

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 819 218**

51 Int. Cl.:

C07C 233/62	(2006.01)	A61K 31/426	(2006.01)
C07D 277/28	(2006.01)	A61P 31/04	(2006.01)
C07D 277/64	(2006.01)		
C07D 277/24	(2006.01)		
C07D 417/12	(2006.01)		
C07D 409/12	(2006.01)		
C07D 213/50	(2006.01)		
C07D 213/53	(2006.01)		
A61K 31/4402	(2006.01)		
A61K 31/428	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.10.2015 PCT/US2015/054050**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **14.04.2016 WO16057413**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.10.2015 E 15849799 (0)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.07.2020 EP 3204352**

54 Título: **Inhibidores de lisina gingipaína**

30 Prioridad:

06.10.2014 US 201462060483 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
15.04.2021

73 Titular/es:

**CORTEXIME, INC. (100.0%)
329 Oyster Point, Suite 300
South San Francisco, CA 94080, US**

72 Inventor/es:

**KONRADI, ANDREI;
DOMINY, STEPHEN S.;
CRAWFORD LYNCH, CASEY;
COBURN, CRAIG y
VACCA, JOSEPH**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

ES 2 819 218 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de lisina gingipaína

5 **Referencias cruzadas a solicitudes relacionadas**

La presente solicitud reivindica la prioridad de la solicitud de patente provisional de EE.UU. n.º 62/060.483 presentada el 6 de octubre de 2014.

10 **Antecedentes de la invención**

La infección con la bacteria *Porphyromonas gingivalis* se ha vinculado al desarrollo de enfermedades periodontales, enfermedad de Alzheimer y otros trastornos cerebrales, enfermedad cardiovascular, diabetes, cáncer, hepatopatía, enfermedad renal, nacimiento pretérmino, artritis, neumonía y otros trastornos. *P. gingivalis* es una bacteria de tipo bacilo gramnegativa asacarolítica anaerobia que es conocida por infectar la cavidad oral y translocarse sistémicamente al interior de las arterias coronarias, aorta, tejido placentario, el cerebro, los riñones y el hígado. La bacteria se ha identificado también en tejidos cancerosos y se ha propuesto un mecanismo por el cual las gingipaínas pueden estimular la inmortalización y las metástasis. Véanse: Gandhimadhi, *et al.* Journal of Indian Society of Periodontology, 2010;14(2):114-120; Liao, *et al.*, Med Hypotheses, 2009. 72(6): 732-5; Byrne, *et al.*, Oral Microbiol Immunol, 2009. 24(6): 469-77; Mahendra, *et al.*, J Maxillofac Oral Surg, 2009. 8(2): 108-13; Stelzel, *et al.*, JPeriodontol, 2002. 73(8): 868-70; Katz, *et al.*, Journal of Dental Research, 2009. 88(6): 575-578; Poole, *et al.*, J Alzheimers Dis, 2015, 43(1): 67-80; Ishikawa, *et al.*, Biochim Biophys Acta, 2013. 1832(12): 2035-2043; Inaba, *et al.*, Cellular Microbiology, 2014. 16(1): 131-145.

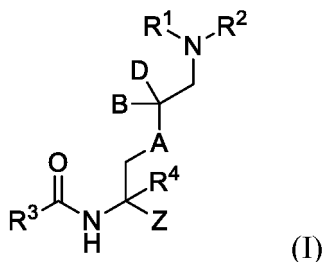
25 *P. gingivalis* produce proteasas extracelulares denominadas gingipaínas, incluyendo arginina gingipaína A (RgpA), arginina gingipaína B (RgpB) y lisina gingipaína (Kgp). Las gingipaínas contribuyen a muchas funciones del organismo incluyendo su supervivencia y virulencia. Las gingipaínas se pueden secretar, transportar a superficies de membranas externas de *P. gingivalis*, o liberarse en vesículas de membranas externas por la bacteria. Las gingipaínas degradan una amplia gama de proteínas (por ejemplo, inmunoglobulinas, inhibidores de proteinasas, actina y colágeno) que pueden producir el colapso del citoesqueleto y la apoptosis en muchos tipos de células. Una investigación reciente ha demostrado que los inhibidores pequeños de Kgp derivados de péptidos pueden evitar la muerte celular epitelial inducida por gingipaína. Véanse: Travis, *et al.*, Adv Exp Med Biol, 2000. 477: 455-65; Sheets, *et al.*, Infect Immun, 2005. 73(3): 1543-52; Sheets, *et al.*, Infect Immun, 2006. 74(10): 5667-78; Stathopoulou, *et al.*, BMC Microbiol, 2009. 9: 107.

30 Singhrao, *et al.*, J. Alzheimer's Dis., 2014. 42(3): 723-737 se refiere a posibles asociaciones entre la progresión de la enfermedad de Alzheimer y la inflamación oral, la pérdida de dientes y sus factores de riesgo. Se necesitan nuevos compuestos para la inhibición de la actividad de gingipaína y el tratamiento de las enfermedades asociadas a la actividad de gingipaína y la infección por *P. gingivalis*. La presente invención resuelve esto y otras necesidades.

40

Breve resumen de la invención

La presente invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I:



45

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

- 50 Z es ariloximetil-carbonilo sustituido con halógeno;
 A se selecciona del grupo que consiste en -CH₂- y -O-;
 B y D se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, haloalquilo C₁₋₄ y haloalcoxi C₁₋₄;
 R¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y un grupo protector de amina, en donde el grupo protector de amina se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, *tert*-butiloxicarbonilo, aliloxicarbonilo, acetamido y ftalimido;
 55 R² es hidrógeno; y
 R³ se selecciona del grupo que consiste en arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, alquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos, -L-R⁵ y -OR⁶, en donde

L se selecciona del grupo que consiste en -O-, -NR-, alquileo C₁₋₄, y heteroalquileo de 2 a 4 elementos, en donde R se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₈,

R⁵ se selecciona del grupo que consiste en arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C₃₋₈ y heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos, y

-OR⁶ y el carbonilo al que se une forman un grupo protector de amina en donde el grupo protector de amina se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, *terc*-butiloxicarbonilo y aliloxicarbonilo,

y en donde R³ está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, -CN, -NO₂, -N₃, -OH, R^a, R^b, -OR^a, -OR^b, -(CH₂)_kC(O)R^c, -NR^d(CH₂)_uC(O)R^c, -O(CH₂)_uC(O)R^c, -(CH₂)_kCONR^dR^d, -(CH₂)_kNR^dC(O)R^c, -NR^d(CH₂)_uCONR^dR^d, -NR^d(CH₂)_uNR^dC(O)R^c, -O(CH₂)_uCONR^dR^d, -O(CH₂)_uNR^dC(O)R^c, -(CH₂)_kS(O)₂NR^dR^d, -(CH₂)_kNR^dS(O)₂R^c, -(CH₂)_kS(O)₂R^c, -(CH₂)_kS(O)R^c, -(CH₂)_kSR^d, -NR^d(CH₂)_uS(O)₂NR^dR^d, -NR^d(CH₂)_uN-R^dS(O)₂R^c, -NR^d(CH₂)_uS(O)₂R^c, -NR^d(CH₂)_uS(O)R^c, -NR^d(CH₂)_uSR^d, -O(CH₂)_uS(O)₂NR^dR^d, -O(CH₂)_uN-R^dS(O)₂R^c, -O(CH₂)_uS(O)₂R^c, -O(CH₂)_uS(O)R^c y -O(CH₂)_uSR^c, en donde:

cada R^a se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C₁₋₄ y haloalquilo C₁₋₄,

cada R^b se selecciona independientemente del grupo que consiste en cicloalquilo C₃₋₆, halocicloalquilo C₃₋₆, arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos y heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos,

cada R^c se selecciona independientemente del grupo que consiste en -OH, alquilo C₁₋₈, haloalquilo C₁₋₈, cicloalquilo C₃₋₈, halocicloalquilo C₃₋₈, arilo C₆₋₁₀, (aril C₆₋₁₀)-(alquilo C₁₋₈), heteroarilo de 5 a 12 elementos y heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos,

cada R^d se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C₁₋₈,

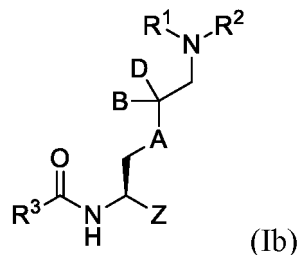
cada subíndice k se selecciona independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6, y

cada subíndice u se selecciona independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6; y

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo C₁₋₄, alcoxi C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄ y haloalcoxi C₁₋₄;

con la condición de que cuando Z sea fenoximetil-carbonilo sustituido, A sea -CH₂- y B y D sean hidrógeno, entonces R³ sea diferente de (2-fenil)etililo o (2-fenil)etililo sustituido.

La presente invención también proporciona un compuesto que tiene una estructura de acuerdo con la Fórmula Ib:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

A se selecciona del grupo que consiste en -CH₂- y -O-;

B y D se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, halometilo y halometoxi; R¹ se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y un grupo protector de amina, en donde el grupo protector de amina se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, *terc*-butiloxicarbonilo, aliloxicarbonilo, acetamido y ftalimido;

R² es hidrógeno;

Z se selecciona del grupo que consiste en piridin-2-il-carbonilo y tiazol-2-il-carbonilo; y

R³ se selecciona del grupo que consiste en arilo C₆₋₁₀ y cicloalquilo C₃₋₈.

En algunas realizaciones, la enfermedad o dolencia asociada a la infección por *P. gingivalis* es un trastorno cerebral seleccionado de la enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, epilepsia, autismo, enfermedad de Parkinson, temblor hereditario, demencia frontotemporal, parálisis supranuclear progresiva, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, deterioro cognitivo leve, deterioro de la memoria senil, encefalopatía traumática crónica, ictus, enfermedad por cuerpos de Lewy, atrofia de múltiples sistemas, esquizofrenia y depresión. En algunas realizaciones, la enfermedad o dolencia asociada a la infección por *P. gingivalis* es la enfermedad de Alzheimer.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1A muestra la estructura de 2-(N-[N-(3-fenilpropanoil)-(S)-nipecotiniil]-(R)-lisinil)-benzotiazol; compuesto 3.

La Fig. 1B muestra la estructura de 2-(N-[N-(3-fenilpropanoil)-(R)-nipecotiniil]-(R)-lisinil)-benzotiazol; compuesto 4.

La Fig. 1C muestra que el compuesto 4 evita la muerte inducida por gingipaína de las células SHSY-5Y diferenciadas, pero el compuesto 3 no. El compuesto 3 presenta una CI₅₀ de Kgp entre 10 y 25 nM y el compuesto

4 presenta una CI_{50} de Kgp entre 1 y 10 nM.

La Fig. 2A muestra la estructura del compuesto 1.

5 La Fig. 2B muestra la estructura del compuesto 2.

La Fig. 2C muestra que tanto el compuesto 1 como el compuesto 2 evitan la muerte inducida por gingipaína de las células SHSY-5Y diferenciadas, pero que el compuesto 2 es más eficaz. El compuesto 2 tiene una CI_{50} de Kgp entre 1 y 10 nM y una CI_{50} de la tripsina de 5.000 nM.

10 La Fig. 3A muestra la estructura del compuesto 43.

La Fig. 3B muestra que el compuesto 43, Un inhibidor de la lisina gingipaína covalente irreversible que tiene un valor de la CI_{50} subnanomolar, protege las células SHSY5Y de la toxicidad inducida por *P. gingivalis in vitro* en comparación con el antibiótico moxifloxacina.

15 La Fig. 4 muestra que la inyección intrahipocámpica de gingipaínas en cerebro de ratón produce la neurodegeneración después de 7 días.

20 La Fig. 5 muestra que la infiltración de RgpB en el cerebro se solapa con la neurodegeneración de la zona subgranular en el hipocampo de ratones BalbC infectados con *P. gingivalis* por vía oral durante 6 semanas.

La Fig. 6A muestra que ratones silvestres infectados con *P. gingivalis* muestran deterioro cognitivo en la tarea de reconocimiento de novedosos objetos en el punto temporal de la semana 6. Los ratones infectados gastan lapsos iguales de tiempo explorando un objeto novedoso y familiar, mientras que ratones normales gastan más tiempo en el novedoso objeto.

25 La Fig. 6B muestra el índice de discriminación $(T_{\text{Novedoso}} - T_{\text{familiar}}) / T_{\text{total}}$ para ratones sin infectar y los ratones infectados.

30 Fig. 7 muestra los niveles en el cerebro de abeta 42 ("Ab42") medidos con ELISA, indicando que la infección aumenta el abeta cerebral y esto se puede resolver mediante tratamiento con el compuesto 2 a medio camino a lo largo de la infección. Adicionalmente, el aumento en abeta 42 se evita cuando la bacteria usada para la infección no expresa Kgp.

35 La Fig. 8 muestra que los perros envejecidos con deterioro cognitivo son fuertemente positivos para Kgp cerebral.

La Fig. 9 muestra los datos farmacocinéticos de un inhibidor de Kgp, Kyt-36, demostrando que ritonavir (RTC) aumenta la semivida de Kyt-36 administrado por vía oral.

40 La Fig. 10 muestra un ejemplo de un compuesto de la "química de click" que se puede usar para crear agentes de obtención de imágenes PET/SPECT radiomarcados o agentes de captura para ensayos *in vitro* o ensayos diagnósticos. En la FIG. 10, R representa un radionúclido o un resto sustituido con un radionúclido (por ejemplo, R = ^{18}F -alquileo).

45 Descripción detallada de la invención

I. General

50 La inhibición de Kgp con una variedad de inhibidores ha mostrado proteger células, previene el crecimiento bacteriano, aumenta la vigilancia del sistema inmunitario hacia la bacteria y protege contra la reinfección. La presente invención proporciona compuestos no peptídicos potentes y selectivos con propiedades mejoradas sobre los compuestos descritos anteriormente. Como se demuestra en el presente documento, los inhibidores de Kgp de la invención pueden prevenir la muerte celular producida por las gingipaínas o *P. gingivalis* en un modelo de células SH-SY5Y. Los compuestos se pueden usar para prevenir la muerte celular, la inflamación y otra patología en una variedad de enfermedades asociadas a la infección por *P. gingivalis*, incluyendo las dolencias relacionadas con el envejecimiento, tales como la enfermedad de Alzheimer.

60 II. Definiciones

Como se usa en el presente documento, el término "alquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un radical alifático saturado, lineal o ramificado, que tiene el número de átomos de carbono indicado. Alquilo puede incluir cualquier número de carbonos, tal como C₁₋₂, C₁₋₃, C₁₋₄, C₁₋₅, C₁₋₆, C₁₋₇, C₁₋₈, C₁₋₉, C₁₋₁₀, C₂₋₃, C₂₋₄, C₂₋₅, C₂₋₆, C₃₋₄, C₃₋₅, C₃₋₆, C₄₋₅, C₄₋₆ y C₅₋₆. Por ejemplo, alquilo C₁₋₆ incluye, aunque no de forma limitativa, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, *terc*-butilo, pentilo, isopentilo, hexilo, etc. Alquilo también puede referirse a grupos alquilo que tienen hasta 20 átomos de carbono, tales como, aunque no de forma limitativa, heptilo, octilo, nonilo,

decilo, etc. Los grupos alquilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Los grupos "alquilo sustituido" pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halo, hidroxilo, amino, alquilamino, amido, acilo, nitro, ciano y alcoxi.

5 Como se usa en el presente documento, el término "alcoxi", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un grupo que tiene la fórmula -OR, en donde R es alquilo. El término "alcoxi inferior" se refiere a un radical alcoxi que tiene de uno a siete átomos de carbono, por ejemplo, un radical metoxilo, etoxilo, propoxilo, butoxilo, pentoxilo, hexoxilo, o heptoxilo.

10 Como se usa en el presente documento, el término "cicloalquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un conjunto de anillo saturado o parcialmente insaturado, monocíclico, bicíclico condensado o policíclico en forma de puente que contiene de 3 a 12 átomos en el anillo o el número de átomos indicado. Cicloalquilo puede incluir cualquier número de carbonos, tal como C₃₋₆, C₄₋₆, C₅₋₆, C₃₋₈, C₄₋₈, C₅₋₈, C₆₋₈, C₃₋₉, C₃₋₁₀, C₃₋₁₁ y C₃₋₁₂. Los anillos cicloalquilo monocíclicos saturados incluyen, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y ciclooctilo. Los anillos cicloalquilo bicíclicos y policíclicos saturados incluyen, por ejemplo, norbornano, [2,2,2]bicyclooctano, decahidronaftaleno y adamantano. Los grupos cicloalquilo también pueden estar parcialmente insaturados, teniendo uno o más dobles o triples enlaces en el anillo. Los grupos cicloalquilo representativos que están parcialmente insaturados incluyen, aunque no de forma limitativa, ciclobuteno, ciclopenteno, ciclohexeno, ciclohexadieno (isómeros 1,3 y 1,4), ciclohepteno, cicloheptadieno, cicloocteno, ciclooctadieno (isómeros 1,3-, 1,4- y 1,5-), norborneno y norbornadieno. Cuando el cicloalquilo es un cicloalquilo C₃₋₈ monocíclico saturado, los grupos ilustrativos incluyen, aunque no de forma limitativa, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. Cuando el cicloalquilo es un cicloalquilo C₃₋₆ monocíclico saturado, los grupos ilustrativos incluyen, aunque no de forma limitativa, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Los grupos cicloalquilo pueden estar sustituidos o sin sustituir. Los grupos "cicloalquilo sustituidos" pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halo, hidroxilo, amino, alquilamino, amido, acilo, nitro, ciano y alcoxi. El término "cicloalquilo inferior" se refiere a un radical cicloalquilo radical que tiene de tres a siete átomos de carbono incluyendo, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

25 Como se usa en el presente documento, el término "alquilenilo" se refiere a un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, unido al menos a otros dos grupos (es decir, un radical alquilo divalente). Los dos restos unidos al grupo alquilenilo pueden estar unidos al mismo átomo de carbono o a diferentes átomos de carbono del grupo alquilenilo.

30 Como se usa en el presente documento, el término "heteroalquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un grupo alquilo de cualquier longitud adecuada y que tiene de 1 a 3 heteroátomos, tal como N, O y S. Por ejemplo, heteroalquilo can incluir éteres, tioéteres y alquilaminas. Pueden ser también útiles los heteroátomos adicionales, incluyendo, aunque no de forma limitativa, B, Al, Si y P. Los heteroátomos pueden oxidarse para formar restos, tales como, aunque no de forma limitativa, -S(O)- y -S(O)₂-. La porción de heteroátomo del heteroalquilo puede sustituir un hidrógeno del grupo alquilo para formar un grupo hidroxilo, tio o amino. Como alternativa, la porción de heteroátomo puede ser el átomo conector, o insertarse entre dos átomos de carbono.

35 Como se usa en el presente documento, el término "heteroalquilenilo" se refiere a un grupo heteroalquilo, como se ha definido anteriormente, unido al menos a otros dos grupos (es decir, un radical heteroalquilo divalente). Los dos restos unidos al grupo heteroalquilenilo pueden unirse al mismo átomo o a diferentes átomos del grupo heteroalquilenilo.

40 Como se usa en el presente documento, los términos "halo" y "halógeno", por sí mismos o como parte de otro sustituyente, se refieren a flúor, cloro, bromo o yodo.

45 Como se usa en el presente documento, el término "haloalquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un grupo alquilo donde alguno o todos los átomos de hidrógeno están sustituidos con átomos de halógeno. Como para los grupos alquilo, los grupos haloalquilo pueden tener cualquier número adecuado de átomos de carbono, tal como C₁₋₆. Por ejemplo, haloalquilo incluye trifluorometilo, fluorometilo, etc. En algunos casos, el término "perfluoro" puede usarse para definir un compuesto o radical donde todos los hidrógenos están sustituidos con flúor. Por ejemplo, perfluorometilo se refiere a 1,1,1-trifluorometilo.

50 Como se usa en el presente documento, el término "haloalcoxi", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un grupo alcoxi donde algunos o todos los átomos de hidrógeno están sustituidos con átomos de halógeno.

55 Como se usa en el presente documento, el término "halocicloalquilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un grupo cicloalquilo donde algunos o todos los átomos de hidrógeno están sustituidos con átomos de halógeno.

60 Como se usa en el presente documento, el término "arilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un sistema de anillo aromático que tiene cualquier número adecuado de átomos en el anillo y cualquier número adecuado de anillos. Los grupos arilo pueden incluir cualquier número adecuado de átomos en el anillo, tal como 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 átomos en el anillo, así como de 6 a 10, de 6 a 12 o de 6 a 14 elementos del anillo. Los grupos arilo pueden ser monocíclicos, condensados para formar grupos bicíclicos (por ejemplo, benzociclohexilo) o tricíclicos, o unirse mediante un enlace para formar un grupo biarilo. Los grupos arilo representativos incluyen fenilo,

naftilo y bifenilo. Otros grupos arilo incluyen bencilo, que tiene un grupo de unión de metileno. Algunos grupos arilo tienen de 6 a 12 elementos del anillo, tales como fenilo, naftilo o bifenilo. Otros grupos arilo tienen de 6 a 10 elementos del anillo, tales como fenilo o naftilo. Algunos otros grupos arilo tienen 6 elementos del anillo, tales como fenilo. Los grupos arilo pueden estar sustituidos o sin sustituir. Los grupos de "arilo sustituido" pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halo, hidroxilo, amino, alquilamino, amido, acilo, nitro, ciano y alcoxi.

Como se usa en el presente documento, el término "heteroarilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un ensamblaje de anillo aromático monocíclico o condensado bicíclico o tricíclico que contiene 5 a 16 átomos en el anillo, donde de 1 a 5 de los átomos en el anillo son un heteroátomo, tal como N, O u S. Los heteroátomos adicionales también pueden ser útiles, incluyendo, aunque no de forma limitativa, B, Al, Si y P. Los heteroátomos pueden oxidarse para formar restos, tales como, aunque no de forma limitativa, -S(O)- y -S(O)₂-. Los grupos heteroarilo pueden incluir cualquier número de átomos en el anillo, tal como 3 a 6, 4 a 6, 5 a 6, 3 a 8, 4 a 8, 5 a 8, 6 a 8, 3 a 9, 3 a 10, 3 a 11, o 3 a 12 elementos del anillo. Cualquier número adecuado de heteroátomos puede estar incluido en los grupos heteroarilo, tal como 1, 2, 3, 4 o 5, o de 1 a 2, de 1 a 3, de 1 a 4, de 1 a 5, de 2 a 3, de 2 a 4, de 2 a 5, de 3 a 4 o de 3 a 5. Los grupos heteroarilo pueden tener de 5 a 8 elementos de anillo y de 1 a 4 heteroátomos o de 5 a 8 elementos de anillo y de 1 a 3 heteroátomos o de 5 a 6 elementos de anillo y de 1 a 4 heteroátomos o de 5 a 6 elementos de anillo y de 1 a 3 heteroátomos. El grupo heteroarilo puede incluir grupos, tales como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, triazol, tetrazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3-, 1,2,4- y 1,3,5-), tiofeno, furano, tiazol, isotiazol, oxazol e isoxazol. Los grupos heteroarilo también pueden estar condensados a sistemas de anillo aromático, tal como un anillo fenilo, para formar elementos que incluyen, aunque no de forma limitativa, benzopirroles, tales como indol e isoindol, benzopiridinas, tales como quinolina e isoquinolina, benzopirazina (quinoxalina), benzopirimidina (quinazolina), benzopiridazinas, tales como ftalazina y cinolina, benzotiofeno y benzofurano. Otros grupos heteroarilo incluyen anillos heteroarilo unidos mediante un enlace, tales como biperidina. Los grupos heteroarilo pueden estar sustituidos o sin sustituir. Los grupos de "heteroarilo sustituido" pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halo, hidroxilo, amino, alquilamino, amido, acilo, nitro, ciano y alcoxi.

Los grupos heteroarilo pueden estar unidos mediante cualquier posición en el anillo. Por ejemplo, pirrol incluye 1-, 2- y 3-pirrol, piridina incluye 2-, 3- y 4-piridina, imidazol incluye 1-, 2-, 4- y 5-imidazol, pirazol incluye 1-, 3-, 4- y 5-pirazol, triazol incluye 1-, 4- y 5-triazol, tetrazol incluye 1- y 5-tetrazol, pirimidina incluye 2-, 4-, 5- y 6- pirimidina, piridazina incluye 3- y 4-piridazina, 1,2,3-triazina incluye 4- y 5-triazina, 1,2,4-triazina incluye 3-, 5- y 6-triazina, 1,3,5-triazina incluye 2-triazina, tiofeno incluye 2- y 3-tiofeno, furano incluye 2- y 3-furano, tiazol incluye 2-, 4- y 5-tiazol, isotiazol incluye 3-, 4- y 5-isotiazol, oxazol incluye 2-, 4- y 5-oxazol, isoxazol incluye 3-, 4- y 5-isoxazol, indol incluye 1-, 2- y 3-indol, isoindol incluye 1- y 2-isoindol, quinolina incluye 2-, 3- y 4-quinolina, isoquinolina incluye 1-, 3- y 4-isoquinolina, quinazolina incluye 2- y 4-quinazolina, cinolina incluye 3- y 4-cinolina, benzotiofeno incluye 2- y 3-benzotiofeno y benzofurano incluye 2- y 3-benzofurano.

Algunos grupos heteroarilo incluyen aquellos que tienen de 5 a 10 elementos del anillo y de 1 a 3 átomos en el anillo, incluyendo N, O u S, tal como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, triazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3-, 1,2,4- y 1,3,5-), tiofeno, furano, tiazol, isotiazol, oxazol, isoxazol, indol, isoindol, quinolina, isoquinolina, quinoxalina, quinazolina, ftalazina, cinolina, benzotiofeno y benzofurano. Otros grupos heteroarilo incluyen aquellos que tienen de 5 a 8 elementos del anillo y de 1 a 3 heteroátomos, tal como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, triazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3-, 1,2,4- y 1,3,5-), tiofeno, furano, tiazol, isotiazol, oxazol e isoxazol. Algunos otros grupos heteroarilo incluyen aquellos que tienen de 9 a 12 elementos del anillo y de 1 a 3 heteroátomos, tales como indol, isoindol, quinolina, isoquinolina, quinoxalina, quinazolina, ftalazina, cinolina, benzotiofeno, benzofurano y biperidina. Otros grupos adicionales de heteroarilo incluyen aquellos que tienen 5 a 6 elementos del anillo y de 1 a 2 átomos en el anillo incluyendo N, O u S, tal como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, pirazina, pirimidina, piridazina, tiofeno, furano, tiazol, isotiazol, oxazol e isoxazol.

Algunos grupos heteroarilo incluyen de 5 a 10 elementos de anillo y únicamente heteroátomos de nitrógeno, tal como pirrol, piridina, imidazol, pirazol, triazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3-, 1,2,4- y 1,3,5-), indol, isoindol, quinolina, isoquinolina, quinoxalina, quinazolina, ftalazina y cinolina. Otros grupos heteroarilo incluyen de 5 a 10 elementos de anillo y únicamente heteroátomos de oxígeno, tales como furano y benzofurano. Algunos otros grupos heteroarilo incluyen de 5 a 10 elementos de anillo y únicamente heteroátomos de azufre, tales como tiofeno y benzotiofeno. Otros grupos heteroarilo más incluyen de 5 a 10 elementos de anillo y al menos dos heteroátomos, tales como imidazol, pirazol, triazol, pirazina, pirimidina, piridazina, triazina (isómeros 1,2,3-, 1,2,4- y 1,3,5-), tiazol, isotiazol, oxazol, isoxazol, quinoxalina, quinazolina, ftalazina y cinolina.

