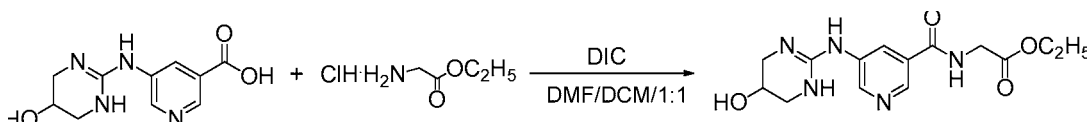
LC/MS ($M+H=237$) es consistente para el producto deseado. ^1H RMN: $\text{DMSO}-d_6$ 400 MHz δ 13,053 (s, 1H), 9,881 (s, 2H), 8,783 (s, 1H), 8,630 (s, 1H), 7,897 (s, 1H), 5,492 (s, 1H), 4,112 (s, 1H), 3,410 (s, 2H), 3,228-3,190 (m, 2H).

20 **Ejemplo D****Preparación de ácido 2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acético**

- 25 Ácido 2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil] amino] acético se preparó según el siguiente procedimiento:

Etapa 1

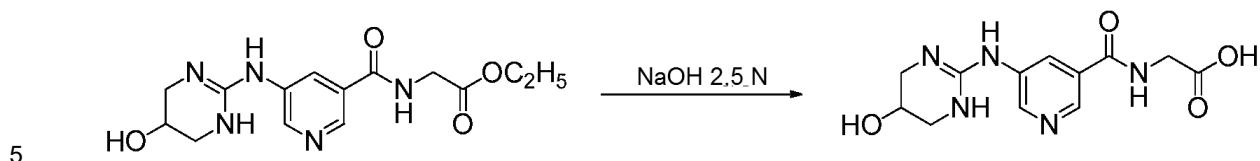
30



- 35 A una suspensión de ácido 5-((5-Hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)nicotínico (1,20 g, 5,08 mmol) en una mezcla 1:1 de DMF (10,0 ml) y DCM (10,0 ml) se añadió éster etílico glicina clorhidrato (0,798 g, 5,717 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida pura (1,10 ml, 7,104 mmol) se añadió a mezcla de reacción anterior y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche para dar a una suspensión incolora a crema. El disolvente se evaporó *al vacío* para proporcionar un residuo viscoso amarillo pálido. Análisis LC-MS del residuo muestra la masa deseada de producto: m/z 322 ($M+H$), m/z 344 ($M+Na$) y m/z 643 ($2M+H$ Calculado para $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_4$:321,33. El producto crudo se usó como tal en la

siguiente etapa para saponificación del éster anterior.

Etapa 2



Ejemplo D

10 El producto crudo anterior se disolvió en una mezcla de DMF/DCM (1:1) (10 ml) y la solución se enfrió a 10 °C (baño hielo) y una solución 2,5 N NaOH (10,0 ml) se añadió lentamente con agitación, la temperatura de solución se mantuvo inferior a 20 °C, para dar una solución amarillo pálido. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se acidificó con HCl 5N con agitación a pH 5 para dar una solución amarillo-naranja. La mezcla se diluyó con DCM (25 ml) y las capas orgánica y acuosa se separaron. La capa acuosa se evaporó *al vacío* para dar un sólido gomoso amarillo. El producto crudo se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 15 10-40 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado como sólido gomoso incoloro a amarillo. El sólido se trituró con acetonitrilo para dar un sólido cristalino incoloro a amarillo pálido que se recrystalizó en metanol para proporcionar un sólido crema (869,3 mg, rendimiento 59 %). Análisis LC-MS del sólido muestra masa de producto deseada: *m/z* 294 (M+H), y *m/z* 316 (M+Na); Calculado para C₁₂H₁₅N₅O₄:293,28. RMN ¹H (400 MHz, D₂O): δ 3,19 (dd, J = 12,47 y 3,67 Hz, 2H), 3,37 (dd, J = 12,47 y 2,93 Hz, 2H), 3,96 (s, 2H), 4,11 (m, 1H), 8,12 (t, J = 2,20 Hz, 1H), 8,64 (d, J = 2,45 Hz, 1H), 8,90 (d, J = 1,96 Hz, 1H). Espectro RMN ¹H del compuesto fue consistente con la estructura sugerida del producto como Ejemplo D.

20

Beta aminoácidos y sus correspondientes beta amino ésteres intermedios

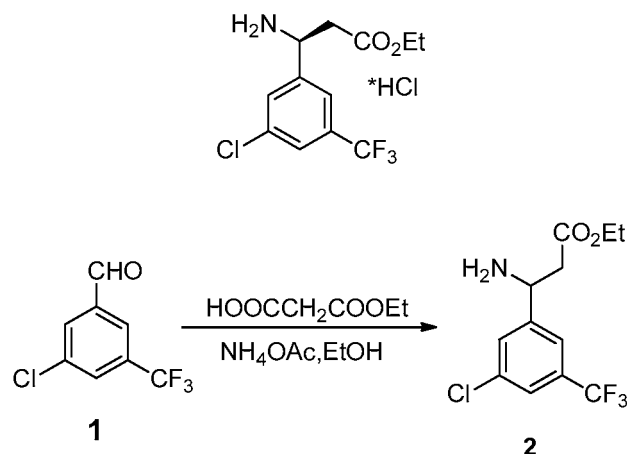
25 Los beta aminoácidos y sus beta amino ésteres intermedios correspondientes utilizados como materiales de partida y reactivos en síntesis de ejemplos 1 - 17 pueden sintetizarse como se describe en Esquema III anterior. En resumen, dichos beta aminoácidos y ésteres pueden sintetizarse del benzaldehído y en las condiciones indicadas. Alternativamente, el benzaldehído apropiado puede hacerse reaccionar con malonato de mono-etilo o metilo para 30 producir beta amino éster etílico racémico directamente. A continuación se describen ejemplos usando tales métodos alternativos. A menos que se ejemplifique lo contrario, todos los benzaldehídos pertinentes están disponibles comercialmente o pueden sintetizarse fácilmente a partir del bromuro de fenilo apropiado, n-BuLi y DMF por métodos conocidos por expertos en la materia. Como se señaló en el Esquema III, los beta amino ésteres racémicos correspondientes pueden convertirse al enantiómero deseado (S) mediante separación cromatográfica quiral de fluido 35 supercrítico o mediante escisión enzimática selectiva de (S) beta amino éster con Amano Lipase PS (Sigma Aldrich) al (S) beta amino ácido aislado fácilmente, que después puede convertirse en (S) éster y usarse como tal para la síntesis de los ejemplos 1-17 desvelados aquí.

Los siguientes son métodos representativos que ejemplifican varios procedimientos generales utilizados en varios pasos en la formación de todos los beta amino ésteres intermedios utilizados en la síntesis de ejemplos 1-17 que 40 siguen, y están destinados a ilustrar la utilidad general de tales métodos:

Ejemplo E

Preparación de (3S)-3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]propanoato de etilo clorhidrato

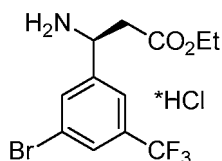
45



NH₄OAc (1,33 g, 0,12 mol), HOOCCH₂COOEt (4,5 g, 0,034 mol) y benzaldehído **1** (3,6 g, 0,017 mol) en EtOH (30 ml) se agitaron a 70 °C durante 6 h. La mezcla se concentró y se ajustó a pH=7,5 mediante la adición de NaHCO₃ ac. La mezcla se extrajo con EtOAc (3x50 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera, secó con Na₂SO₄ y concentró a sequedad para dar un aceite. El producto crudo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para dar compuesto racémico **2** (1,5 g, 29,4 %). El enantiómero (S), Ejemplo E, se aisló usando procedimientos de resolución enzimática descritos para Ejemplo F (posterior).

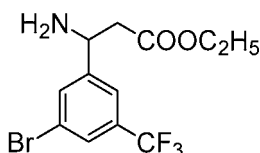
Ejemplo F

Preparación de (3S)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]propanoato de etilo clorhidrato



Etapa 1

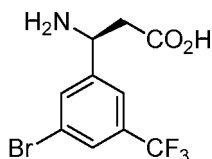
Preparación de 3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]propanoato de etilo racémico



(rac)-3-Amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]propanoato de etilo se preparó según el método descrito para la preparación del Ejemplo E, sustituyendo 3-bromo-5-trifluorometil benzaldehído por 3-cloro-5-trifluorometil benzaldehído.

Etapa 2

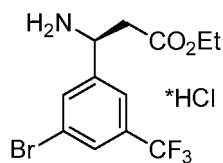
Preparación de ácido (3S)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]propanoico



Resolución enzimática de la mezcla racémica: Una suspensión de (rac)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]propanoato de etilo (570,0 mg, 1,676 mmol) en solución 50 mM KH₂PO₄ (30,0 ml) se agitó a temperatura ambiente y el pH de la capa acuosa se ajustó a pH 8,32 mediante la adición de solución 1,0 N NaOH y solución 50 mM KH₂PO₄. Amano Lipase PS (625,0 mg) se añadió a la suspensión anterior y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla se diluyó con MTBE (25 ml) y mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h para extraer el (R)-éster. La capa MTBE conteniendo el (R)-éster se descartó después de analizar por LC-MS. Evaporación de la capa acuosa *al vacío* dio un sólido crema conteniendo el (S)-ácido así como Amano Lipase y sal tampón fosfato. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-60 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado como sólido vítreo incoloro (231,0 mg). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 312 (⁷⁹BrM+H), *m/z* 314 (⁸¹BrM+H), *m/z* 334 (⁷⁹BrM+Na), y *m/z* 336 (⁸¹BrM+Na); Calculado para C₁₀H₉BrF₃NO₂: 312,08. La sal TFA aislada del (S)-ácido se usó como tal para la preparación del (S)-éster.

Etapa 3

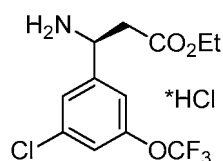
Preparación de (3S)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo F)



A una solución de ácido (3S)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]propanoico sal TFA de etapa 2 anterior (231,0 mg, 0,542 mmol) en etanol absoluto (3 ml) se añadió alcohol etílico absoluto saturado con HCl gas seco (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. La evaporación del disolvente *al vacío* dio un sólido cristalino incoloro, (Ejemplo F) (198,5 mg, 97 %). Análisis LC-MS del sólido muestra masa de producto deseada: m/z 340 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 342 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 362 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{Na}$), y m/z 364 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{BrF}_3\text{NO}_2$: 340,14.

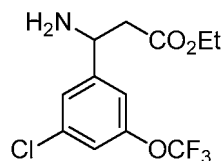
10 Ejemplo G

Preparación de (3S)-3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil] propanoato de etilo clorhidrato



Etapa 1

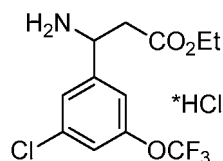
Preparación de 3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo racémico



Una solución de una mezcla de 3-cloro-5-(trifluorometoxi)benzaldehído (1,05 g, 4,676 mmol) malonato de mono-etilo (1,54 g, 11,69 mmol) y acetato amónico (1,985 g, 25,75 mmol) en etanol absoluto (30 ml) se calentó a 80 °C durante una noche para dar una solución incolora. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó *al vacío* para dar un líquido viscoso amarillo. El residuo se repartió entre solución saturada acuosa NaHCO_3 (50 ml) y acetato de etilo (50 ml), la capa orgánica se retiró, secó sobre sulfato sódico anhidro, filtró y evaporó *al vacío* para dar un líquido viscoso amarillo-marrón (1,56 g). Análisis LC-MS del producto crudo muestra masa deseada de producto: m/z 312 ($^{35}\text{Cl}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 314 ($^{37}\text{Cl}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 334 ($^{35}\text{Cl}^+\text{M}+\text{Na}$), y m/z 336 ($^{37}\text{Cl}^+\text{M}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{ClF}_3\text{NO}_3$: 311,68. LC-MS también mostró el subproducto: masa de (E)-3-(3-cloro-5-(trifluorometoxi) fenil)acrilato de etilo: m/z 295 ($^{35}\text{Cl}^+\text{M}+\text{H}$), y m/z 297 ($^{37}\text{Cl}^+\text{M}+\text{H}$); Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ClF}_3\text{O}_3$: 294,65. A una solución del residuo crudo en etanol absoluto (2 ml) se añadió una solución 2,0 M de HCl en éter dietílico (10,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h para dar una solución amarilla. El residuo después de evaporación de los disolventes se repartió entre agua (25 ml) y diclorometano (50 ml). Las capas orgánica y acuosa se separaron. La capa acuosa se evaporó *al vacío* para proporcionar un residuo gomoso incoloro. El residuo se purificó por HPLC de fase inversa preparativa con un gradiente 10-70 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA. La mezcla de fracciones puras se evaporó *al vacío* para proporcionar el producto deseado como sólido cristalino incoloro (347,2 mg, rendimiento 24 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: m/z 312 ($^{35}\text{Cl}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 314 ($^{37}\text{Cl}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 334 ($^{35}\text{Cl}^+\text{M}+\text{Na}$), y m/z 336 ($^{37}\text{Cl}^+\text{M}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{ClF}_3\text{NO}_3$: 311,68

Etapa 2

Preparación de 3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo racémico clorhidrato

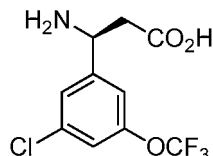


A una solución de (rac)-3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo sal TFA de anterior (347,2 mg, 0,816 mmol) en etanol absoluto (2 ml) se añadió alcohol etílico absoluto saturado con HCl gas seco (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La evaporación del disolvente *al vacío* dio un sólido

gomoso incoloro. El sólido se suspendió con hexanos (2x10 ml), la capa de disolvente se decantó y el residuo se secó *al vacío* para proporcionar un sólido cristalino incoloro (270,7 mg, rendimiento 95 %). Análisis LC-MS del sólido muestra masa de producto deseada: m/z 312 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$), m/z 314 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$), m/z 334 ($^{35}\text{ClM}+\text{Na}$), y m/z 336 ($^{37}\text{ClM}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{ClF}_3\text{NO}_3$: 311,68 ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 1,08 (t, $J=7,1$ Hz, 3H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 3,06 (dd, $J=16,1$ y 8,8 Hz, 1H, CHH-C=O-), 3,20 (dd, $J=16,4$ y 10,3 Hz, 1H, -CHH-C=O-), 4,01 (c, $J=7,1$ y 2,0 Hz, 2H, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 4,72 (m, 1H, $\text{-NH}_2\text{-CH-CH}_2\text{-C=O-}$), 7,62 (s, 1H, H-2), 7,64 (s, 1H, H-6), 7,80 (s, 1H, H-4), 8,87 (s a, 3H, $\text{-NH}_2\cdot\text{HCl}$). Espectro RMN ^1H del sólido fue consistente con la estructura sugerida del producto.

Etapa 3

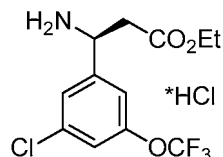
Preparación de ácido (3S)-3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoico



Resolución enzimática de la mezcla racémica: Una suspensión de (rac)-3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo clorhidrato (185,30 mg, 0,532 mmol) en solución 50 mM KH_2PO_4 (25,0 ml) se agitó a temperatura ambiente y el pH de la capa acuosa se ajustó a pH 8,32 mediante la adición de solución 1,0 N NaOH y solución 50 mM KH_2PO_4 . Amano Lipase PS (201,0 mg) se añadió a la suspensión anterior y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla se diluyó con MTBE (25 ml) y mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h para extraer el (R)-éster. La capa MTBE conteniendo el (R)-éster se descartó después de analizar por LC-MS. Evaporación de la capa acuosa *al vacío* dio un sólido crema conteniendo el (S)-ácido así como Amano Lipase y sal tampón fosfato. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-70 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado como sólido vítreo incoloro (83,1 mg). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: m/z 284 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$), m/z 286 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$), m/z 306 ($^{35}\text{ClM}+\text{Na}$), y m/z 308 ($^{37}\text{ClM}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{ClF}_3\text{NO}_3$: 283,63. La sal TFA aislada del (S)-ácido se usó como tal para la preparación del (S)-éster.

Etapa 4

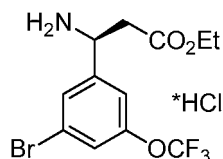
Preparación de (3S)-3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo G)



A una solución de ácido (S)-3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoico sal TFA de Etapa 3 anterior (83,0 mg, 0,209 mmol), en etanol absoluto (2,0 ml), se añadió alcohol etílico absoluto saturado con HCl gas seco (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h para dar una solución incolora. Análisis LC-MS de mezcla de reacción después de 1 h muestra el producto deseado: masa de (3S)-3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo: m/z 312 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$), m/z 314 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$), m/z 334 ($^{35}\text{ClM}+\text{Na}$), y m/z 336 ($^{37}\text{ClM}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{ClF}_3\text{NO}_3$: 311,68. El disolvente se evaporó *al vacío* para proporcionar la sal HCl deseada del éster (Ejemplo G) como sólido cristalino incoloro (68,70 mg, rendimiento 94 %).