Como se usa en el presente documento, el término "heterociclilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a un sistema de anillo saturado que tiene de 3 a 12 elementos del anillo y de 1 a 4 heteroátomos de N, O y S. También pueden ser útiles heteroátomos adicionales, incluyendo, aunque no de forma limitativa, B, Al, Si y P. Los heteroátomos pueden oxidarse para formar restos, tales como, aunque no de forma limitativa, -S(O)- y -S(O)₂-. Los grupos heterociclilo pueden incluir cualquiera de numerosos átomos en el anillo, tales como, de 3 a 6, de 4 a 6, de 5 a 6, de 3 a 8, de 4 a 8, de 5 a 8, de 6 a 8, de 3 a 9, de 3 a 10, de 3 a 11 o de 3 a 12 elementos del anillo. Puede incluirse cualquiera de numerosos heteroátomos en los grupos heterociclilo, tales como 1, 2, 3 o 4, o 1 a 2, 1 a 3, 1 a 4, 2 a 3, 2 a 4, o 3 a 4. El grupo heterociclilo puede incluir grupos, tales como aziridina, azetidina, pirrolidina, piperidina, azepano, azocano, quinuclidina, pirazolidina, imidazolidina, piperazina (1,2-, 1,3- y 1,4-), oxirano, oxetano,

tetrahidrofurano, oxano (tetrahidropirano), oxepano, tiirano, tietano, tiolano (tetrahidrotiofeno), tiano (tetrahidrotiopirano), oxazolidina, isoxazolidina, tiazolidina, isotiazolidina, dioxolano, ditiolano, morfolina, tiomorfolina, dioxano o ditiano. Los grupos heterociclico pueden también condensarse a sistemas de anillos aromáticos o no aromáticos para formar elementos que incluyen, aunque no de forma limitativa, indolina. los grupos heterociclico pueden estar sin sustituir o sustituidos. Los grupos "heterociclico sustituidos" pueden estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados de halo, hidroxí, amino, oxo (=O), alquilamino, amido, acilo, nitro, ciano y alcoxi.

los grupos heterociclico pueden estar unidos mediante cualquier posición sobre en el anillo. Por ejemplo, aziridina puede ser 1- o 2-aziridina, azetidina puede ser 1- o 2-azetidina, pirrolidina puede ser 1-, 2- o 3-pirrolidina, piperidina puede ser 1-, 2-, 3- o 4-piperidina, pirazolidina puede ser 1-, 2-, 3-, o 4-pirazolidina, imidazolidina puede ser 1-, 2-, 3- o 4-imidazolidina, piperazina puede ser 1-, 2-, 3- o 4-piperazina, tetrahidrofurano puede ser 1- o 2-tetrahidrofurano, oxazolidina puede ser 2-, 3-, 4- o 5- oxazolidina, isoxazolidina puede ser 2-, 3-, 4- o 5-isoxazolidina, tiazolidina puede ser 2-, 3-, 4- o 5-tiazolidina, isotiazolidina puede ser 2-, 3-, 4- o 5- isotiazolidina y morfolina puede ser 2-, 3- o 4-morfolina.

Cuando heterociclico incluye 3 a 8 elementos del anillo y 1 a 3 heteroátomos, los elementos representativos incluyen, aunque no de forma limitativa, pirrolidina, piperidina, tetrahidrofurano, oxano, tetrahidrotiofeno, tiano, pirazolidina, imidazolidina, piperazina, oxazolidina, isoxazolidina, tiazolidina, isotiazolidina, morfolina, tiomorfolina, dioxano y ditiano. Heterociclico puede formar también un anillo que tiene 5 a 6 elementos del anillo y 1 a 2 heteroátomos, incluyendo los elementos representativos, aunque no de forma limitativa, pirrolidina, piperidina, tetrahidrofurano, tetrahidrotiofeno, pirazolidina, imidazolidina, piperazina, oxazolidina, isoxazolidina, tiazolidina, isotiazolidina y morfolina.

Como se usa en el presente documento, la expresión "grupo protector de amina" se refiere a un resto químico que convierte un grupo amino no reactivo, pero también es eliminable de tal manera que se restaura el grupo amino y se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), *tert*-butiloxicarbonilo (Boc), aliloxicarbonilo (Alloc), acetamido, ftalimido. Los expertos en la técnica conocen otros grupos protectores de amina incluyendo, por ejemplo, los descritos por Green y Wuts (Protective Groups in Organic Synthesis, 4ª Ed. 2007, Wiley-Interscience, Nueva York).

Como se usa en el presente documento, el término "carbonilo", por sí mismo o como parte de otro sustituyente, se refiere a -C(O)-, es decir, un átomo de carbono que tiene un doble enlace con el oxígeno y que está unido a otros dos grupos en el resto que tiene el carbonilo.

Como se usa en el presente documento, el término "amino" se refiere a un resto -NR₃, en donde cada grupo R es H o alquilo. Un resto amino que se puede ionizar para formar el catión de amonio correspondiente.

Como se usa en el presente documento, el término "hidroxí" se refiere al resto -OH.

Como se usa en el presente documento, el término "ciano" se refiere a un átomo de carbono que tiene un triple enlace a un átomo de nitrógeno (es decir, el resto -C=N).

Como se usa en el presente documento, el término "carboxi" se refiere al resto -C(O)OH. Un resto carboxi se puede ionizar para formar el anión carboxilato correspondiente.

Como se usa en el presente documento, el término "amido" se refiere a un resto -NRC(O)R o -C(O)NR₂, en donde cada grupo R es H o alquilo.

Como se usa en el presente documento, el término "nitro" se refiere al resto -NO₂.

Como se usa en el presente documento, el término "oxo" se refiere a un átomo de oxígeno que tiene un doble enlace con un compuesto (es decir, O=).

Como se usa en el presente documento, La expresión "excipiente farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sustancia que ayuda a la administración de un agente activo a un sujeto. Por "farmacéuticamente aceptable", se entiende que el excipiente es compatible con los otros ingredientes de la formulación y no es perjudicial para su receptor. Los excipientes farmacéuticos útiles en la presente invención incluyen, aunque no de forma limitativa, aglutinantes, cargas, disgregantes, lubricantes, emolientes, recubrimientos, edulcorantes, aromas y colores.

Como se usa en el presente documento, el término "sal" se refiere a sales de ácido o sales de base de los compuestos de la invención. los ejemplos ilustrativos de sales farmacéuticamente aceptables son sales de ácidos minerales (ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico y similares), sales de ácidos orgánicos (ácido acético, ácido propiónico, ácido glutámico, ácido cítrico y similares), sales de amonio cuaternario (yoduro de metilo, yoduro de etilo y similares). Se entiende que las sales farmacéuticamente aceptables son no tóxicas.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos no tóxicos de la presente invención son sales formadas

con bases, concretamente sales catiónicas, tales como sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, tales como sales de sodio, litio, potasio, calcio, magnesio, así como amonio, tal como sales de amonio, trimetil-amonio, dietilamonio y tris-(hidroximetil)-metilamonio.

- 5 De forma análoga sales de adición de ácidos, tal como de ácidos minerales, ácidos carboxílicos orgánicos y ácidos sulfónicos orgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido metanosulfónico, ácido maleico, se proporciona también de forma posible un grupo básico, tal como piridilo, que constituye parte de la estructura.

- 10 Las formas neutras de los compuestos pueden regenerarse poniendo en contacto la sal con una base o un ácido y aislando el compuesto precursor de manera convencional. La forma original del compuesto difiere de las diversas formas de sal en determinadas propiedades físicas, tales como la solubilidad en disolventes polares, pero por lo demás, las sales son equivalentes a la forma precursora del compuesto para los fines de la presente invención.

- 15 Como se usa en el presente documento, los términos "*Porphyromonas gingivalis*" y "*P. gingivalis*" se refieren a la bacteria asacarlítica gramnegativa que es reconocida como un microbio causante clave en la patogénesis de la periodontitis y las enfermedades relacionadas. "*Infeción por P. gingivalis*" se refiere a la invasión y colonización de *P. gingivalis* en un tejido corporal, tal como las encías o el cerebro. La infección por *P. gingivalis* está frecuentemente caracterizada lesión del tejido y enfermedad posterior.

- 20 Como se usa en el presente documento, el término "gingipaína" se refiere a cisteína proteasas expresadas por *P. gingivalis* que tienen especificidad de tipo tripsina (es decir, Lys-Xaa y Arg-Xaa). Las gingipaínas son reconocidas como los factores de virulencia mayores de *P. gingivalis* y contribuyen a la adhesión bacteriana y a la colonización, la adquisición de nutrientes, la evasión de defensas del hospedador y la invasión del tejido. Las expresiones "lisina gingipaína" y "Kgp" se usan de manera indistinta para referirse a la gingipaína específica de lisina de *P. gingivalis*
25 conocida por el número EC número EC 3.4.22.47.

- 30 Como se usa en el presente documento, los términos "tratar", "tratamiento", y "que trata" se refieren a cualquier indicio de éxito en el tratamiento o mejora de una lesión, patología, dolencia o síntoma (por ejemplo, deterioro cognitivo), incluyendo cualquier parámetro objetivo o subjetivo, tal como moderación; remisión; disminución de los síntomas o hacer que el síntoma, lesión, patología o dolencia sea más tolerable para el paciente; disminución de la frecuencia o duración del síntoma o dolencia; o, en algunas situaciones, prevenir el inicio de los síntomas. El tratamiento o la mejora de los síntomas puede estar basado en cualquier parámetro objetivo o subjetivo; incluyendo, por ejemplo, el resultado de una exploración física.

- 35 Como se usa en el presente documento las expresiones "cantidad eficaz" y "cantidad terapéuticamente eficaz" se refieren a una dosis de un compuesto, tal como un inhibidor de Kgp, que produce efectos terapéuticos para lo que se administra. La dosis exacta dependerá del objetivo del tratamiento y será discernible por una persona experta en la materia usando técnicas conocidas (véanse, por ejemplo, Lieberman, Pharmaceutical Dosage Forms (vols. 1-3, 1992); Lloyd, The Art, Science and Technology of Pharmaceutical Compounding (1999); Pickar, Dosage Calculations (1999); Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11ª edición, 2006, Brunton, Ed., McGraw-Hill; y Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 21ª Edición, 2005, Hendrickson, Ed., Lippincott, Williams y Wilkins).

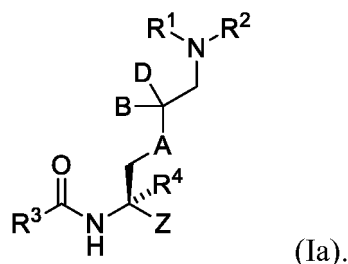
- 45 Como se usa en el presente documento, la expresión "enfermedad de Alzheimer" se refiere a una enfermedad progresiva del sistema nervioso central en seres humanos y otros mamíferos. se manifiesta por demencia (especialmente en los ancianos); desorientación; pérdida de memoria; dificultad con el lenguaje, cálculo, o habilidades visuales-espaciales; y manifestaciones psiquiátricas. La enfermedad de Alzheimer está asociada a neurodegeneración progresiva y la patología característica, concretamente placas beta amiloides y marañas tau.

- 50 Como se usa en el presente documento, el término "sujeto" se refiere a animales, tales como mamíferos, incluyendo, aunque no de forma limitativa, primates (por ejemplo, seres humanos), vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, conejos, ratas, ratones y similares.

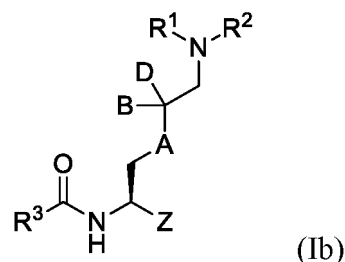
- 55 Los términos "aproximadamente" y "alrededor", como se utiliza en el presente documento para modificar un valor numérico, indican un intervalo próximo que rodea el valor explícito. Si "X" fuera el valor, "aproximadamente X" o "alrededor de X" indicaría un valor desde 0,9X a 1,1X, y más preferentemente, un valor de 0,95X a 1,05X. Cualquier referencia a "aproximadamente X" o "alrededor de X" indica específicamente al menos los valores X, 0,95X, 0,96X, 0,97X, 0,98X, 0,99X, 1,01X, 1,02X, 1,03X, 1,04X y 1,05X. Por lo tanto, se pretende que "aproximadamente X" y "alrededor de X" enseñen y proporcionen un soporte a la descripción escrita para una limitación de la reivindicación de, por ejemplo, "0,98X".
60

III. Inhibidores de lisina gingipaína

- 65 En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I tiene una estructura de acuerdo con la Fórmula Ia:



En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I tiene una estructura de acuerdo con la Fórmula II:



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde B y D se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, halometilo y halometoxi.

10 En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula I o Fórmula Ia como se ha descrito anteriormente y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde R³ se selecciona de arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos y -L-R⁵. En algunas de tales realizaciones, R¹ y R² son H; B y D se seleccionan independientemente de hidrógeno y flúor; A es -CH₂-; y R⁴ se selecciona de hidrógeno y alquilo C₁₋₄.

15

En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula Ib como se ha descrito anteriormente y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde R³ se selecciona de arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos y -L-R⁵. En algunas de tales realizaciones, R¹ y R² son H; B y D se seleccionan independientemente de hidrógeno y flúor; y A es -CH₂-.

20

En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula I o Fórmula Ia como se ha descrito anteriormente y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde R³ se selecciona de arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos y -L-R⁵. En algunas de tales realizaciones, R¹ y R² son H; B y D se seleccionan independientemente de hidrógeno y flúor; y A es -CH₂-. En algunas de tales realizaciones, R⁴ se selecciona de hidrógeno y metilo.

25

En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula I o Fórmula Ia como se ha descrito anteriormente y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

30 A es -CH₂-;
 B y D son hidrógeno;
 R¹ y R² son H; y
 R³ se selecciona de arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos y -L-R⁵. En algunas de tales realizaciones, R⁴ es hidrógeno o metilo. En algunas de tales realizaciones, R⁴ es hidrógeno.

35

En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula Ib como se ha descrito anteriormente y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

40 A es -CH₂-;
 B y D son hidrógeno;
 R¹ y R² son H; y
 R³ se selecciona de arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos y -L-R⁵.

45

En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula I o Fórmula Ia como se ha descrito anteriormente y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

A es -CH₂-;

B es hidrógeno;
D es flúor;
R¹ y R² son H; y

5 R³ se selecciona de arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos y -L-R⁵. En algunas de tales realizaciones, R⁴ es hidrógeno o metilo. En algunas de tales realizaciones, R⁴ es hidrógeno.

En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula Ib como se ha descrito anteriormente y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

10 A es -CH₂;
B es hidrógeno;
D es flúor;
R¹ y R² son H; y
15 R³ se selecciona de arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos y -L-R⁵.

En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula I o Fórmula Ia como se ha descrito anteriormente y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

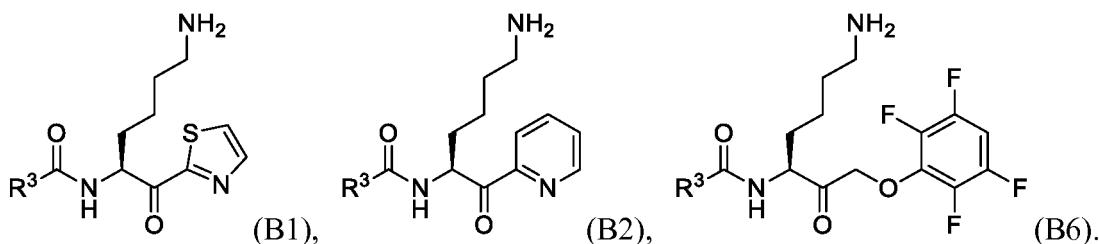
20 A es -CH₂;
B es hidrógeno;
D es hidrógeno o flúor;
R¹ y R² son H;
25 R³ se selecciona de ciclohexilo, ciclopentilo, morfolino, fenilo, piperidinilo, piridinilo, tetrahidrofurano, tetrahidropirano, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo y tiazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1-3 elementos seleccionados del grupo que consiste en metilo, metoxi, trifluorometilo, acetilo y -N₃; y
30 R⁴ es hidrógeno o metilo. En algunas de tales realizaciones, R⁴ es hidrógeno. En algunas de tales realizaciones, D y R⁴ son hidrógeno. En algunas de tales realizaciones, D y R⁴ son hidrógeno y Z es (2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)metil-carbonilo.

En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula Ib como se ha descrito anteriormente y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en donde:

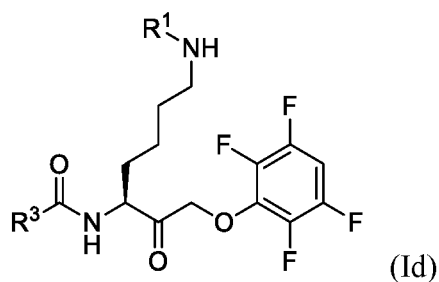
35 A es -CH₂;
B es hidrógeno;
D es hidrógeno o flúor;
R¹ y R² son H; y
40 R³ se selecciona de ciclohexilo, ciclopentilo, morfolino, fenilo, piperidinilo, piridinilo, tetrahidrofurano, tetrahidropirano, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo y tiazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1-3 elementos seleccionados del grupo que consiste en metilo, metoxi, trifluorometilo, acetilo y -N₃. En algunas de tales realizaciones, D es hidrógeno y Z es (2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)metilcarbonilo.

En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula I, Fórmula Ia, o Fórmula Ib en donde B es halo; D es halo; o B y D son halo.

50 En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de acuerdo con la Fórmula B1, Fórmula B2 y Fórmula B6:



55 En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto que tiene una estructura de acuerdo con la Fórmula Id:

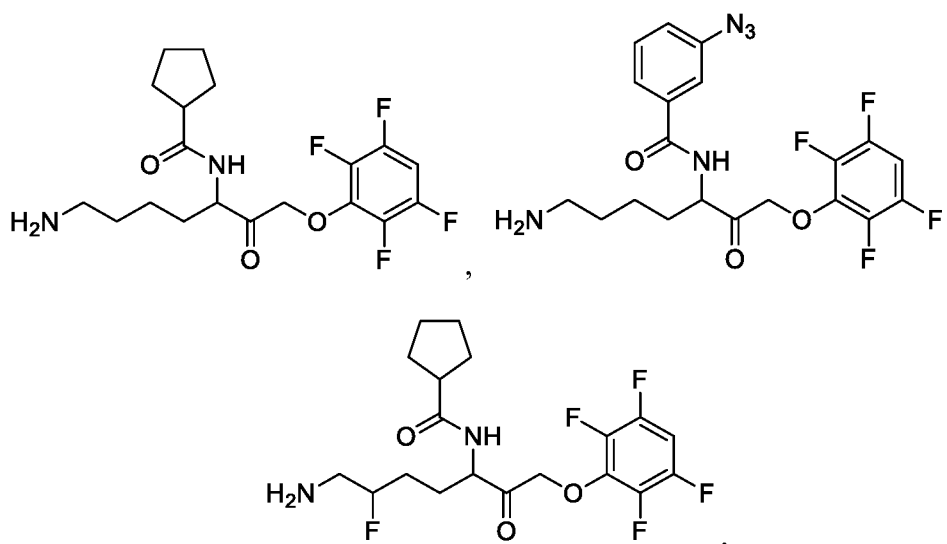


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

- 5 en donde R^3 se selecciona de arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C_{3-8} , heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos y $-L-R^5$, en donde L es alquileo C_{1-4} .

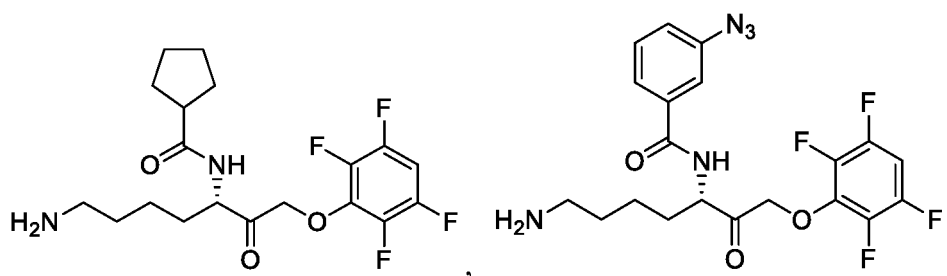
- 10 En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto de Fórmula Id, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^3 se selecciona de ciclohexilo, ciclopentilo, morfolino, fenilo, piperidinilo, piridinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiraniilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo y tiazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1-3 elementos seleccionados de metilo, metoxi, trifluorometilo, acetilo y $-N_3$. En algunas de tales realizaciones, R^3 es ciclopentilo.

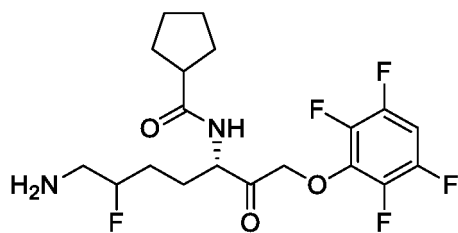
- 15 En algunas realizaciones, el compuesto de la invención se selecciona de:



- 20 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

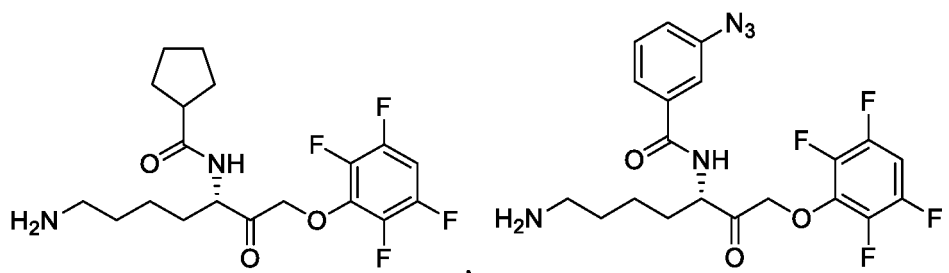
En algunas realizaciones, el compuesto de la invención se selecciona de:





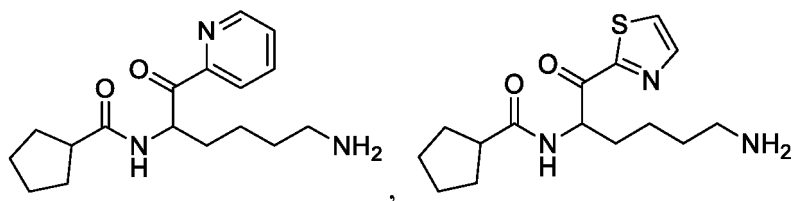
y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5 En algunas realizaciones, el compuesto de la invención se selecciona de:



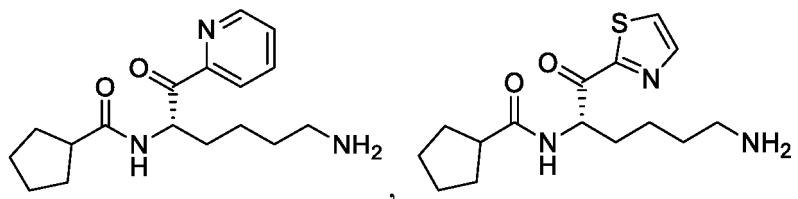
y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 En algunas realizaciones, el compuesto de Fórmula I, Formula Ia, o Fórmula Ib se selecciona de



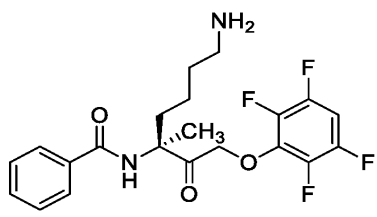
15 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

20 En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos seleccionados de:



y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

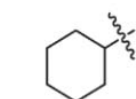
25 En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos de Fórmula I o Fórmula Ia, en donde R⁴ se selecciona de alquilo C₁₋₄ y haloalquilo C₁₋₄. En algunas de tales realizaciones, el compuesto es:



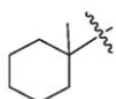
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I, Fórmula Ia, Formula Ib, o Fórmula Id, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R³ se selecciona de ciclohexilo; 1-metilciclohexilo; 1-metoxiciclohexilo; ciclopentilo; morfolin-2-ilo; 4-acetilmorfolin-2-ilo; fenilo; 2-trifluorometilfenilo; 3-azidofenilo; piperidin-3-ilo; 1 -acetil-piperidin-3-ilo; piridin-2-ilo; piridin-3-ilo; piridin-4-ilo; 6-oxo-1,6-dihidropiridin-2-ilo; tetrahydrofurano-2-ilo; tetrahydro-2H-piran-2-ilo; tetrahydro-2H-piran-3-ilo; tetrahydro-2H-piran-4-ilo; 1,2,3,4-tetrahidronaft-1-ilo; 1,2,3,4-tetrahidronaft-2-ilo; tiazol-5-ilo; y tiazol-2-ilo.

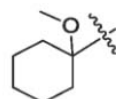
15 En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I, Fórmula Ia, Formula Ib, o Fórmula Id, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R³ se selecciona de ciclohexilo; 1-metilciclohexilo; 1-metoxiciclohexilo; ciclopentilo; 1,2,3,4-tetrahidronaft-1-ilo; y 1,2,3,4-tetrahidronaft-2-ilo; cuyos radicales se muestran a continuación. En algunas de tales realizaciones, R³ es ciclopentilo.



ciclohexilo



1-metilciclohexilo



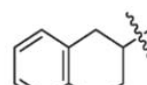
1-metoxiciclohexilo



ciclopentilo

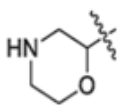


1,2,3,4-tetrahidronaft-1-ilo

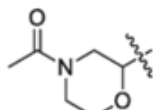


1,2,3,4-tetrahidronaft-2-ilo

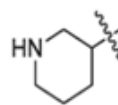
20 En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I, Fórmula Ia, Formula Ib, o Fórmula Id, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R³ se selecciona de morfolin-2-ilo; 4-acetilmorfolin-2-ilo; piperidin-3-ilo; 1-acetil-piperidin-3-ilo; tetrahydrofurano-2-ilo; tetrahydro-2H-piran-2-ilo; tetrahydro-2H-piran-3-ilo; y tetrahydro-2H-piran-4-ilo; cuyos radicales se muestran a continuación.



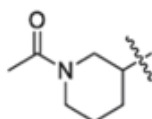
morfolin-2-ilo



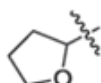
4-acetil
morfolin-2-ilo



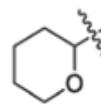
piperidin-3-ilo



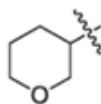
1-acetil
piperidin-3-ilo



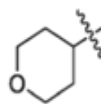
tetrahydrofuran-2-ilo



tetrahydro-2H-
piran-2-ilo

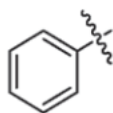


tetrahydro-2H-
piran-3-ilo

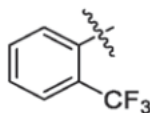


tetrahydro-2H-
piran-4-ilo

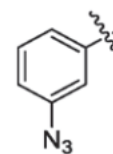
En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I, Fórmula Ia, Fórmula Ib, o Fórmula Id, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R³ se selecciona de fenilo; 2-trifluorometilfenilo; 3-azidofenilo; piridin-2-ilo; piridin-3-ilo; piridin-4-ilo; 6-oxo-1,6-dihidropiridin-2-ilo; tiazol-5-ilo; y tiazol-2-ilo; cuyos radicales se muestran a continuación.



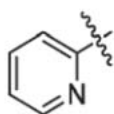
fenilo



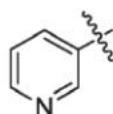
2-trifluorometilfenilo



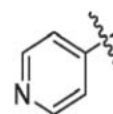
3-azidofenilo



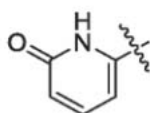
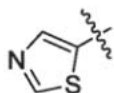
piridin-2-ilo



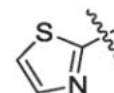
piridin-3-ilo



piridin-4-ilo

6-oxo-1,6-
dihidropiridin-2-ilo

tiazol-5-ilo



tiazol-2-ilo

- 10 Los compuestos descritos en el presente documento y los métodos de usarlos abarcan la preparación y el uso de enantiómeros o diaestereoisómeros terapéuticamente activos de los compuestos descritos. Todos los enantiómeros y diaestereoisómeros de estos compuestos están incluidos en el alcance de la invención. Dichos compuestos se pueden usar como mezclas (por ejemplo, mezclas racémicas) o como enantiómeros o diaestereoisómeros aislados.
- 15 Los compuestos de la invención se pueden preparar de tal manera que incluyan radionúclidos para su uso en aplicaciones diagnósticas de obtención de imágenes, tales como tomografía de emisión de positrones (PET) y tomografía computerizada de emisión de fotones individuales (SPECT). Por ejemplo, se pueden preparar inhibidores de Kgp como se describen en el presente documento de tal manera que incluyan uno o más radionúclidos seleccionados de oxígeno-15 (¹⁵O), nitrógeno-13 (¹³N), carbono-11 (¹¹C), yodo-131 (¹³¹I) y flúor-18 (¹⁸F). dichos compuestos radiomarcados se pueden usar para la obtención de imágenes PET. Los compuestos de la invención se pueden preparar también en forma deuterada (es decir, que tienen uno o más átomos de deuterio, ²H, en lugar de uno o más átomos de hidrógeno), una forma tritiada (es decir, que tiene uno o más átomos de tritio, ³H, en lugar de uno o más átomos de hidrógeno), o una forma marcada con ¹⁴C (es decir, que tiene uno o más átomos de ¹⁴C en lugar de uno o más átomos de carbono).
- 20
- 25 Los compuestos de la invención inhibidores de Kgp muy activos, que presentan normalmente valores K_i de Kgp y valores de CI₅₀ de Kgp muy por debajo de 1 μM.
- El término "K_i" se refiere a una constante de inhibición. El valor K_i para un compuesto de ensayo concreto puede medirse del siguiente modo. Se añadieron cincuenta microlitros (μl) de una enzima, tal como Kgp (1 nM en 50 mM de bis-Tris propano [pH 8,0] que contiene 1% [vol/vol] de Triton X-100 y 2-mercaptoetanol 5 mM), a las columnas 1 a 11 de una placa de 96 pocillos y se añadieron 100 μl a la columna 12. Se añadieron dos μl del compuesto de ensayo (100 μl en DMSO al 100%) a la columna 12 y se mezcló la muestra tres veces pipeteando. A continuación, se preparó una doble dilución a lo largo de la placa mediante transferencia en serie en pocillos adyacentes. se añadieron 50 μl de succinil-Ala-Phe-Lys-(7-amido-4-metilcumarina ("AMC"; 40 μM en tampón) a todos los pocillos y se mezclaron los contenidos. Se controló la reacción para la fluorescencia AMC durante 15 min a 25 °C y se convirtieron automáticamente las curvas de progreso a velocidades mediante el software Fluoroskan Ascent.
- 30
- 35
- El método se puede usar para ensayar enzimas incluyendo Kgp, RgpB, RgpA, tripsina y catepsina B. Para RgpA y RgpB, el sustrato puede ser Z-Arg-AMC. para la tripsina, el tampón puede contener Tris 10 mM y CaCl₂ 10 mM (pH 8,0) y el sustrato puede ser Z-Gly-Gly-Arg-AMC. Para la catepsina B, el tampón puede contener fosfato de sodio 50 mM, EDTA 1 mM y 2-mercaptoetanol 10 mM (pH 6,25) y el sustrato puede ser Z-Arg-Arg-AMC.
- 40

A continuación, se pueden calcular las constantes de inhibición usando la siguiente ecuación, suponiendo que la inhibición sea completamente competitiva:

$$V_i = (V_{\text{máx}} [S]) / ([S] + K_m (1 + [I] / K_i))$$

5 donde V_i es la actividad residual observada, $[S]$ es la concentración de sustrato usada en el ensayo, $V_{\text{máx}}$ es la velocidad máxima a una concentración de inhibidor de cero, K_i es la constante de disociación del inhibidor y $[I]$ es la concentración del inhibidor. A continuación, se pueden ajustar las curvas mediante análisis de regresión no lineal usando valores fijos para la concentración del sustrato y el valor de la constante de Michaelis (K_m). Se puede realizar el análisis de datos usando el software Prism v 2.01 (GraphPad, San Diego, Calif.).