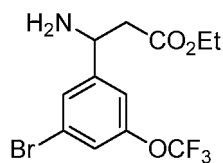
Ejemplo H

Preparación de (3S)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo clorhidrato



Etapa 1

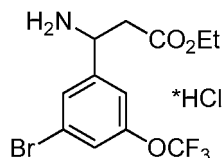
Preparación de 3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo racémico



Una solución de una mezcla de 3-bromo-5-(trifluorometoxi)benzaldehído (1,05 g, 3,90 mmol) malonato de mono-etilo (1,31 g, 9,91 mmol) y acetato amónico (1,68 g, 21,79 mmol) en etanol absoluto (25 ml) se calentó a 80 °C durante 5 h para dar una solución incolora. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el disolvente se evaporó *al vacío* para dar un líquido viscoso incoloro. El residuo se repartió entre solución acuosa saturada NaHCO₃ (50 ml) y acetato de etilo (50 ml), la capa orgánica se retiró, secó sobre sulfato sódico anhidro, filtró y evaporó *al vacío* para dar un líquido viscoso amarillo pálido (1,40 g). Análisis LC-MS del producto crudo muestra masa deseada de producto: *m/z* 356 (⁷⁹BrM+H), *m/z* 358 (⁸¹BrM+H), *m/z* 378 (⁷⁹BrM+Na), y *m/z* 380 (⁸¹BrM+Na); Calculado para C₁₂H₁₃BrF₃NO₃: 356,14. LC-MS también mostró el subproducto: masa de (E)-3-(3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil)acrilato de etilo: *m/z* 339 (⁷⁹BrM+H), y *m/z* 341 (⁸¹BrM+H); Calculado para C₁₂H₁₀BrF₃O₃: 339,11. A una solución del residuo crudo en etanol absoluto (2 ml) se añadió a solución 2,0 M de HCl en éter dietílico (15,0 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min para dar una solución amarillo pálido. El residuo después de evaporación de los disolventes se repartió entre agua (25 ml) y diclorometano (25 ml). Las capas orgánica y acuosa se separaron. La capa acuosa se evaporó *al vacío* para proporcionar un residuo gomoso incoloro. El residuo se purificó por HPLC de fase inversa preparativa con un gradiente 10-70 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA. La mezcla de fracciones puras se evaporó *al vacío* para proporcionar el producto deseado como sólido cristalino incoloro (442,5 mg, rendimiento 31 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 356 (⁷⁹BrM+H), *m/z* 358 (⁸¹BrM+H), *m/z* 378 (⁷⁹BrM+Na), y *m/z* 380 (⁸¹BrM+Na); Calculado para C₁₂H₁₃BrF₃NO₃: 356,14.

Etapa 2

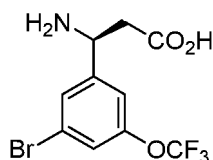
Preparación de 3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato clorhidrato de etilo racémico



A una solución de (rac)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo sal TFA de antes (442,8 mg, 0,942 mmol) en etanol absoluto (2 ml) se añadió una solución 2,0 M HCl en éter dietílico (10 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La evaporación del disolvente *al vacío* dio un sólido gomoso incoloro. El sólido se suspendió con hexanos (2x10 ml), la capa de disolvente se decantó y el residuo se secó *al vacío* para proporcionar un sólido cristalino incoloro (358,0 mg, rendimiento 96 %). Análisis LC-MS del sólido muestra masa de producto deseada: *m/z* 356 (⁷⁹BrM+H), *m/z* 358 (⁸¹BrM+H), *m/z* 378 (⁷⁹BrM+Na), y *m/z* 380 (⁸¹BrM+Na); Calculado para C₁₂H₁₃BrF₃NO₃: 356,14. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1,08 (t, J = 7,1 Hz, 3H, CH₃-CH₂), 3,095 (AB doble q, J = 16,4 y 8,7 Hz, y J = 16,4 y 10,3 Hz, (cada 1H), 2H, -CHH-C=O- y -CHH-C=O-; diastereotópico), 4,01 (dc, J = 7,1 y 2,0 Hz, 2H, CH₃-CH₂), 4,72 (dd, J = 8,3 y 6,1 Hz, 1H, -NH₂-CH-CH₂-C=O-), 7,65 (appt, J = 1,7 Hz, 1H), 7,73 (appt, J = 1,7 Hz, 1H), 7,90 (appt, J = 1,5 Hz, 1H), 8,74 (s a, 3H, -NH₂.HCl). Espectro RMN ¹H del sólido fue consistente con la estructura sugerida del producto.

Etapa 3

Preparación de ácido (3S)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoico



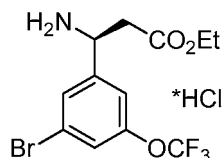
Resolución enzimática de la mezcla racémica:

Una suspensión de (rac)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo clorhidrato de etapa 2 anterior (345,40 mg, 0,880 mmol) en solución 50 mM KH₂PO₄ (30,0 ml) se agitó a temperatura ambiente y el pH de la capa acuosa se ajustó a pH 8,32 mediante la adición de solución 1,0 N NaOH y solución 50 mM KH₂PO₄. Amano Lipase PS (317,0 mg) se añadió a la suspensión anterior y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se diluyó con MTBE (25 ml) y mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h para extraer el (R)-éster. La capa MTBE conteniendo el (R)-éster se descartó después de analizar por LC-MS.

Evaporación de la capa acuosa *al vacío* dio un sólido crema conteniendo el (S)-ácido así como Amano Lipase y sal tampón fosfato. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-70 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado como sólido vítreo incoloro (201,3 mg). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 328 (⁷⁹BrM+H), *m/z* 330 (⁸¹BrM+H), *m/z* 350 (⁷⁹BrM+Na), y *m/z* 352 (⁸¹BrM+Na). Calculado para C₁₀H₉BrF₃NO₃: 328,08. La sal TFA aislada del (S)-ácido se usó como tal para la preparación del (S)-éster.

Etapas 4

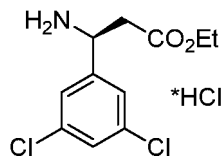
10 Preparación de (3S)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo H)



A una solución de ácido (S)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoico sal TFA de etapa 3 anterior (201,30 mg, 0,455 mmol) en etanol absoluto (2,0 ml) se añadió alcohol etílico absoluto saturado con HCl gas seco (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h para dar una solución incolora. Análisis LC-MS de mezcla de reacción después de 1,5 h muestra el producto deseado: masa de (S)-3-amino-3-[3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil]propanoato de etilo: *m/z* 356 (⁷⁹BrM+H), *m/z* 358 (⁸¹BrM+H), *m/z* 378 (⁷⁹BrM+Na), y *m/z* 380 (⁸¹BrM+Na); Calculado para C₁₂H₁₃BrF₃NO₃: 356,14 El disolvente se evaporó *al vacío* para proporcionar la sal HCl deseada del éster (Ejemplo H) como sólido cristalino incoloro (171,0 mg, rendimiento 95 %).

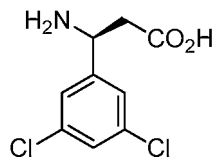
Ejemplo I

25 Preparación de (3S)-3-amino-3-[3,5-dicloro-fenil]propanoato de etilo clorhidrato



Etapas 1

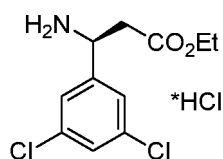
30 Preparación de ácido (S)-3-amino-3-[3,5-dicloro-fenil]propanoico



Resolución enzimática de la mezcla racémica: Una suspensión de (rac)-3-amino-3-[3,5-diclorofenil]propanoato de etilo clorhidrato (sintetizado según procedimientos descritos aquí partiendo de 3,5-diclorofenilo benzaldehído) (316,0 mg, 1,058 mmol) en solución 50 mM KH₂PO₄ (30,0 ml) se agitó a temperatura ambiente y el pH de la capa acuosa se ajustó a pH 8,32 mediante la adición de solución 1,0 N NaOH y solución 50 mM KH₂PO₄. Amano Lipase PS (295,0 mg) se añadió a la suspensión anterior y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla se diluyó con MTBE (25 ml) y mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h para extraer el (R)-éster. La capa MTBE conteniendo el (R)-éster se descartó después de analizar por LC-MS. Evaporación de la capa acuosa *al vacío* dio un sólido crema conteniendo el (S)-ácido así como Amano Lipase y sal tampón fosfato. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-50 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado como sólido vítreo incoloro (103,0 mg). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 234 (³⁵ClM+H), *m/z* 236 (³⁷ClM+H), *m/z* 256 (³⁵ClM+Na), y *m/z* 258 (³⁷ClM+Na); Calculado para C₉H₉Cl₂NO₂: 234,08. La sal TFA aislada del (S)-ácido se usó como tal para la preparación del (S)-éster.

Etapas 2

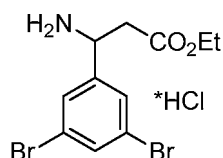
50 Preparación de (3S)-3-amino-3-[3,5-dicloro-fenil]propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo I)



A una suspensión de ácido (S)-3-amino-3-[3,5-diclorofenil]propanoico de etapa 1 anterior (103,0 mg, 0,440 mmol) en etanol absoluto (2,0 ml) se añadió alcohol etílico absoluto saturado con HCl gas seco (5 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h para dar una solución incolora. Análisis LC-MS de mezcla de reacción después de 1,5 h muestra el producto deseado: masa de (S)-3-amino-3-[3,5-diclorofenil]propanoato de etilo: m/z 262 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$), m/z 264 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$), m/z 284 ($^{35}\text{ClM}+\text{Na}$), y m/z 286 ($^{37}\text{ClM}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{11}\text{H}_{13}\text{Cl}_2\text{NO}_2$: 262,13. El disolvente se evaporó *al vacío* para proporcionar la sal HCl deseada del éster (Ejemplo I) como sólido cristalino incoloro (131,20 mg, rendimiento 99 %).

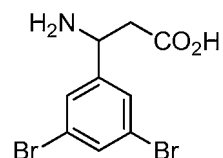
Ejemplo J

Preparación de 3-amino-3-[3,5-bromofenil]propanoato de etilo racémico clorhidrato



Etapa 1

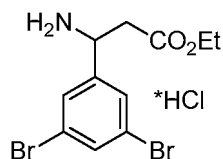
Preparación de ácido 3-amino-3-[3,5-bromo-fenil]propanoico racémico



Una suspensión de 3,5-dibromo-benzaldehído (50 g, 189,39 mmol), ácido malónico (39,39 g, 378,78 mmol) y acetato amónico (29,19 g, 378,78 mmol) en isopropanol (350 ml) se calentó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 14 h para proporcionar un sólido incoloro espec. El sólido se filtró caliente, lavó con isopropanol caliente (2 x 100 ml) y secó *al vacío* para dar el producto racémico deseado como sólido incoloro (32,2 g).

Etapa 2

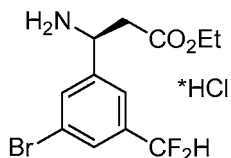
Preparación de 3-amino-3-[3,5-bromofenil]propanoato de etilo racémico clorhidrato



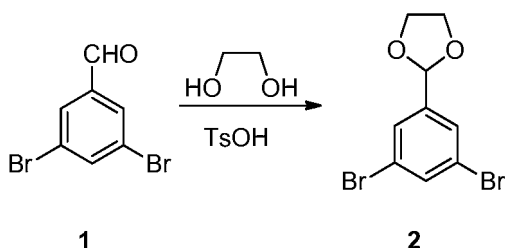
Etanol absoluto (500 ml, saturado con HCl gas anhidro) se añadió a ácido 3-amino-3-(3,5-dibromo-fenil)-propiónico de etapa 1 anterior (32 g, 99,07 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 1,5 h para dar una solución amarillo pálido. El disolvente se retiró *al vacío* para dar un sólido incoloro. El sólido se lavó con hexano (2 x 100 ml). Después la capa disolvente se decantó, el residuo se secó *al vacío* para dar la sal clorhidrato de amino éster racémico (Ejemplo J) como sólido blanco (38 g).

Ejemplo K

Preparación de (3S)-3-amino-3-[3-bromo-5-(di-fluorometil)fenil]propanoato de etilo clorhidrato

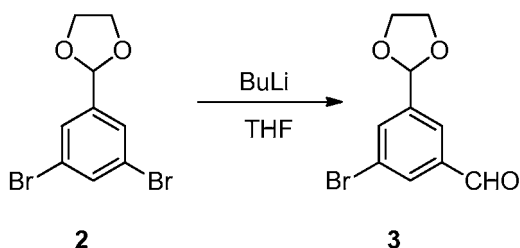


Etapa 1



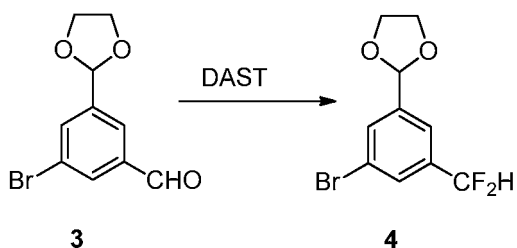
3,5-dibromo benzaldehído **1** (10 g, 37,8 mmol, 1,0 equiv.), etano-1,2-diol (7,0 g, 114 mmol, 3,0 equiv.) y TsOH (0,32 g, 1,89 mmol) en tolueno (20 ml) se agitó a 110 °C durante 4 h. La mezcla se enfrió a 23 °C y concentró, se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, secó (Na_2SO_4) y concentró a sequedad para dar el compuesto **2** (9,2 g, 83,6 %) como un aceite.

Etapa 2



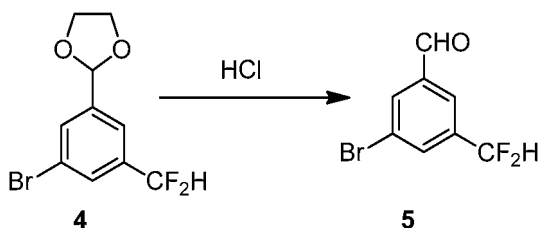
Compuesto **2** (9,2 g, 29,8 mmol, 1,0 equiv.) en THF (100 ml) se agitó a -78 °C. n-BuLi (12 ml, 1,0 equiv.) se añadió gota a gota a mezcla anterior a -78 °C. La mezcla se agitó a -78 °C durante 1 h. DMF (4,56 g, 1,5 equiv.) se añadió gota a gota a mezcla anterior a -78 °C. La mezcla se agitó a -78 °C durante 3 h después se calentó a 25 °C. Se añadió agua a la mezcla y después se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se lavó con salmuera, secó (Na_2SO_4) y concentró a sequedad para dar producto crudo. El producto crudo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para dar el compuesto **3** (6,6 g, 86,8 %) como sólido blanco.

Etapa 3



Compuesto **3** (6,6 g, 0,026 mol) se añadió a DCM (50 ml), después DAST (8,3 g, 0,052 mol) se añadió a la solución y la reacción se agitó durante 8h en atmósfera de N_2 . La solución se lavó con NaHCO_3 ac., y la mezcla se extrajo con DCM. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó (Na_2SO_4) y se concentró. El material crudo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para dar compuesto **4** (4,2 g, 58,3 %).

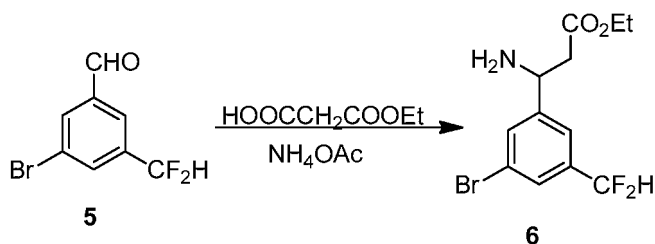
Etapa 4



Compuesto **4** (4,2 g, 0,026 mol) se añadió a una solución de THF (40 ml) y HCl 3N (20 ml) y la reacción se agitó durante 6 h. La mezcla se concentró y el producto crudo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para dar

compuesto **5** (3,6 g, 76,9 %).

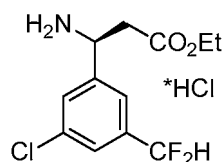
Etapas 5



NH₄OAc (0,54 g, 0,077 mol), HOOCCH₂COOEt (2,9 g, 0,022 mol) y compuesto **5** (3,6 g, 0,011 mol), en EtOH (30 ml) se agitaron a 70 °C durante 6 h. La mezcla se concentró y ajustó a pH=7,5 añadiendo NaHCO₃ ac. La mezcla se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, secó (Na₂SO₄) y concentró a sequedad para dar aceite. El producto crudo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice para dar compuesto **6** (0,6 g, 17,1 %). El enantiómero (S), Ejemplo K, se aisló usando los procedimientos de resolución enzimática descritos anteriormente.

Ejemplo L

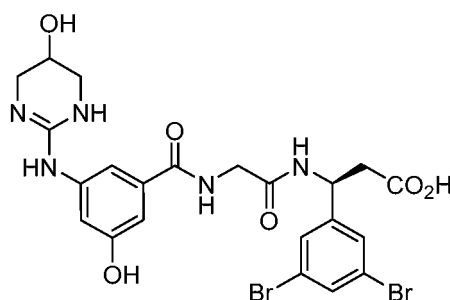
Preparación de (3S)-3-amino-3-[3-cloro-5-(di-fluorometil)fenil]propanoato de etilo clorhidrato



Ejemplo L se sintetizó como se describió en procedimiento para Ejemplo K, pero sustituyendo 3-bromo-5-cloro benzaldehído por 3,5-di-bromo benzaldehído en la Etapa 1.