15 El término " CI_{50} " indica cuanto se necesita de un compuesto para inhibir un proceso biológico dado (o el componente de un proceso, por ejemplo, una enzima, célula, receptor celular, o microorganismo) a la mitad (50%). La CI_{50} de un compuesto se puede determinar construyendo una curva de respuesta a la dosis y examinando el efecto de diferentes concentraciones del compuesto o invirtiendo la actividad de la enzima. Con respecto a la curva de respuesta a la dosis, se pueden calcular los valores de la CI_{50} para un compuesto dado determinando la concentración necesaria para inhibir la mitad de la respuesta biológica máxima de la enzima.

20 En general, el valor K_i de Kgp para compuestos de la invención varía desde aproximadamente 0,001 nM a aproximadamente 500 nM. El valor K_i de Kgp para un compuesto de la invención puede variar, por ejemplo, de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 20 nM, o de aproximadamente 20 nM a aproximadamente 40 nM, o de aproximadamente 40 nM a aproximadamente 60 nM, o de aproximadamente 60 nM a aproximadamente 80 nM, o de aproximadamente 80 nM a aproximadamente 100 nM, o de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 150 nM, o de aproximadamente 150 nM a aproximadamente 200 nM, o de aproximadamente 200 nM a aproximadamente 250 nM, o de aproximadamente 250 nM a aproximadamente 300 nM, o de aproximadamente 300 nM a aproximadamente 350 nM, o de aproximadamente 350 nM a aproximadamente 400 nM, o de aproximadamente 400 nM a aproximadamente 450 nM, o de aproximadamente 450 nM a aproximadamente 500 nM. El valor K_i de Kgp para un compuesto de la invención puede variar de aproximadamente 0,001 nM a aproximadamente 0,025 nM, o de aproximadamente 0,025 nM a aproximadamente 0,050 nM, o de aproximadamente 0,050 nM a aproximadamente 0,075 nM, o de aproximadamente 0,075 nM a aproximadamente 0,100 nM, o de aproximadamente 0,100 nM a aproximadamente 0,250 nM, o de aproximadamente 0,250 nM a aproximadamente 0,500 nM, o de aproximadamente 0,500 nM a aproximadamente 0,750 nM, o de aproximadamente 0,750 nM a aproximadamente 1 nM.

35 En general, el valor de la CI_{50} de Kgp para compuestos de la invención varía de aproximadamente 0,001 nM a aproximadamente 500 nM. El valor de la CI_{50} de Kgp para un compuesto de la invención puede variar, por ejemplo, de aproximadamente 1 nM a aproximadamente 20 nM, o de aproximadamente 20 nM a aproximadamente 40 nM, o de aproximadamente 40 nM a aproximadamente 60 nM, o de aproximadamente 60 nM a aproximadamente 80 nM, o de aproximadamente 80 nM a aproximadamente 100 nM, o de aproximadamente 100 nM a aproximadamente 150 nM, o de aproximadamente 150 nM a aproximadamente 200 nM, o de aproximadamente 200 nM a aproximadamente 250 nM, o de aproximadamente 250 nM a aproximadamente 300 nM, o de aproximadamente 300 nM a aproximadamente 350 nM, o de aproximadamente 350 nM a aproximadamente 400 nM, o de aproximadamente 400 nM a aproximadamente 450 nM, o de aproximadamente 450 nM a aproximadamente 500 nM. El valor de la CI_{50} de Kgp para un compuesto de la invención puede variar de aproximadamente 0,001 nM a aproximadamente 0,025 nM, o de aproximadamente 0,025 nM a aproximadamente 0,050 nM, o de aproximadamente 0,050 nM a aproximadamente 0,075 nM, o de aproximadamente 0,075 nM a aproximadamente 0,100 nM, o de aproximadamente 0,100 nM a aproximadamente 0,250 nM, o de aproximadamente 0,250 nM a aproximadamente 0,500 nM, o de aproximadamente 0,500 nM a aproximadamente 0,750 nM, o de aproximadamente 0,750 nM a aproximadamente 1 nM.

50 En algunas realizaciones, un inhibidor de Kgp de acuerdo con la invención tiene una K_i de Kgp de 100 nM o menos. En algunas realizaciones, el inhibidor de Kgp tiene una K_i de Kgp de 50 nM o menos.

En algunas realizaciones, un inhibidor de Kgp de acuerdo con la invención tiene una CI_{50} de Kgp de 50 nM o menos. En algunas realizaciones, el inhibidor de Kgp tiene una CI_{50} de Kgp de 15 nM o menos.

55 Los compuestos que tienen valores K_i de Kgp de 15 nM o menos pueden ser particularmente útiles para la administración sistémica. Por ejemplo, dichos compuestos pueden tener valores K_i de Kgp que varían de aproximadamente 1 picomolar (pM) a aproximadamente 15 nanomolar (nM), de aproximadamente 10 pM a aproximadamente 12 nM, de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 11 nM, o de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 10 nM. Dichos compuestos pueden tener valores K_i de Kgp de menos de 10 nanomolar (nM), menos de 8 nM, menos de 6 nM, o menos de 4 nM.

65 Los compuestos que tienen valores K_i de Kgp de 45 nM o menos pueden ser particularmente útiles para la administración tópica. Por ejemplo, dichos compuestos pueden tener valores K_i de Kgp que varían de aproximadamente 1 picomolar (pM) a aproximadamente 40 nanomolar (nM), de aproximadamente 10 pM a aproximadamente 35 nM, de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 30 nM, o de aproximadamente 100 pM a aproximadamente 25 nM.

En ciertas realizaciones, los inhibidores de Kgp de acuerdo con la invención son selectivos para Kgp. Como se usa en el presente documento, un inhibidor de Kgp "selectivo" es un compuesto que no afecta sustancialmente la actividad de proteasas diferentes de Kgp, RgpA y RgpB cuando se administran a una dosis terapéuticamente eficaz para tratar una enfermedad o dolencia asociada a la infección por *P. gingivalis*. Típicamente, una proteasa que no está sustancialmente afectada por un compuesto concreto presenta al menos un 90% de su actividad enzimática normal en presencia del compuesto en condiciones fisiológicas. Los inhibidores de Kgp selectivos incluyen aquellos compuestos que no afectan la actividad de las proteasas diferentes de Kgp cuando se administran a una dosis terapéuticamente eficaz para tratar un trastorno cerebral, enfermedad periodontal, diabetes, una enfermedad cardiovascular, artritis, nacimiento pretérmino, neumonía, cáncer, una enfermedad renal, una enfermedad hepática, un trastorno de la retina o glaucoma asociado a una infección por *P. gingivalis*. Preferentemente, los inhibidores de Kgp selectivos no afectan adversamente la cascada de coagulación cuando se administra a niveles terapéuticamente eficaces.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un inhibidor de Kgp que tiene una K_i de Kgp de menos de 50 nM. En algunas de tales realizaciones, la tripsina K_i es mayor de 60 nM. En algunas realizaciones, el inhibidor de Kgp tiene una K_i de Kgp de menos de 15 nM y una relación (k_i de tripsina)/(K_i de Kgp) de más de 100.

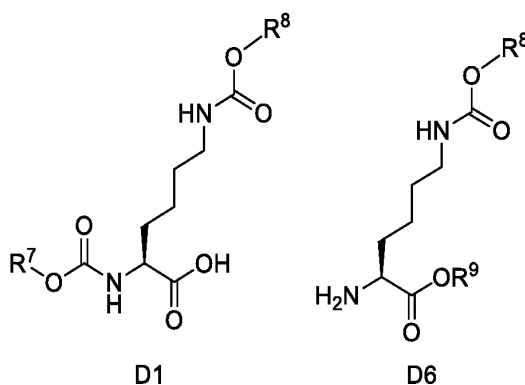
En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos que son al menos 30 veces más selectivos por Kgp que por tripsina o catepsina B. Para alguno de dichos compuestos, la K_i de Kgp es de 0,9 nM y la K_i de tripsina y/o la K_i de catepsina B son de 30 nM o más. En algunas realizaciones, la K_i de Kgp es de 0,9 nM y la K_i de tripsina y/o la K_i de catepsina B son de 115 μ M o más. Para algunos de dichos compuestos, la Cl_{50} de Kgp es de 50 nM o menos la Cl_{50} de tripsina es de 100 nM o más. Para algunos de dichos compuestos, la Cl_{50} de Kgp es de 15 nM o menos y la Cl_{50} de tripsina es de 1 μ M o más.

25

IV. Métodos para preparar compuestos

Determinados ejemplos de compuestos de Fórmula (I) y (Ib) se pueden preparar partiendo con determinados derivados de lisina D1 y D6, que se describen a continuación y están disponibles en el mercado o se pueden preparar tras los procedimientos publicados.

30

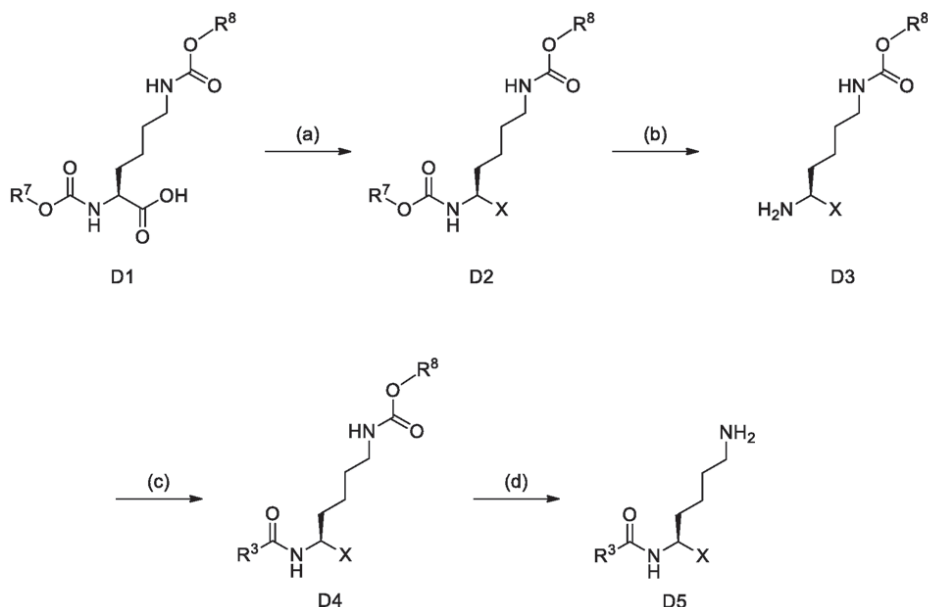


In D1, los R^7 y R^8 preferidos pueden cada uno eliminarse por las condiciones químicas de un compuesto que no afectan al otro. Por ejemplo, R^7 = bencilo se puede eliminar mediante hidrógeno y un catalizador de paladio-carbono, pero R^7 no se ve afectado por el ácido trifluoroacético, mientras que R^8 = t-butilo se pueden eliminar por ácido trifluoroacético, pero R^8 no se ve afectado por el hidrógeno y un catalizador de paladio-carbono. Se han publicado otras combinaciones complementarias adecuadas, de R^7 y R^8 . De forma análoga, en D6, se prefieren, R^8 y R^9 complementarias y eliminables y se han publicado algunas combinaciones adecuadas.

40

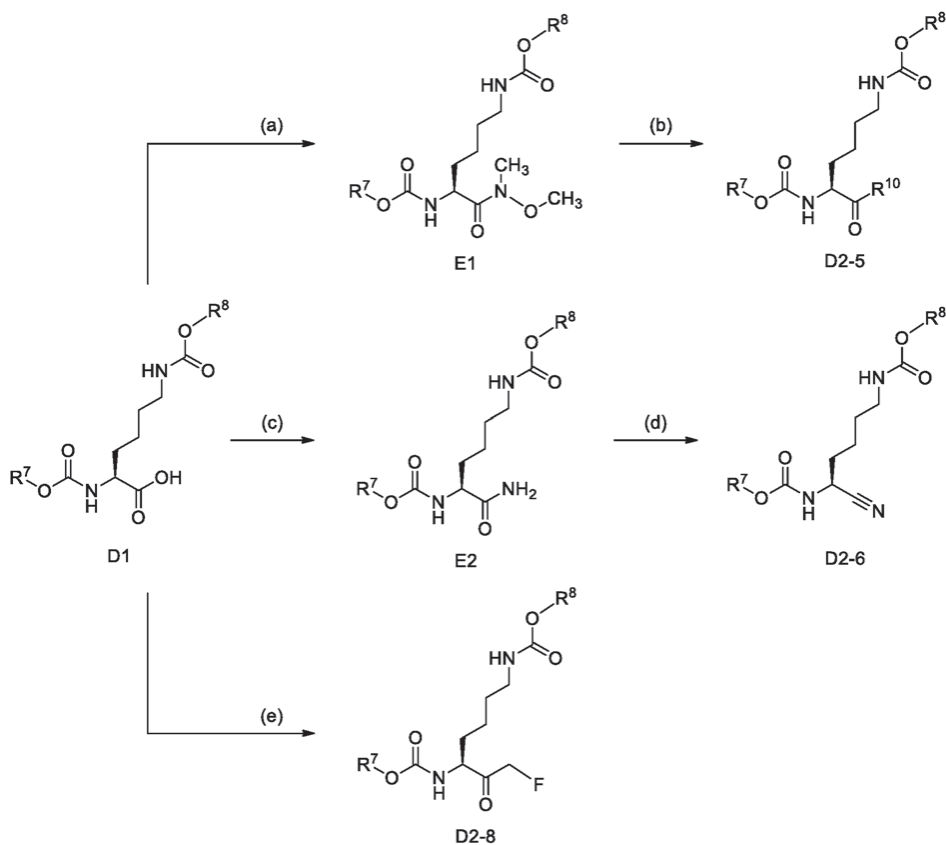
Se pueden preparar determinados D5 mediante una secuencia de transformaciones D1 a D2 a D3 a D4 a D5. Véase, el Esquema 1.

Esquema 1



En la mayoría de los casos, la transformación D1 a D2 implicará más de una reacción química. Tras los procedimientos publicados, se pueden aplicar las siguientes reacciones químicas para transformar D1 a D2. D1 se puede convertir en E1 por tratamiento con clorhidrato de N-metil-O-metilhidroxilamina, una base orgánica (por ejemplo Et₃N), un inhibidor de la racemización (por ejemplo HOBt) y un agente deshidratante (por ejemplo EDAC), en un disolvente orgánico (por ejemplo DMF). Véase, el Esquema 2, etapa (A). E1 se puede convertir en D2.5 por tratamiento con un heterociclo litiado (por ejemplo 2-litioenzotiazol, 2-litiotiazol, o 2-litioimidazolidina), en un disolvente orgánico (por ejemplo THF), para instalar el correspondiente R¹⁰ (2-benzotiazolilo, 2-tiazolilo, o 2-piridilo). Véase, el Esquema 2, etapa (b).

Esquema 2

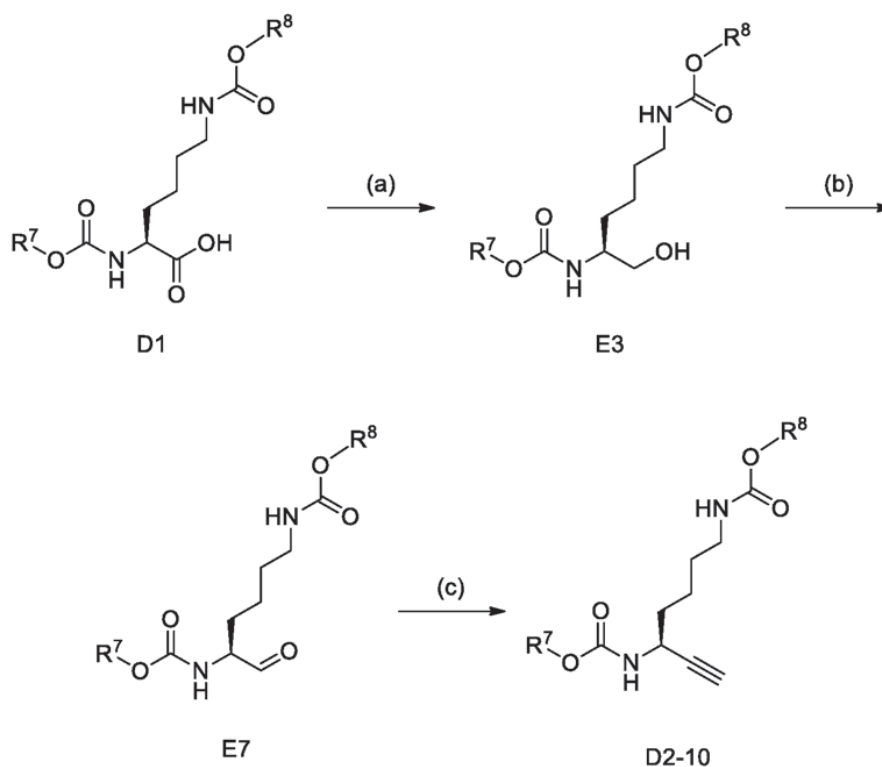


D1 se puede convertir en E2 por tratamiento con clorhidrato de amonio, una base orgánica (por ejemplo Et₃N), un inhibidor de la racemización (por ejemplo HOBt) y un agente deshidratante (por ejemplo EDAC), en un disolvente orgánico (por ejemplo DMF). Véase, el Esquema 2, etapa (c). E2 se puede convertir en D2-6 por tratamiento con una base orgánica (por ejemplo Et₃N) y un agente deshidratante fuerte (por ejemplo complejo de trióxido de piridina-azufre), en un disolvente orgánico (por ejemplo CH₂Cl₂). Véase, el Esquema 2, etapa (d).

D1 se puede convertir D2-8 por tratamiento con fluoroanhídrido acético, y Et₃N y DMAP, en un disolvente orgánico (por ejemplo DMF). Véase, el Esquema 2, etapa (e).

10 D1 se puede convertir en E3 por tratamiento con un complejo de borano-dimetilsulfuro, en un disolvente orgánico (por ejemplo THF). Véase, el Esquema 3, etapa (A). E3 se puede convertir en E7 por tratamiento con una base orgánica (por ejemplo Et₃N), un agente deshidratante fuerte (por ejemplo cloruro de oxalilo) y dimetilsulfóxido, en un disolvente orgánico (por ejemplo CH₂Cl₂). Véase, el Esquema 3, etapa (b). E7 se puede convertir en D2-10 por tratamiento con trimetil diazo fosfonacetato y K₂CO₃, en un disolvente alcohólico (por ejemplo metanol). Véase, el Esquema 3, etapa (c).

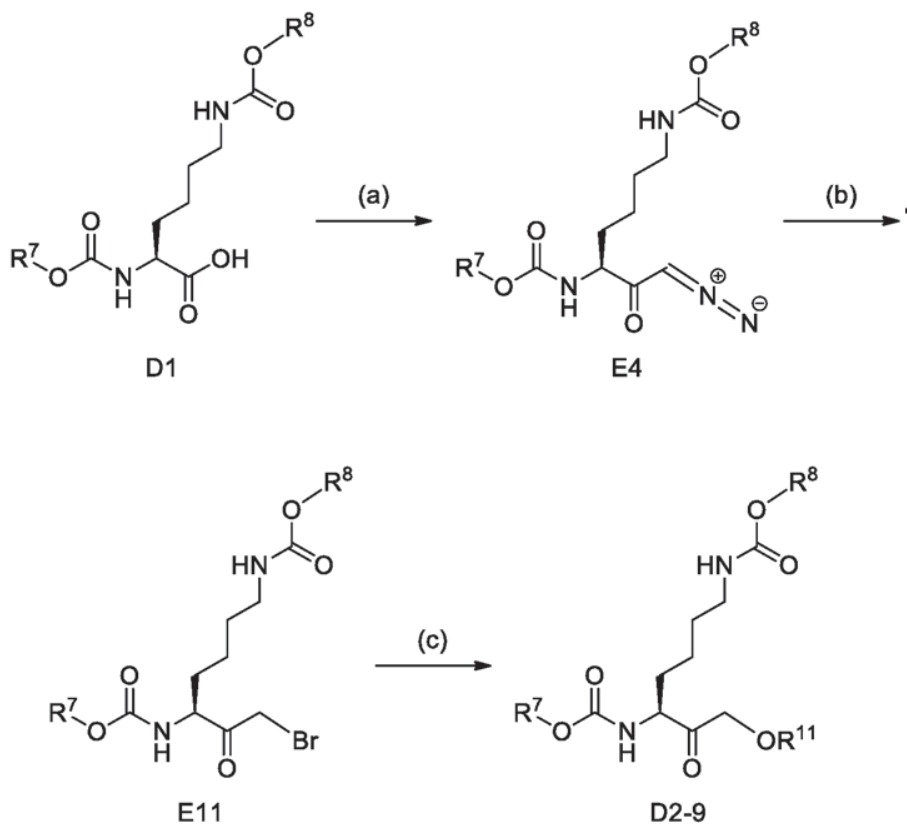
Esquema 3



20 D1 se puede convertir en E4 por tratamiento con una base orgánica (por ejemplo Et₃N), a cloroformiato (por ejemplo EtO₂CCl) y diazometano, en un disolvente orgánico (por ejemplo éter dietílico). Véase, el Esquema 4, etapa (A). E4 se puede convertir en E11 por tratamiento con HBr y ácido acético, en un disolvente orgánico (por ejemplo THF). Véase, el Esquema 4, etapa (b). E11 se puede convertir en D2-9 por tratamiento con un alcohol HOR¹¹ (por ejemplo 2,3,5,6-tetrafluorofenol) y KF, en un disolvente orgánico (por ejemplo DMF), para instalar el correspondiente -OR¹¹ (por ejemplo 2,3,5,6-tetrafluorofenoxi). Véase, el Esquema 4, etapa (c).

25

Esquema 4

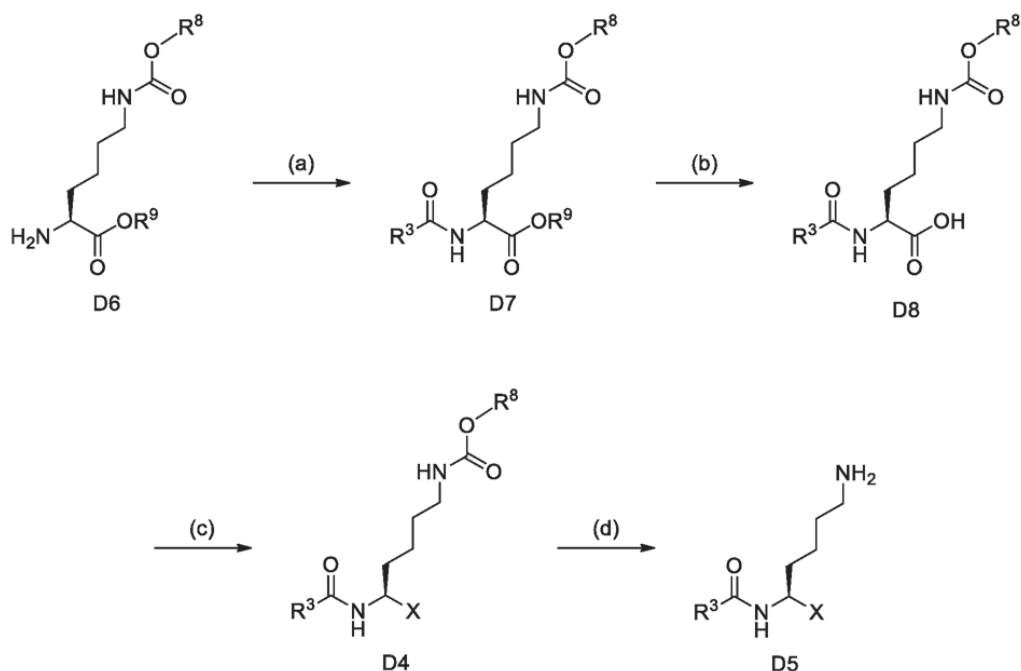


Adicionalmente, se puede aplicar una amplia variedad de procedimientos publicados adicionales para transformar D1 en otro D2, en el que X es un ariloximetil-carbonilo sustituido con halógeno, el grupo piridin-2-il-carbonilo o tiazol-2-il-carbonilo que no está ilustrado.

Después de la transformación de D1 en D2 (por ejemplo, en D2-5, D2-6, D2-8, D2-9, o D2-10), R^7 se puede eliminar mediante condiciones químicas adecuadas, generar D3 tras descarboxilación espontánea. D3 o una sal de D3 (por ejemplo, la sal clorhidrato de D3) se puede usar en etapas sintéticas adicionales. D3 se puede tratar con un ácido carboxílico $R^3\text{CO}_2\text{H}$ y un inhibidor de la racemización (por ejemplo HOBt) y un agente deshidratante (por ejemplo EDAC), en un disolvente orgánico (por ejemplo DMF), generar D4. Como alternativa, D3 se puede tratar con $R^3\text{COX}$, en donde X es un grupo saliente (por ejemplo cloruro) y una base orgánica (por ejemplo Et_3N), en un disolvente orgánico (por ejemplo CH_2Cl_2), que genera D4. Como alternativa, D3 se puede tratar con un isocianato en un disolvente orgánico (por ejemplo CH_2Cl_2), generando D4. Una amplia variedad de $R^3\text{CO}_2\text{H}$ aplicables, $R^3\text{COX}$, e isocianatos están disponibles en el mercado, o se pueden preparar mediante procedimientos publicados. R^8 puede eliminarse mediante condiciones químicas adecuadas, generando D5 tras descarboxilación espontánea.

Se puede preparar otro D5 mediante una secuencia de transformaciones D6 a D7 a D8 a D4 a D5. Véase, el Esquema 5.

Esquema 5

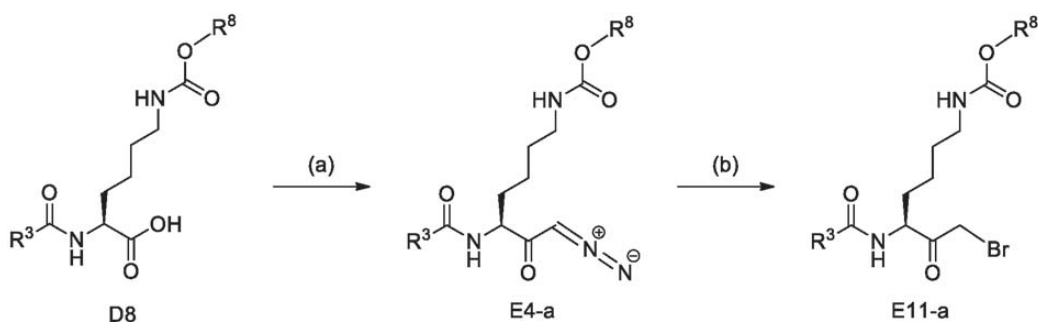


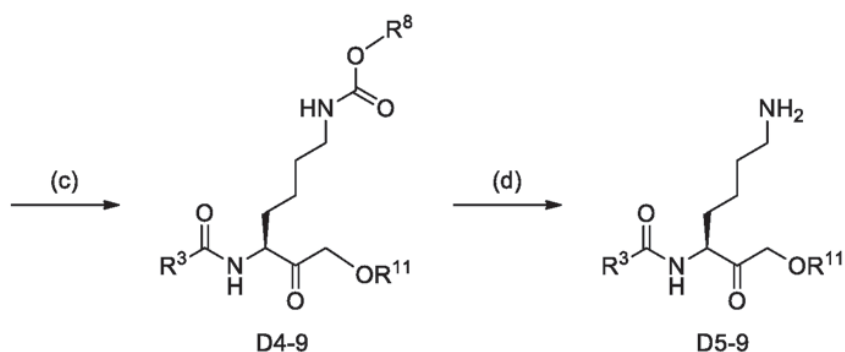
5 D6 se puede tratar con un ácido carboxílico $\text{R}^3\text{CO}_2\text{H}$ y un inhibidor de la racemización (por ejemplo HOBt) y un agente deshidratante (por ejemplo EDAC), en un disolvente orgánico (por ejemplo DMF), generando D7. Véase, el Esquema 5, etapa (A). Como alternativa, D6 se puede tratar con R^3COX , en donde X es un grupo saliente (por ejemplo cloruro) y una base orgánica (por ejemplo Et_3N), en un disolvente orgánico (por ejemplo CH_2Cl_2), que genera D7. Como alternativa, D3 como se muestra en el Esquema 1 se puede tratar con un isocianato en disolvente orgánico (por ejemplo CH_2Cl_2), generando D7. Una amplia variedad de $\text{R}^3\text{CO}_2\text{H}$ aplicables, R^3COX , e isocianatos están disponibles en el mercado, o se pueden preparar mediante procedimientos publicados. R^9 se puede eliminar mediante condiciones químicas adecuadas generando D8. Véase, el Esquema 5, etapa (b).

10 D8 se puede transformar en D4 mediante secuencias de reacciones similares a las descritas para la transformación de D1 en D2. Véase, el Esquema 5, etapa (c). En algunas realizaciones, D8 se transforma en D4-9 como se muestra en el Esquema 6, etapas (a)-(c). En algunas realizaciones, $-\text{OR}^{11}$ en D4-9 es 2,3,5,6-tetrafluorofenoxi.

15

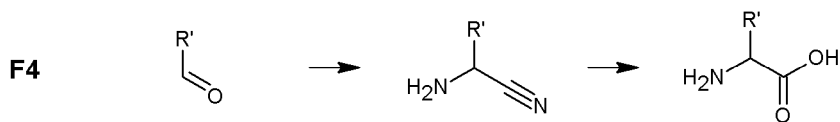
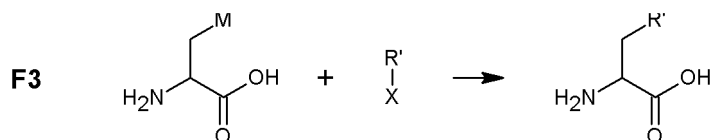
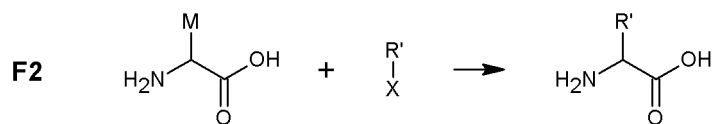
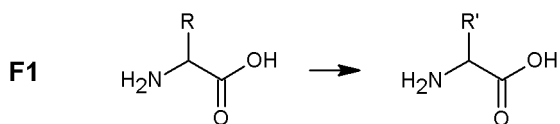
Esquema 6





Adicionalmente, se puede aplicar una amplia variedad de procedimientos publicados adicionales para transformar D8 en otro D4, en el que X es un ariloximetil-carbonilo sustituido con halógeno, el grupo piridin-2-il-carbonilo o tiazol-2-il-carbonilo que no está ilustrado. Tras la secuencia alternativa en D4, R⁸ se puede eliminar mediante condiciones químicas adecuadas, generando D5 tras descarboxilación espontánea. Véase, el Esquema 5, etapa (d).

La preparación de determinados ejemplos de Fórmula (I) requerirá una preparación inicial de aminoácidos no naturales que caracterizan las cadenas laterales que no están presentes en cualquiera de los aminoácidos que se producen en las proteínas. Se han publicado una amplia variedad de métodos para la preparación de aminoácidos que caracterizan cadenas laterales no naturales, incluyendo los métodos más útiles e importantes F1-4:



aunque no se ilustran en F1-3, los grupos amina y carboxilato se protegen típicamente antes de la aplicación de estos métodos y se retira la protección después de la construcción de la cadena lateral no natural. En F1, una cadena lateral natural (R) se modifica para formar una cadena lateral no natural (R'). Los aminoácidos naturales serina, ácido glutámico y metionina serían especialmente para la preparación de determinados ejemplos de Fórmula (I). En F2, un derivado de glicina metalada se trata con un agente alquilante (R'X) para instalar una cadena lateral no natural (R'). En algunos casos, el derivado de glicina metalada se genera mediante tratamiento con un derivado de glicina con un agente metalante fuertemente básico (por ejemplo litio diisopropilamida o t-butóxido de potasio). En otros casos, el derivado de glicina de partida es suficientemente ácido de tal manera que es satisfactorio un agente metalante mucho menos básico (por ejemplo carbonato potásico). en los últimos ejemplos el derivado de glicina metalada puede existir en forma de un par iónico disociado, más bien que las especies unidas covalentemente ilustradas en F2. En F3, un derivado de alanina metalada se trata con un agente alquilante (R'X) para instalar la cadena lateral no natural (R'). En la mayoría de los casos, el derivado de alanina metalada se generó tratando un derivado de alanina halogenada con un metal de valencia baja (por ejemplo polvo de cinc). En muchos casos, se utilizó un catalizador de paladio soluble para facilitar F3. En F4, un aldehído (R'CHO) se hace reaccionar con una fuente de amoníaco y una fuente de cianuro, para generar un amino-nitrilo, que posteriormente se hidrolizó para generar un aminoácido que caracterizaba una

cadena lateral no natural (R'). Se pueden usar dichos métodos para preparar los intermedios C1, C2, C3 y C4 que se muestran anteriormente.

Después de la aplicación de métodos adecuados para preparar aminoácidos que caracterizan cadenas laterales no naturales, estos aminoácidos se pueden proteger adecuadamente, como se describe para D1 y D6 y, a continuación, se pueden aplicar los métodos adecuados, como se describe para D2-4 y D7-9, para generar análogos de D5, en donde la cadena lateral de lisina se ha sustituido por una cadena lateral no natural. Por lo tanto, están disponibles métodos adecuados para proporcionar las variaciones del R³, Z y CH₂AC(B)(D)CH₂NH₂ que se especifican para la Fórmula (I).

V. Composiciones/Administración

En un aspecto relacionado, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Las composiciones farmacéuticas se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica de farmacia y la administración de fármacos. En general, los métodos para preparar las composiciones incluyen la etapa de poner el principio activo en asociación con un transportador que contiene uno o más ingredientes accesorios. Las composiciones farmacéuticas se preparan normalmente poniendo el principio activo de forma uniforme e íntima en asociación con un transportador líquido o un transportador sólido finamente dividido o ambos y, a continuación, si es necesario, dar forma al producto en la formulación deseada. Las composiciones se pueden preparar convenientemente y/o empaquetarse en una forma farmacéutica unitaria.

Las composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de la invención se pueden formular para el uso oral. Las composiciones adecuadas para la administración oral incluyen, aunque no de forma limitativa, comprimidos, comprimidos ovalados, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleaginosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras o blandas, jarabes, elixires, soluciones, parches bucales, geles orales, chicles, comprimidos masticables, polvos efervescentes y comprimidos efervescentes. Las composiciones para la administración oral se pueden formular de acuerdo con cualquier método conocido por los expertos en la materia. Dichas composiciones pueden contener uno o más agentes seleccionados de agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes, antioxidantes y agentes conservantes a fin de proporcionar preparaciones farmacéuticamente elegantes y sabrosas.

Los comprimidos contienen generalmente el principio activo en premezcla con excipientes no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo: diluyentes inertes, tales como celulosa, dióxido de silicio, óxido de aluminio, carbonato de calcio, carbonato sódico, glucosa, manitol, sorbitol, lactosa, fosfato cálcico y fosfato sódico; agentes de granulación y desintegración, tales como almidón de maíz y ácido algínico; agentes aglutinantes, tales como polivinilpirrolidona (PVP), celulosa, polietilenglicol (PEG), almidón, gelatina y goma arábiga; y agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, ácido esteárico y talco. Los comprimidos pueden estar sin recubrir o pueden estar recubiertos, entéricamente o de otro modo, mediante técnicas conocidas para retrasar la disgregación y la absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar de esta forma una acción sostenida durante un periodo más largo. Por ejemplo, se puede emplear un material de retardo temporal, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo. Los comprimidos pueden estar también revestidos con una membrana semipermeable y osmoagentes poliméricos opcionales de acuerdo con técnicas conocidas para formar composiciones para bombas osmóticas para la liberación controlada.

Las composiciones para la administración oral pueden formularse como cápsulas de gelatina dura en donde el principio activo se mezcla con un diluyente sólido inerte (tal como carbonato de calcio, fosfato de calcio, o caolín), o como cápsulas de gelatina blanda en donde el principio activo se mezcla con agua o un medio oleoso (tal como aceite de cacahuete, parafina líquida, o aceite de oliva).

se pueden administrar también inhibidores de Kgp tópicamente como una solución, pomada, crema, gel, o suspensión, así como colutorios, colirios y similares. Aun adicionalmente, se puede realizar la administración transdérmica de inhibidores de Kgp por medio de parches iontoforéticos y similares.

Las composiciones farmacéuticas que contienen inhibidores de Kgp pueden estar también en forma de soluciones y suspensiones acuosas u oleaginosas inyectables. Se pueden formular las preparaciones inyectables estériles usando vehículos no tóxicos parenteralmente aceptables incluyendo agua, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico y disolventes aceptables, tales como 1,3-butano diol. Además, pueden emplearse aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite fijo suave, incluyendo, diglicéridos sintéticos.

Las suspensiones acuosas pueden contener uno o más inhibidores de Kgp en premezcla con excipientes que incluyen, aunque no de forma limitativa: agentes de suspensión, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, propilmetilcelulosa de oleaginosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábiga; agentes dispersantes o humectantes, tales como lecitina, estearato de polioxitileno y monooleato de sorbitán polietilenado; y

conservantes, tales como etilo, *n*-propilo y *p*-hidroxibenzoato. Los polvos y gránulos dispersables (adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua) pueden contener uno o más inhibidores de Kgp en premezcla con a agente dispersante, un agente humectante, un agente de suspensión, o combinaciones de los mismos. se pueden formular suspensiones oleosas suspendiendo un inhibidores de Kgp en un aceite vegetal (por ejemplo, aceite de cacahuete, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco), o en un aceite mineral (por ejemplo, parafina líquida). Las suspensiones oleosas pueden contener uno o más agentes espesantes, por ejemplo, cera de abeja, parafina dura o alcohol cetílico. Estas composiciones pueden preservarse mediante la adición de un antioxidante, tal como ácido ascórbico.

10 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden también estar en la forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal, por ejemplo, aceite de oliva o aceite de cacahuete, o un aceite mineral, por ejemplo, parafina líquida o mezclas de estos. los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas de origen natural, tales como goma arábica o goma tragacanto; fosfolípidos de origen natural, tales como lecitina de soja; ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como monooleato de sorbitán; y productos de condensación de dichos ésteres parciales con óxido de etileno, tales como monooleato de sorbitán polioxietileno.

Adicionalmente, la presente invención abarca diversos modos de administración mediante los cuales, los compuestos pueden administrarse para aumentar la biodisponibilidad o la penetración de la barrera hematoencefálica, incluyendo, aunque de forma no limitativa la administración, intravenosa, intranasal, intratecal, subcutánea, intracraneal y oral. Se puede usar la tecnología de liberación temporal para aumentar la biodisponibilidad incluyendo formulaciones para la liberación sostenida (SR), de acción sostenida (SA), de liberación extendida (ER, XR, XL) de liberación programada (TR), de liberación controlada (CR), de liberación modificada (MR), de liberación continua, de liberación osmótica e implantes de liberación lenta. Estas rutas de administración alternativas no se consideraron anteriormente para estas moléculas, que se contemplaron primeramente para ser formuladas para la administración gingival tópica y no sistémicamente.

El uso de moléculas híbridas para promover el transporte activo o de nanopartículas se puede usar en determinadas realizaciones para aumentar el transporte a través de la barrera hematoencefálica. Por ejemplo liposomas, proteínas, compuestos peptídicos diseñados mediante ingeniería genética o anticuerpos que se unen a los receptores que transportan proteínas a través de la barrera hematoencefálica incluyendo el receptor de LPR-1, el receptor de la transferrina, el factor de crecimiento de tipo EGF o el transportador del glutatión se pueden usar para aumentar la penetración en el cerebro. Se pueden usar técnicas físicas que incluyen la apertura osmótica, ultrasonidos, láseres, estimulación ganglionar esfenopalantina, administración intracraneal directa, administración intratecal, o intraventricular mediante una bomba.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención pueden incluir también uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de dolencias asociadas a la infección por *P. gingivalis*. En ciertas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende uno o más inhibidores de Kgp, como se describe en el presente documento junto con uno o más agentes activos adicionales para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. algunos agentes terapéuticos están en desarrollo y en uso clínico para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Las estrategias terapéuticas incluyen la disminución de los niveles en circulación del β -amiloides y tau (como se describe con más detalle a continuación), microtúbulos estabilizantes, eliminación de placas ateroscleróticas, modulación de la autofagia, modulación de los niveles de los transmisores e inhibición de los receptores de GABA(A) $\alpha 5$. Dichas terapéuticas pueden mantener y/o restaurar la función cognitiva en sujetos con enfermedad de Alzheimer; retardar el deterioro de la función cognitiva; y promover la neuroplasticidad y la recuperación del cerebro.

Los agentes activos que se pueden combinar con inhibidores de Kgp en composiciones farmacéuticas incluyen, aunque no de forma limitativa, antibióticos (es decir, compuestos bactericidas y compuestos bacteriostáticos), inhibidores de la colinesterasa, moduladores del receptor alfa-7 nicotínico, moduladores de la serotonina, moduladores de NMDA, terapias dirigidas a A β , terapias dirigidas a ApoE, terapias dirigidas a la microglía, terapias dirigidas a la barrera hematoencefálica, terapias dirigidas a tau, terapias dirigidas al complemento y antiinflamatorios.

se puede combinar cualquier antibiótico adecuado con uno o más inhibidores de Kgp en las composiciones farmacéuticas de la invención. En ciertas realizaciones, la invención proporciona una composición farmacéutica que contiene uno o más inhibidores de Kgp y un antibiótico que tiene una MIC₅₀ de *P. gingivalis* de menos de 25 μ g/ml. Por ejemplo, la MIC₅₀ de *P. gingivalis* del antibiótico puede ser menor de 20 μ g/ml, menor de 15 μ g/ml, menor de 10 μ g/ml, menor de 8 μ g/ml, menor de 6 μ g/ml, o menor de 5 μ g/ml. En algunas realizaciones, la MIC₅₀ de *P. gingivalis* del antibiótico es menor de 1 μ g/ml. En algunas realizaciones, la MIC₅₀ de *P. gingivalis* del antibiótico es menor de 0,2 μ g/ml.

Los ejemplos de compuestos bactericidas y bacteriostáticos incluyen, aunque no de forma limitativa: quinolonas (por ejemplo, moxifloxacino, gemifloxacino, ciprofloxacino, ofloxacino, trovafloxacino, sitafloxacino y similares), β -lactamas (por ejemplo, penicilinas, tales como amoxicilina, amoxicilina-clavulanato, piperacilina-tazobactama, penicilina G y similares; y cefalosporinas, tales como ceftriaxona y similares), macrólidos (por ejemplo, eritromicina, azitromicina, claritromicina y similares), carbapenemos (por ejemplo, doripenemo, imipenemo, meropenemo, ertapenemo y similares), tiazólidos (por ejemplo, tizoxanidina, nitazoxanidina, RM 4807, RM 4809 y similares), tetraciclinas (por

ejemplo, tetraciclina, minociclina, doxiciclina, eravaciclina y similares), clindamicina, metronidazol y satranidazol. Los compuestos bactericidas y bacteriostáticos también incluyen que inhiben o interfieren de otra forma con la formación de biopelículas de bacterias anaerobias gramnegativas; dichos agentes incluyen oxantel, morantel, tiabendazol y similares. Las composiciones de la invención pueden contener uno o más inhibidores de Kgp con uno o más (por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco, seis, o más) compuestos bactericidas/bacteriostáticos. Las composiciones que contienen compuestos bactericidas/bacteriostáticos pueden contener, además, una clorhexidina (por ejemplo, digluconato de clorhexidina) sola o junto con compuesto de cinc (por ejemplo, acetato de cinc), se pueden usar también junto con los antibióticos administrados.

En algunas realizaciones, se usa una combinación de penicilina (por ejemplo, amoxicilina) y metronidazol o una combinación de penicilina (por ejemplo, amoxicilina), metronidazol y una tetraciclina. En algunas realizaciones, el antibiótico se selecciona de minociclina, doxiciclina, metronidazol, amoxicilina, clindamicina, augmentine, satranidazol y combinaciones de los mismos.

Los ejemplos de inhibidores de la colinesterasa adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, donepezilo, donepezilo/memantina, galantamina, rivastigmina y tacrina, así como las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los ejemplos de moduladores de la serotonina adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, idalopiridina, RVT-101, citalopram, escitalopram, fluoxetina, fluvoxamina, apaxetina y sertralina, así como las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los ejemplos de moduladores del receptor alfa-7 nicotínico adecuado incluyen, aunque no de forma limitativa, agonistas alfa-7, tales como enceniclina y APN1125. Los moduladores de NMDA adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, antagonistas de los receptores NMDA, tales como memantina y sus derivados.

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener también agentes activos que se dirigen a dianas biomoleculares asociadas a enfermedades neurológicas. Dichas dianas incluyen péptidos beta amiloides (denominados también beta amiloide, abeta, o A β), apolipoproteína E (denominada también ApoE) y tau asociadas a microtúbulos (denominadas también proteínas tau o simplemente tau).

las terapias dirigidas a A β incluyen inhibidores de la producción de A β (tales como inhibidores de la beta-secretasa, inhibidores de la gamma-secretasa, activadores de la alfa-secretasa), inhibidores de la agregación de A β , inhibidores de la oligomerización de A β y reguladores en exceso del aclaramiento de A β , entre otros (véase, por ejemplo, Jia, *et al.* BioMed Research International, 2014. Artículo ID 837157, doi:10.1155/2014/837157). Los ejemplos de terapias dirigidas a A β incluyen, aunque no de forma limitativa, anticuerpos, pioglitazona, begacestat, atorvastatina, simvastatina, etazolato y tramiprosato, así como las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los ejemplos de terapias dirigidas a ApoE incluyen, aunque no de forma limitativa agonistas del receptor retinoide X (véase, Cramer, *et al.*, Science 2012. 335(6075): 1503-1506) y otros descritos por Liu *et al.* (Nat Rev Neurol. 2013. 9(2): 106-118). Las terapias dirigidas a Tau incluyen, aunque no de forma limitativa, metiltioninio, leucometiltioninio, anticuerpos y los descritos por Lee, *et al.* (Cold Spring Harb Perspect Med 2011; 1:a006437).

Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener también terapias dirigidas al complemento. Dichas terapias se dirigen a los componentes del sistema del complemento implicado en la respuesta inmunitaria innata. Las terapias dirigidas al complemento incluyen, aunque no de forma limitativa, las descritas por Ricklin y Lambris (Nat. Biotechnology 2007. 25(11): 1265-1275).

Los ejemplos de antiinflamatorios adecuados incluyen, aunque no de forma limitativa, AINE, tales como apazona, diclofenaco, ibuprofeno, indometacina, ketoprofeno, nabumetona, naproxeno, piroxicam y sulindac, así como las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

VI. Compuestos para su uso en métodos de tratamiento

Como se ha descrito anteriormente, la infección con *P. gingivalis* y la actividad de la gingipaína se ha vinculado con el desarrollo de la enfermedad periodontal, enfermedad de Alzheimer y otros trastornos cerebrales, enfermedad cardiovascular, diabetes, cáncer, hepatopatía, enfermedad renal, nacimiento pretérmino, artritis, neumonía y otros trastornos. Véanse: Bostanci, *et al.* FEMS Microbiol Lett, 2012. 333(1): 1-9; Ghizoni, *et al.* J Appl Oral Sci, 2012. 20(1): 104-12; Gatz, *et al.* Alzheimers Dement, 2006. 2(2): 110-7; Stein, *et al.* J Am Dent Assoc, 2007. 138(10): 1314-22; quiz 1381-2; Noble, *et al.* J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2009. 80(11): 1206-11; Sparks Stein, *et al.* Alzheimers Dement, 2012. 8(3): 196-203; Velsko, *et al.* PLoS ONE, 2014. 9(5): e97811; Demmer, *et al.* J Dent Res, 2015. 94(9S): 201-S-11S; Atanasova e Yilmaz. Molecular Oral Microbiology, 2014. 29(2): 55-66; Yoneda, *et al.* BMC Gastroenterol, 2012. 12: 16. Por tanto, los inhibidores de Kpg se pueden usar en enfermedades y dolencias, tales como los trastornos cerebrales, producidos o afectados de otra forma por *P. gingivalis*.

En consecuencia, se describe en el presente documento un método para tratar una enfermedad o dolencia asociada a una infección por *P. gingivalis*.

La presente invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de una infección por

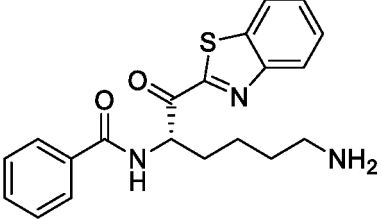
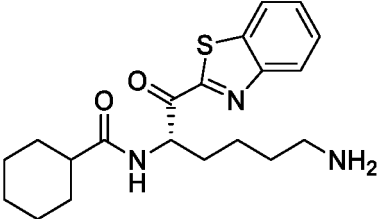
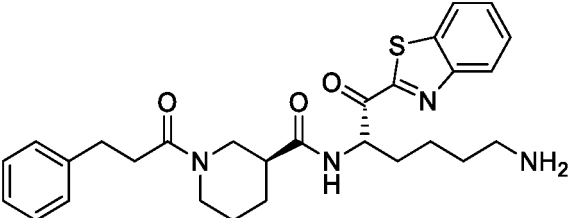
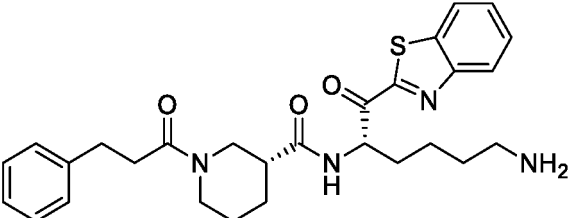
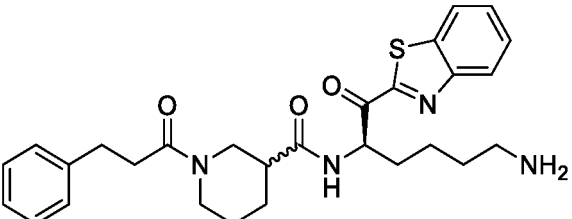
P. gingivalis.

El tratamiento incluye administrar a un sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

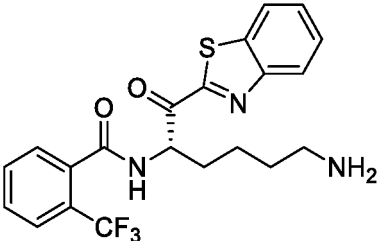
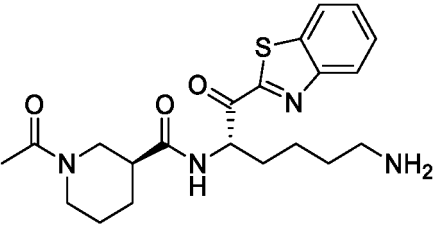
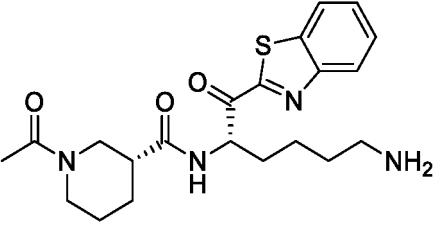
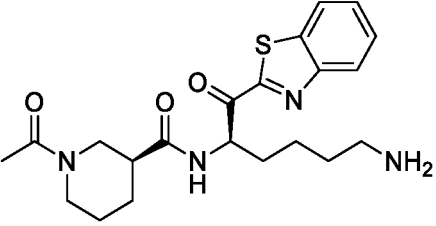
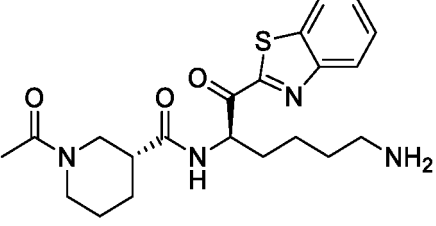
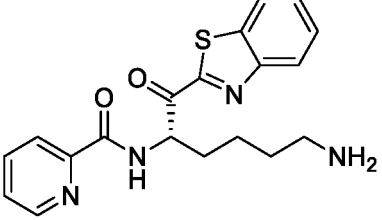
- 5 En algunas realizaciones, el compuesto para su uso en la presente invención es uno o más compuestos de la Tabla 1 que no están marcados con '‡'.