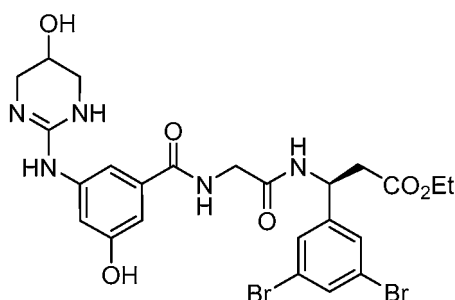
Ejemplo 1

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



Etapas 1

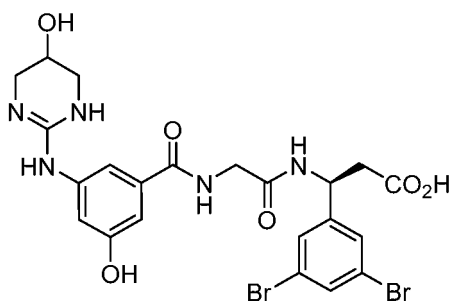
Preparación de (3S)-3-[3,5-dibromofenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo



Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (513,80 mg, 1,667 mmol), (3S)-3-amino-3-(3,5-dibromofenil) propanoato de etilo clorhidrato ((S) éster del Ejemplo J formado mediante método de escisión de lipasa enzimática) (645,80 mg, 1,667 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol hidrato (52,0 mg, 0,340 mmol) se disolvió en una mezcla de DMF (6 ml) y diclorometano (6 ml) y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min para dar una suspensión crema. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida pura (360,0 µl, 2,325 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo viscoso incoloro del producto: (3S)-3-[3,5-dibromofenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 640 ($^{79}\text{Br}, ^{79}\text{BrM}+\text{H}$), *m/z* 642 ($^{79}\text{Br}, ^{81}\text{BrM}+\text{H}$), *m/z* 644 ($^{81}\text{Br}, ^{81}\text{BrM}+\text{H}$), *m/z* 662 ($^{79}\text{Br}, ^{79}\text{BrM}+\text{Na}$), *m/z* 664 ($^{79}\text{Br}, ^{81}\text{BrM}+\text{Na}$), y *m/z* 666 ($^{81}\text{Br}, ^{81}\text{BrM}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{Br}_2\text{N}_5\text{O}_6$: 641,31. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapa 2

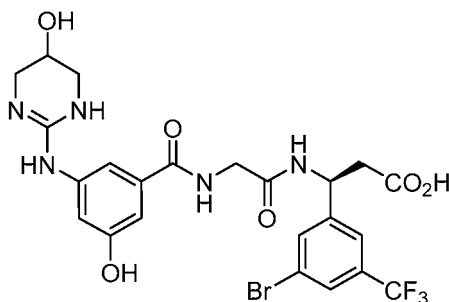
Preparación de ácido (3S)-3-(3,5-dibromofenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



A una solución de (3S)-3-[3,5-dibromofenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (1,667 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (10 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (350,0 mg, 8,341 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se neutralizó con TFA (1,0 ml en 10,0 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-70 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 1) (684,2 mg, rendimiento 67 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 612 ($^{79}\text{Br}, ^{79}\text{BrM}+\text{H}$), *m/z* 614 ($^{79}\text{Br}, ^{81}\text{BrM}+\text{H}$), y *m/z* 616 ($^{81}\text{Br}, ^{81}\text{BrM}+\text{H}$); Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{Br}_2\text{N}_5\text{O}_6$: 613,26. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2,74 (d, $J = 7,10$ Hz, 2H), 3,16 (d, $J = 12,23$ Hz, 2H), 3,33 (d, $J = 11,25$ Hz, 2H), 3,86 (d, $J = 5,87$ Hz, 2H), 4,08 (s a, 1H), 5,14 (c, $J = 7,34$ Hz, 1H), 6,74 (appt, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,11 (appt, 1H), 7,14 (appt, $J = 1,7$ Hz, 1H), 7,56 (d, $J = 1,71$ Hz, 2H), 7,71 (t, $J = 1,7$ Hz, 1H), 8,11 (s, 1H), 8,53 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H), 8,64 (t, $J = 6,0$ Hz, 1H), 9,61 (s, 1H), 10,01 (s a, 1H), 12,40 (s a, 1H). Espectro RMN ^1H de la muestra fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 1.

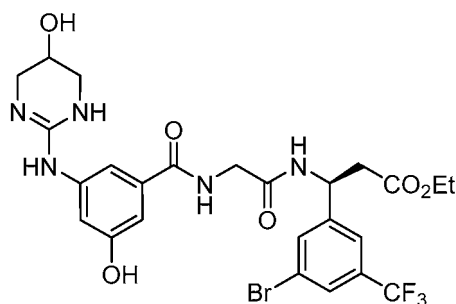
Ejemplo 2

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



Etapa 1

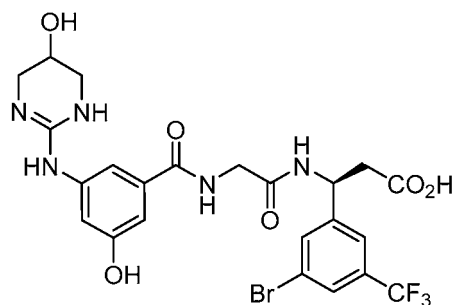
Preparación de (3S)-3-(3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo



Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (83,0 mg, 0,269 mmol), (3S)-3-amino-3-(3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo F) (102,0 mg, 0,271 mmol) se disolvió en DMF (4 ml) y diclorometano (4 ml) para dar una suspensión crema. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (8,7 mg, 0,057 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (60,0 µl, 0,387 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro del producto: (3S)-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: m/z 630 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 632 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 652 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{Na}$), y m/z 654 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{BrF}_3\text{N}_5\text{O}_6$: 630,41. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la etapa 2.

Etapa 2

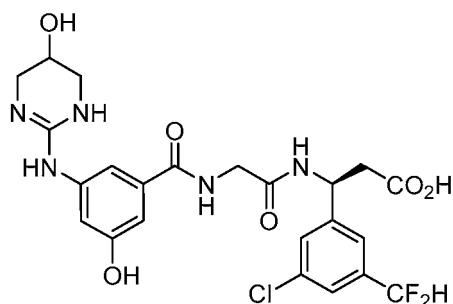
Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



A una solución de (3S)-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (0,344 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (4 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (77,0 mg, 1,83 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 h. La mezcla se neutralizó con TFA (1,0 ml en 10,0 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-60 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 2) (124,0 mg, rendimiento 60 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: m/z 602 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), y m/z 604 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$); Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{BrF}_3\text{N}_5\text{O}_6$: 602,36. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2,78 (d, $J = 7,3$ Hz, 2H), 3,16 (d, $J = 12,2$ Hz, 2H), 3,33 (d, $J = 12,2$ Hz, 2H), 3,87 (d, $J = 5,8$ Hz, 2H), 4,08 (appt, $J = 3,07$ Hz, 1H), 5,23 (c, $J = 7,3$ Hz, 1H), 6,74 (t, $J = 2,1$ Hz, 1H), 7,11 (t, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,14 (t, $J = 1,8$ Hz, 1H), 7,72 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,87 (s, 1H), 8,10 (s a, 2H), 8,61 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 8,64 (t, $J = 5,9$ Hz, 1H), 9,60 (s, 1H), 10,02 (s a, 1H), 12,41 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ^1H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 2. RMN ^{19}F (376 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ -61,09 (s), y -73,82 (s).

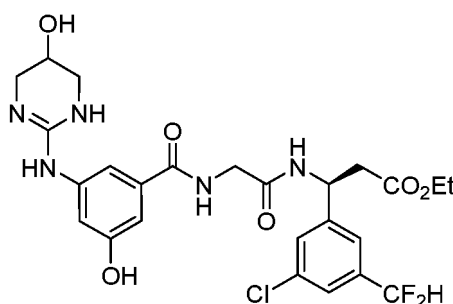
Ejemplo 3

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



Etapa 1

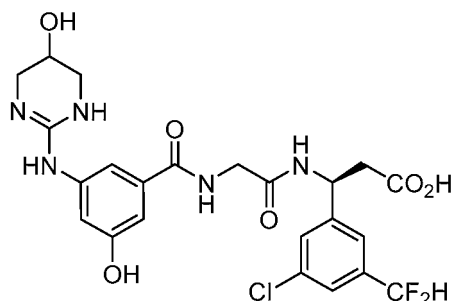
- 5 Preparación de (3S)-3-[3-cloro-5-(difluorometil)fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido]propanoato de etilo



- 10 Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (27,0 mg; 0,088 mmol), (S)-3-amino-3-(1-(difluorometil)fenil)propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo I) (27,51 mg, 0,088 mmol) se disolvió en DMF (1 ml) y diclorometano (1 ml) para dar una suspensión incolora. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (3,0 mg, 0,020 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. N,N'-diisopropilcarbodiimida (20,0 µl, 0,129 mmol) se
- 15 añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo viscoso amarillo pálido del producto: (3S)-3-(3-cloro-5-(difluorometil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 568 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$), *m/z* 570 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$), *m/z* 590 ($^{35}\text{ClM}+\text{Na}$), y *m/z* 592 ($^{37}\text{ClM}+\text{Na}$); Calculado para
- 20 $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{ClF}_2\text{N}_5\text{O}_6$. 567,97. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapa 2

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

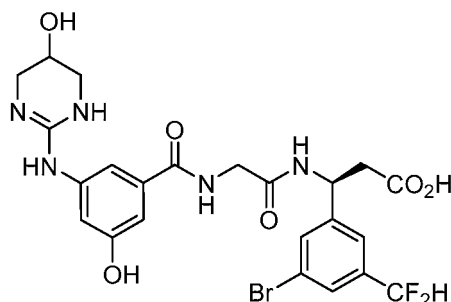


- 30 A una suspensión de (3S)-3-(3-cloro-5-(difluorometil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido]propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (0,088 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (4 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (20,0 mg, 0,477 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se neutralizó con TFA (1 ml en 10,0 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso amarillo. El producto
- 35 crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-60 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 3) (41,2 mg, rendimiento 87 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 540 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$) y *m/z* 542 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$), Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{24}\text{ClF}_2\text{N}_5\text{O}_6$. 539,92. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2,76 (d, $J = 7,34$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-$

COOH), 3,16 (d, J = 12,23 Hz, 2H), 3,33 (d, J = 10,76 Hz, 2H), 3,87 (dd/m, 3H), 4,08 (t, J = 3,18 Hz, 1H), 5,21 (c, J = 7,34 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,74 (t, J = 2,08 Hz, 1H), 7,03 (s, 1H), 7,11 (t, J = 1,71 Hz, 1H), 7,13 (tap, 1H), 7,53 (s a, 1H), 7,59 (s, 1H), 8,14 (s a, 2H), 8,63 (t, J = 5,87 Hz, 1H), 9,67 (s a, 1H), 10,02 (s a, 1H), 12,44 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ¹H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 3. RMN ¹⁹F (376 MHz, DMSO-d₆): δ -74,12 (s), y -110,28 (d, J = 56,0 Hz).

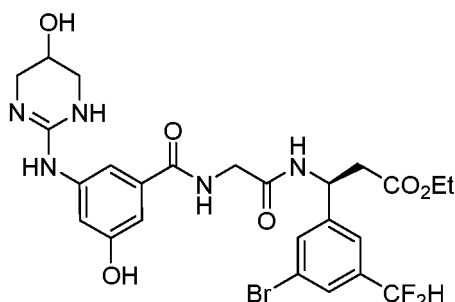
Ejemplo 4

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



Etapas 1

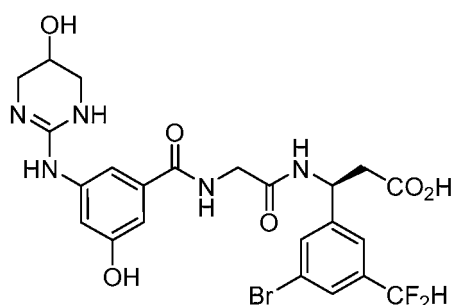
Preparación de (3S)-3-[3-bromo-5-(difluorometil)fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido]propanoato de etilo



Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (25,0 mg; 0,081 mmol), (3S)-3-amino-3-(3-bromo-5-(1-(difluorometil)fenil)propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo K) (29,08 mg, 0,081 mmol) se disolvió en DMF (1 ml) y diclorometano (1 ml) para dar una suspensión incolora. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (3,0 mg, 0,020 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. N,N'-diisopropilcarbodiimida (20,0 µl, 0,129 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo viscoso amarillo naranja del producto: (3S)-3-(3-bromo-5-(difluorometil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 612 (⁷⁹BrM+H), *m/z* 614 (⁸¹BrM+H), *m/z* 634 (⁷⁹BrM+Na), y *m/z* 636 (⁸¹BrM+Na); Calculado para C₂₅H₂₈BrF₂N₅O₆. 612,42. El residuo crudo se usará como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapas 2

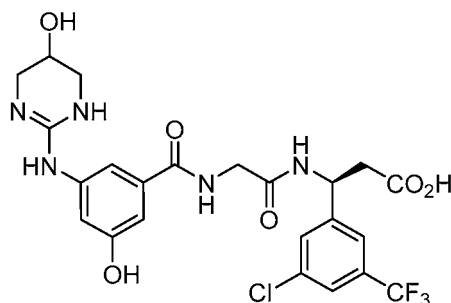
Preparación de ácido (3S)-3-[3-bromo-5-(difluorometil)fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido]propanoico



A una suspensión de (3S)-3-(3-bromo-5-(difluorometil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (0,080 mmol) en una mezcla de una
 5 mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (4 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (18,0 mg, 0,429 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se neutralizó con TFA (500 µl en 5,0 ml de CH₃CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso amarillo. El producto
 10 crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-60 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 4) (33,4 mg, rendimiento 71 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 584 (⁷⁹BrM+H), *m/z* 586 (⁸¹BrM+H), *m/z* 606 (⁷⁹BrM+Na), y *m/z* 608 (⁸¹BrM+Na); Calculado para C₂₃H₂₄BrF₂N₅O₆: 584,37. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,76 (d, J = 7,34 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,16 (d, J = 12,47 Hz, 2H), 3,33 (d, J = 10,76 Hz, 2H), 3,87 (dd/m, 3H), 4,08 (t, J = 2,90 Hz, 1H), 5,21 (c, J = 7,34 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,74 (t, J = 2,08 Hz, 1H), 7,02 (appt, 1H), 7,14 (appt, 1H), 7,56 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,72 (s, 1H), 8,13 (s a, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,62 (t, J = 5,99 Hz, 1H), 9,65 (s a, 1H), 10,02 (s a, 1H), 12,40 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ¹H del producto fue consistente con la estructura
 15 propuesta para Ejemplo 4. RMN ¹⁹F (376 MHz, DMSO-*d*₆): δ -73,81 (s), y -110,23 (d, J = 56,0 Hz).

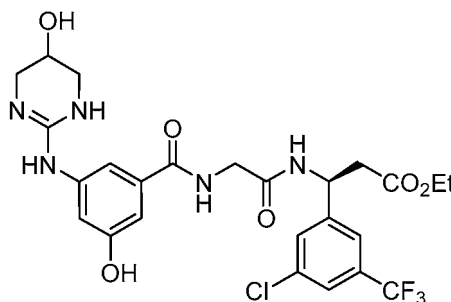
Ejemplo 5

20 **Preparación de ácido (3S)-3-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido]propanoico**



Etapa 1

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

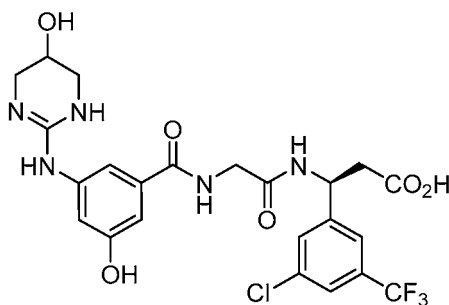


Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (43,0 mg; 0,139 mmol), (3S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(1-(trifluorometil)fenil)propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo E) (46,33 mg, 0,139 mmol) se disolvió en DMF (1 ml) y di clorometano (1 ml) para dar una suspensión incolora. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (4,40 mg, 0,029 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (32,0 µl, 0,207 mmol) se
 35 añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El

disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro del producto: (3S)-3-(3-cloro-5-(trifluorometil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: m/z 586 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$), m/z 588 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$), m/z 608 ($^{35}\text{ClM}+\text{Na}$), y m/z 610 ($^{37}\text{ClM}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}_6$. 585,96. El residuo crudo se usó como tal para la

Etapas 2

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

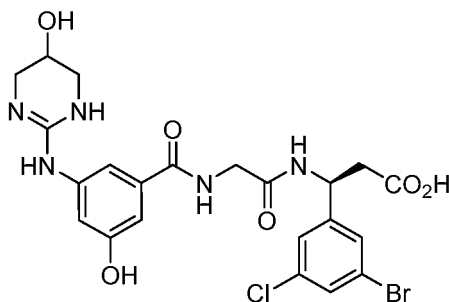


A una suspensión de (3S)-3-(3-cloro-5-(trifluorometil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (0,139 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (4 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (30,0 mg, 0,715 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se neutralizó con TFA (1 ml en 10,0 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso crema. El producto

crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-60 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 5) (63,2 mg, rendimiento 81 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: m/z 558 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$) y m/z 560 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$), Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{23}\text{ClF}_3\text{N}_5\text{O}_6$. 557,91. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2,79 (d, $J = 7,09$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 3,16 (d, $J = 11,98$ Hz, 2H), 3,33 (d, $J = 11,00$ Hz, 2H), 3,87 (d, $J = 5,87$ Hz, 2H), 4,08 (t, $J = 3,18$ Hz, 1H), 5,24 (c, $J = 7,09$ Hz, 1H, $-\text{NH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 6,75 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 7,13 (t, $J = 2,00$ Hz, 1H), 7,69 (s, 1H), 7,74 (s, 1H), 8,12 (s a, 1H), 8,61 (d, $J = 8,07$ Hz, 1H), 8,65 (t, $J = 5,75$ Hz, 1H), 9,66 (s a, 1H), 10,02 (s a, 1H), 12,43 (s a, 1H, $-\text{COOH}$). Espectro RMN ^1H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 5. RMN ^{19}F (376 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ -61,11 (s), y -73,94 (s).