Tabla 1. Compuestos para su uso en el tratamiento de dolencias asociadas a una infección por *P. Gingivalis*. Los compuestos de referencia están denotados con

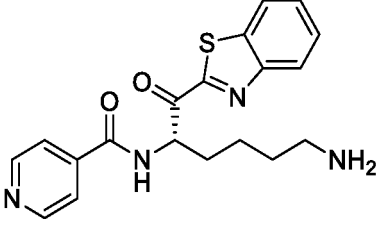
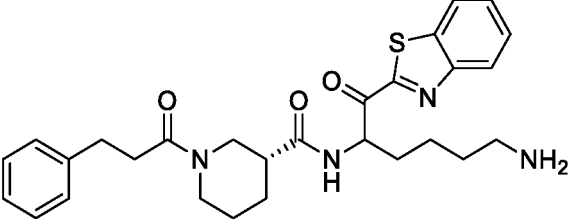
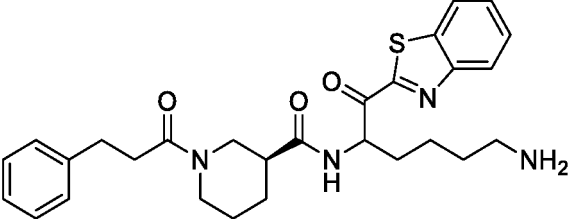
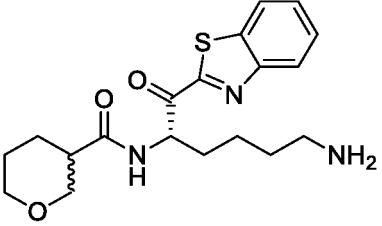
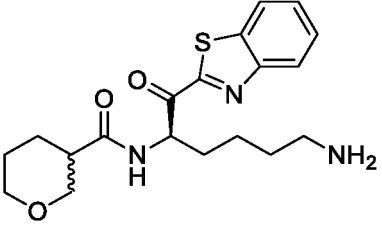
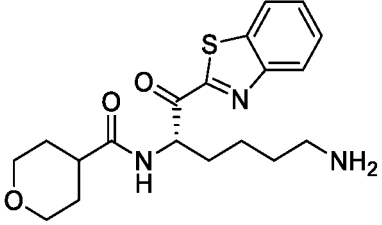
10

N.º de Compuesto	Estructura del compuesto
1‡	
2‡	
3‡	
4‡	
5‡/6‡	

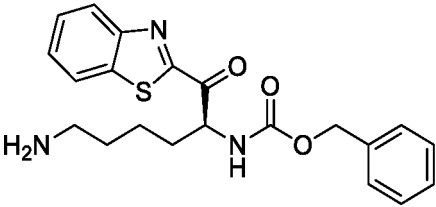
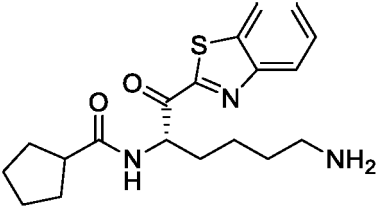
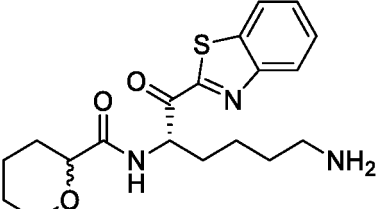
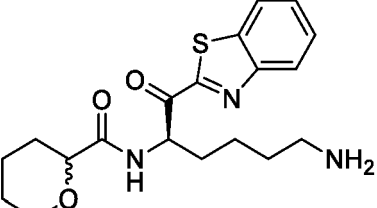
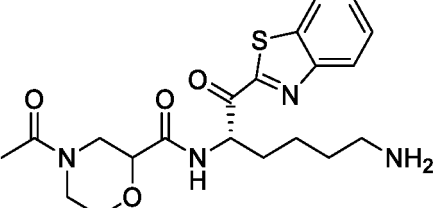
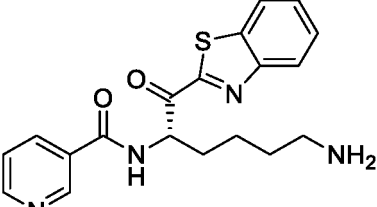
(continuación)

N.º de Compuesto	Estructura del compuesto
7 [±]	 <chem>NCCCCC[C@@H](NC(=O)c1ccc(C(F)(F)F)cc1)C(=O)c2nc3ccccc3s2</chem>
8 [±]	 <chem>NCCCCC[C@@H](NC(=O)C1CCN(C1)C(=O)C)C(=O)c2nc3ccccc3s2</chem>
9 [±]	 <chem>NCCCCC[C@@H](NC(=O)C1CCN(C1)C(=O)C)C(=O)c2nc3ccccc3s2</chem>
10 [±]	 <chem>NCCCCC[C@H](NC(=O)C1CCN(C1)C(=O)C)C(=O)c2nc3ccccc3s2</chem>
11 [±]	 <chem>NCCCCC[C@H](NC(=O)C1CCN(C1)C(=O)C)C(=O)c2nc3ccccc3s2</chem>
12 [±]	 <chem>NCCCCC[C@@H](NC(=O)c1ccccn1)C(=O)c2nc3ccccc3s2</chem>

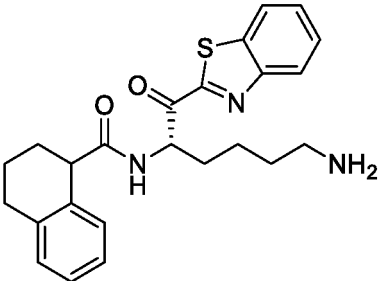
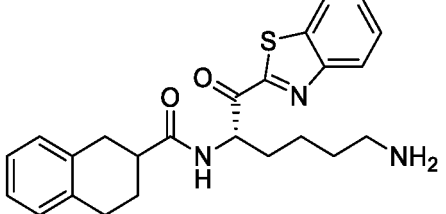
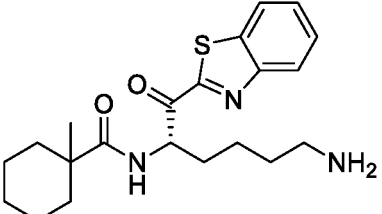
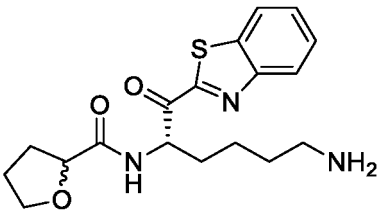
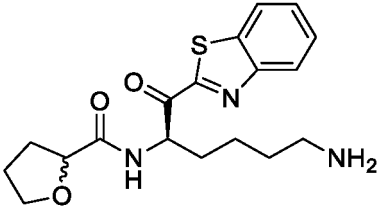
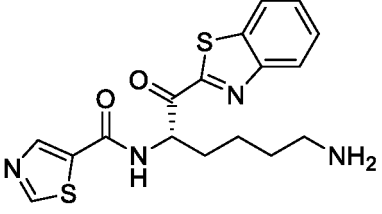
(continuación)

N.º de Compuesto	Estructura del compuesto
13 [‡]	
14 [‡] /15 [‡]	
16 [‡] /17 [‡]	
18 [‡] /19 [‡]	
20 [‡] /21 [‡]	
22 [‡]	

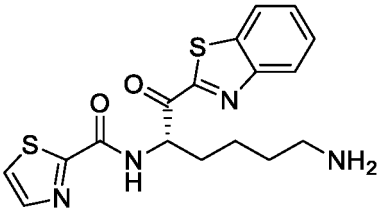
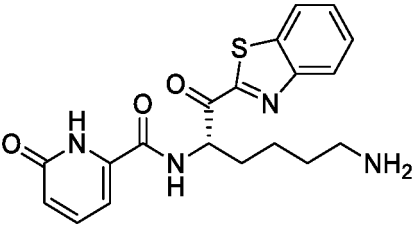
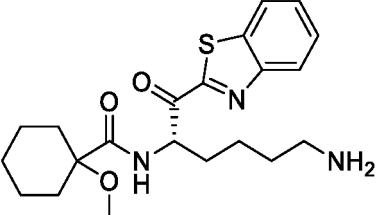
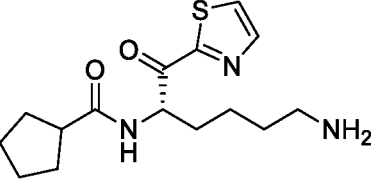
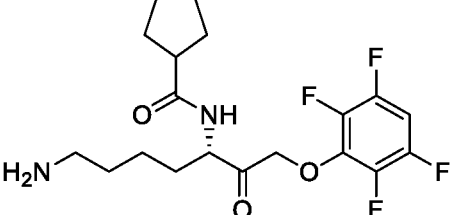
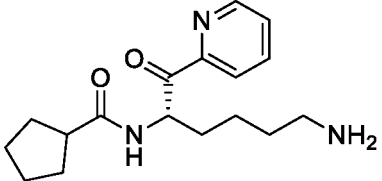
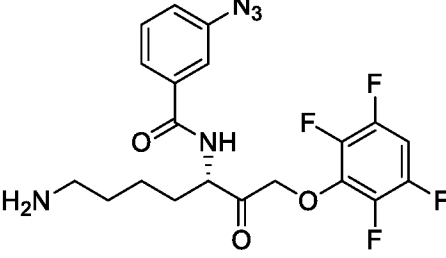
(continuación)

N.º de Compuesto	Estructura del compuesto
23 [‡]	
24 [‡]	
25 [‡] /26 [‡]	
27 [‡] /28 [‡]	
29 [‡]	
30 [‡]	

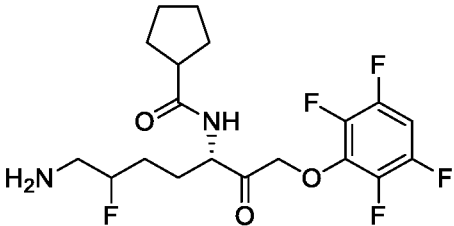
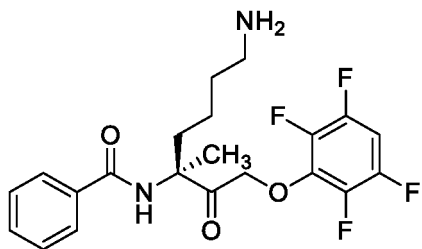
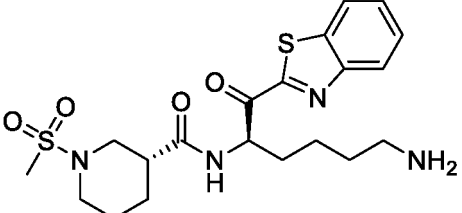
(continuación)

N.º de Compuesto	Estructura del compuesto
31 [‡]	
32 [‡]	
33 [‡]	
34 [‡] /35 [‡]	
36 [‡] /37 [‡]	
38 [‡]	

(continuación)

N.º de Compuesto	Estructura del compuesto
39 [‡]	
40 [‡]	
41 [‡]	
42	
43	
44	
45	

(continuación)

N.º de Compuesto	Estructura del compuesto
46	
47	
48 [‡]	

En algunas realizaciones, la invención proporciona un compuesto para su uso como se ha descrito anteriormente, en donde el sujeto es un ser humano o un can.

- 5 Curtis *et al.* han descrito un compuesto denominado A71561 (véase, *Infection and Immunity*, 2002. 70(12): 6968-6975). A71561 es una mezcla de dos diastereómeros: 2-(N-[N-(3-fenilpropanoil)-(S)-nipecotinil]-(S)-lisinil)-benzotiazol y 2-(N-[N-(3-fenilpropanoil)-(R)-nipecotinil]-(S)-lisinil)-benzotiazol. A71561 no es un inhibidor selectivo de Kgp, ya que su afinidad por la tripsina humana ($K_i = 30$ nM) es demasiado cercana a la afinidad por Kgp ($K_i = 0,9$ nM). Curtis no sugiere que A71561 o compuestos estructuralmente similares se puedan usar para tratar trastornos cerebrales (por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer), diabetes, enfermedad cardiovascular, artritis o trastornos de la retina.

La enfermedad o trastorno asociados a *P. gingivalis* descritos en el presente documento incluye un trastorno cerebral, enfermedad periodontal, diabetes, una enfermedad cardiovascular, artritis, nacimiento pretérmino, neumonía, cáncer, una enfermedad renal, una enfermedad hepática, un trastorno de la retina y glaucoma.

La presente invención proporciona un compuesto de la invención para su uso en el tratamiento de un trastorno cerebral asociado a una infección por *P. gingivalis*.

En algunas realizaciones, el trastorno cerebral se selecciona de enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, epilepsia, autismo, enfermedad de Parkinson, temblor hereditario, demencia frontotemporal, parálisis supranuclear progresiva, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, deterioro cognitivo leve, deterioro de la memoria senil, encefalopatía traumática crónica, ictus, enfermedad por cuerpos de Lewy, atrofia de múltiples sistemas, esquizofrenia y depresión.

En algunas realizaciones, el trastorno cerebral es la enfermedad de Alzheimer.

En algunas realizaciones, el compuesto para su uso es para su uso en un tratamiento que incluye administrar al sujeto uno o más agentes activos seleccionado de un inhibidor de la colinesterasa, un modulador de serotonina, un modulador de NMDA, una terapia dirigida a $A\beta$, una terapia dirigida a ApoE, una terapia dirigida a la microglía, una terapia dirigida a la barrera hematoencefálica, una terapia dirigida a tau, una terapia dirigida al complemento y un antiinflamatorio.

En algunas realizaciones, la enfermedad o dolencia es enfermedad periodontal. En algunas realizaciones, la enfermedad o dolencia es una enfermedad hepática. En algunas realizaciones, la enfermedad hepática es la esteatohepatitis no alcohólica. En algunas realizaciones, la enfermedad o dolencia es un trastorno de la retina. En

algunas realizaciones, el trastorno de la retina es degeneración macular relacionada con la edad.

En algunas realizaciones, la enfermedad o afección es cáncer. En algunas realizaciones, el cáncer es cáncer de mama, cáncer oral, cáncer de páncreas o glioblastoma multiforme.

5 En ciertas realizaciones, los compuestos de la invención inhiben la Kpg activa en el cerebro de un mamífero, por ejemplo, un ser humano o un animal (por ejemplo, un perro) y son citoprotectores o neuroprotectores. Por "neuroprotectores", se entienden los compuestos que evitan cambios anómalos en las neuronas o la muerte de las neuronas. Los compuestos de la invención son por tanto útiles, por ejemplo, en el tratamiento de un trastorno cerebral (por ejemplo, una enfermedad neurodegenerativa (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, epilepsia, autismo, enfermedad de Parkinson, temblor hereditario, demencia frontotemporal, parálisis supranuclear progresiva, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, deterioro cognitivo leve, deterioro de la memoria senil, encefalopatía traumática crónica, ictus, enfermedad por cuerpos de Lewy, atrofia de múltiples sistemas, esquizofrenia y depresión, etc.), diabetes, enfermedad cardiovascular, artritis, trastornos de la retina (por ejemplo, degeneración macular relacionada con la edad) y glaucoma.

20 Como se evidencia por la Figura 1, el 2-(N-[N-(3-fenilpropanoil)-(R)-nipecotinil]-(R)-lisinil)-benzotiazol es eficaz para prevenir la muerte celular. Como se evidencia por la Figura 2, el compuesto 1 y el compuesto 2 son eficaces para prevenir la muerte celular. Además, las modificaciones en estas ácido 1-(3-fenilpropionil)piperidin-3-carboxílico - [4-amino-1-(benzotiazol-2-carbonil butil]amidas pueden mejorar las propiedades (por ejemplo, propiedades neuroprotectoras) de estos compuestos y/ hacer que estos compuestos sean más adecuados para su administración sistémica. Los datos de los ensayos *in vitro* demuestran que este tipo de compuestos se pueden usar para proteger las células de la muerte celular inducida por gingipaina (Figura 2).

25 Los inhibidores de Kpg descritos en el presente documento se pueden administrar en cualquier dosis adecuada en los métodos de la invención. En general, un inhibidor de Kpg se administra en una dosis comprendida de aproximadamente 0,1 miligramos a aproximadamente 1000 miligramos por kilogramo de peso corporal de un sujeto (es decir, aproximadamente 0,1-1000 mg/kg). La dosis del inhibidor de Kpg puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 0,1-1000 mg/kg, o de aproximadamente 1-500 mg/kg, o de aproximadamente 25-250 mg/kg, o de aproximadamente 50-100 mg/kg. La dosis del inhibidor de Kpg puede ser de aproximadamente 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 85, 90, 95, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 o 1000 mg/kg. Las dosificaciones pueden variar dependiendo de las necesidades del individuo, la gravedad del trastorno en tratamiento y la formulación en particular que se administra. La dosis administrada a un paciente deberá ser suficiente para dar como resultado una respuesta terapéutica beneficiosa en el paciente. El tamaño de la dosis se puede determinar también por la existencia, naturaleza y extensión de cualquier efecto secundario adverso que acompaña la administración del fármaco en un paciente en particular. La determinación de la dosificación adecuada para una situación en particular se encuentra dentro de los conocimientos del experto en la materia. La dosificación total se puede dividir y administrarse en porciones durante un periodo de tiempo adecuado para tratar el trastorno de convulsiones.

40 Los inhibidores de Kpg se pueden administrar durante periodos de tiempo que variarán dependiendo de la naturaleza del trastorno particular, su gravedad y el estado general del sujeto al que se administra el inhibidor de Kpg. La administración se puede realizar, por ejemplo, cada hora, cada 2 horas, tres horas, cuatro horas, seis horas, ocho horas o dos veces al día que incluye cada 12 horas, o cualquier intervalo intermedio entre las mismas. La administración se puede realizar una vez al día o una vez cada 36 horas o 48 horas, o una vez cada mes o varios meses. Después del tratamiento, el sujeto se puede supervisar para determinar los cambios en su dolencia y el alivio de los síntomas del trastorno. La dosificación del inhibidor de Kpg tanto se puede aumentar si el sujeto no responde significativamente a un nivel de dosificación concreto, o bien la dosis se puede disminuir si se observa un alivio de los síntomas del trastorno, o si el trastorno se ha remediado, o se observan efectos secundarios inaceptables con una dosificación concreta.

55 Se puede administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de Kpg al sujeto en un régimen de tratamiento que comprende intervalos de al menos 1 hora, o 6 horas, o 12 horas, o 24 horas, o 36 horas, o 48 horas entre dosificaciones. La administración se puede realizar en intervalos de al menos 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 o 240 horas (es decir, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, o 10 días). En ciertas realizaciones, la administración de uno o más inhibidores de Kpg se realiza de forma crónica durante periodos comprendidos de varios meses a varios años. En consecuencia, algunas realizaciones de la invención proporcionan un método para tratar una enfermedad o dolencia asociada a una infección por *P. gingivalis* como se ha descrito anteriormente, cuando el compuesto se administra al sujeto durante al menos un año. En algunas realizaciones, el compuesto se administra al sujeto durante al menos 10 años. En algunas realizaciones, el compuesto se administra al sujeto durante al menos 60 años.

65 La administración de inhibidores de Kpg de acuerdo con los métodos de la invención dan como resultado, de forma típica, la reducción de los niveles en circulación de Kpg activo en un sujeto y/o la reducción de Kpg activo en el cerebro. En ciertas realizaciones, la administración de un inhibidor de Kpg de acuerdo con los métodos de la invención da como resultado al menos una reducción del 20 % de los niveles en circulación de Kpg activo y/o al menos una reducción del 20 % de la Kpg activa en el cerebro. Por ejemplo, los niveles en circulación de Kpg y/o los niveles de Kpg en el cerebro

se reducen preferentemente de aproximadamente 25% a aproximadamente 95%, o de aproximadamente 35% a aproximadamente 95%, o de aproximadamente 40% a aproximadamente 85%, o de aproximadamente 40% a aproximadamente 80% en comparación a los niveles correspondientes de Kgp 24 horas antes de la primera administración del inhibidor de Kgp.

5 Los inhibidores de Kgp se puede administrar en solitario o junto con uno o más principios terapéuticamente activos adicionales, como se ha descrito anteriormente. El uno o más agentes terapéuticamente eficaces adicionales incluyen, por ejemplo: (i) un agente farmacéuticamente aceptable que inhibe la producción de arginina gingipaína A (RgpA) y/o arginina gingipaína B (RgpB), translocación de RgpB y/o Kgp en la circulación sistémica o en el cerebro y/o patológica
10 (por ejemplo, efectos neurotóxicos) de RgpA, RgpB y/o Kgp en un mamífero; (ii) un agente antibacteriano que es bacteriostático o bactericidas con respecto a *P. gingivalis*; (iii) uno o más anticuerpos que se unen a RgpA, RgpB y/o Kgp (por ejemplo, 18E6, que se une a la primera mitad del dominio de inmunoglobulina de RgpB; anticuerpo monoclonal específico de Kgp, 7B9, que reconoce un epítipo dentro del dominio catalítico de Kgp; el anticuerpo de RgpA 61Bg 1.3, versiones humanizadas de cualquiera de los anteriores, etc.); (iv) epítopos o anticuerpos que se unen a RgpA, RgpB y/o Kgp u otras proteínas expresadas por *P. gingivalis*; y (v) combinaciones de cualquiera de los anteriores.

20 Los agentes terapéuticamente activos adicionales también incluyen reductores del nivel de péptidos A β , reductores de los niveles de tau patógenos, estabilizadores de microtúbulos, agentes que pueden retirar las placas ateroscleróticas, agentes que disminuyen los niveles en circulación de β -amiloide y tau, moduladores de la autofagia, reguladores de los niveles de neurotransmisores, inhibidores de los receptores GABA(A) α 5 y agentes adicionales que ayudan a mantener y/o restaurar la función cognitiva y los déficits funcionales de la enfermedad de Alzheimer y/o ralentizar el deterioro de las funciones cognitivas y de los déficits funcionales en la enfermedad de Alzheimer.

25 Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener uno o más inhibidores de Kgp como se describe en el presente documento junto con ritonavir (RTV), lo que puede aumentar la biodisponibilidad e incrementar la penetración en la barrera hematoencefálica. Por ejemplo, ritonavir se combina habitualmente con inhibidores peptídicos orales de la proteasa del VIH para aumentar los niveles en plasma por inhibidores de la enzima 3A4 del P450 y disminuyendo de esta forma el metabolismo de primer paso (véase, Walmsley, *et al.*, N Engl J Med, 2002.
30 346(26): 2039-46). Además, RTV se une a la P-glicoproteína, una bomba de extracción transmembrana que aparece en muchos tejidos, incluida la barrera hematoencefálica, lo que permite coadministrar compuestos con mejor acceso al cerebro (véase, Marzolini, *et al.*, Mol Pharm, 2013. 10(6): 2340-9). Por lo tanto, se puede usar una combinación de inhibidores RTV y Kgp para aumentar las concentraciones plasmáticas y los niveles cerebrales de los inhibidores de gingipaína. Se demuestra en el presente documento que la administración oral de RTV 15 minutos antes del inhibidor de Kgp, Kyt-36, aumenta la semivida (Figura 9) por tanto, se espera que RTV también aumente la semivida de otros
35 inhibidores de Kgp.

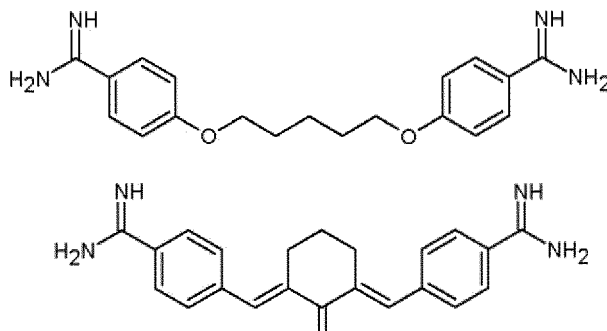
40 En algunas realizaciones, los compuestos de la invención pueden administrarse con inhibidores de gingipaína naturales incluyendo melabaricona C, aislado de nuez moscada o compuestos polifenólicos derivados de plantas, tales como arándanos, té verde, manzana y lúpulo se pueden administrar conjuntamente para el tratamiento o prevención de trastornos cerebrales. Los péptidos antimicrobianos de origen natural y no natural que incluyen: péptido de caseína K (109-137) 34, histatina 5 y CL(14-25), CL(K25A) y CL(R24A, K25A), también se pueden administrar junto con los inhibidores de Kgp de la invención. (véase, por ejemplo, Taniguchi *et al.*, Biopolymers, 2014. 102(5): 379-89).

45 Los inhibidores de Kgp que se describen en el presente documento se pueden administrar con anticuerpos dirigidos a gingipaínas u otras proteínas de *P. gingivalis*. Los anticuerpos se pueden basar en el daño a la barrera hematoencefálica para acceder al cerebro o a la interferencia periférica con gingipaínas y propagación de *P. gingivalis*. Los anticuerpos también pueden ayudar a estimular la eficacia del sistema inmunitario para eliminar las bacterias. Se pueden utilizar anticuerpos nuevos o existentes de RgpA, RgpB o Kgp incluyendo 18E6 y 7B9. Un anticuerpo de RgpA, 61BG 1.3, anteriormente había demostrado eficacia por vía tópica en la prevención de la recolonización por *P. gingivalis* después del tratamiento periodontal. Véase, Booth *et al.*, Infect Immun, 1996. 64(2): 422-7. Preferentemente, los anticuerpos se humanizarán para su uso en seres humanos. Se pueden usar métodos conocidos de los expertos en el campo para administrar sustancias biológicas para mejorar la semivida y la penetración en el cerebro, entre los que se incluyen, aunque no de forma limitativa, administración intravenosa, administración subcutánea, administración
50 intranasal, administración intratecal, transporte con vectores y administración directa al cerebro.

Los compuestos de la invención también se pueden usar en un método que abarca la administración de inhibidores de Kgp como se describen en el presente documento con uno o más de los siguientes principios terapéuticamente activos adicionales o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos: un derivado de arginina; histatina 5; baculovirus p35; un mutante puntual del modificador de la respuesta a citocinas del virus de la viruela bovina (CrmA (Asp > Lys)); fenilalanil-ureido-citrulinil-valil-cicloarginal (FA-70C1); (acicloxi)metilcetona (Cbz-Phe-Lys-CH₂OCO-2,4,6-Me₃Ph); peptidil cloro-metil cetonas (por ejemplo, derivados de clorometilcetona de arginina, derivados de clorometilcetona de lisina y similares); fluorometilcetonas; bromometilcetonas; cetopéptidos; [4-amino-1(S)-(benzotiazol-2-carbonil)butil]amida del ácido 1-(3-fenilpropionil)piperidin-3(R,S)-carboxílico(A71561); azapéptido de fumaramida; azapéptido de aceptores de Michael; compuestos de benzamida; aciclotilcetona; inhibidores del factor X activados (por ejemplo, DX-9065a); fracción no dializable de arándano; fracción de polifenoles de arándano;

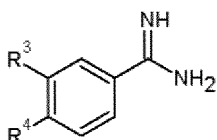
inhibidor de tripsina pancreática; Cbz-Phe-Lys-CH₂O-CO-2,4,6-Me₃-Ph; E-64; clorhexidina; cinc (por ejemplo, acetato de cinc); o una combinación de dos, tres o más de cualquiera de los anteriores.

- 5 En algunas de estas realizaciones, Zn puede mejorar la potencia y selectividad de los compuestos (por ejemplo, clorhexidina, benzamidina, etc.) usados en los métodos de la invención. Los compuestos de benzamidina incluyen, por ejemplo, los siguientes compuestos y derivados de los mismos:



10

o



15

Se puede administrar un inhibidor de la lisina gingipaína de la invención en la misma composición que el agente terapéuticamente activo adicional. Como alternativa, el agente terapéuticamente activo adicional se puede administrar por separado antes, de manera concurrente o después de la administración del inhibidor de la lisina gingipaína.

- 20 Análogamente a los seres humanos, la infección por *P. gingivalis* y la enfermedad periodontal es una de las enfermedades infecciosas más habituales que afectan a perros y gatos adultos. Usando perros beagle adultos, los investigadores demostraron la existencia de Rgp en muestras de placa tomadas de perros beagle que tomaron una dieta blanda específica para incrementar la formación de placa en las superficies dentales. (Véanse, por ejemplo: Davis y Head, *Front Pharmacol*, 2014. 5: 47; Reichart, *et al.*, *Journal of Periodontal Research*, 1984. 19(1): 67-75; Kataoka, S., *et al.*, *FASEB J*, 2014 28(8): 3564-78). Los perros y gatos con infección por *P. gingivalis* y gingipaínas en su cerebro y sistema circulatorio pueden experimentar enfermedad periodontal, deterioro cognitivo leve, deterioros de la memoria seniles, daño o envejecimiento generalizado debido a la muerte celular inducida por gingipaína, que se podría tratar o prevenir con composiciones de Fórmula I.

25

30 VII. Métodos para detectar *P. gingivalis* y diagnosticar dolencias asociadas a una infección por *P. gingivalis*

- También se describe en el presente documento una prueba diagnóstica para gingipaína o *P. gingivalis* en el cerebro o en muestras de pacientes para diagnosticar o predecir trastornos cerebrales, o para determinar quiénes serán los mejores candidatos para el tratamiento con los compuestos descritos en el presente documento. La técnica anterior ha señalado cambios en los perfiles séricos basados en una infección por *P. gingivalis*. Un novedoso ensayo para diagnosticar o predecir el riesgo de desarrollo de trastornos en el cerebro es realizar una prueba ELISA en saliva, líquido cefalorraquídeo o sangre, por ejemplo, para detectar una o ambas gingipaína. Se esperaría que los niveles en saliva, sangre y CSF de gingipaína u otros marcadores de *P. gingivalis* sean altos en pacientes de riesgo y pacientes que sean buenos candidatos para el tratamiento. El desarrollo de una prueba ELISA es un proceso bastante sencillo conocido por los expertos en la materia utilizan un anticuerpo dirigido contra la diana para capturar la diana y un anticuerpo secundario marcado contra un epítipo diferente a la diana para obtener una lectura cuantitativa. Con este fin se podrían usar anticuerpos comercialmente disponibles o de nueva generación. Los compuestos descritos en el presente documento inmovilizados o marcados (por ejemplo con biotina o HRP) se podrían utilizar para sustituir uno o ambos anticuerpos. Se podrían utilizar con este fin compuestos de química de clic, tales como los representados en la Figura 10. El diagnóstico podría incluir la detección de una o más gingipaínas. Se puede usar la biotilación del anticuerpo de detección para aumentar la sensibilidad.

40

45

- Como alternativa, en lugar de detectar la presencia o ausencia de las gingipaínas, se podría usar un ensayo para determinar su actividad en saliva, CSF o sangre. Esto proporcionaría el beneficio de proporcionar una lectura del factor más biológicamente pertinente (por ejemplo, la actividad) en presencia o ausencia de tratamiento, por ejemplo. Los métodos para desarrollar ensayos enzimáticos son conocidas de los expertos en la materia. Una prueba en saliva

50

conocido como ensayo BANA está disponible en el mercado para aplicaciones dentales, para analizar las proteasas de *P.gingivalis* y otras dos bacterias orales. El ensayo BANA es una pequeña tarjeta de plástico a la que están unidas dos matrices reactivas diferentes, vistas como tiras en la tarjeta. La matriz reactiva inferior de color blanco está impregnada con N-benzoil-DL-arginina-B-naftilamida (BANA). Muestras de la placa subgingival se aplican a la matriz inferior y después se aplica agua destilada a la matriz superior. Después, la matriz inferior se repliega para entrar en contacto con la matriz superior. El reactivo tampón de la matriz superior contiene un reactivo diazo cromogénico que reacciona con uno de los productos hidrolíticos de la reacción enzimática, formando un color azul. La reacción se produce cuando la tira de plástico se introduce en un incubador ajustado a 35° C durante 5 minutos. El sustrato BANA detecta al menos tres bacterias orales diferentes, sin embargo y no es específico de *P. gingivalis*. El ensayo BANA se podría usar para identificar personas en riesgo de trastornos cerebrales o candidatos para tratamiento. Como alternativa, el sustrato BANA se puede sustituir en formatos similares o en un ensayo en medio líquido con un sustrato específico de RgpA, RgpB y/o KGP.