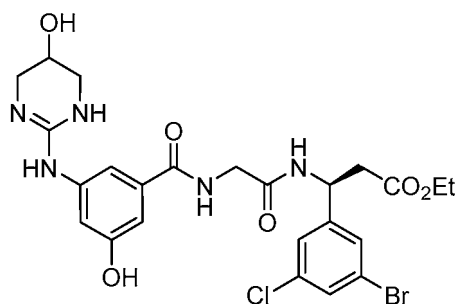
Ejemplo 6

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



Etapas 1

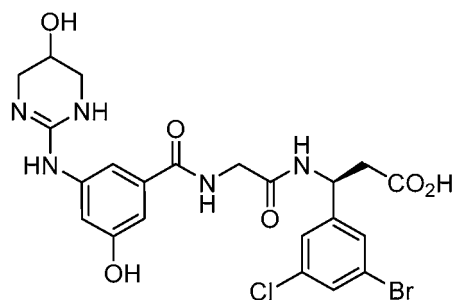
Preparación de (3S)-3-[3-bromo-5-cloro-fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido]propanoato de etilo



Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (82,0 mg; 0,266 mmol), (3S)-3-amino-3-(3-bromo-5-cloro-fenil)propanoato de etilo clorhidrato (sintetizado como en los métodos descritos anteriormente partiendo de 3-bromo-5-cloro benzaldehído) (91,40 mg, 0,266 mmol) se disolvió en DMF (1,5 ml) y di clorometano (1,5 ml) para dar una suspensión crema-naranja. 1-Hhidroxibenzotriazol hidrato sólido (9,0 mg, 0,059 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (60,0 µl, 0,387 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso amarillo-naranja sucio del producto: (3S)-3-(3-bromo-5-cloro-fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 596 (³⁵Cl,⁷⁹Br⁺M+H), *m/z* 598 (³⁵Cl,⁸¹Br,³⁷Cl,⁷⁹Br⁺M+H), *m/z* 600 (³⁷Cl,⁸¹Br⁺M+H), *m/z* 618 (³⁵Cl,⁷⁹Br⁺M+Na), *m/z* 620 (³⁵Cl,⁸¹Br,³⁷Cl,⁷⁹Br⁺M+Na) y *m/z* 622 (³⁷Cl,⁸¹Br⁺M+Na); Calculado para C₂₄H₂₇BrClN₅O₆: 596,86. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapas 2

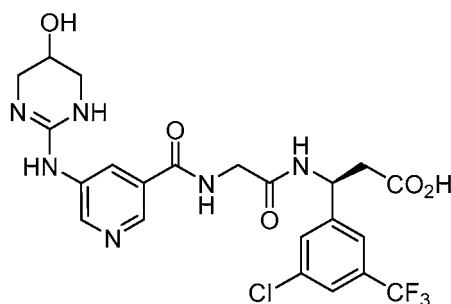
Preparación de ácido (3S)-3-[3-bromo-5-cloro-fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



A una suspensión de (3S)-3-(3-bromo-5-cloro-fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (0,266 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (4 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (56,0 mg, 0,1,334 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h para dar una solución naranja-amarillo. La mezcla se neutralizó con TFA (1 ml en 10,0 ml de CH₃CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-60 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 6) (88,7 mg, rendimiento 59 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 568 (³⁵Cl,⁷⁹Br⁺M+H), *m/z* 570 (³⁵Cl,⁸¹Br,³⁷Cl,⁷⁹Br⁺M+H), y *m/z* 572 (³⁷Cl,⁸¹Br⁺M+H); Calculado para C₂₂H₂₃BrClN₅O₆: 568,80. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,74 (d, J = 7,34 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,16 (d, J = 12,23 Hz, 2H), 3,34 (d, J = 11,74 Hz, 2H), 3,87 (d, J = 5,87 Hz, 2H), 4,08 (appt, 1H), 5,15 (c, J = 7,42 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,75 (t, J = 1,96 Hz, 1H), 7,11 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,60 (s, 1H), 8,13 (s a, 1H), 8,84 (d, J = 8,07 Hz, 1H), 8,64 (t, J = 5,87 Hz, 1H), 9,65 (s a, 1H), 10,03 (s a, 1H), 12,45 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ¹H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 6.

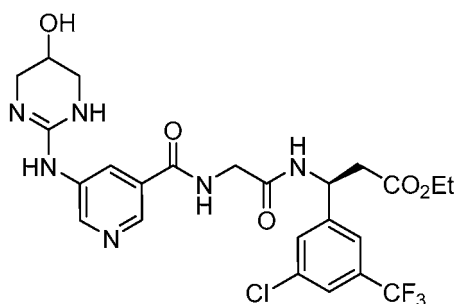
Ejemplo 7

Preparación de ácido (3S)-3-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-3-[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoico



Etapa 1

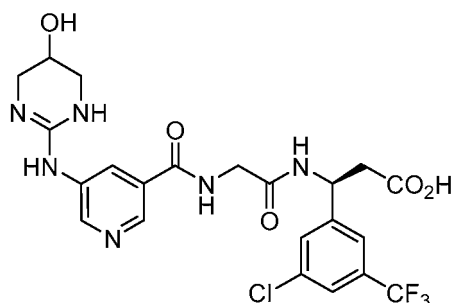
- 5 *Preparación de (3S)-3-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo*



- 10 Una mezcla de ácido 2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acético (Ejemplo D) (56,0 mg, 0,115 mmol), (3S)-3-amino-3-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo E) (38,05 mg, 0,115 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol hidrato (3,5 mg, 0,023 mmol) se disolvió en DMF (3 ml) y diclorometano (3 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para dar una suspensión crema. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (25 µl, 0,161 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a
- 15 temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un sólido gomoso incoloro del producto intermedio: (3S)-3-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 571 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$), *m/z* 573 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$); *m/z* 593 ($^{35}\text{ClM}+\text{Na}$), y *m/z* 595 ($^{37}\text{ClM}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{ClF}_3\text{N}_6\text{O}_5$: 570,95. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de
- 20 saponificación en la Etapa 2.

Etapa 2

- 25 *Preparación de ácido (3S)-3-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoico*

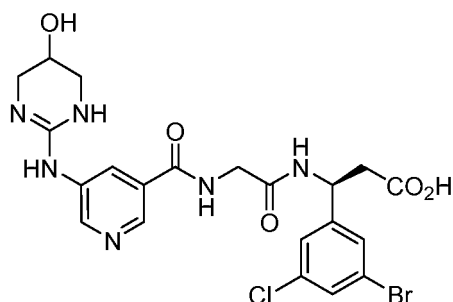


- 30 A una suspensión de (3S)-3-[3-cloro-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo de etapa 1 anterior (0,115 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (4 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (25,0 mg, 0,596 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se neutralizó con TFA (250 µl en 5 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo incoloro. El producto crudo se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-70 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado,
- 35 después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 7) (46,4 mg, rendimiento 74 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 558 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$), y *m/z* 560 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$); Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{ClF}_3\text{N}_6\text{O}_5$: 542,90. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2,79 (d, $J = 7,34$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 3,17 (d, $J = 11,98$ Hz,

2H), 3,36 (d, J = 11,98 Hz, 2H), 3,94 (d, J = 5,87 Hz, 2H), 4,11 (t a, 1H), 5,25 (c, J = 7,09 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 7,70 (s, 1H), 7,75 (s, 2H), 8,02 (s, 1H), 8,43 (s a, 2H), 8,59 (s a, 1H), 8,66 (d, J = 8,07 Hz, 1H), 8,90 (s a, 1H), 9,04 (t, J = 5,75 Hz, 1H), 9,92 (s, 1H), 12,41 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ¹H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 7. RMN ¹⁹F (376 MHz, DMSO-*d*₆): δ -61,12 (s), y -74,31 (s).

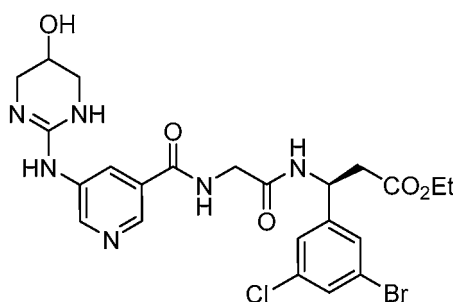
Ejemplo 8

Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-cloro-fenil)-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoico



Etapas 1

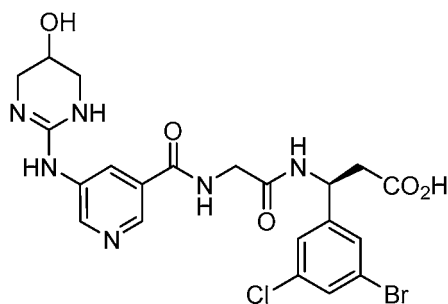
Preparación de (3S)-3-(3-bromo-5-cloro-fenil)-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo



Una mezcla de ácido 2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acético (Ejemplo D) (80,0 mg, 0,164 mmol), (3S)-3-amino-3-[3-bromo-5-clorofenil]propanoato de etilo clorhidrato (sintetizado como en los métodos descritos anteriormente partiendo de 3-bromo-5-cloro benzaldehído) (56,15 mg, 0,164 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol hidrato (6,0 mg, 0,039 mmol) se disolvió en DMF (3 ml) y diclorometano (3 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para dar una suspensión crema. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (35,0 µl, 0,226 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un sólido incoloro del producto intermedio: (3S)-3-[3-bromo-5-cloro-fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 581 (³⁵Cl, ⁷⁹Br *M*+H), *m/z* 583 (³⁵Cl, ⁸¹Br, ³⁷Cl, ⁷⁹Br *M*+H), *m/z* 585 (³⁷Cl, ⁸¹Br *M*+H), *m/z* 603 (³⁵Cl, ⁷⁹Br *M*+Na), *m/z* 605 (³⁵Cl, ⁸¹Br, ³⁷Cl, ⁷⁹Br *M*+Na) y *m/z* 607 (³⁷Cl, ⁸¹Br *M*+Na); Calculado para C₂₃H₂₆BrClN₆O₅: 581,85. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapas 2

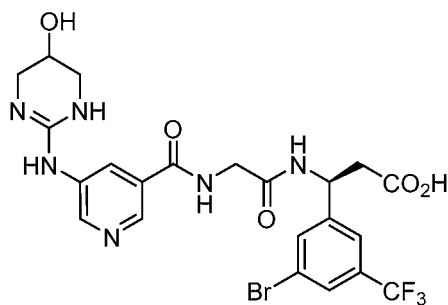
Preparación de ácido (3S)-3-(3-bromo-5-cloro-fenil)-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoico



A una suspensión de (3S)-3-[3-bromo-5-cloro-fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino] acetil]amino]propanoato de etilo de etapa 1 anterior (0,164 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (35,0 mg, 0,834 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se neutralizó con TFA (250 µl en 5 ml de CH₃CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un sólido cristalino incoloro. El producto crudo se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-50 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 8) (55,0 mg, rendimiento 61 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 553 (³⁵Cl,⁷⁹BrM+H), *m/z* 555 (³⁵Cl,⁸¹Br,³⁷Cl,⁷⁹BrM+H), y *m/z* 557 (³⁷Cl,⁸¹BrM+H); Calculado para C₂₁H₂₂BrClN₆O₅: 553,79. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,75 (d, J = 7,34 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,17 (d, J = 12,23 Hz, 2H), 3,36 (d, J = 11,00 Hz, 2H), 3,94 (d, J = 5,62 Hz, 2H), 4,11 (t, J = 3,20 Hz, 1H), 5,16 (c, J = 7,42 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 7,44 (t, J = 1,47 Hz, 1H), 7,53 (tap, 1H), 7,60 (t, J = 1,83 Hz, 1H), 8,03 (t, J = 2,08 Hz, 1H), 8,42 (s a, 2H), 8,59 (d, J = 7,82 Hz, 1H), 8,90 (s a, 1H), 9,03 (t, J = 5,87 Hz, 1H), 9,90 (s, 1H), 12,42 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ¹H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 8.

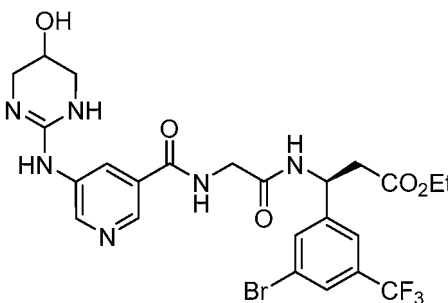
Ejemplo 9

Preparación de ácido (3S)-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoico



Etapas 1

Preparación de (3S)-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo

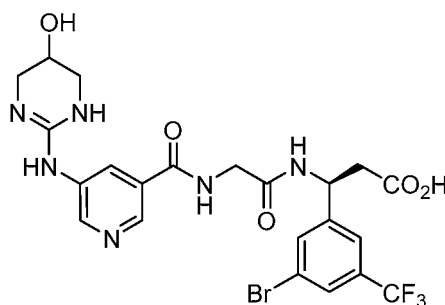


Una mezcla de ácido 2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acético (Ejemplo D) (64,0 mg, 0,131 mmol), (3S)-3-amino-3-(3-bromo-5-(trifluorometil)fenil)propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo F) (49,31 mg, 0,131 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol hidrato (5,0 mg, 0,033 mmol) se disolvió en DMF (3 ml) y diclorometano (3 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para dar una suspensión crema. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (30,0 µl, 0,194 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un sólido gomoso incoloro del producto intermedio: (3S)-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-

tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino] acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: m/z 615 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 617 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 637 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{Na}$), y m/z 639 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{BrF}_3\text{N}_6\text{O}_5$: 615,40. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapa 2

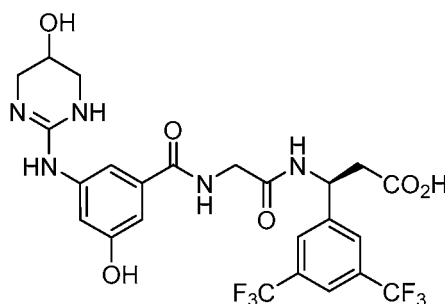
Preparación de ácido (3S)-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoico



A una suspensión de (3S)-3-[3-bromo-5-(trifluorometil)fenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino] acetil]amino]propanoato de etilo de etapa 1 anterior (0,131 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (30,0 mg, 0,715 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se neutralizó con TFA (250 μl en 5 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un sólido cristalino incoloro. El producto crudo se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-60 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 9) (69,6 mg, rendimiento 90 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: m/z 587 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 589 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 609 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{Na}$), y m/z 611 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{22}\text{BrF}_3\text{N}_6\text{O}_5$: 587,35. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2,79 (d, J = 7,34 Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 3,17 (d, J = 12,47 Hz, 2H), 3,36 (d, J = 11,74 Hz, 2H), 3,94 (d, J = 5,87 Hz, 2H), 4,11 (t a, 1H), 5,24 (c, J = 7,25 Hz, 1H, $-\text{NH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 7,73 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 8,02 (t, J = 2,08 Hz, 1H), 8,43 (s a, 2H), 8,59 (d, J = 1,96 Hz, 1H), 8,66 (d, J = 8,07 Hz, 1H), 8,90 (s, 1H), 9,05 (t, J = 5,75 Hz, 1H), 9,92 (s, 1H), 12,43 (s a, 1H, $-\text{COOH}$). Espectro RMN ^1H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 9. RMN ^{19}F (376 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ -61,10 (s), y -74,47 (s).

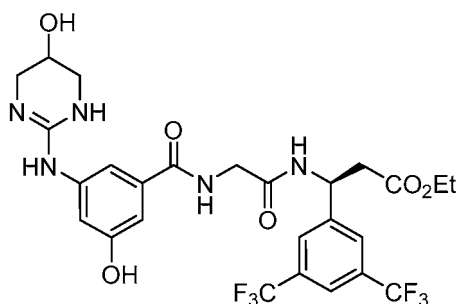
Ejemplo 10

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



Etapa 1

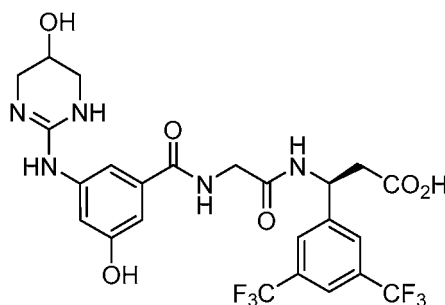
Preparación de (3S)-3-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido]propanoato de etilo



Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (65,50 mg; 0,212 mmol), (3S)-3-amino-3-(3,5-bis(1-(trifluorometil)fenil)propanoato de etilo clorhidrato (sintetizado como en los métodos descritos anteriormente partiendo de 3,5-bis trifluorometil benzaldehído) (77,70 mg, 0,212 mmol) se disolvió en DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) para dar una suspensión incolora. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (7,0 mg, 0,046 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (45,0 µl, 0,291 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro del producto: (3S)-3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 620 (M+H), y *m/z* 642 (M+Na); Calculado para C₂₆H₂₇F₆N₅O₆. 619,51. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapa 2

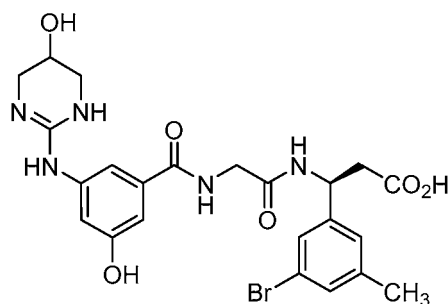
Preparación de ácido (3S)-3-[3,5-bis(trifluorometil)fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido]propanoico



A una suspensión de (3S)-3-(3,5-bis(trifluorometil)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (0,212 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (45,0 mg, 1,072 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se neutralizó con TFA (250 µl en 5,0 ml de CH₃CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-60 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 10) (69,2 mg, rendimiento 55 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 592 (M+H) y *m/z* 614 (M+Na), Calculado para C₂₄H₂₃F₆N₅O₆. 591,46. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,83 (d, J = 7,34 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,15 (d, J = 12,23 Hz, 2H), 3,33 (d a, J = 10,67 Hz, 2H), 3,87 (d, J = 5,62 Hz, 2H), 4,08 (d, J = 3,18 Hz, 1H), 5,33 (c, J = 7,09 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,74 (t, J = 2,08 Hz, 1H), 7,10 (appt, 1H), 7,13 (appt, 1H), 7,85-8,22 (m, 4H), 8,48-8,93 (m, 2H), 9,64 (s, 1H), 10,02 (s a, 1H), 12,45 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ¹H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 10. RMN ¹⁹F (376 MHz, DMSO-*d*₆): δ -61,14 (s), y -73,73 (s).

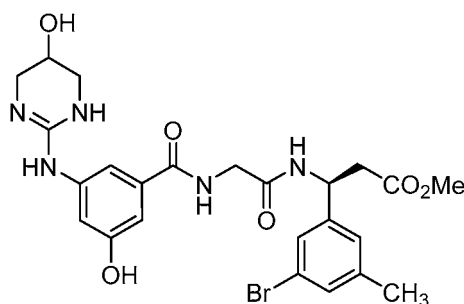
Ejemplo 11

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



Etapa 1

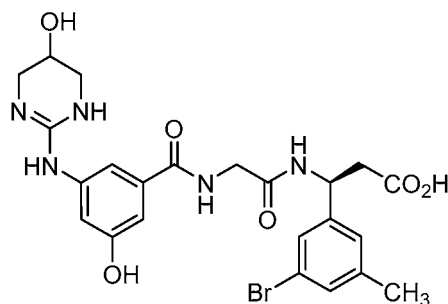
- 5 *Preparación de (3S)-3-[3-bromo-5-metil-fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido]propanoato de metilo*



- 10 Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (94,70 mg, 0,307 mmol), (3S)-3-amino-3-(3-bromo-5-metil-fenil)propanoato de metilo clorhidrato (sintetizado como en los métodos descritos anteriormente partiendo de 3-bromo-5-metil benzaldehído) (94,80 mg, 0,307 mmol) se disolvió en DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) para dar una suspensión crema. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (10,20 mg, 0,067 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (70 μ l, 0,452 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro del producto: (3S)-3-[3-bromo-5-metilfenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de metilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: m/z 562 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 564 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), m/z 584 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{Na}$), y m/z 586 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{Na}$). Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{BrN}_5\text{O}_6$: 562,41. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapa 2

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

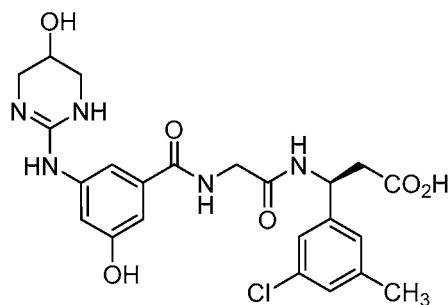


- 30 A una solución de (3S)-3-[3-bromo-5-metil-fenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de metilo crudo de etapa 1 anterior (0,307 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (65 mg, 1,55 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se neutralizó con TFA (500 μ l en 5,0 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-50 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 11) (105,3 mg, rendimiento 62 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: m/z 548 ($^{79}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$), y m/z 550 ($^{81}\text{Br}^+\text{M}+\text{H}$);

Calculado para $C_{23}H_{26}BrN_5O_6$: 548,39. RMN 1H (400 MHz, DMSO- d_6): δ 2,28 (s, 3H, CH_3 -), 2,70 (d, J = 7,34 Hz, 2H, - CH_2 -COOH), 3,16 (d, J = 12,23 Hz, 2H), 3,34 (d, J = 11,98 Hz, 2H), 3,86 (d, J = 5,87 Hz, 2H), 4,09 (t, J = 2,90 Hz, 1H), 5,13 (c, J = 7,50 Hz, 1H, -NH-CH-CH $_2$ -COOH), 6,74 (t, J = 1,96 Hz, 1H), 7,11 (s, 1H), 7,14 (appt, 1H), 7,28 (tap, 1H), 7,31 (tap, 1H), 8,13 (s a, 1H), 8,48 (d, J = 8,31 Hz, 1H), 8,61 (t, J = 5,87 Hz, 1H), 9,64 (s, 1H), 10,02 (s a, 1H), 12,37 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN 1H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 11.

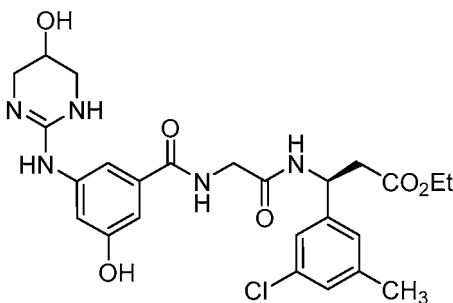
Ejemplo 12

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



Etapas 1

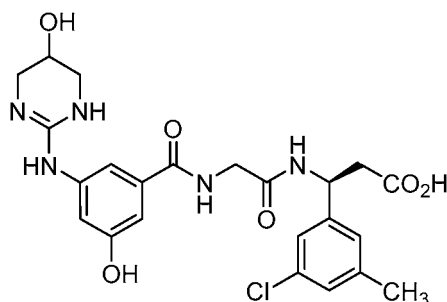
Preparación de (3S)-3-(3-cloro-5-metil-fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo



Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (81,80 mg, 0,265 mmol), (S)-3-amino-3-(3-cloro-5-metil-fenil)propanoato de etilo clorhidrato (sintetizado como en los métodos descritos anteriormente partiendo de 3-cloro-5-metil benzaldehído) (73,81 mg, 0,265 mmol) se disolvió en DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) para dar una suspensión crema. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (8,4 mg, 0,055 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (60 μ l, 0,390 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro del producto: (3S)-3-[3-cloro-5-metil-fenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: m/z 532 (^{35}Cl M+H), m/z 534 (^{37}Cl M+H), m/z 554 (^{35}Cl M+Na), y m/z 556 (^{37}Cl M+Na). Calculado para $C_{25}H_{30}ClN_5O_6$: 531,99. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapas 2

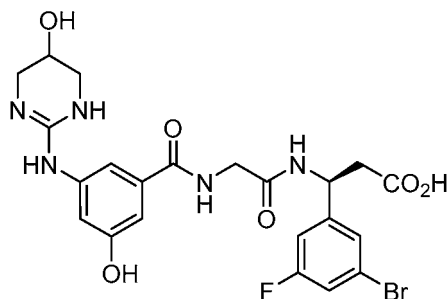
Preparación de ácido (3S)-3-[3-cloro-5-metil-fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



A una solución de (3S)-3-[3-(3-cloro-5-metil-fenil)-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (0,265 mmol) en una mezcla de una
 5 mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (56 mg, 1,334 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se neutralizó con TFA (500 µl en 5,0 ml de CH₃CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo viscoso incoloro. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-50 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 12) (89,4 mg, rendimiento
 10 67 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 504 (³⁵ClM+H), *m/z* 506 (³⁷ClM+H), *m/z* 526 (³⁵ClM+Na), y *m/z* 528 (³⁷ClM+H); Calculado para C₂₃H₂₆ClN₅O₆: 503,94. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,29 (s, 3H, CH₃), 2,70 (d, J = 7,34 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,16 (d, J = 11,98 Hz, 2H), 3,34 (d, J = 11,00 Hz, 2H), 3,86 (d, J = 5,87 Hz, 2H), 4,09 (appt/m, 1H), 5,14 (c, J = 7,25 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,74 (t, J = 1,96 Hz, 1H), 7,11 (d, J = 1,47 Hz, 2H), 7,14 (appt, 2H), 7,18 (s, 1H), 8,14 (s a, 2H), 8,48 (d, J = 8,31 Hz, 1H), 8,61 (t, J = 5,99 Hz, 1H), 9,67 (s, 1H), 10,03 (s a, 1H), 12,32 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ¹H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 12.

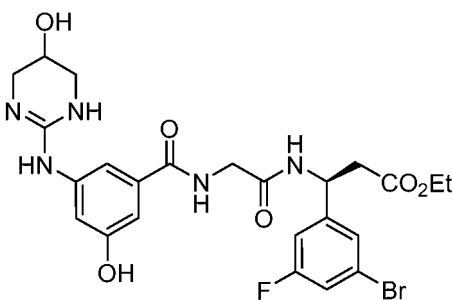
Ejemplo 13

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



Etapa 1

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

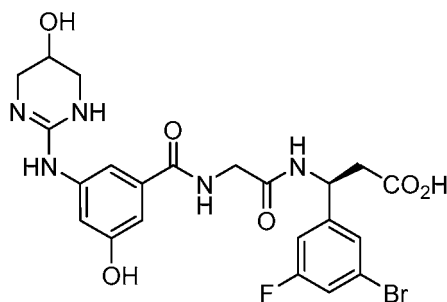


Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (79,50 mg, 0,258 mmol), (3S)-3-amino-3-(3-bromo-5-fluoro-fenil)propanoato de etilo clorhidrato (sintetizado como en los métodos descritos anteriormente partiendo de 3-bromo-5-fluoro benzaldehído) (84,22 mg, 0,258 mmol) se disolvió
 35 en DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) para dar una suspensión crema. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (8,0 mg, 0,052 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (60 µl, 0,387 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a

temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro del producto: (3S)-3-[3-bromo-5-fluoro-fenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: m/z 580 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$), m/z 582 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$), m/z 602 ($^{79}\text{BrM}+\text{Na}$), y m/z 604 ($^{81}\text{BrM}+\text{Na}$). Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{BrFN}_5\text{O}_6$: 580,40. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapa 2

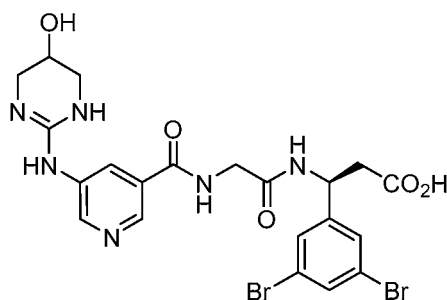
- 10 **Preparación de ácido (3S)-3-[3-bromo-5-fluoro-fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzamido)acetamido)propanoico**



- 15 A una solución de (3S)-3-[3-bromo-5-fluoro-fenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (0,258 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (55 mg, 1,32 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se neutralizó con TFA (250 μl en 5,0 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro. El producto
- 20 crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-50 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 13) (110,3 mg, rendimiento 77 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: m/z 552 ($^{79}\text{BrM}+\text{H}$), y m/z 554 ($^{81}\text{BrM}+\text{H}$); Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{BrFN}_5\text{O}_6$: 552,35. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2,74 (d, J = 7,58 Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 3,16 (d, J = 12,23 Hz, 2H), 3,34 (d, J = 10,80 Hz, 2H), 3,87 (d, J = 5,87 Hz, 2H), 4,08 (t, J = 3,18 Hz, 1H), 5,17 (c, J = 7,34 Hz, 1H, $-\text{NH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 6,75 (t, J = 1,96 Hz, 1H), 7,11 (t, J = 1,47 Hz, 1H), 7,14 (appt, 1H), 7,21 (t, J = 1,71 Hz, 1H), 7,24 (appt, 1H), 7,41 (m, 2H), 8,13 (s a, 1H), 8,53 (d, J = 8,07 Hz, 1H), 8,64 (t, J = 5,75 Hz, 1H), 9,66 (s a, 1H), 10,03 (s a, 1H), 12,40 (s a, 1H, $-\text{COOH}$). Espectro RMN ^{19}F (376 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ -74,07(s), y -110,57 (t, J = 8,85 Hz).

30 Ejemplo 14

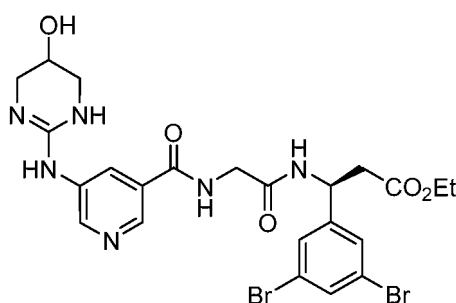
Preparación de ácido (3S)-3-(3,5-dibromofenil)-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil] amino] acetil] amino] propanoico



35

Etapa 1

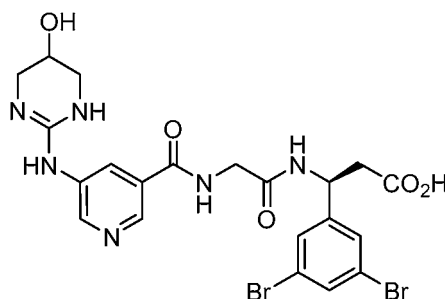
- 40 **Preparación de (3S)-3-(3,5-dibromofenil)-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo**



Una mezcla de ácido 2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acético (Ejemplo D) (78,0 mg, 0,266 mmol), (3S)-3-amino-3-(3,5-dibromofenil)propanoato de etilo clorhidrato ((S) éster del Ejemplo J formado mediante el método de escisión de lipasa enzimática) (103,06 mg, 0,266 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol hidrato (8,15 mg, 0,053 mmol) se disolvió en DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) y se agitó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante 10 min para dar una suspensión crema. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (60,0 µl, 0,387 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un sólido cristalino incoloro del producto intermedio: (3S)-3-[3,5-dibromofenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 625 ($^{79}\text{Br}, ^{79}\text{Br} \text{M}+\text{H}$), *m/z* 627 ($^{79}\text{Br}, ^{81}\text{Br} \text{M}+\text{H}$), *m/z* 629 ($^{81}\text{Br}, ^{81}\text{Br} \text{M}+\text{H}$), *m/z* 647 ($^{79}\text{Br}, ^{79}\text{Br} \text{M}+\text{Na}$), *m/z* 649 ($^{79}\text{Br}, ^{81}\text{Br} \text{M}+\text{Na}$), y *m/z* 651 ($^{81}\text{Br}, ^{81}\text{Br} \text{M}+\text{Na}$); Calculado para $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{Br}_2\text{N}_6\text{O}_5$: 626,30. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapa 2

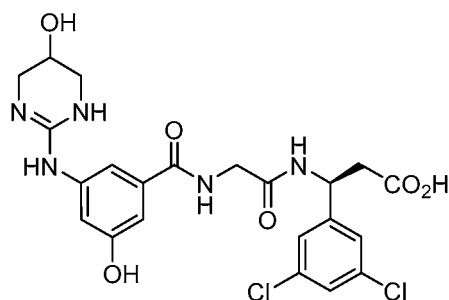
Preparación de ácido (3S)-3-(3, 5-dibromofenil)-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino]acetil]amino]propanoico



A una suspensión de (3S)-3-[3,5-dibromofenil]-3-[[2-[[5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]piridin-3-carbonil]amino] acetil]amino]propanoato de etilo de etapa 1 anterior (0,266 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (56,0 mg, 0,1,334 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se neutralizó con TFA (250 µl en 5 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un sólido cristalino/gomoso incoloro. El producto crudo se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-50 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 14) (82,5 mg, rendimiento 52 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 597 ($^{79}\text{Br}, ^{79}\text{Br} \text{M}+\text{H}$), *m/z* 599 ($^{79}\text{Br}, ^{81}\text{Br} \text{M}+\text{H}$), y *m/z* 601 ($^{81}\text{Br}, ^{81}\text{Br} \text{M}+\text{H}$); Calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{Br}_2\text{N}_6\text{O}_5$: 598,24. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2,74 (d, $J = 7,34$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 3,17 (d, $J = 12,23$ Hz, 2H), 3,36 (d, $J = 11,0$ Hz, 2H), 3,93 (d, $J = 5,62$ Hz, 2H), 4,11 (t, $J = 3,06$ Hz, 1H), 5,15 (c, $J = 7,42$ Hz, 1H, $-\text{NH}-\text{CH}-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 7,57 (d, $J = 1,71$ Hz, 1H), 7,72 (s, 1H), 8,03 (t, $J = 2,20$ Hz, 1H), 8,42 (s a, 1H), 8,59 (m, 2H), 8,90 (d, $J = 1,71$ Hz, 1H), 9,03 (t, $J = 5,75$ Hz, 1H), 9,88 (s, 1H), 12,42 (s a, 1H, $-\text{COOH}$). Espectro RMN ^1H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 14.

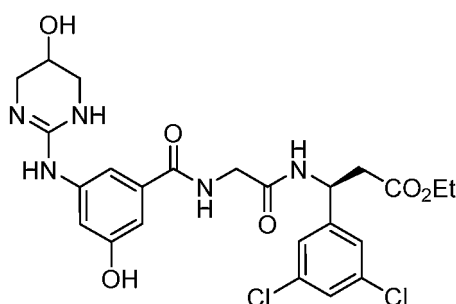
Ejemplo 15

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



Etapa 1

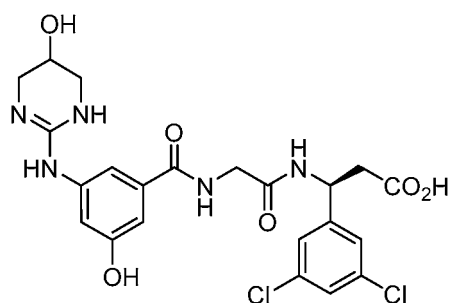
- 5 *Preparación de (3S)-3-((3,5-diclorofenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo*



- 10 Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (87,0 mg, 0,282 mmol), (3S)-3-amino-3-((3,5-diclorofenil)propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo I) (84,26 mg, 0,282 mmol) se disolvió en DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) para dar una suspensión crema. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (9,0 mg, 0,059 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (65 µl, 0,420 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso incoloro del producto: (3S)-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 552 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$), *m/z* 554 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$), *m/z* 574 ($^{35}\text{ClM}+\text{Na}$), y *m/z* 576 ($^{37}\text{ClM}+\text{Na}$). Calculado para $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_6$: 552,41 El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapa 2

- 25 *Preparación de ácido (3S)-3-[[3,5-dicloro-fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico*

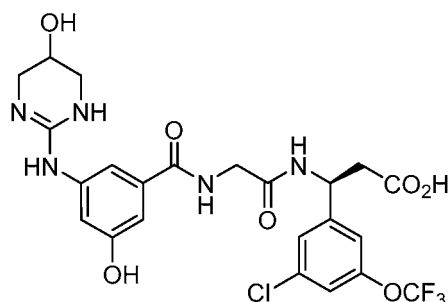


- 30 A una solución de (3S)-3-[[3,5-clorofenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (0,282 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (60 mg, 1,43 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se neutralizó con TFA (100 µl en 5,0 ml de CH_3CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo viscoso incoloro. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-50 % CH_3CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 15) (101,2 mg, rendimiento 68 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 524 ($^{35}\text{ClM}+\text{H}$), y *m/z* 526 ($^{37}\text{ClM}+\text{H}$); Calculado para $\text{C}_{22}\text{H}_{23}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_6$: 524,35. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2,75 (d, $J = 7,34$ Hz, 2H, $-\text{CH}_2-\text{COOH}$), 3,16

(d a, J = 11,98 Hz, 2H), 3,33 (d a, J = 12,23 Hz, 2H), 3,87 (d, J = 5,87 Hz, 2H), 4,08 (s a, 1H), 5,15 (c, J = 7,17 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,75 (t, J = 2,08 Hz, 1H), 7,11 (appt, 1H), 7,14 (appt, 1H), 7,40 (d, J = 1,96 Hz, 1H), 7,49 (appt, 1H), 8,12 (s, 2H), 8,54 (d, J = 8,07 Hz, 1H), 8,64 (t, J = 5,87 Hz, 1H), 9,64 (s, 1H), 10,02 (s a, 1H), 12,40 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ¹H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 15.