Los reactivos que se unen a gingipaínas activas, incluyen pero sin limitación los descritos en la presente solicitud, se pueden usar para precipitar solamente las gingipaínas activas, seguido de detección con un anticuerpo monoclonal, por ejemplo. Como alternativa, se podría usar un anticuerpo u otro reactivo de unión de alta afinidad para precipitar la gingipaína procedente del CSF seguido de un ensayo de proteasa con un sustrato marcado, que permite leer el aumento en la fluorescencia o la colorimetría cuando se digiere el sustrato marcado.

También se describe en el presente documento un diagnóstico basado en la obtención de imágenes de *P. gingivalis* o sus gingipaínas en el cerebro humano. Cualquier agente que se una a gingipaínas, incluyendo pero sin limitación, los compuestos de la presente invención y otros compuestos descritos en otra parte, se pueden marcar con F18 u otros marcadores radiográficos y visualizarse usando exploración PET o SPECT. Una señal positiva indicaría el tratamiento con compuestos descritos en el presente documento. En una realización preferida y no limitante, el compuesto 45 que se describe en el presente documento se modifica mediante "química de click" para instalar una radiomarca de la que se pueden obtener imágenes con PET o SPECT (Figura 10).

VIII. Ejemplos

30 Ejemplo 1

Células de neuroblastoma SH-SY5Y se cultivaron y se diferenciaron en presencia de ácido retinoico 5 uM según métodos establecidos [Saberí S., *et al.* Cell Mol Neurobiol 2013. 33: 747-751]. La diferenciación a células neuronales se comprobó por observación del recrecimiento de neuritas. Las células diferenciadas se expusieron a Kgp y/o RgpB 100 nM durante 24 horas, en presencia o ausencia de inhibidores de Kgp. Los resultados se registraron usando un microscopio digital con cámara (Fig. 1C, Fig. 2C). Las gingipaínas son tóxicas para las células mientras que los compuestos COR evitan la citotoxicidad.

40 Ejemplo 2

Ratones macho adultos (CD-1, 25 g aproximadamente) n= 6 por grupo se anestesiaron y recibieron una inyección unilateral intrahipocámpica usando técnicas estereotácticas convencionales. Las gingipaínas RgpB y Kgp, purificadas de *P. gingivalis* se diluyeron antes de la inyección a 10 µg/ml. Siete días después de la cirugía, los animales se anestesiaron, se perfundieron y se sacrificaron de forma humanitaria y los cerebros se retiraron y se seccionaron para su análisis histológico. A continuación, se realizó tinción con fluoro-Jade sobre las secciones del hipocampo para determinar la neurodegeneración (Schmued LC y Hopkins KJ, 2000). La tinción con fluoro-Jade identifica cuerpos celulares, dendritas, axones y terminales de axones de neuronas degenerantes, pero no tiñe neuronas sanas, la mielina o los elementos vasculares.

Los cortes cerebrales se examinaron con un microscopio de epifluorescencia (Nikon Microphot FXA) usando un sistema de filtro adecuado para visualizar fluoresceína o isotiocianato de fluoresceína (FITC). Las imágenes se adquirieron con una cámara Leica LC y un programa informático de análisis de imagen (Leica IM50). Las neuronas en degeneración positivas para fluoro-Jade aparecen de color amarillo-verde brillante contra un fondo oscuro y se identificaron claramente en los grupos de animales tratados con gingipaínas. No se observaron células positivas para fluoro-Jade en el grupo tratado con vehículo (Fig. 4).

Ejemplo 3

Se obtuvieron ratones Balb/c hembra de Harlan Laboratories (EE.UU.) y se dejaron aclimatar. Ratones de 8 semanas de edad se estimularon por vía oral con 10⁹ UFC de *P. gingivalis* W83 en Na-CMC al 2 %, 2 veces a la semana durante 6 semanas. Los ratones de control recibieron un estímulo simulado solamente con Na-CMC al 2 %. 6 semanas después de la infección inicial, los ratones se sacrificaron, se perfundieron y los cerebros se diseccionaron. Los cerebros se incluyeron y se seccionaron. La inmunohistoquímica 18E6 para RgpB mostró infiltración cerebral en 3/6 ratones. La tinción de plata De Olmos para la neurodegeneración mostró tinción en 2 de los 3 ratones con infiltración (Fig. 5).

Ejemplo 4

Se obtuvieron ratones Balb/cJ hembra de Taconic y se dejaron aclimatar. Ratones de 8 semanas de edad se estimularon por vía oral con 10^9 UFC de *P. gingivalis* W83 cada 3^{er} día durante 4 administraciones.

Se inició la prueba de reconocimiento de nuevos objetos 6 semanas después de la infección inicial. Los ratones se familiarizaron con la jaula de pruebas durante 2 min el día antes de la familiarización con el objeto. En el día de la familiarización, se presentaron a los ratones dos rectángulos de madera de color azul durante 5 minutos. 24 h después, se presentó a los ratones un rectángulo de color azul (lado derecho) y un corazón de color rosa (lado izquierdo, ambos objetos hechos de madera) durante un periodo de 3 min. Se registró el tiempo durante el cual el ratón apuntó su nariz a menos de 2 cm de un objeto. Los ratones infectados de forma simulada pasaron más tiempo, en promedio, explorando el objeto nuevo en comparación con los ratones infectados que, en promedio, pasaron el mismo tiempo en ambos objetos, indicando disfunción cognitiva (Fig. 6).

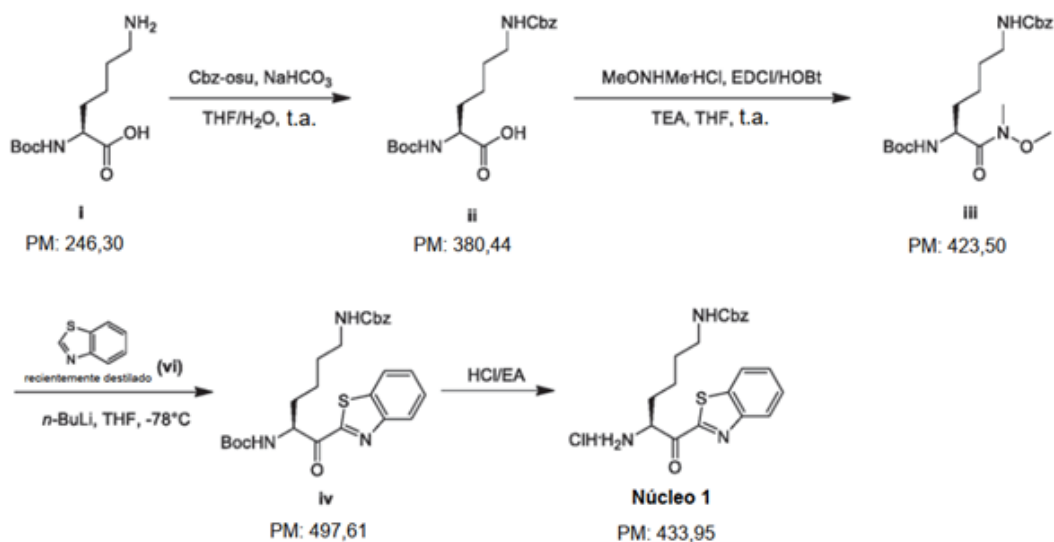
Ejemplo 5

Se obtuvieron ratones Balb/cJ hembra de Taconic y se dejaron aclimatar. Ratones de 43-44 semanas de edad se estimularon por vía oral con 10^9 UFC de *P. gingivalis* W83 o con una cepa de *P. gingivalis* que carecía de expresión para Kpg en días alternos durante 42 días. El compuesto 2 o vehículo (DMSO al 2 %) se administró por vía subcutánea tres veces al día los días 21-42. El día 42 los ratones se sacrificaron y el cerebro se retiró y se congeló. Una muestra que incluía tejido del hipocampo se lisó en tampón RIPA con inhibidores de la proteasa y se analizaron para determinar la expresión de Abeta42 con el kit Amyloid beta 42 ELISA, Mouse (Life Technologies). Los ratones infectados mostraron un aumento en abeta42 que no aparecía en los ratones con Kgp inactivado o en ratones tratados con el compuesto 2 (Fig. 7).

Ejemplo 6

Perros envejecidos se evaluaron para determinar el deterioro cognitivo como se describe en Araujo *et al.* [J Alzheimers Dis, 2011,26(1): 143-55]. Los cerebros se incluyeron y se evaluaron para determinar la infiltración de gingipaína como se describe en el Ejemplo 1 con el anticuerpo 7B9 de Kgp (Fig. 8).

Ejemplo de referencia 7. Preparación de *N*-[(5*S*)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo

Esquema 7

Ácido (2*S*)-6-(benciloxycarbonilamino)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)hexanoico (ii). A una solución de ácido (2*S*)-6-amino-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)hexanoico (100,00 g, 406,01 mmol, 1,00 *equiv.*), NaHCO₃ (102,33 g, 1,22 mol, 3,00 *equiv.*) en THF (1000 ml) y H₂O (1000 ml) se añadió CbzOSu (101,19 g, 406,01 mmol, 1,00 *equiv.*) a 0 °C. Después, la mezcla se agitó a 30 °C durante 16 h. La mezcla se ajustó a pH = 5-6 con HCl 1 N, se extrajo con EA (600 ml x 3), se secó con Na₂SO₄, se concentró para dar el ácido (2*S*)-6-(benciloxycarbonilamino)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)hexanoico (142,00 g, 373,26 mmol, rendimiento del 91,9 %) en forma de un aceite de color amarillo.

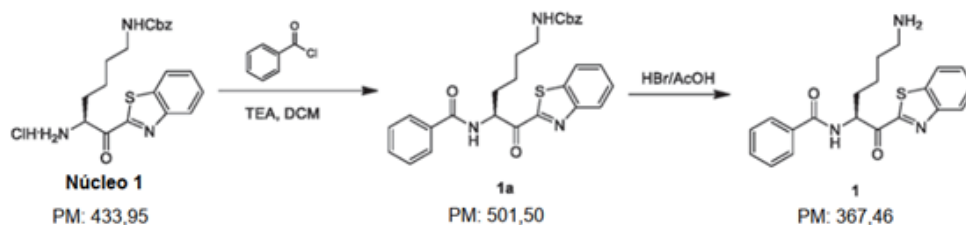
N-[(1S)-5-(benciloxicarbonilamino)-1-[metoxi(metil)-carbamoil]pentil]carbamato de *tert*-butilo (iii). A una solución de ácido (2S)-6-(benciloxicarbonilamino)-2-(*tert*-butoxicarbonilamino) hexanoico (142,00 g, 373,26 mmol, 1,00 *equiv.*), N-metoximatanamina (54,61 g, 559,89 mmol, 1,50 *equiv.*), EDCI (93,02 g, 485,24 mmol, 1,30 *equiv.*), HOBt (65,57 g, 485,24 mmol, 1,30 *equiv.*) en DCM (2 l) se añadió TEA (113,31 g, 1,12 mol, 3,00 *equiv.*) gota a gota a 0 °C durante 0,5 h. Después, la mezcla se agitó a 30 °C durante 16 h. La TLC indicó que la reacción se había completado. Después, la mezcla se diluyó con agua (1000 ml) y se separó. La capa orgánica se lavó con HCl (ac, 1 M, 500 ml) y solución saturada de NaHCO₃ (ac, 500 ml) secuencialmente, se secó con Na₂SO₄ y se concentró para dar el producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (PE: EA=5: 1 a PE: EA=1: 1) para dar N-[(1S)-5-(benciloxicarbonil-amino)-1-[metoxi(metil)carbamoil]pentil]carbamato de *tert*-butilo (110,00 g, 259,74 mmol, rendimiento del 69,6 %) en forma de un aceite de color amarillo claro.

N-[(1R)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxicarbonilamino)pentil]-carbamato de *tert*-butilo (iv). A una mezcla de 1,3-benzotiazol (9,58 g, 70,83 mmol, 3,00 *equiv.*) en THF (50 ml) se añadió *n*-BuLi (2,5 M en THF, 28,3 ml) gota a gota a -65 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a -65 °C en atmósfera de N₂ durante 1 h. Después se añadió N-[(1R)-5-(benciloxicarbonilamino)-1-[metoxi(metil)carbamoil]pentil]carbamato de *tert*-butilo (10,00 g, 23,61 mmol, 1,00 *equiv.*) en THF (50 ml) gota a gota a -65 °C en atmósfera de N₂ y la mezcla de reacción se agitó a -65 °C en atmósfera de N₂ durante 3 h más. La TLC indicó que la reacción se había completado. La mezcla se inactivó mediante una solución saturada de NH₄Cl (ac, 10 ml), después la mezcla se extrajo con EA (100 ml x 3), se secó con Na₂SO₄ y se secó para dar el producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (PE: EA=5: 1 a PE: EA=3: 1) para dar N-[(1R)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxicarbonilamino)pentil]-carbamato de *tert*-butilo (6,20 g, 12,46 mmol, rendimiento del 52,8 %) en forma de un aceite de color amarillo claro.

N-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (Núcleo 1). A una solución de N-[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxicarbonilamino)pentil]carbamato de *tert*-butilo (10,84 g, 21,78 mmol, 1,00 *equiv.*) en EA (140 ml) se añadió HCl/EA (4 M, 12 ml). Después, la reacción se agitó a 30 °C durante 15 h. La mezcla de reacción se filtró y la torta de filtro se lavó con EA (80 ml) y se secó al vacío para proporcionar clorhidrato de N-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (7,52 g, 17,33 mmol, rendimiento del 79,6 %) en forma de un sólido de color amarillo.

Ejemplo de referencia 8. Preparación de N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil] benzamida (1).

Esquema 8

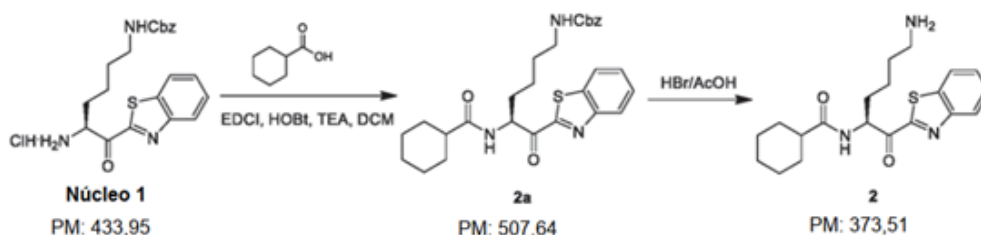


N-[(5S)-5-benzamido-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (1a). A una mezcla de N-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]-carbamato de bencilo; clorhidrato (400 mg, 921,77 μmol, 1,00 *equiv.*), TEA (280 mg, 2,77 mmol, 3,00 *equiv.*) en DCM (10 ml) se añadió cloruro de benzoilo (156 mg, 1,11 mmol, 1,20 *equiv.*) gota a gota a 0 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 h más. La TLC (EP: EA=5:1) indicó que la reacción se había completado. La mezcla se lavó con agua (5 ml x 3), se secó con Na₂SO₄, se concentró para dar N-[(5S)-5-benzamido-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxohexil]carbamato de bencilo (300 mg, 598,09 μmol, rendimiento del 64,9 %) en forma de un sólido de color amarillo claro.

N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]benzamida (1). Una mezcla de N-[(5S)-5-benzamido-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (250 mg, 498,41 μmol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (1 ml) se añadió HBr/AcOH (5,5 M, 1 ml). La mezcla se agitó a 30 °C durante 0,5 h. La CLEM indicó que la reacción se había completado. Se añadió agua (20 ml) se añadió y se extrajo con MTBE (5 ml x 2). Después, la capa acuosa se liofilizó para dar el producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]benzamida (20 mg, 41,54 μmol, rendimiento del 8,33%) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS m/z = 368,1 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 9. Preparación de N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]ciclohexanocarboxamida (2).

Esquema 9

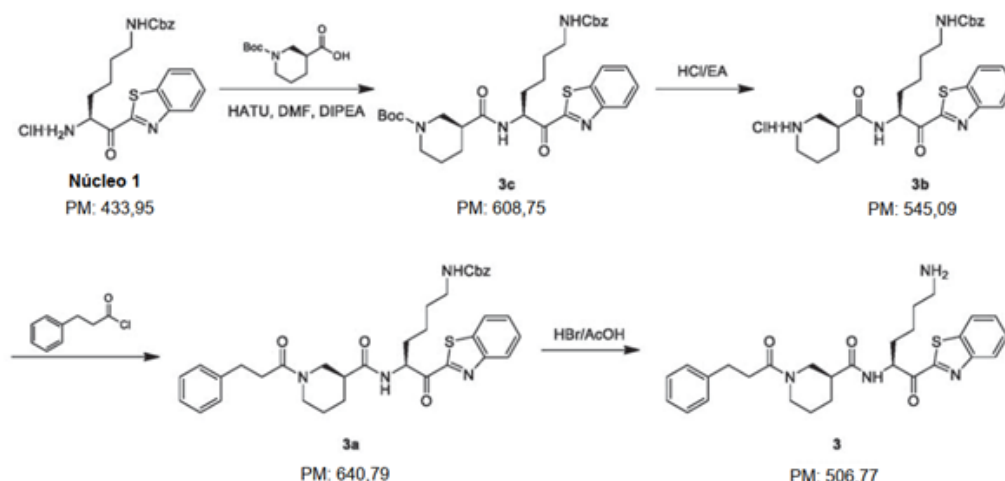


N-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-(ciclohexanocarboxilamino)-6-oxohexil]carbamato de bencilo (2a). A una mezcla de *N*-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo; clorhidrato (400 mg, 921,77 μmol , 1,00 *equiv.*), ácido ciclohexanocarboxílico (142 mg, 1,11 mmol, 1,20 *equiv.*), EDCI (230 mg, 1,20 mmol, 1,30 *equiv.*), HOBT (162 mg, 1,20 mmol, 1,30 *equiv.*) en DCM (10 ml) se añadió TEA (280 mg, 2,77 mmol, 3,00 *equiv.*) gota a gota a 0 °C. La mezcla se agitó a 30 °C durante 16 h. La CLEM indicó que la reacción se había completado. Se añadió agua (10 ml), después se extrajeron con DCM (10 ml x 2), se lavó con agua (10 ml), después solución saturada de NaHCO_3 (ac, 10 ml x 2), se secó con Na_2SO_4 , se concentró para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-(ciclohexanocarboxilamino)-6-oxohexil]carbamato de bencilo (**2a**; 210 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo.

N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]ciclohexanocarboxamida (2). A una mezcla de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-(ciclohexanocarboxilamino)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (200 mg, 393,98 μmol , 1,00 *equiv.*) en AcOH (1 ml) se añadió HBr/AcOH (5,5 M, 1 ml). La mezcla se agitó a 30 °C durante 0,5 h. La CLEM indicó que la reacción se había completado. Se añadió agua (20 ml) se añadió y se extrajo con MTBE (5 ml x 2). Después, la capa acuosa se liofilizó para dar un producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. para dar trifluoroacetato de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]ciclohexanocarboxamida (**2**; 10 mg, 20,51 μmol , rendimiento del 5,21 %) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS m/z = 374 (MH^+). RMN ^1H (CD_3OD , 400 MHz) δ 8,20 (dd, J = 7,6, J = 0,4, 1H), 8,14 (dd, J = 7,6, J = 1,2, 1H), 7,66 - 7,61 (m, 2H), 5,64 (dd, J = 4,0, J = 10,0, 1H), 3,02 - 2,93 (m, 2H), 2,38 - 2,35 (m, 1H), 2,18 - 2,10 (m, 1H), 1,84 - 1,55 (m, 9H), 1,48 - 1,17 (m, 6H).

Ejemplo de referencia 10. Preparación de (3S)-N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carboxamida (3).

Esquema 10



(3S)-3-[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxycarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato *tert*-butilo (3c). Una mezcla de ácido (3S)-*l*-*tert*-butoxicarbonilpiperidin-3-carboxílico (190 mg, 829,59 μmol , 1,20 *equiv.*), HATU (315 mg, 829,59 μmol , 1,20 *equiv.*), DIPEA (268 mg, 2,07 mmol, 3,00 *equiv.*) en DMF (5 ml) se agitó a 0 °C durante 1 h. Después se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxohexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*) y la mezcla se agitó a 30 °C durante 16 h. La TLC (PE: EA=3:1) indicó que la reacción se había completado. Se añadió EA (20 ml) y se lavó con agua (10 ml x 3), se secó con Na_2SO_4 , se concentró para dar (3S)-3-[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-

(benciloxicarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo 250 mg, 410,68 μ mol, 59,4% rendimiento del 55 %) en forma de un sólido de color amarillo.

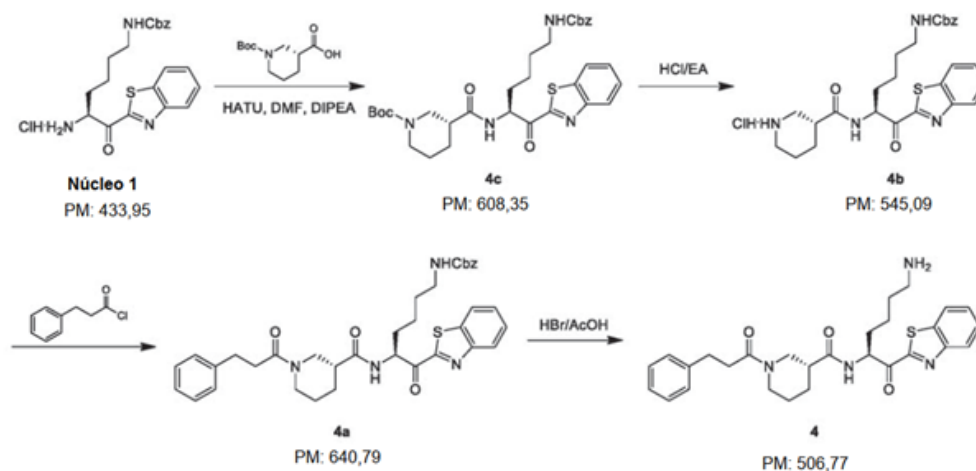
N-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[(3S)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (3b). A una mezcla de (3S)-3-[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxicarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (250 mg, 410,68 μ mol, 1,00 *equiv.*) en EA (2 ml) se añadió HCl/EtOAc (4 M, 2 ml). La mezcla se agitó a 30 °C durante 1,5 h. La TLC (PE: EA=3:1) indicó que la reacción se había completado. La mezcla de reacción se filtró para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[(3S)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (**3b**; 200 mg, bruto, rendimiento del 67 %) en forma de un sólido de color blanco.

N-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[(3S)-1-(3-fenilpropanoil)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (3a). A una mezcla de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[(3S)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (200 mg, 393,21 μ mol, 1,00 *equiv.*), TEA (119 mg, 1,18 mmol, 3,00 *equiv.*) en DCM (5 ml) se añadió cloruro de 3-fenilpropanoil (80 mg, 471,85 μ mol, 1,20 *equiv.*) a 0 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 h más. La CLEM indicó que la reacción se había completado. Se añadió DCM (10 ml) y se lavó con agua (5 ml x 3), se secó con Na₂SO₄, se concentró para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[(3S)-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (**3a**; 220 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo.

Ácido (3S)-N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carboxamida;2,2,2-trifluoroacético (3). A una mezcla de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[(3S)-1-(3-fenilpropanoil) piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (220 mg, 343,33 μ mol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (1 ml) se añadió HBr/AcOH (5,5 M, 1 ml) a 30 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 30 °C en atmósfera de N₂ durante 0,5 h más, La CLEM indicó que la reacción se había completado. Se añadió agua (20 ml) se añadió y se extrajo con MTBE (5 ml x 2). Después, la capa acuosa se liofilizó para dar un producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar (3S)-*N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carboxamida (**3**; 15 mg, 29,61 μ mol, rendimiento del 8,62 %) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS *m/z* = 507,2 (MH⁺).

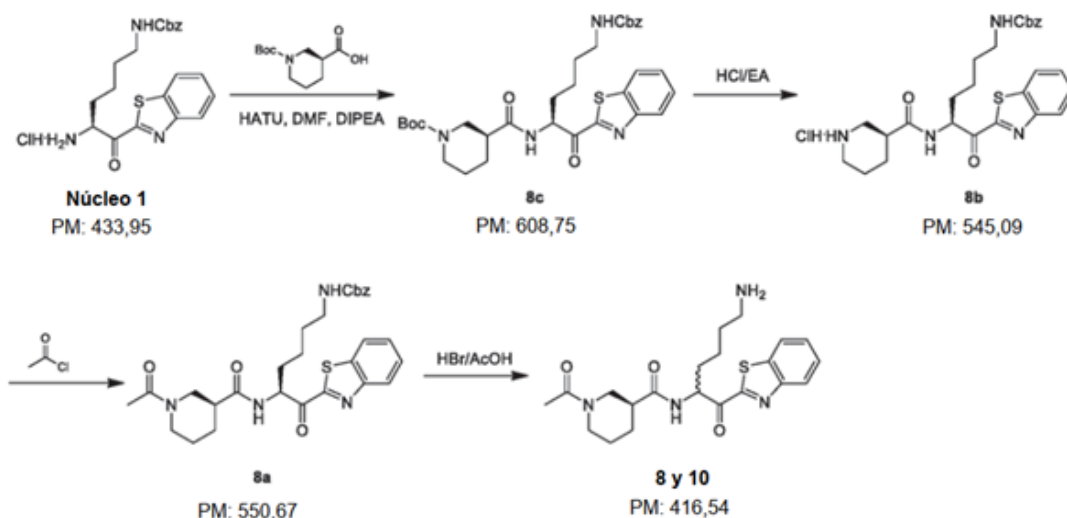
Ejemplo de referencia 11. Preparación de (3R)-N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carboxamida (4).

Esquema 11



(3R)-3-[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxicarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato *terc*-butilo (4c). A una solución de ácido (3R)-1-*terc*-butoxicarbonilpiperidin-3-carboxílico (190 mg, 828,72 μ mol, 1,20 *equiv.*) en DMF (10 ml) se añadieron HATU (320 mg, 841,60 μ mol, 1,22 *equiv.*) y DIPEA (267 mg, 2,07 mmol, 2,99 *equiv.*) bajo 0 °C. Después de agitar durante 0,5 h bajo 0 °C, se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-(amino-cloranil)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μ mol, 1,00 *equiv.*) y la mezcla resultante se agitó a 30 °C durante 3 h. La TLC (PE: EA=3:1) indicó que la reacción se había completado. La mezcla se diluyó con H₂O (15 ml x 2) y se extrajo con EA (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (20 ml x 2), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar (3R)-3-[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxicarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo **4c**; 600 mg, en bruto) en forma de un aceite, que se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

Esquema 13



5 **(3S)-3-[[[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxycarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato *tert*-butilo (8c).** Una mezcla de ácido (3S)-1-*tert*-butoxicarbonilpiperidin-3-carboxílico (693 mg, 3,02 mmol, 1,20 *equiv.*), HATU (1,15 g, 3,02 mmol, 1,20 *equiv.*), DIPEA (977 mg, 7,56 mmol, 3,00 *equiv.*) en DMF (20 ml) se agitó a 0 °C durante 1 h. Después se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxohexil]carbamoato de bencilo (1,00 g, 2,52 mmol, 1,00 *equiv.*) y la mezcla se agitó a 30 °C durante 16 h. La TLC (PE: EA=3:1) indicó que la reacción se había completado. Se añadió EA (100 ml) y se lavó con agua (50 ml x 3), se secó con Na₂SO₄, se concentró dar (3S)-3-[[[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxycarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (8c; 1,10 g, 1,81 mmol, rendimiento del 71,7 %) en forma de un sólido de color amarillo.

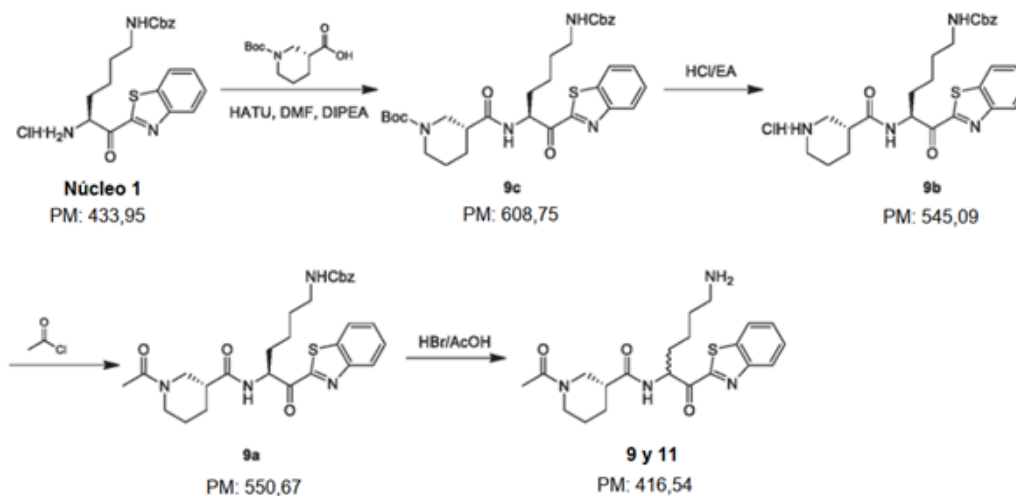
15 ***N*-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3S)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamoato de bencilo (8b).** A una mezcla de (3S)-3-[[[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxycarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,10 g, 1,81 mmol, 1,00 *equiv.*) en EA (10 ml) se añadió HCl/EA (4 M, 2 ml) y la mezcla de reacción se agitó a 30 °C durante 2 h. La TLC (PE: EA=3:1) indicó que la reacción se había completado y la reacción se filtró para dar clorhidrato de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3S)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamoato de bencilo (8b; 700 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo claro.