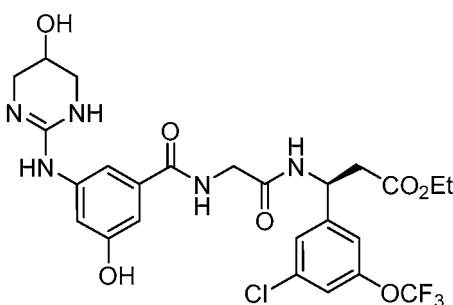
Ejemplo 16

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



Etapas 1

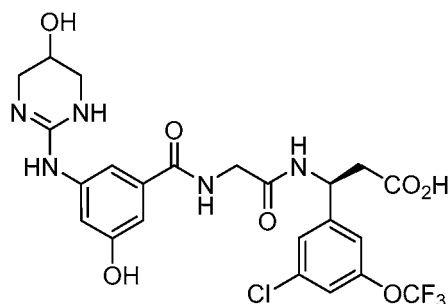
Preparación de (3S)-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo



Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (61,0 mg, 0,198 mmol), (3S)-3-amino-3-(3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil)propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo G) (68,89 mg, 0,198 mmol) se disolvió en DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) para dar una suspensión crema. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (6,1 mg, 0,040 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (46 µl, 0,297 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso crema del producto: (3S)-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoil]amino]acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 602 (³⁵ClM+H), *m/z* 604 (³⁷ClM+H), *m/z* 624 (³⁵ClM+Na), y *m/z* 626 (³⁷ClM+Na), Calculado para C₂₅H₂₇ClF₃N₅O₇:601,96. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapas 2

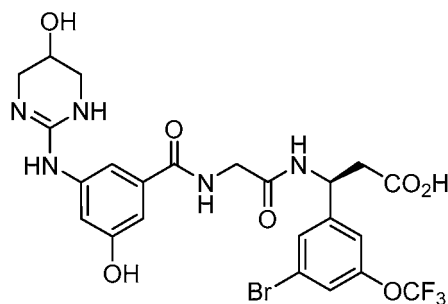
Preparación de ácido (3S)-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoico



A una solución de (3S)-3-[3-cloro-5-(trifluorometoxi)fenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoi]amino]acetil]amino]propanoato de etilo crudo de etapa 1 anterior (0,198 mmol) en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (42 mg, 1,10 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se neutralizó con TFA (100 µl en 5,0 ml de CH₃CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo viscoso incoloro. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-70 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 16) (69,50 mg, rendimiento 61 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 574 (³⁵ClM+H), *m/z* 576 (³⁷ClM+H), *m/z* 596 (³⁵ClM+Na), y *m/z* 598 (³⁷ClM+Na), Calculado para C₂₃H₂₃ClF₃N₅O₇: 573,91. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,76 (d, J = 7,34 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,17 (d, J = 12,47 Hz, 2H), 3,34 (d, J = 12,72 Hz, 2H), 3,88 (d, J = 5,87 Hz, 2H), 4,09 (t, J = 3,20 Hz, 1H), 5,21 (c, J = 7,17 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,76 (t, J = 2,08 Hz, 1H), 7,12 (t, J = 1,59 Hz, 1H), 7,14 (t, J = 1,00 Hz, 1H), 7,35 (s, 1H), 7,45 (d, J = 0,73 Hz, 1H), 7,49 (t, J = 1,47 Hz, 1H), 8,13 (s a, 1H), 8,58 (d, J = 7,82 Hz, 1H), 8,65 (t, J = 5,87 Hz, 1H), 9,64 (s, 1H), 10,03 (s a, 1H), 12,44 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ¹H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 16. RMN ¹⁹F (376 MHz, DMSO-*d*₆): δ -56,83 (s), y -73,70 (s).

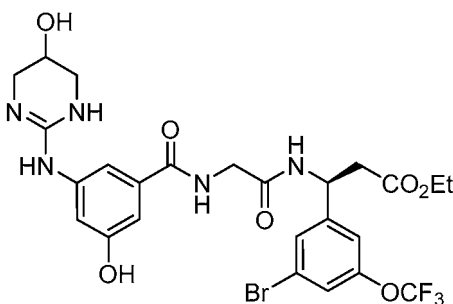
Ejemplo 17

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



Etapa 1

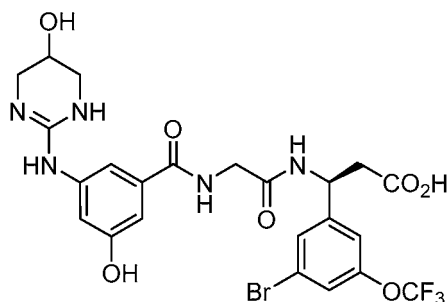
Preparación de (3S)-3-(3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil)-3-(2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acetamido)propanoato de etilo



Una mezcla de ácido 2-(3-hidroxi-5-((5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino)benzamido)acético (Ejemplo B) (65,0 mg, 0,211 mmol), (S)-3-amino-3-(3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil)propanoato de etilo clorhidrato (Ejemplo H) (82,75 mg, 0,211 mmol) se disolvió en DMF (2 ml) y diclorometano (2 ml) para dar una suspensión incolora. 1-Hidroxibenzotriazol hidrato sólido (7,0 mg, 0,046 mmol) se añadió a mezcla anterior de reacción y la mezcla de reacción se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 10 min. *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (50 µl, 0,323 mmol) se añadió y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno durante una noche. El disolvente se evaporó *al vacío* para dar un residuo gomoso crema del producto: (3S)-3-[3-bromo-5-(trifluorometoxi)fenil]-3-[[2-[[3-hidroxi-5-[(5-hidroxi-1,4,5,6-tetrahidropirimidin-2-il)amino]benzoi]amino]acetil]amino]propanoato de etilo. Análisis LC-MS del residuo crudo muestra la masa deseada de producto: *m/z* 646 (⁷⁹BrM+H), *m/z* 648 (⁸¹BrM+H), *m/z* 668 (⁷⁹BrM+Na), y *m/z* 670 (⁸¹BrM+Na), Calculado para C₂₅H₂₇BrF₃N₅O₇: 646,41. El residuo crudo se usó como tal para la reacción de saponificación en la Etapa 2.

Etapa 2

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



A una solución del producto crudo (0,211 mmol) de etapa 1 anterior en una mezcla de una mezcla 1:1 de acetonitrilo/agua (6 ml) se añadió hidróxido de litio monohidrato (48 mg, 1,144 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se neutralizó con TFA (0,1 ml en 5,0 ml de CH₃CN) y la mezcla se evaporó *al vacío* para dar un residuo viscoso incoloro. El producto crudo anterior se purificó por HPLC de fase inversa con un gradiente 10-70 % CH₃CN en agua conteniendo 0,05 % TFA para dar el producto deseado, después de liofilización, como sólido liofilizado incoloro (Ejemplo 17) (83,2 mg, rendimiento 64 %). Análisis LC/MS del producto muestra la masa deseada de producto: *m/z* 618 (⁷⁹BrM+H), *m/z* 620 (⁸¹BrM+H), *m/z* 640 (⁷⁹BrM+Na), y *m/z* 642 (⁸¹BrM+Na). Calculado para C₂₃H₂₃BrF₃N₅O₇: 618,36. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2,75 (d, J = 7,09 Hz, 2H, -CH₂-COOH), 3,16 (d, J = 12,23 Hz, 2H), 3,33 (d, J = 11,25 Hz, 2H), 3,87 (d, J = 5,87 Hz, 2H), 4,08 (t, J = 3,20 Hz, 1H), 5,19 (c, J = 7,42 Hz, 1H, -NH-CH-CH₂-COOH), 6,75 (t, J = 1,96 Hz, 1H), 7,11 (appt, 1H), 7,14 (t, J = 1,70 Hz, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 8,12 (s a, 1H), 8,58 (d, J = 7,82 Hz, 1H), 8,64 (t, J = 5,87 Hz, 1H), 9,63 (s a, 1H), 10,02 (s a, 1H), 12,42 (s a, 1H, -COOH). Espectro RMN ¹H del producto fue consistente con la estructura propuesta para Ejemplo 17. RMN ¹⁹F (376 MHz, DMSO-*d*₆): δ -56,81 (s), y -73,81 (s).

C. Resultados de ensayo biológico

Las actividades de los compuestos de la presente divulgación y los compuestos de comparación se probaron en los siguientes ensayos y estudios experimentales. Los resultados se presentan en las Tablas 2, 3, y 4, y FIG. 1.

1. Ensayo de receptor de fase sólida (SPRA) para función α5β1

Fibronectina humana purificada (R&D Systems, 1918-FN) diluida a 2 µg/ml en tampón TBS+ (Tris 25 mM pH 7,4, NaCl 137 mM, 2,7 mM KCl, CaCl₂ 1 mM, MgCl₂ 1 mM, MnCl₂ 1 mM) se añadió a pocillos (50 µl/pocillo) de una placa de microtitulación transparente de semipocillo de 96 pocillos (Greiner 675061) y se incubaron durante una noche a 4 °C. Los pocillos se lavaron 3 veces con 150 µl de TBS+ y 150 µl de tampón de bloqueo (TBS+ con 1 % de albúmina de suero bovino, Sigma A7906) se añadieron. La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y después se lavó 3x con tampón TBS+. La integrina humana recombinante α5β1 (R&D Systems, 3230-A5) se diluyó a 0,1 µg/ml en TBS+/0,1% de albúmina de suero bovino. Los compuestos se diluyeron 1:100 en solución de integrina y después se añadieron 50 µl a los pocillos vacíos de la placa recubierta con fibronectina lavada según una plantilla estándar con cada muestra repetida por triplicado. Después de incubación de dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3x con 150 µl de tampón TBS+. A cada pocillo, 50 µl de anticuerpo biotinilado anti-α5 (R&D Systems, BAF1864) a 0,5 µg/ml en TBS+/0,1 % BSA se añadieron a la placa cubierta y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3x con 150 µl de tampón TBS+, 50 µl de peroxidasa de rábano conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en TBS+ tampón de bloqueo se añadieron a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La placa se lavó 3x con tampón TBS+ seguido de 50 µl de sustrato TMB de temperatura ambiente (Sigma, T444) agregado a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Las placas se leyeron mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Las curvas concentración-respuesta se construyeron mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste), y se calcularon valores CI₅₀ para cada compuesto.

2. Ensayo de receptor de fase sólida (SPRA) para función αvβ1

Fibronectina humana purificada (R&D Systems, 1918-FN) diluida a 5 µg/ml en tampón TBS+ (Tris 25 mM pH 7,4, NaCl 137 mM, 2,7 mM KCl, CaCl₂ 1 mM, MgCl₂ 1 mM, MnCl₂ 1 mM) se añadió a pocillos (50 µl/pocillo) de una placa de microtitulación transparente de semipocillo de 96 pocillos (Greiner 675061) y se incubaron durante una noche a 4 °C. Los pocillos se lavaron 3 veces con 150 µl de TBS+ y 150 µl de tampón de bloqueo (TBS+ con 1 % de albúmina de suero bovino, Sigma A7906) se añadieron. La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y después se lavó 3x con tampón TBS+. Integrina humana recombinante αvβ1 (R&D Systems, 6579-AV) se diluyó a 2,0 µg/ml en TBS+/0,1% de albúmina de suero bovino. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y se añadieron 50 µl a los pocillos vacíos de la placa recubierta con fibronectina lavada según una plantilla estándar con cada muestra repetida por triplicado. Después de incubación de dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3x con 150 µl de tampón TBS+. A cada pocillo, 50 µl de anticuerpo anti-αv biotinilado (R&D Systems, BAF1219) a 1 µg/ml en TBS+/0,1 % BSA se añadieron a la placa cubierta y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3x

con 150 µl de tampón TBS+, 50 µl de peroxidasa de rábano conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en TBS+ tampón de bloqueo se añadieron a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La placa se lavó 3x con tampón TBS+ seguido de 50 µl de sustrato TMB (Sigma, T4444) añadido a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Las placas se leyeron mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Las curvas concentración-respuesta se construyeron mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste), y se calcularon valores CI_{50} para cada compuesto.

3. Ensayo de receptor de fase sólida (SPRA) para función $\alpha\beta 3$

Vitronectina humana recombinante (R&D Systems, 2308-VN) diluida a 1 µg/ml en tampón TBS+ (Tris 25 mM pH 7,4, NaCl 137 mM, 2,7 mM KCl, $CaCl_2$ 1 mM, $MgCl_2$ 1 mM, $MnCl_2$ 1 mM) se añadió a pocillos (50 µl/pocillo) de una placa de microtitulación transparente de semipocillo de 96 pocillos (Greiner 675061) y se incubaron durante una noche a 4 °C. Los pocillos se lavaron 3 veces con 150 µl de TBS+ y 150 µl de tampón de bloqueo (TBS+ con 1 % de albúmina de suero bovino, Sigma A7906) se añadieron. La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y después se lavó 3x con tampón TBS+. La integrina humana recombinante $\alpha\beta 3$ (R&D Systems, 3050-AV) se diluyó a 1 µg/ml en TBS+/0,1% de albúmina de suero bovino. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y después 50 µl se añadieron a los pocillos vacíos de la placa revestida con vitronectina lavada según una plantilla estándar con cada muestra repetida por triplicado. Después de incubación de dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3x con 150 µl de tampón TBS+. A cada pocillo, 50 µl de anticuerpo anti- αv biotinilado (R&D Systems, BAF1219) a 0,5 µg/ml en TBS+/0,1 % BSA se añadieron a la placa cubierta y se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3x con 150 µl de tampón TBS+, 50 µl de peroxidasa de rábano conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en TBS+ tampón de bloqueo se añadieron a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La placa se lavó 3x con tampón TBS+ seguido de 50 µl de sustrato TMB (Sigma, T4444) añadido a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Las placas se leyeron mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Las curvas concentración-respuesta se construyeron mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste), y se calcularon valores CI_{50} para cada compuesto.

4. Ensayo de receptor de fase sólida (SPRA) para función $\alpha\beta 5$

Vitronectina humana recombinante (R&D Systems, 2308-VN) a 0,25 µg/ml en tampón TBS+ (Tris pH 7,4 25 mM, NaCl 137 mM, 2,7 mM KCl, $CaCl_2$ 1 mM, $MgCl_2$ 1 mM, $MnCl_2$ 1 mM) se añadió a pocillos (50 µl/pocillo) de una placa de microtitulación transparente de semipocillo de 96 pocillos (Greiner 675061) y se incubaron durante una noche a 4 °C. Los pocillos se lavaron 3 veces con 150 µl de TBS+ y 150 µl de tampón de bloqueo (TBS+ con 1 % de albúmina de suero bovino, Sigma A7906) se añadieron. La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y después se lavó 3x con tampón TBS+. La integrina humana recombinante $\alpha\beta 5$ (R&D Systems, 2528-AV) se diluyó a 0,1 µg/ml en TBS+/0,1% de albúmina de suero bovino. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y después 50 µl se añadieron a los pocillos vacíos de la placa revestida con vitronectina lavada según una plantilla estándar con cada muestra repetida por triplicado. Después de incubación de dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3x con 150 µl de tampón TBS+. A cada pocillo, 50 µl de anticuerpo anti- αv biotinilado (R&D Systems, BAF1219) a 0,5 µg/ml en TBS+/0,1 % BSA a 0,5 µg/ml se añadieron y la placa cubierta e incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3x con 150 µl de tampón TBS+, 50 µl de peroxidasa de rábano conjugada con estreptavidina (R&D Systems DY998) diluida en tampón TBS+ de bloqueo se añadieron a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La placa se lavó 3x con tampón TBS+ seguido de 50 µl de sustrato TMB (Sigma T4444) añadido a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Las placas se leyeron mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Las curvas concentración-respuesta se construyeron mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste), y se calcularon valores CI_{50} para cada compuesto.