20 ***N*-[(5S)-5-[[[(3S)-1-Acetilpiperidin-3-carbonil]amino]-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxohexil]carbamoato de bencilo (8a).** A una mezcla de clorhidrato de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3S)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamoato de bencilo (700 mg, 1,28 mmol, 1,00 *equiv.*), TEA (390 mg, 3,85 mmol, 3,00 *equiv.*) en DCM (5 ml) se añadió cloruro de acetilo (150 mg, 1,93 mmol, 1,50 *equiv.*) gota a gota a 0 °C en atmósfera de N₂ y la mezcla de reacción se agitó 0 °C en atmósfera de N₂ durante 1 h. La TLC (PE:EA=3:1) indicó que la reacción se había completado, después se añadió DCM (20 ml) y la mezcla se lavó con agua (10 ml x 3), se secó con Na₂SO₄, se concentró para dar *N*-[(5S)-5-[[[(3S)-1-acetilpiperidin-3-carbonil]amino]-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamoato de bencilo (8a; 800 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo.

30 **(3S)-1-acetil-*N*-(6-amino-1-(benzo[d]tiazol-2-il)-1-oxohexan-2-il)piperidin-3-carboxamida (8 y 10).** A una mezcla de *N*-[(5S)-5-[[[(3S)-1-acetilpiperidin-3-carbonil]amino]-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamoato de bencilo (800 mg, 1,45 mmol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (5 ml) se añadió HBr/AcOH (5,5 M, 2 ml). Después, la mezcla de reacción se agitó a 30 °C durante 0,5 h. La CLEM indicó que la reacción se había completado. Se añadió agua (30 ml) y se extrajo con MTBE (10 ml x 2), la capa acuosa se liofilizaron para dar un producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de (3S)-1-acetil-*N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piperidin-3-carboxamida (8; 21,20 mg, 39,96 μmol, rendimiento del 2,8 %) and (3S)-1-acetil-*N*-[(1R)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piperidin-3-carboxamida trifluoroacetato (10; 24,20 mg, 45,61 μmol, rendimiento del 3,2 %) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS *m/z* = 417,1 (MH⁺).

40 **Ejemplo de referencia 14. Preparación de (3R)-1-acetil-*N*-(6-amino-1-(benzo[d]tiazol-2-il)-1-oxohexan-2-il)piperidin-3-carboxamida (9 y 11).**

Esquema 14



(3R)-3-[[[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxycarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato *terc*-butilo (9c). A una solución de ácido (3R)-1-*terc*-butoxicarbonilpiperidin-3-carboxílico (633 mg, 2,76 mmol, 1,20 *equiv.*) en DMF (10 ml) se añadieron HATU (2,62 g, 6,90 mmol, 3,00 *equiv.*) y DIPEA (892 mg, 6,90 mmol, 3,00 *equiv.*) bajo 0 °C. Después de agitarse durante 0,5 h bajo 0 °C, se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-(amino-cloranil)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (1,00 g, 2,30 mmol, 1,00 *equiv.*) y la mezcla resultante se agitó a 30 °C durante 6 h. La TLC (PE: EA=3:1) indicó que la reacción se había completado. La mezcla se diluyó con H₂O (15 ml x 2) y se extrajo con EA (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (20 ml x 2), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar (3R)-3-[[[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxycarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (9c; 1,40 g, en bruto) en forma de un aceite, que se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

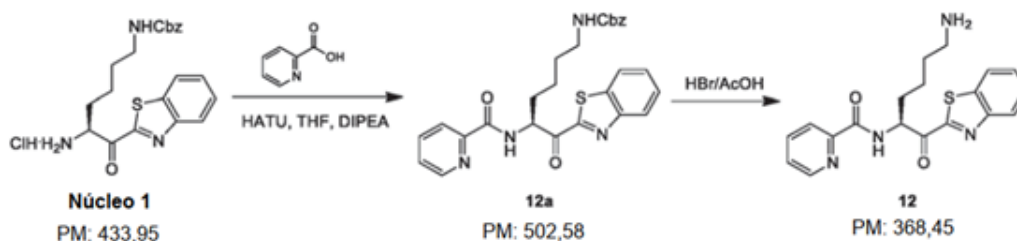
***N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3R)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (9b).** A una solución de (3R)-3-[[[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxycarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (821,36 μmol, 1,00 *equiv.*) (1,4 g, en bruto) en EA (20,00 ml) se añadió HCl/EA (4 M, 600,00 ul, 2,92 *equiv.*). La mezcla de reacción se agitó a 30 °C durante 4 h. La suspensión se filtró y la torta de filtro se recogió para proporcionar clorhidrato de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3R)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (9b; 2,20 g, en bruto), que se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación.

***N*-[(5S)-5-[[[(3R)-1-Acetilpiperidin-3-carbonil]amino]-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxohexil]carbamato de bencilo (9a).** A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3R)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo; clorhidrato (4,04 mmol, 1,00 *equiv.*) (2,2 g en bruto) en DCM (20 ml) se añadió TEA (1,23 g, 12,11 mmol, 3,00 *equiv.*). La mezcla se enfrió a 0 °C y después se añadió cloruro de acetilo (475 mg, 6,05 mmol, 1,50 *equiv.*) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 30 min. La CLEM indicó que la reacción se había completado. La reacción se interrumpió con H₂O (30 ml) y se extrajo con DCM (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar *N*-[(5S)-5-[[[(3R)-1-acetilpiperidin-3-carbonil]amino]-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxohexil]carbamato de bencilo (9a; 1,50 g, en bruto), que se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación.

(3R)-1-acetil-*N*-(6-amino-1-(benzo[d]tiazol-2-il)-1-oxohexan-2-il)piperidin-3-carboxamida (9 y 11). A una solución de *N*-[5-[[[(3R)-1-acetilpiperidin-3-carbonil]amino]-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (2,30 mmol, 1,00 *equiv.*) (1,5 g, en bruto) en AcOH (10 ml) se añadió HBr/AcOH (2,30 mmol, 1,00 *equiv.*) (2 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 32 °C durante 30 min. La CLEM indicó que el producto deseado se había detectado. La mezcla se diluyó con H₂O (100 ml) y MeOH (20 ml), se lavó con MTBE (50 ml x 2). La solución resultante se liofilizó para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (fase móvil: CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de (3R)-1-acetil-*N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piperidin-3-carboxamida (9; 5,30 mg, 9,99 μmol, rendimiento del 0,4 %) (rendimiento en 4 etapas) y trifluoroacetato de (3R)-1-acetil-*N*-[(1R)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piperidin-3-carboxamida (11; 49,70 mg, 119,32 μmol, rendimiento del 5,2 %) (rendimiento en 4 etapas) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 417,1 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 15. Preparación de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piperidin-2-carboxamida (12).

Esquema 15

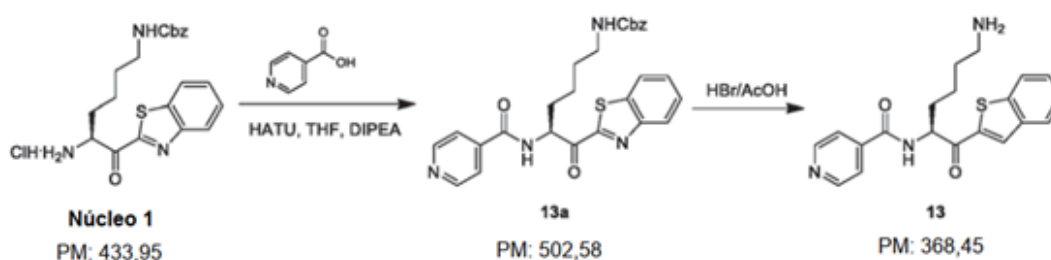


5 **N-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(piridin-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (12a).** A una solución de ácido piridin-2-carboxílico (102 mg, 829,58 μmol , 1,20 *equiv.*) en THF (8 ml) se añadieron HATU (315 mg, 829,58 μmol , 1,20 *equiv.*) y DIPEA (268 mg, 2,07 mmol, 3,00 *equiv.*) a 0 °C, la mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 15 min. Después se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxohexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*) a 0 °C, la mezcla de reacción se agitó a 30 °C 3 h más. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. La reacción se interrumpió con H₂O (30 ml) y después se extrajo con EA (20 ml x 2), la fase orgánica combinada se lavó con una solución acuosa saturada de salmuera (30 ml) y se concentró para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(piridin-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (**12a**; 698 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo.

15 **N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piridin-2-carboxamida (12).** A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(piridin-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (682 mg, 1,36 mmol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (3 ml) se añadió HBr/AcOH (1 ml, pureza del 33 %) a 20 °C, la mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1 h. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido y que se había detectado el compuesto deseado. Después de agitar durante 30 min más, la reacción se interrumpió con H₂O (10 ml) y se lavó con MTBE (20 ml). La fase orgánica se extrajo con H₂O (20 ml x 2) y las fases acuosas se combinaron y se liofilizaron para dar un producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piridin-2-carboxamida (**12**; 67,44 mg, 139,78 μmol , rendimiento del 10,3 %, ee del 74,4 %) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 369,1 (MH⁺).

25 **Ejemplo de referencia 16. Preparación de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piridin-4-carboxamida (13).**

Esquema 16



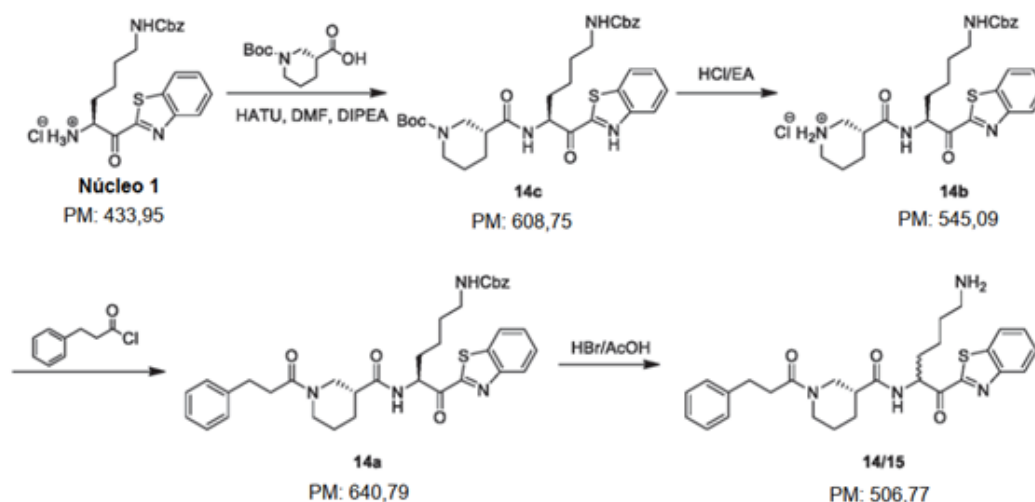
30 **N-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(piridin-4-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (13a).** A una solución de ácido isonicotínico (102 mg, 829,58 μmol , 1,20 *equiv.*) en THF (8 ml) se añadieron DIPEA (268 mg, 2,07 mmol, 3,00 *equiv.*) y HATU (315,43 mg, 829,58 μmol , 1,20 *equiv.*) a 0 °C, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 15 min. Después se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*) a 0 °C, la mezcla de reacción se agitó a 30 °C 3 h más. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. La reacción se interrumpió con H₂O (30 ml) y después se extrajo con EA (20 ml x 2), la fase orgánica combinada se lavó con una solución acuosa saturada de salmuera (30 ml) y se concentró para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(piridin-4-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (**13a**; 727 mg, en bruto) en forma de un sólido de color rojo, que se usó directamente sin más purificación.

40 **N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piridin-4-carboxamida (13).** A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(piridin-4-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (727 mg, 1,45 mmol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (3 ml) se añadió HBr/AcOH (1 ml, pureza del 33 %). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 3 h. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. La reacción se interrumpió con H₂O (10 ml) y se lavó con MTBE (20 ml). La fase orgánica se extrajo con H₂O (20 ml x 2) y las fases acuosas se combinaron

y se liofilizaron para dar un producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piperidin-4-carboxamida (13; 75,78 mg, 157,07 μmol, rendimiento del 10,8 %, ee del 69,3 %) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 369,0 (MH⁺).

5 **Ejemplo de referencia 17. Preparación de (3*R*)-*N*-[5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carboxamida (14/15).**

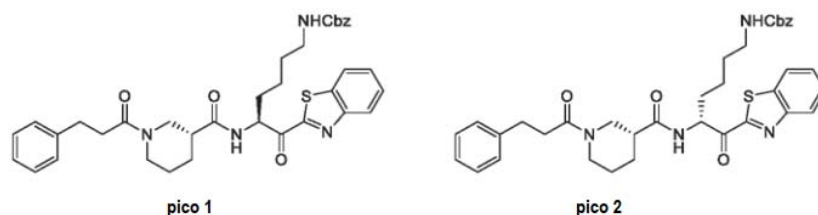
Esquema 17



10 **(3*R*)-3-[[[(1*S*)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxicarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato *tert*-butilo (14c).** A una solución de ácido (3*R*)-1-*tert*-butoxicarbonilpiperidin-3-carboxílico (3,17 g, 13,83 mmol, 1,20 *equiv.*) en DMF (60 ml) se añadieron HATU (5,34 g, 14,06 mmol, 1,22 *equiv.*) and DIPEA (4,45 g, 34,45 mmol, 2,99 *equiv.*) bajo 0 °C. Después de agitar durante 0,5 h bajo 0 °C, se añadió clorhidrato de *N*-[(5*S*)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxohexil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de bencilo (5,00 g, 11,52 mmol, 1,00 *equiv.*) y la mezcla resultante se agitó a 30 °C durante 3 h. La TLC (PE: EA=3:1) indicó que la reacción se había completado. La mezcla se diluyó con H₂O (80 ml x 2) y se extrajo con EA (100 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (60 ml x 2), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar (3*R*)-3-[[[(1*S*)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxicarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (9,80 g, en bruto) en forma de un aceite, que se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

20 ***N*-[[[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3*R*)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (14b).** A una solución de (3*R*)-3-[[[(1*S*)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxicarbonilamino)pentil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (16,10 mmol, 1,00 *equiv.*) (9,8 g, en bruto) en EA (100 ml) se añadió HCl/EA (4 M, 20 ml, 4,97 *equiv.*). La mezcla de reacción se agitó a 30 °C durante 1 h. La suspensión se filtró y la torta de filtro se recogió para proporcionar clorhidrato de *N*-[[[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3*R*)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de bencilo (10,90 g, en bruto), que se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación.

30 ***N*-[6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3*R*)-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de bencilo (14a).** A una solución de *N*-[[[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3*R*)-piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de bencilo; clorhidrato (20 mmol, 1,00 *equiv.*) (10,9 g, en bruto) en DCM (100 ml) se añadió TEA (6,07 g, 60,00 mmol, 3,00 *equiv.*). La mezcla se enfrió a 0 °C y después se añadió cloruro de 3-fenilpropanoil (5,06 g, 30,00 mmol, 1,50 *equiv.*) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a 0 °C durante 30 min. La CLEM indicó que la reacción se había completado. La reacción se interrumpió con H₂O (60 ml) y se extrajo con DCM (100 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron y se concentró para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna (PE: EA=8:1 a 3:1) para dar *N*-[6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[[(3*R*)-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamoil]piperidina-1-carboxilato de bencilo (2,77 g, 4,32 mmol, rendimiento del 21,6 %) en forma de un sólido de color amarillo.



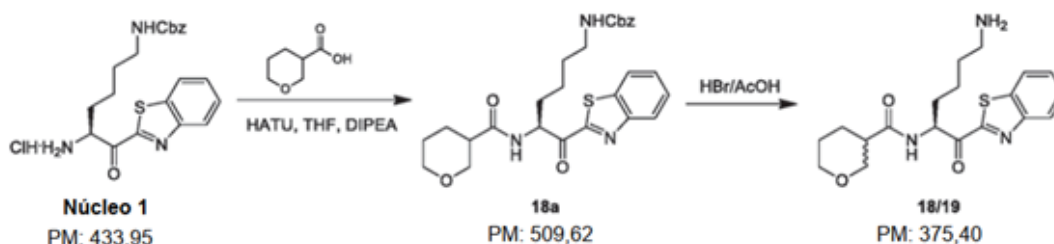
El *N*-[6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[*(3R)*]-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (1 g) se purificó mediante separación SFC quiral (método de separación SFC quiral: Instrumento: SFC 80, Columna: AD-10 μm ., Fase móvil: A para CO_2 y B para EtOH (0,1 % $\text{NH}_3\text{-H}_2\text{O}$), Gradiente: B 50 %, Caudal: 70 ml/min, Contrapresión: 10 MPa (100 bar), Temperatura de la columna: 35 $^\circ\text{C}$, Longitud de onda: 220 nm) para dar productos (pico 1: 0,4 g) en forma de un sólido de color amarillo y (pico 2: 0,51 g) en forma de un aceite de color pardo.

Ácido (3R)-*N*-[5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carboxamida; 2,2,2-trifluoroacético (14/15). A una solución de *N*-[6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[*(3R)*]-1-(3-fenilpropanoil) piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (400 mg, 624,23 μmol , 1,00 *equiv.*) (Pico 1) en AcOH (6 ml) se añadió HBr/AcOH (624,23 μmol , 1,00 *equiv.*) (2 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se agitó a 30 $^\circ\text{C}$ durante 1 h. La CLEM indicó que el producto deseado se hacía detectado. La mezcla se diluyó con H_2O (100 ml) y MeOH (20 ml), se lavó con MTBE (50 ml x 2). La solución resultante se liofilizó para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (fase móvil: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{TFA}$) para dar trifluoroacetato de (*3R*)-*N*-[5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carboxamida (**14**; 39 mg, 76,97 μmol , rendimiento del 12,3 %) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS m/z = 507,2 (MH^+).

A una solución de *N*-[6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[[*(3R)*]-1-(3-fenilpropanoil) piperidin-3-carbonil]amino]hexil]carbamato de bencilo (510 mg, 795,89 μmol , 1,00 *equiv.*) (Pico 2) en AcOH (6 ml) se añadió HBr/AcOH (795,89 μmol , 1,00 *equiv.*) (2 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N_2 . La mezcla de reacción se agitó a 30 $^\circ\text{C}$ durante 1 h. La CLEM indicó que el producto deseado se hacía detectado. La mezcla se diluyó con H_2O (100 ml) y MeOH (20 ml), se lavó con MTBE (50 ml x 2). La solución resultante se liofilizó para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (fase móvil: $\text{CH}_3\text{CN}/\text{H}_2\text{O}/\text{TFA}$) para dar trifluoroacetato de (*3R*)-*N*-[5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-(3-fenilpropanoil)piperidin-3-carboxamida trifluoroacetato (**15**; 43 mg, 84,87 μmol , rendimiento del 10,7 %) en forma de un aceite de color amarillo. MS m/z = 507,2 (MH^+).

Ejemplo de referencia 18. Preparación de *N*-[(14)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil] tetrahidropiran-3-carboxamida (18/19).

Esquema 18

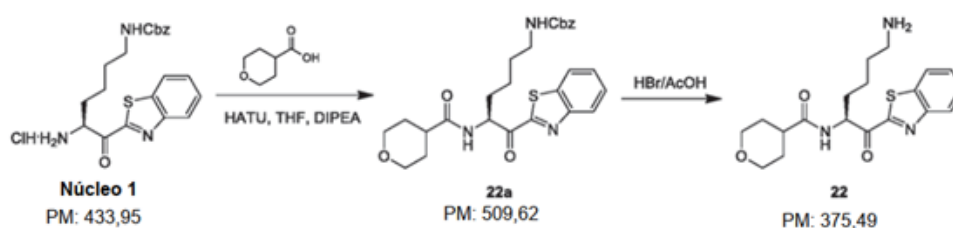


***N*-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidropiran-3-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (18a).** A una solución de ácido tetrahidropiran-3-carboxílico (108 mg, 829,58 μmol , 1,20 *equiv.*) en THF (5 ml) se añadieron HATU (390 mg, 1,03 mmol, 1,48 *equiv.*) y DIPEA (270 mg, 2,09 mmol, 3,02 *equiv.*) bajo 0 $^\circ\text{C}$. Después de agitarse durante 0,5 h bajo 0 $^\circ\text{C}$, se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-(amino-cloranil)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*) y la mezcla resultante se agitó a 28 $^\circ\text{C}$ durante 4,5 h. La CLEM indicó que la reacción se había completado. La mezcla se diluyó con H_2O (15 ml x 2) y se extrajo con EA (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H_2O (20 ml), se secaron con Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidropiran-3-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (700 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. Se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

5 **N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahidropiran-3-carboxamida (18/19)**. A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidropiran-3-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (1,37 mmol, 1,00 equiv.) (0,7 g, en bruto) en AcOH (6 ml) se añadió HBr/AcOH (1,37 mmol, 1,00 equiv.) (2 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 28 °C durante 1 h. La CLEM indicó que el producto deseado se hacía detectado. La mezcla se diluyó con H₂O (10 ml) y MeOH (2 ml), se lavó con MTBE (10 ml x 2). La solución resultante se diluyó con H₂O y después se liofilizó para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (fase móvil: CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahidropiran-3-carboxamida (14 mg Pico 1, compuesto **18**) y (15 mg Pido 2, compuesto **19**) en forma de un sólido de color amarillo. MS m/z = 376,1 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 19. Preparación de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahidropiran-4-carboxamida (22).

Esquema 19

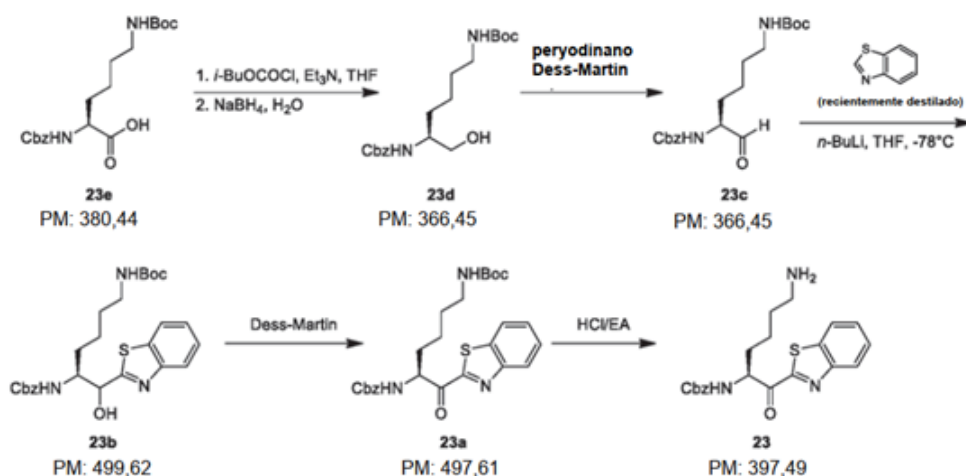


15 **N-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidropiran-4-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (22a)**. A una solución de ácido tetrahidropiran-4-carboxílico (108 mg, 829,58 μmol, 1,20 equiv.) en THF (5 ml) se añadieron HATU (390 mg, 1,03 mmol, 1,48 equiv.) y DIPEA (270 mg, 2,09 mmol, 3,02 equiv.) bajo 0 °C. Después de agitarse durante 0,5 h bajo 0 °C, se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-(amino-cloranil)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol, 1,00 equiv.) y la mezcla resultante se agitó a 28 °C durante 4,5 h. La CLEM indicó que la reacción se había completado. La mezcla se diluyó con H₂O (15 ml x 2) y se extrajo con EA (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (20 ml), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidropiran-4-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (680 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo claro. Se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

30 **N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahidropiran-4-carboxamida (22)**. A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidropiran-4-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (1,33 mmol, 1,00 equiv.) (0,68 g, en bruto) en AcOH (5 ml) se añadió HBr/AcOH (1,33 mmol, 1,00 equiv.) (2 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 30 °C durante 30 min. La CLEM indicó que el producto deseado se había detectado. La mezcla se diluyó con H₂O (10 ml) y MeOH (2 ml), se lavó con MTBE (10 ml x 2). La solución resultante se liofilizó para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (fase móvil: CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahidropiran-4-carboxamida (45 mg) en forma de un sólido de color amarillo. MS m/z = 376,1 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 20. Preparación de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil) pentil]carbamato de bencilo (23).

Esquema 20



N-[(5S)-5-(benciloxycarbonilamino)-6-hidroxi-hexil]carbamato de *tert*-butilo (23d). A una solución de ácido (2S)-2-(benciloxycarbonilamino)-6-(*tert*-butoxicarbonilamino)-hexanoico (25,00 g, 65,72 mmol, 1,00 *equiv.*) en THF (250 ml) se añadió TEA (6,65 g, 65,72 mmol, 1,00 *equiv.*). La solución se enfrió a -10°C y, a continuación, la adición gota a gota de cloroformiato de isobutilo (9,87 g, 72,27 mmol, 1,10 *equiv.*) (aparecieron suspensoides). La suspensión resultante se agitó durante 2 h a 0°C . La mezcla de reacción se filtró y se enfrió a -10°C . NaBH_4 (5,22 g, 138,00 mmol, 2,10 *equiv.*) se disolvió en agua (50 ml) a 0°C y la solución se añadió gota a gota a la solución de THF (fuerte desprendimiento de CO_2). La mezcla de reacción se dejó calentar a 30°C y se agitó durante 3 h. La mezcla de reacción se acidificó con una solución de HCl 1 M y la fase acuosa se extrajo con EA (400 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua, solución acuosa saturada de NaHCO_3 y salmuera; se secaron con Na_2SO_4 , se concentraron para dar un residuo, que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (PE:EA=2:1 to EA) para proporcionar N-[(5S)-5-(benciloxycarbonilamino)-6-hidroxi-hexil]carbamato de *tert*-butil-(19,30 g, 52,67 mmol, rendimiento del 80,1 %) en forma de un aceite.

N-[(5S)-5-(benciloxycarbonilamino)-6-oxo-hexil]carbamato de *tert*-butilo (23c). Una solución de N-[(5S)-5-(benciloxycarbonilamino)-6-hidroxi-hexil]carbamato de *tert*-butilo (19,20 g, 52,39 mmol, 1,00 *equiv.*) en DCM (200 ml) se enfrió a 0°C . Después se añadió peryodinano de Dess-Martin (22,22 g, 52,39 mmol, 1,00 *equiv.*) en porciones. La suspensión se dejó calentar a temperatura ambiente (30°C) y se agitó durante 14 horas. La TLC indicó que quedaba un poco de material de partida. Se añadió una mezcla (100 ml: 100 ml) de una solución acuosa saturada de NaHCO_3 y una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 1 M y el sistema bifásico resultante se agitó intensamente durante 30 min. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con DCM (200 ml). Las capas orgánicas combinadas se destilaron al vacío y el aceite resultante se capturó en EA (100 ml) y se lavó cuatro veces con la mezcla $\text{NaHCO}_3/\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, agua y salmuera, se secó con Na_2SO_4 y se concentró al vacío para dar N-[(5S)-5-(benciloxycarbonilamino)-6-oxo-hexil]carbamato de *tert*-butilo en bruto (17,33 g, en bruto) en forma de un aceite amarillento. Este se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional.

N-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-5-(benciloxycarbonilamino)-6-hidroxi-hexil]carbamato de *tert*-butilo (23b). Una solución de 1,3-benzotiazol (5,56 g, 41,16 mmol, 3,00 *equiv.*) en THF (100 ml) se enfrió a -78°C . A continuación, se añadió *n*-BuLi (2,5 M, 16,5 ml, 3,01 *equiv.*) (2,5 M en THF, 16,5 ml) gota a gota a -78°C en atmósfera de N_2 . Después de agitarse durante 1 h a -78°C , se añadió N-[(5S)-5-(benciloxycarbonilamino)-6-oxo-hexil]carbamato de *tert*-butilo (13,72 mmol, 1,00 *equiv.*) (5 g, en bruto) en THF gota a gota a -78°C . La mezcla resultante se agitó durante 3 h a -78°C . La CLEM indicó que el material de partida había desaparecido y se detectó el producto deseado. La reacción se interrumpió con NH_4Cl (60 ml) y se extrajo con EA (100 ml). La capa orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó con MgSO_4 , se filtró y se concentró para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (PE: EA=5:1 a 3:1) para dar N-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-(benciloxycarbonilamino)-6-hidroxi-hexil]carbamato de *tert*-butilo (1,77 g, 3,54 mmol, rendimiento del 25,8 %) en forma de un aceite de color amarillo.