5. Ensayo de receptor de fase sólida (SPRA) para función $\alpha\beta 6$

LAP humana recombinante (R&D Systems, 246-LP) diluida a 0,25 µg/ml en tampón TBS+ (Tris 25 mM pH 7,4, NaCl 137 mM, 2,7 mM KCl, $CaCl_2$ 1 mM, $MgCl_2$ 1 mM, $MnCl_2$ 1 mM) se añadió a pocillos (50 µl/pocillo) de una placa de microtitulación transparente de semipocillo de 96 pocillos (Greiner 675061) y se incubaron durante una noche a 4 °C. Los pocillos se lavaron 3 veces con 150 µl de TBS+, y 150 µl de tampón de bloqueo (TBS+ con 1 % de albúmina de suero bovino, Sigma A7906) se añadieron. La placa se incubó durante 1 h a 37 °C, y después se lavó 3x con tampón TBS+. La integrina humana recombinante $\alpha\beta 6$ (R&D Systems, 3817-AV) se diluyó a 0,1 µg/ml en TBS+/0,1% de albúmina de suero bovino. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y después 50 µl se añadieron a los pocillos vacíos de la placa revestida con LAP lavada según una plantilla estándar con cada muestra repetida por triplicado. Después de incubación de dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3x con 150 µl de tampón TBS+. A cada pocillo, 50 µl de anticuerpo anti- αv biotinilado (R&D Systems, BAF1219) a 0,5 µg/ml en TBS+/0,1 % BSA se añadieron y la placa se cubrió e incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3x con 150 µl de tampón TBS+, 50 µl de peroxidasa de rábano conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en TBS+ tampón de bloqueo se añadieron a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La placa se lavó 3x con tampón TBS+ seguido de 50 µl de sustrato TMB (Sigma T4444) añadido a cada

pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Las placas se leyeron mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Las curvas concentración-respuesta se construyeron mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste), y se calcularon valores CI_{50} para cada compuesto.

6. Ensayo de receptor de fase sólida (SPRA) para función $\alpha\beta 8$

Proteína LAP humana recombinante (R&D Systems, Inc, 246-LP) diluida a 0,5 $\mu\text{g/ml}$ en tampón TBS+ (Tris 25 mM pH 7,4, NaCl 137 mM, 2,7 mM KCl, CaCl_2 1 mM, MgCl_2 1 mM, MnCl_2 1 mM) se añadió a pocillos (50 μl /pocillo) de una placa de microtitulación transparente de medio pocillo de 96 pocillos (Greiner 675061), y se incubaron durante una noche a 4 °C. Wells se lavaron 3 veces con 150 μl de TBS+ y 150 μl de tampón de bloqueo (TBS+ con 1 % de albúmina de suero bovino, Sigma A7906) se añadieron. La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y después se lavó 3x con TBS+. La integrina humana recombinante $\alpha\beta 8$ (R&D Systems, 4135-AV) se diluyó a 0,1 $\mu\text{g/ml}$ en TBS+/0,1 % de albúmina de suero bovino. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y se añadieron 50 μl a los pocillos vacíos de la placa revestida con LAP lavada según una plantilla estándar con cada muestra repetida por triplicado. Después de incubación de dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3x con 150 μl de TBS+. A cada pocillo, 50 μl de anticuerpo anti- $\alpha\beta$ biotinilado (R&D Systems, BAF1219) a 1 $\mu\text{g/ml}$ en TBS+/0,1 % BSA se añadieron y la placa se cubrió e incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3x con 150 μl de tampón TBS+, 50 μl de peroxidasa de rábano conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en TBS+ tampón de bloqueo se añadieron a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La placa se lavó 3x con TBS+ seguido de 50 μl de sustrato TMB (Sigma T4444) añadido a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Las placas se leyeron mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Las curvas concentración-respuesta se construyeron mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste), y se calcularon valores CI_{50} para cada compuesto.

7. Ensayo de receptor de fase sólida (SPRA) para función $\alpha 8\beta 1$

Proteína nefronectina de ratón recombinante (R&D Systems, Inc, 4298-NP) diluida a 1 $\mu\text{g/ml}$ en tampón TBS+ (Tris 25 mM pH 7,4, NaCl 137 mM, 2,7 mM KCl, CaCl_2 1 mM, MgCl_2 1 mM, MnCl_2 1 mM) se añadió a pocillos (50 μl /pocillo) de una placa de microtitulación transparente de medio pocillo de 96 pocillos (Greiner 675061), y se incubaron durante una noche a 4 °C. Wells se lavaron 3 veces con 150 μl de TBS+ y 150 μl de tampón de bloqueo (TBS+ con 1 % de albúmina de suero bovino, Sigma A7906) se añadieron. La placa se incubó durante 1 h a 37 °C y después se lavó 3x con TBS+. La integrina humana recombinante $\alpha 8\beta 1$ (R&D Systems, pre-lanzamiento) se diluyó a 0,25 $\mu\text{g/ml}$ en TBS+/0,1 % de albúmina de suero bovino. Los compuestos se diluyeron 1:100 en la solución de integrina y se añadieron 50 μl a los pocillos vacíos de la placa revestida con nefronectina lavada según una plantilla estándar con cada muestra repetida por triplicado. Después de incubación de dos horas a temperatura ambiente, la placa se lavó 3x con 150 μl de TBS+. A cada pocillo, 50 μl de anticuerpo biotinilado anti- $\beta 1$ (R&D Systems, BAF1778) a 0,5 $\mu\text{g/ml}$ en TBS+/0,1 % BSA se añadieron y la placa se cubrió e incubó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de lavar la placa 3x con 150 μl de tampón TBS+, 50 μl de peroxidasa de rábano conjugada con estreptavidina (R&D Systems, DY998) diluida en TBS+ tampón de bloqueo se añadieron a los pocillos y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. La placa se lavó 3x con TBS+ seguido de 50 μl de sustrato TMB (Sigma T4444) añadido a cada pocillo y la placa se incubó durante 20 min a temperatura ambiente. Las placas se leyeron mediante detección colorimétrica a una longitud de onda de 650 nm usando un lector de placas Tecan Safire II. Las curvas concentración-respuesta se construyeron mediante análisis de regresión no lineal (mejor ajuste), y se calcularon valores CI_{50} para cada compuesto.

D. Análisis farmacocinético

1. Materiales

Un volumen mínimamente suficiente de dimetilsulfóxido (DMSO) se añade en cada compuesto de prueba para lograr solubilización. Para administración intravenosa (IV), los compuestos se formularon después como soluciones en glicerol formal:solución salina (20:80 o 40:60 v/v) (Sigma Chemicals, St. Louis). Para administración oral (PO), compuestos se formularon con metilcelulosa al 0,5 %. De cinco a seis soluciones de compuesto se combinan en una solución mixta individual para administración de cassettes IV y PO con DMSO final <0,6 % o <1,2 %, para los cassettes IV y PO, respectivamente. Los analitos se detectaron en muestras de prueba usando un sistema LC/MS/MS (cromatografía líquida/espectrometría de masas) que consiste en una bomba LC-20AD (Shimadzu, Kyoto, Japón), un inyector automático HTC PAL (Leap technologies, Carrboro, NC), espectrómetro de masas Sciex API-4000 en modo ESI (AB Sciex, Foster City, CA.). Una columna de fase inversa Amour C_{18} (Analytical Sales y Services, Pompton Plains, N.J.) se usó para separación cromatográfica.

2. Protocolos experimentales

Los estudios farmacocinéticos (PK) realizados en la Universidad de Saint Louis utilizaron ratas macho Sprague-Dawley con peso corporal inicial de 200 a 220 g. Se realizaron estudios IV de PK con los siguientes compuestos: Ejemplos 1-3 y 5-17 y compuestos de comparación C12-C18, C29 y C30. A los animales se les permitió libre acceso a comida y

agua. Las ratas se alojaron individualmente y se conectaron a catéteres de vena yugular. Cada formulación de casete se administró vía intravenosa a dos ratas (1 ml/kg de peso corporal). Cada formulación de casete contenía 5-6 compuestos a 1 mg/kg en 20:80 o 40/60 glicerol formal/solución salina (v/v). La sangre se recogió manualmente a través del catéter en tubos de litio-heparina a 0,017, 0,083, 0,5, 1, 2, 4, 6 y 24 horas después de la dosis. Los animales fueron sacrificados con CO₂ al final del experimento.

Se realizaron estudios orales de PK con los siguientes compuestos: Ejemplos 1-3 y 5-17 y compuestos de comparación C12, C14-16 y C29-30. Las formulaciones de casete PO se administraron por sonda oral a dos ratas (10 ml/kg de peso corporal) conteniendo 5-6 compuestos por casete. La dosis oral se administró a 2 mg/kg/compuesto en 0,5 % de metilcelulosa. Los puntos de tiempo de extracción de sangre fueron 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6 y 24 horas después de la dosis en tubos de litio-heparina. Los animales fueron sacrificados con CO₂ al final del experimento.

El estándar interno seleccionó todas las muestras a 200 ng/ml (final), así como 150 µl de acetonitrilo. Las muestras de plasma (50 µl de volumen total) se diluyeron con plasma de rata virgen de control según sea apropiado para llevar la medición de la muestra al rango dinámico lineal de la curva estándar. Las muestras se taparon y mezclaron en un vórtice de placas múltiples durante 5 minutos y se centrifugaron durante 5 minutos a 3200 rpm. El sobrenadante se transfirió a una placa de muestra de 96 pocillos y se tapó para análisis LC/MS/MS. Los compuestos fueron optimizados y monitoreados para sus respectivas transiciones MRM. Las fases móviles consistieron en 0,1 % de ácido fórmico (acuoso) y 100 % de acetonitrilo (orgánico) con una columna de fase inversa Amour C₁₈ (2,1 x 30 mm, 5 micrómetros) y un caudal de 0,35 ml/min. La fase inicial fue de acetonitrilo al 10 % durante los 0,9 minutos después, aumentó a acetonitrilo al 90 % durante 0,4 minutos, y se mantuvo durante 0,2 minutos adicionales antes de volver a acetonitrilo al 10 % durante 0,4 minutos. Se mantuvo acetonitrilo al 10 % durante 1,6 minutos adicionales. Las áreas de pico se integraron usando Analyst 1,5,1 (AB Sciex, Foster City, CA.).

PRESCOS, LLC (San Diego, CA) realizó estudios similares de PK en ratas para los compuestos de comparación C19-C28. Se utilizaron ratas hembra Sprague-Dawley con un peso corporal inicial de 195 a 220 g. Las formulaciones en casete con 1 mg/kg/compuesto en 40/60 glicerol formal/solución salina se administraron por vía intravenosa a tres ratas. El volumen de dosificación para cada animal fue de 5 ml/kg de peso corporal. Se recogieron muestras de sangre mediante un catéter de vena yugular a 0,017, 0,25, 0,5, 1, 2, 4 y 8 horas después de la dosis en tubos K2EDTA. Los animales fueron sacrificados con CO₂ al final del experimento. Procesamiento de muestras y medición compuesta por LC/MS/MS se realizó por HT Laboratories (San Diego, CA).

Tabla 3A - Resultados del ensayo de integrina para compuestos de comparación

	α 5 β 1 CI ₅₀ SPRA (nM)	α 8 β 1 CI ₅₀ SPRA (nM)	α v β 1 CI ₅₀ SPRA (nM)	α v β 3 CI ₅₀ SPRA (nM)	α v β 5 CI ₅₀ SPRA (nM)	α v β 6 CI ₅₀ SPRA (nM)	α v β 8 CI ₅₀ SPRA (nM)
Compuestos de comparación							
C1	16 ± 9	8 ± 2	17 ± 2	5 ± 2	3 ± 1	2 ± 1	3 ± 2
C2	8	3 ± 0	5	3	0,4	>1000	5
C3	40	14	7	2	2	1	2
C4	7	63	10	4	2	2	6
C5	24	383	17 ± 5	4	1	17 ± 2	66
C6	7 ± 4	17	8 ± 6	6	1	1	9 ± 6
C7	59	26	101	11	25	12	7
C8	38	594	13	5	5	2	18
C9	8 ± 3	40	5 ± 2	4 ± 1	0,4	1	6 ± 3
C10	18	10	14 ± 8	6	2	3	5
C11	33	17	16 ± 4	9	2	4	11

Tabla 3B - Resultados de ensayo de integrina para Ejemplos

	α 5 β 1 CI ₅₀ SPRA (nM)	α 8 β 1 CI ₅₀ SPRA (nM)	α v β 1 CI ₅₀ SPRA (nM)	α v β 3 CI ₅₀ SPRA (nM)	α v β 5 CI ₅₀ SPRA (nM)	α v β 6 CI ₅₀ SPRA (nM)	α v β 8 CI ₅₀ SPRA (nM)
Ejemplos							
1	1 ± 0,5	1,3	2 ± 2	2,3 ± 0,1	0,2	0,4	0,3 ± 0,1
2	0,8	1,5	2	2,7 ± 0,4	0,4	0,3	0,5 ± 0,0
3	0,5	0,9	2	1	0,2	0,4	0,3
4	0,7	0,6	2	3	0,4	0,4	0,4
5	0,8	0,9	2	3	0,5	0,5	0,6
6	0,6	0,5	3	1	0,2	0,4	0,5
7	0,7	0,6	1	3	0,2 ± 0,0	0,3	0,4
8	0,6	0,6	1	4	0,1	0,4	0,4
9	0,3	0,5	1	3	0,3	0,3	0,3

(continuación)

	α 5 β 1 Cl ₅₀ SPRA (nM)	α 8 β 1 Cl ₅₀ SPRA (nM)	α v β 1 Cl ₅₀ SPRA (nM)	α v β 3 Cl ₅₀ SPRA (nM)	α v β 5 Cl ₅₀ SPRA (nM)	α v β 6 Cl ₅₀ SPRA (nM)	α v β 8 Cl ₅₀ SPRA (nM)
Ejemplos							
10	1 ± 0,4	1,1	2 ± 1	4	1	0,3 ± 0,1	0,3 ± 0,1
11	0,5	0,7	0,4	2	0,3	0,5	0,6
12	2	0,8	4 ± 2	4	0,4	0,6	0,7 ± 0,1
13	0,6	0,6	1	1,7 ± 0,0	0,1	0,4	1,0 ± 0,3
14	0,6	0,4	0,7	0,3	0,1	0,2	0,2
15	1 ± 0,3	1,2	4 ± 1	4	0,3	0,6	1,1 ± 0,3
16	1 ± 0,4	0,5	3 ± 2	3 ± 0,3	0,6	0,5	0,3 ± 0,1
17	1 ± 0,1	0,7	4 ± 2	2,8 ± 1,1	0,6	0,7	0,3 ± 0,1

Tabla 4A - Semivida plasmática de Ejemplos

Ejemplos	t_{1/2} plasmático después de dosis de 1 mg/kg en bolo IV en rata
1	20,2 h
2	9,1 h
3	6,1 h
4	No ensayado
5	6,6 h
6	16,7 h
7	4,6 h
8	23,9 h
9	5,6 h
10	3,9 h
11	24,0 h
12	13,7 h
13	11,0 h
14	34,2 h
15	23,8 h
16	3,2 h
17	4,1 h

Tabla 4B - Semivida plasmática de compuestos de comparación

Compuestos de comparación	t_{1/2} plasmático después de dosis de 1 mg/kg en bolo IV en rata
C12	0,5 h
C13	1,1 h
C14	1,0 h
C15	0,6 h
C16	1,6 h
C17	0,8 h
C18	1,2 h
C19	0,43 h
C20	0,38 h
C21	1,5 h
C22	0,30 h
C23	0,21 h
C24	0,28 h
C25	0,23 h
C26	0,25 h
C27	0,21 h
C28	0,3 h
C29	<,08 h
C30	1,6 h

Tabla 5A - Exposición plasmática AUC de compuestos

Ejemplo	AUC (0-inf) (ngXh/ml) después de dosis de 2 mg/kg PO en rata
1	25048
2	19257

(continuación)

Ejemplo	AUC (0-inf) (ngXh/ml) después de dosis de 2 mg/kg PO en rata
3	4870
4	No ensayado
5	11402
6	34386
7	3887
8	4468
9	4121
10	12969
11	9136
12	9107
13	13929
14	6502
15	15610
16	6808
17	13128

Tabla 5B - Exposición plasmática AUC de compuestos de comparación

Compuesto de comparación	AUC (0-inf) (ngXh/ml) después de dosis de 2 mg/kg PO en rata
C12	205
C14	224
C15	87
C16	62
C29	< 1
C30	<1

- 5 El AUC de los ejemplos descritos en este documento y los compuestos de comparación seleccionados se determinó después de una dosis única de 2 mg/kg oral (PO) en rata, demostrando una mejor exposición plasmática de los ejemplos de la presente divulgación.

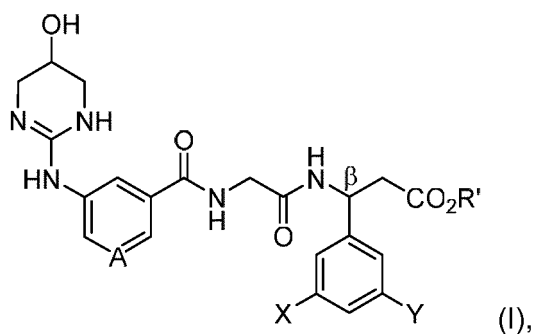
REFERENCIAS

- 10 Patente estadounidense n.º 6.013.651
 Patente estadounidense n.º 6.028.223
 Adachi et al., Clin. Cancer Res., 6(1):96-101, 2000.
 Asano et al., J. Immunol., 175(11):7708-7718, 2005.
 15 Avraamidas et al., Nat. Rev. Cancer, 8(8):604-617, 2008.
 Bax et al., J. Biol. Chem., 278(36):34605-34616, 2003.
 Becker et al., Tetrahedron, 39:4189-4192, 1983.
 Bhaskar et al., J. Transl. Med., 5:61, 2007.
 Blase et al., Int. J. Cancer, 60(6):860-866, 1995.
 20 Bouzeghrane, et al., J. Mol. Cell. Cardiology, 36:343-353, 2004.
 Clark, et al., Organic Process Research & Development, 8:51-61, 2004.
 Clark, et al., Organic Process Research & Development, 8:571-575, 2004.
 Collo, J. Cell Sci., 112(Pt 4):569-578, 1999.
 Danen et al., Histopathology, 24(3):249-256, 1994.
 25 Edward, Curr. Opin. Oncol., 7(2):185-191, 1995.
 Engleman et al., J. Clin. Invest., 99(9):2284-2292, 1997.
 Faulconbridge et al., Tetrahedron Lett., 41:2679-2681, 2000.
 Ferrari et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 103(46):17260-17265, 2006.
 Gao y Brigstock, Gut, 55:856-862, 2006.
 30 Girsch et al., J. Med. Chem., 50:1658-1667, 2007.
 Girsch et al., J. Med. Chem., 51:6752-6760, 2008.
 Greene & Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, 3ª ed., John Wiley, 1999. Handbook of Pharmaceutical
 Sales: Properties, and Use, Stahl y Wermuth (Eds.), Verlag Helvetica Chimica Acta, 2002.
 Henderson, et al., Nat. Med., 19:1617-1624, 2013.
 35 Herlt, et al., Austr. J. Chem., 34(6):1319-1324, 1981.
 Horan et al., Am. J. Respir. Crit. Care Med., 177(1):56-65, 2008.
 Jorgensen, et al., J. Am. Chem. Soc., 124(42):12557-12565, 2002.
 Kim et al., Am. J. Pathol., 156(4):1345-1362, 2000.
 Landis et al., Organic Process Research & Development, 6:539-546, 2002.
 40 Levine, et al., Am. J. Pathol., 156:1927-1935, 2000.

- Li *et al.*, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 50(12):5988-5996, 2009.
- Livant *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 105(11):1537-1545, 2000.
- Lobert *et al.*, *Dev. Cell*, 19(1):148-159, 2010.
- Lu, *et al.*, *J. Cell Sci.*, 115:4641-4648, 2002.
- 5 March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure, 2007.
- Melton *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 120(12):4436-4444, 2010.
- Millard *et al.*, *Theranostics*, 1:154-88, 2011.
- Mu *et al.*, *Cell Biol.*, 157(3):493-507, 2002.
- Munger *et al.*, *Cell*, 96(3):319-328, 1999.
- 10 Munger *et al.*, *Mol. Biol. Cell*, 9:2627-2638, 1998.
- Nishimura, *Am. J. Pathol.*, 175(4):1362-1370, 2009.
- Perdih, *Curr. Med. Chem.*, 17(22):2371-2392, 2010.
- Popov *et al.*, *J. Hepatol.*, 48(3):453-464, 2008.
- Reagan-Shaw *et al.*, *FASEB J.*, 22(3):659-661, 2008
- 15 Scotton *et al.*, *J. Clin. Invest.*, 119(9):2550-2563, 2009.
- Suehiro *et al.*, *J. Biochem.*, 128(4):705-710, 2000.
- Sun, *et al.*, *Am. J. Therapeutics*, 2014.
- Wipff *et al.*, *J. Cell Biol.*, 179(6):1311-1323, 2007.
- Yang *et al.*, *Development*, 119(4):1093-1105, 1993.
- 20 Yoshimura, *Curr. Top. Microbiol. Immunol.*, 350:127-147, 2011.
- Zahn *et al.*, *Arch. Ophthalmol.*, 127(10):1329-1335, 2009.
- Zahn *et al.*, *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 51(2):1028-1035, 2010

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



en la que:

A es C-OH, o N;

R' es hidrógeno); y

X e Y son cada uno independientemente halo, -OCF₃, -CH₃, -CF₃ o -CHF₂, con la condición de que X e Y no sean ambos -CH₃:

o una sal farmacéuticamente aceptable o un tautómero de la fórmula anterior.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde A es N.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde A es C-OH.

4. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde X es -Cl o -Br.

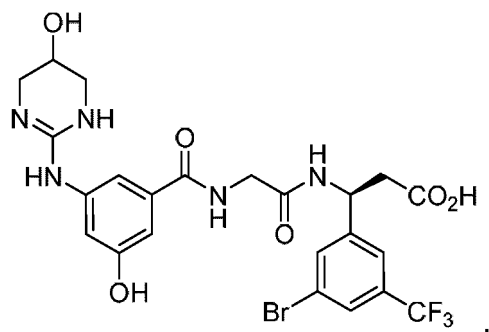
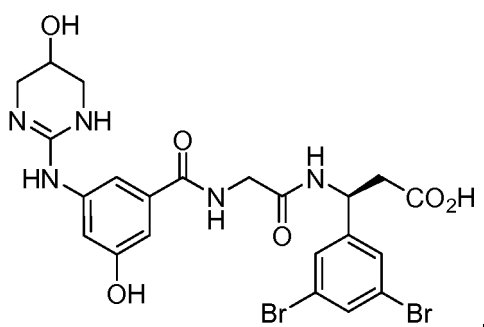
5. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde Y es -OCF₃.

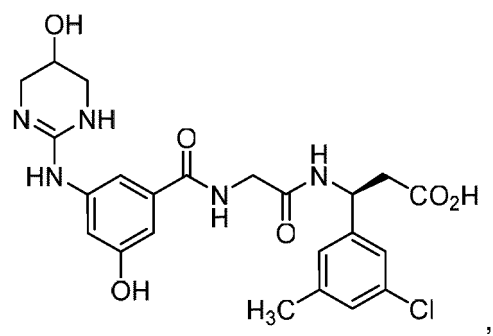
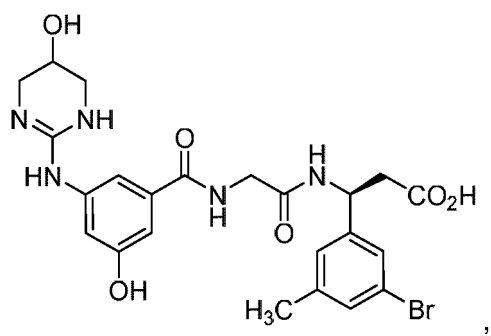
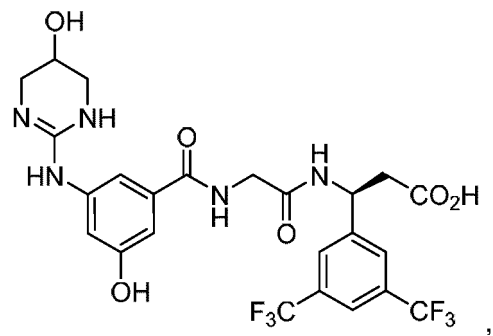
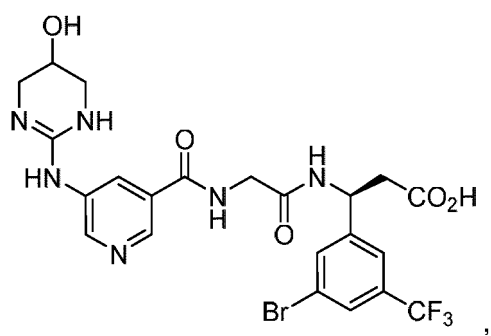
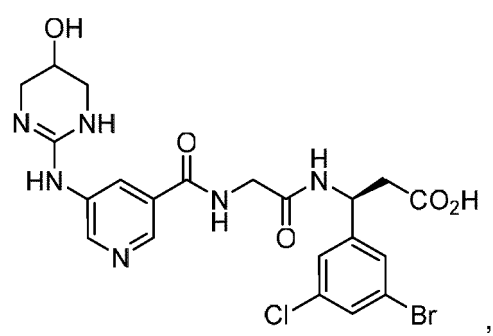
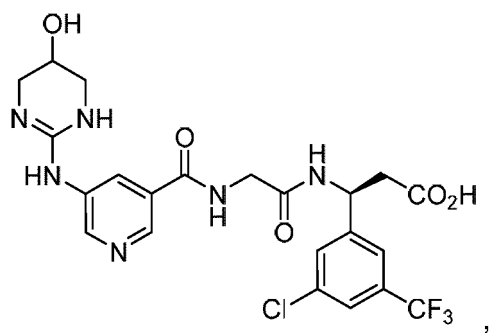
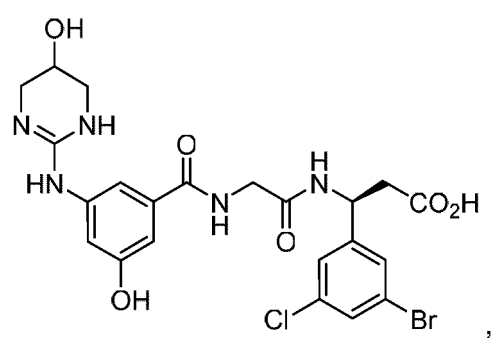
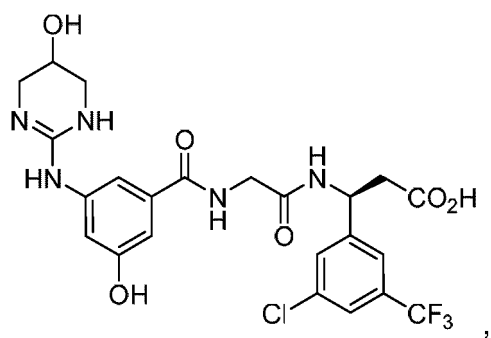
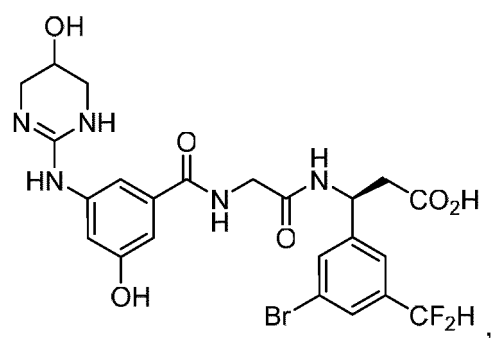
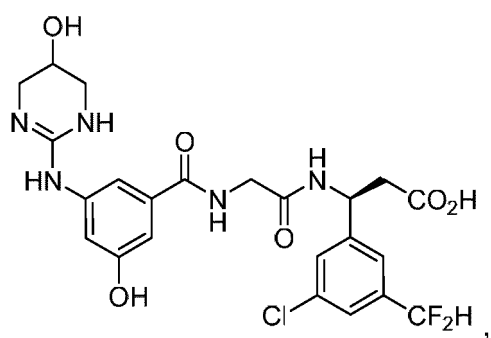
6. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde Y es -CHF₂ o -CF₃.

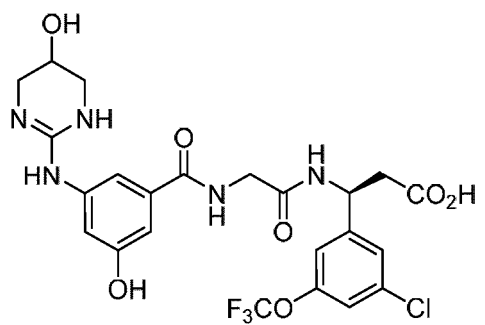
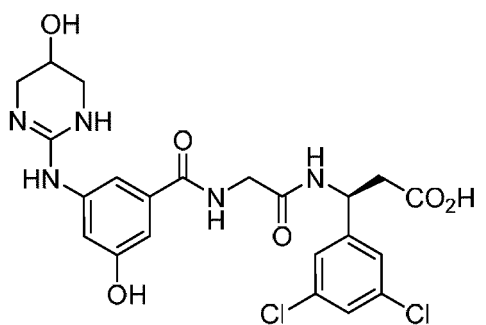
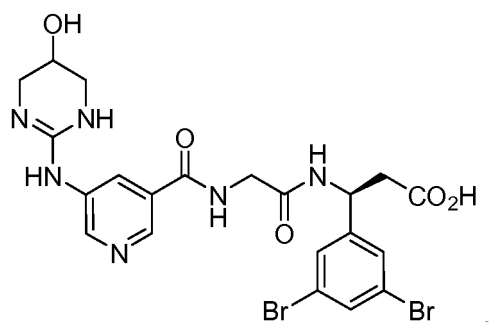
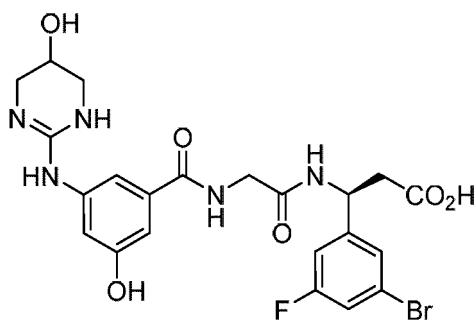
7. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde Y es -CH₃.

8. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde el átomo de carbono marcado con β está en configuración S.

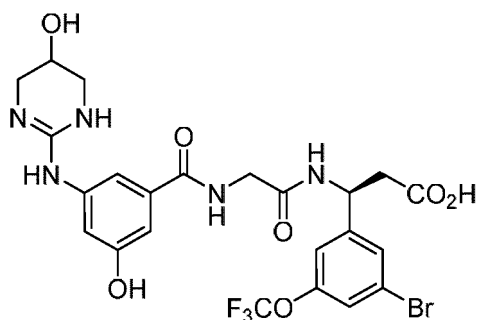
9. El compuesto de la reivindicación 1, definido adicionalmente como:







5 o



o una sal farmacéuticamente aceptable o un tautómero de cualquiera de las fórmulas anteriores.

10

10. Una composición farmacéutica que comprende:

- a) el compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9; y
- b) un excipiente.

15

11. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, para uso en el tratamiento y/o la prevención de una enfermedad o de un trastorno en un paciente que lo necesita.

20

12. El compuesto para uso según la reivindicación 11, en donde la enfermedad o el trastorno están asociados a fibrosis.

13. El compuesto para uso según la reivindicación 11, en donde la enfermedad o el trastorno se seleccionan entre el grupo que consiste en fibrosis pulmonar, hepática, renal, cardíaca, y pancreática, esclerodermia, formación de cicatrices, retinopatía de prematuridad, vitreorretinopatía exudativa familiar, vitreorretinopatías proliferativas, degeneración macular, retinopatía diabética, cáncer, osteoporosis, enfermedades autoinmunes, hipercalcemia humoral de tumor maligno, enfermedad de Paget, enfermedad periodontal, psoriasis, artritis, reestenosis e infección.

25

14. El compuesto para uso según la reivindicación 11, en donde la enfermedad o el trastorno son fibrosis pulmonar.

15. El compuesto para uso según la reivindicación 11, en donde la enfermedad o el trastorno son fibrosis hepática.

30

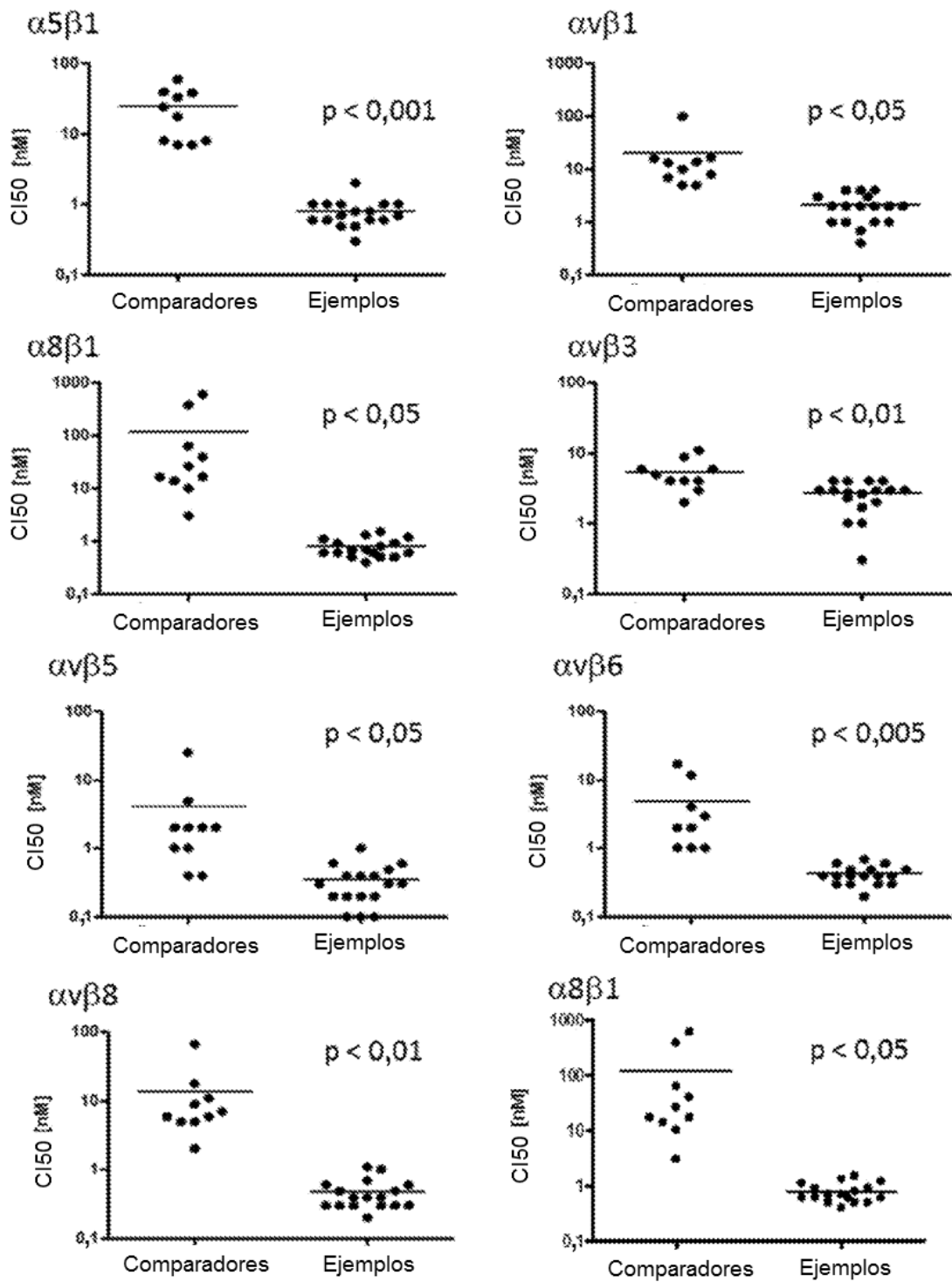


FIG. 1