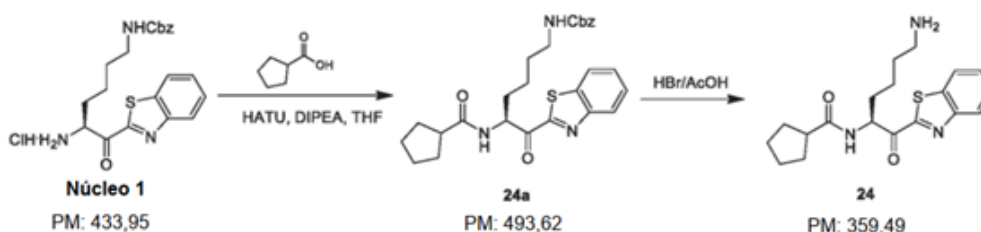
N-[(1S)-1-(1,3-Benzotiazol-2-carbonil)-5-(*tert*-butoxicarbonilamino)pentil]carbamato de bencilo (23a). Una solución de N-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-(benciloxycarbonilamino)-6-hidroxi-hexil]carbamato de *tert*-butilo (500 mg, 1,00 mmol, 1,00 *equiv.*) en DCM (6 ml) se enfrió a 0°C . A continuación, se añadió Dess-Martin (430 mg, 1,01 mmol, 1,01 *equiv.*) en porciones. La suspensión se dejó calentar a temperatura ambiente (28°C) y se agitó durante 14 horas. La TLC indicó que el material de partida se había consumido completamente. Se añadió una mezcla (10 ml: 10 ml) de una solución acuosa saturada de NaHCO_3 y una solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ 1 M y el sistema bifásico resultante se agitó intensamente durante 30 min. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con DCM

(20 ml). Las capas orgánicas combinadas se destilaron al vacío y el aceite resultante se capturó en EA (20 ml) y se lavó cuatro veces con la mezcla NaHCO₃/Na₂S₂O₃, agua y salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró al vacío para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía ultrarrápida para dar *N*-[(1*S*)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(*tert*-butoxicarbonilamino)pentil]carbamato de bencilo (200 mg, 401,92 μmol, rendimiento del 40,2 %) en forma de un sólido de color amarillo.

***N*-[(1*S*)-5-Amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]carbamato de bencilo (23).** A una solución de *N*-[(1*S*)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(*tert*-butoxicarbonilamino)pentil]carbamato de bencilo (200 mg, 401,92 μmol, 1,00 equiv.) en EA (6 ml) se añadió HCl/EA (4 M, 4 ml, 39,81 equiv.). La mezcla resultante se agitó a 28 °C durante 14 h. Se filtró y la torta de filtro se diluyó con agua desionizada. La solución se liofilizó para dar clorhidrato de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]carbamato de bencilo (43,9 mg) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 398,1 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 21. Preparación de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]ciclo-pentanocarboxamida (24).

Esquema 21

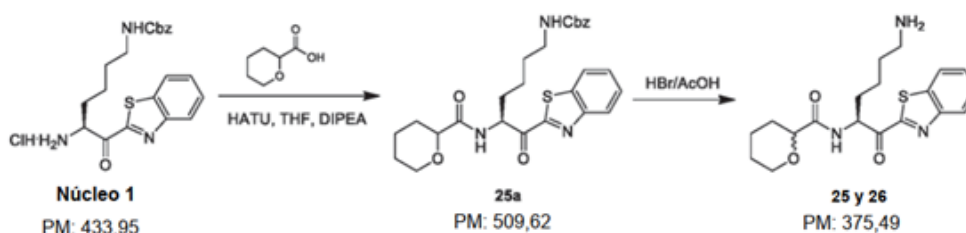


***N*-[(5*S*)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-5-(ciclo-pentanocarboxilamino)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (24a).** A una mezcla de clorhidrato de *N*-[(5*S*)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol, 1,00 equiv.), ácido ciclo-pentanocarboxílico (79 mg, 691,32 μmol, 1,00 equiv.), DIPEA (268 mg, 2,07 mmol, 3,00 equiv.) en THF (5 ml) se añadió HATU (315 mg, 829,58 μmol, 1,20 equiv.). La mezcla se agitó a 30 °C durante 16 h. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. Se añadió EA (50 ml) y la mezcla se lavó con agua (20 ml x 2), se secó con Na₂SO₄, se concentró para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (PE: EA=5: 1) para dar *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-(ciclo-pentanocarboxilamino)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (280 mg, 567,24 μmol, rendimiento del 82,1 %) en forma de un sólido de color amarillo.

***N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]ciclo-pentanocarboxamida (24).** A una mezcla de *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-(ciclo-pentanocarboxilamino)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (280 mg, 567,24 μmol, 1,00 equiv.) en AcOH (3 ml) se añadió HBr/AcOH (5,5 M, 1 ml). La mezcla se agitó a 30 °C durante 1 h. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. Se añadió agua (50 ml) se añadió y se extrajo con MTBE (10 ml x 2). La capa acuosa se liofilizó para dar un producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]ciclo-pentanocarboxamida (21,63 mg, 60,17 μmol, rendimiento del 10,6 %) en forma de un sólido de color blanco. MS *m/z* = 360 (MH⁺). RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ 8,22 (d, J = 7,6, 1H), 8,15 (d, J = 7,6, 1H), 7,69 - 7,61 (m, 2H), 5,68 (dd, J = 9,6, J = 4,0, 1H), 3,07 - 2,92 (m, 2H), 2,85 - 2,75 (m, 1H), 2,22 - 2,12 (m, 1H), 1,95 - 1,55 (m, 13H).

Ejemplo de referencia 22. Preparación de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahidropiran-2-carboxamida (25/26).

Esquema 22

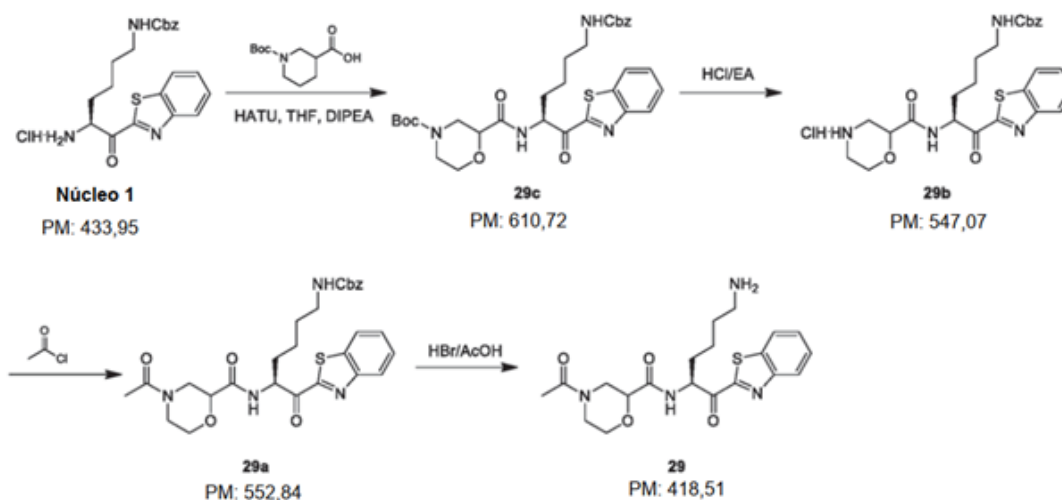


N-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidropiran-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (2). A una solución de ácido tetrahidropiran-2-carboxílico (108 mg, 829,88 μmol , 1,20 *equiv.*) en THF (5 ml) se añadieron HATU (395 mg, 1,04 mmol, 1,50 *equiv.*) y DIPEA (270 mg, 2,09 mmol, 3,02 *equiv.*) bajo 0 °C. Después de agitarse durante 0,5 h bajo 0 °C, se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-(amino-cloranil)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*) y la mezcla resultante se agitó a 28 °C durante 4,5 h. La CLEM indicó que la reacción se había completado. La mezcla se diluyó con H₂O (10 ml) y se extrajo con EA (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (20 ml), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidropiran-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (950 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. Se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahidropiran-2-carboxamida (152/153). A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidropiran-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (1,86 mmol, 1,00 *equiv.*) (0,95 g, en bruto) en AcOH (6 ml) se añadió HBr/AcOH (1,86 mmol, 1,00 *equiv.*) (2 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 30 °C durante 1 h. La CLEM indicó que el producto deseado se hacía detectado. La mezcla se diluyó con H₂O (10 ml) y MeOH (2 ml), se lavó con MTBE (10 ml x 2). La solución resultante se liofilizó para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (fase móvil: CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetatos de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahidropiran-2-carboxamida (15 mg; Pico 1, **25**) y (13 mg; Pico 2, **26**) en forma de sólidos de color amarillo. MS *m/z* = 376,1 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 23. Preparación de 4-acetil-N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]morfolina-2-carboxamida (29).

Esquema 23



2-[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxycarbonilamino)pentil]carbamoil morfolina-4-carboxilato *terc*-butilo (29c). A una mezcla de ácido 4-*terc*-butoxicarbonilmorfolina-2-carboxílico (320 mg, 1,38 mmol, 1,20 *equiv.*), DIPEA (446 mg, 3,45 mmol, 3,00 *equiv.*) en THF (10 ml) se añadió HATU (525 mg, 1,38 mmol, 1,20 *equiv.*) a 0 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 0,5 h. Después se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxohexil]carbamato de bencilo (500 mg, 1,15 mmol, 1,00 *equiv.*) y la mezcla se agitó a 30 °C durante 3 h. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. Se añadió EA (30 ml) y la mezcla se lavó con agua (10 ml x 2), se secó con Na₂SO₄, se concentró para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (PE: EA=3: 1 a PE: EA=1: 1) para dar 2-[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxycarbonilamino)pentil]carbamoil]morfolina-4-carboxilato *terc*-butilo (600 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo.

N-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-5-(morfolina-2-carbonilamino)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (29b). A una mezcla de 2-[(1S)-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)-5-(benciloxycarbonilamino)pentil]carbamoil]morfolina-4-carboxilato *terc*-butilo (600 mg, 982,45 μmol , 1,00 *equiv.*) en EA (5 ml) se añadió HCl/EA (4 M, 1 ml). La mezcla se agitó a 30 °C durante 2 h. La TLC (EP: EA=1:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente. La mezcla se filtró para dar clorhidrato de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-(morfolina-2-carbonilamino)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 548,39 μmol , rendimiento del 55,8 %) en forma de un sólido de color amarillo claro.

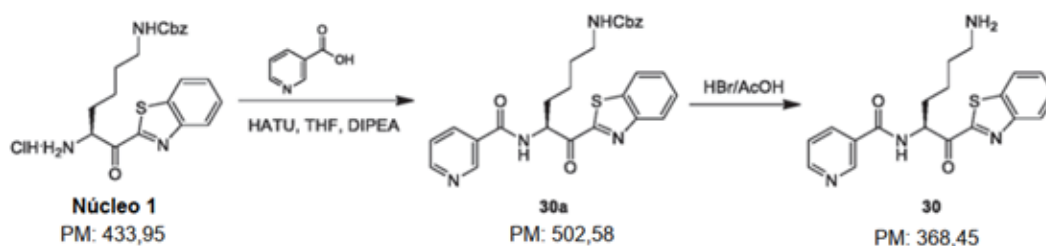
N-[(5S)-5-[(4-Acilmorfolina-2-carbonil)amino]-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (29a).

A una mezcla de clorhidrato de *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-(morfolina-2-carbonilamino)-6-oxohexil]carbamato de bencilo (300 mg, 548,39 μ mol, 1,00 *equiv.*), TEA (166 mg, 1,65 mmol, 3,00 *equiv.*) en DCM (5 ml) se añadió cloruro de acetilo (86 mg, 1,10 mmol, 2,00 *equiv.*) gota a gota a 0 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a 0 °C en atmósfera de N₂ durante 10 min. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. Se añadió DCM (20 ml) y la mezcla se lavó con agua (10 ml x 3), se secó con Na₂SO₄, se concentró para dar *N*-[(5*S*)-5-[(4-acetilmorfolina-2-carbonil)amino]-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (200 mg, 361,90 μ mol, rendimiento del 67,0 %) en forma de un sólido de color amarillo.

4-Acetil-*N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]morfolina-2-carboxamida (29). A una mezcla de *N*-[(5*S*)-5-[(4-acetilmorfolina-2-carbonil)amino]-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (200 mg, 361,90 μ mol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (3 ml) se añadió HBr/AcOH (5,5 M, 1 ml). La mezcla se agitó a 30 °C durante 1 h. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. Se añadió agua (40 ml) y la mezcla se extrajo con MTBE (10 ml x 2). La capa acuosa se liofilizó para dar un producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de 4-acetil-*N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]morfolina-2-carboxamida (14,46 mg, 27,15 μ mol, rendimiento del 7,5 %) en forma de un sólido de color blanco. MS *m/z* = 419,1 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 24. Preparación de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piridin-3-carboxamida (30).

Esquema 24

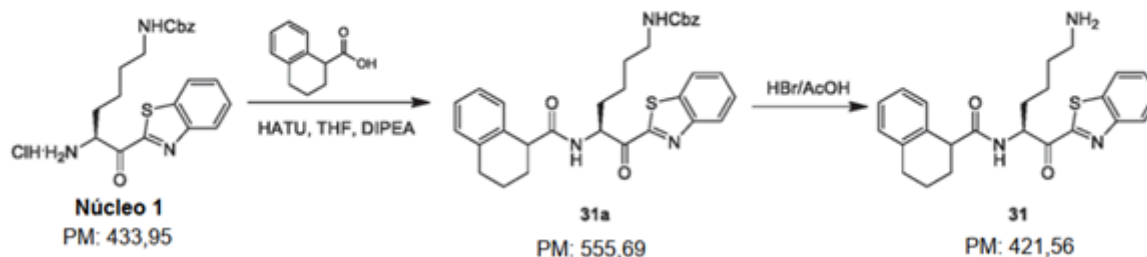


***N*-[(5*S*)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(piridin-3-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (30a).** A una solución de ácido nicotínico (102 mg, 829,58 μ mol, 1,20 *equiv.*) en THF (8 ml) se añadieron DIPEA (268 mg, 2,07 mmol, 3,00 *equiv.*) y HATU (315 mg, 829,58 μ mol, 1,20 *equiv.*) a 0 °C, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 15 min. Después se añadió clorhidrato de *N*-[(5*S*)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μ mol, 1,00 *equiv.*) a 0 °C, la mezcla de reacción se agitó a 30 °C 3 h más. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. La reacción se interrumpió con H₂O (30 ml) y después se extrajo con EA (20 ml x 2), las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con una solución acuosa saturada de salmuera (30 ml) y se concentró para dar *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(piridin-3-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (638 mg, en bruto) en forma de un sólido de color rojo, que se usó directamente sin más purificación.

***N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piridin-3-carboxamida (30).** A una solución de *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(piridin-3-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (638 mg, 1,27 mmol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (3 ml) se añadió HBr/AcOH (1 ml, pureza del 33 %). La mezcla de reacción se agitó a 30 °C durante 1 h. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. La reacción se interrumpió con H₂O (10 ml) y se lavó con MTBE (20 ml). La fase orgánica se extrajo con H₂O (20 ml x 2) y las fases acuosas se combinaron y se liofilizaron para dar un producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]piridin-3-carboxamida (50,96 mg, 105,62 μ mol, rendimiento del 8,3 %, ee del 38,2 %) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 369,1 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 25. Preparación de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetralin-1-carboxamida (31).

Esquema 25

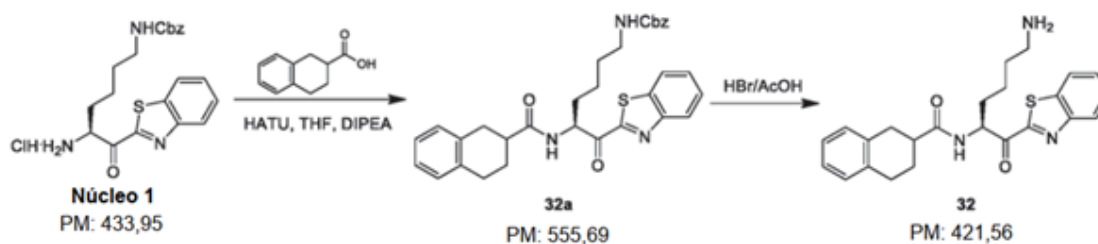


5 **N-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetralin-1-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (31a).** A una solución de ácido tetralin-1-carboxílico (150 mg, 851,26 μmol , 1,23 *equiv.*) en THF (5 ml) se añadieron HATU (390 mg, 1,03 mmol, 1,48 *equiv.*) y DIPEA (270 mg, 2,09 mmol, 3,02 *equiv.*) bajo 0 °C. Después de agitarse durante 0,5 h bajo 0 °C, se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-(amino-cloranil)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*) y la mezcla resultante se agitó a 28 °C durante 5,5 h. La CLEM indicó que la reacción se había completado. La mezcla se diluyó con H₂O (10 ml) y se extrajo con EA (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (20 ml), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetralin-1-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (660,00 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo. Se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

10 **N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetralin-1-carboxamida (31).** A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetralin-1-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (1,19 mmol, 1,00 *equiv.*) (0,66 g, en bruto) en AcOH (6 ml) se añadió HBr/AcOH (1,19 mmol, 1,00 *equiv.*) (2 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 28 °C durante 1 h. La CLEM indicó que el producto deseado se hacía detectado. La mezcla se diluyó con H₂O (10 ml) y MeOH (2 ml), se lavó con MTBE (10 ml x 2). La solución resultante se diluyó con H₂O y después se liofilizó para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetralin-1-carboxamida (70 mg) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 422,1 (MH⁺).

20 **Ejemplo de referencia 26. Preparación de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetralin-2-carboxamida (32).**

Esquema 26



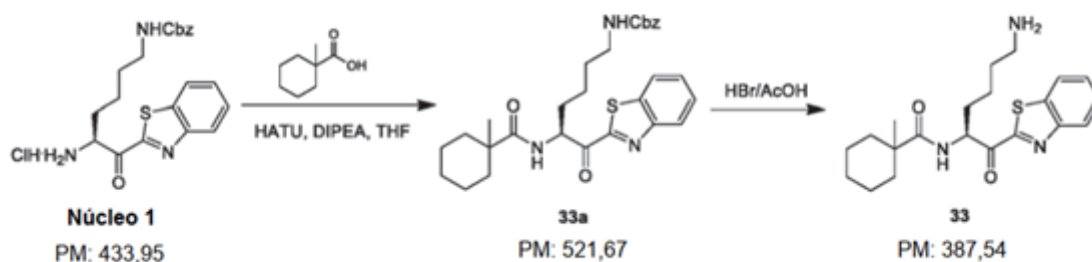
25 **N-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetralin-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (32a).** A una solución de ácido tetralin-2-carboxílico (150 mg, 851,26 μmol , 1,23 *equiv.*) en THF (5 ml) se añadieron HATU (390 mg, 1,03 mmol, 1,48 *equiv.*) y DIPEA (270 mg, 2,09 mmol, 3,02 *equiv.*) bajo 0 °C. Después de agitarse durante 0,5 h bajo 0 °C, se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-(amino-cloranil)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*) y la mezcla resultante se agitó a 28 °C durante 5,5 h. La CLEM indicó que la reacción se había completado. La mezcla se diluyó con H₂O (15 ml x 2) y se extrajo con EA (20 ml x 2). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (20 ml), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetralin-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (700 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. Se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

35 **N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetra[lin-2-carboxamida (32).** A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetralin-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (1,26 mmol, 1,00 *equiv.*) (0,7 g, en bruto) en AcOH (5 ml) se añadió HBr/AcOH (1,26 mmol, 1,00 *equiv.*) (2 ml) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción

se agitó a 28 °C durante 0,5 h. La CLEM indicó que el producto deseado se hacía detectado. La mezcla se diluyó con H₂O (10 ml) y MeOH (2 ml), se lavó con MTBE (10 ml x 2). La solución resultante se diluyó con H₂O y después se liofilizó para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar el producto, pero la CLEM indicó que no era suficientemente puro. Por tanto, se purificó adicionalmente por prep-HPLC (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar una solución, que se liofilizó para dar trifluoroacetato de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetralin-2-carboxamida (52 mg) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 422,2 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 27. Preparación de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-metilciclohexanocarboxamida (33).

Esquema 27



***N*-[(5*S*)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-5-[(1-metilciclohexanocarbonil)-amino]-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (33a).**

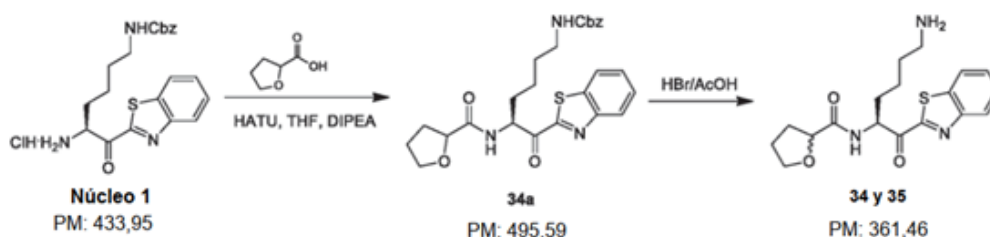
A una mezcla de ácido 1-metilciclohexanocarboxílico (118 mg, 829,58 μ mol, 1,20 *equiv.*) and DIPEA (268 mg, 2,07 mmol, 3,00 *equiv.*) en THF (5 ml) se añadió HATU (315 mg, 829,58 μ mol, 1,20 *equiv.*) a 0 °C, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 15 min. Después se añadió clorhidrato de *N*-[(5*S*)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxohexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μ mol, 1,00 *equiv.*) a 0 °C, la reacción se agitó a 20 °C 3 h más. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. La reacción se interrumpió con H₂O (10 ml) y se extrajo con EA (20 ml x 2). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con una solución acuosa saturada de salmuera (20 ml x 2) y se concentraron para dar *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-[(1-metilciclohexanocarbonil)amino]-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (704 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo, que se usó directamente sin más purificación.

***N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-metil-ciclohexanocarboxamida (33).**

A una solución de *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-[(1-metilciclohexanocarbonil) amino]-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (704 mg, 1,26 mmol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (3 ml) se añadió HBr/AcOH (1 ml, pureza del 33 %). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 3 h. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. La reacción se interrumpió con H₂O (10 ml) y se lavó con MTBE (20 ml). La fase orgánica se extrajo con H₂O (20 ml x 2) y las fases acuosas se combinaron y se liofilizaron para dar un producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-metilciclohexanocarboxamida (50,68 mg, 101,04 μ mol, rendimiento del 8,0 %, ee del 73,1 %) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 388 (MH⁺). RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ 8,19 (d, *J* = 7,6, 1H), 8,12 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,66 - 7,59 (m, 2H), 5,58 (dd, *J* = 10,0, *J* = 4,0, 1H), 3,05 - 2,94 (m, 2H), 2,23 - 2,14 (m, 1H), 2,08 - 2,00 (m, 2H), 1,93 - 1,71 (m, 3H), 1,62 - 1,23 (m, 10H), 1,14 (s, 3H).

Ejemplo de referencia 28. Preparación de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahydrofurano-2-carboxamida (34/35).

Esquema 28



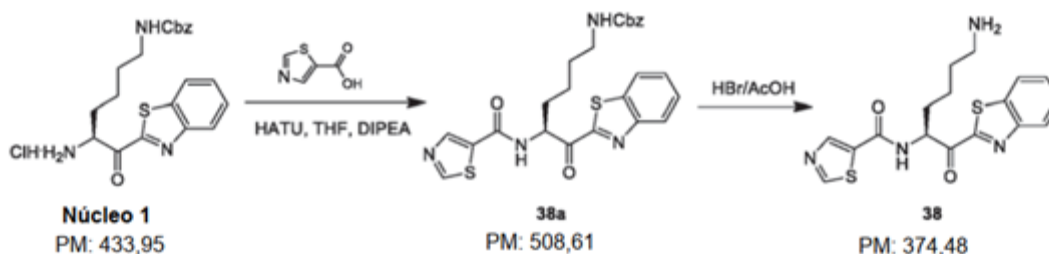
***N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahydrofurano-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (2).**

una mezcla de ácido tetrahidrofurano-2-carboxílico (96 mg, 829,58 μmol , 1,20 *equiv.*) and DIPEA (268 mg, 2,07 mmol, 3,00 *equiv.*) en THF (5 ml) se añadió HATU (315 mg, 829,58 μmol , 1,20 *equiv.*) a 0 °C, la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 15 min. Después se añadió clorhidrato de *N*-[(5*S*)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*) a 0 °C, la mezcla se agitó a 20 °C 3 h más. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. La reacción se interrumpió con H₂O (10 ml) y se extrajo con EA (20 ml x 2), las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con una solución acuosa saturada de salmuera (20 ml x 2) y se concentraron para dar *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidrofurano-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (517 mg, en bruto) en forma de un aceite de color amarillo, que se usó sin más purificación.

***N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahidrofurano-2-carboxamida (164/165).** A una solución de *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tetrahidrofurano-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (517 mg, 1,04 mmol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (3 ml) se añadió HBr/AcOH (1 ml, pureza del 33 %). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1,5 h. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. La reacción se interrumpió con H₂O (10 ml) y se lavó con MTBE (20 ml). La fase orgánica se extrajo con H₂O (20 ml x 2) y las fases acuosas se combinaron y se liofilizaron para dar un producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar dos diastereómeros separados de trifluoroacetato de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tetrahidrofurano-2-carboxamida en forma de sólidos de color amarillo. Compuesto **34** (33,78 mg, 71,04 μmol , rendimiento del 6,8 %) MS *m/z* = 362 (MH⁺). RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ 8,20 (d, *J* = 7,6, 1H), 8,13 (d, *J* = 7,6, 1H), 7,67 - 7,60 (m, 2H), 5,65 (dd, *J* = 9,2, *J* = 4,0, 1H), 4,37 (dd, *J* = 8,2, *J* = 4,2, 1H), 4,06 - 4,04 (m, 1H), 3,93 - 3,90 (m, 1H), 3,00 - 2,95 (m, 2H), 2,28 - 2,15 (m, 2H), 1,97 - 1,81 (m, 4H), 1,77 - 1,65 (m, 2H), 1,59 - 1,51 (m, 2H). Compuesto **35** (41,00 mg, 86,23 μmol , rendimiento del 8,3 %) MS *m/z* = 362 (MH⁺). RMN ¹H (CD₃OD, 400 MHz) δ 8,21 (dd, *J* = 7,6, 1H), 8,13 (dd, *J* = 7,6, 1H), 7,68 - 7,60 (m, 2H), 5,71 - 5,64 (m, 1H), 4,39 (dd, *J* = 8,2, *J* = 5,4, 1H), 4,03 (c, *J* = 7,0, 1H), 3,89 (c, *J* = 7,4, 1H), 3,01 - 2,95 (m, 2H), 2,30 - 2,15 (m, 2H), 2,03 - 1,82 (m, 4H), 1,77 - 1,65 (m, 2H), 1,61 - 1,55 (m, 2H).

Ejemplo de referencia 29. Preparación de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tiazol-5-carboxamida (38).

Esquema 29



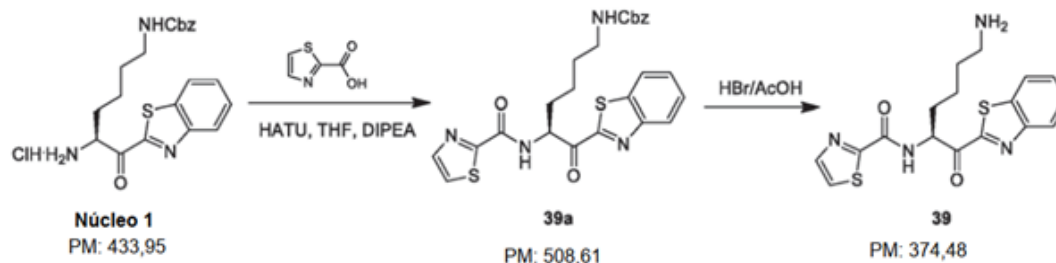
***N*-[(5*S*)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tiazol-5-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (38a).** A una mezcla de ácido tiazol-5-carboxílico (107 mg, 829,58 μmol , 1,20 *equiv.*) en THF (5 ml) se añadieron HATU (315 mg, 829,58 μmol , 1,20 *equiv.*) y DIPEA (268 mg, 2,07 mmol, 3,00 *equiv.*) a 0 °C, la reacción se agitó a 0 °C durante 15 min. A continuación, clorhidrato de *N*-[(5*S*)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*) se añadió a 0 °C, la mezcla de reacción se agitó a 20 °C 3 h más. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente. La reacción se interrumpió con H₂O (10 ml), se extrajo con EA (20 ml x 2). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con una solución acuosa saturada de salmuera (20 ml x 2) y se evaporaron para dar *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tiazol-5-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (497 mg, en bruto) en forma de un sólido de color rojo.

***N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tiazol-5-carboxamida (38).** A una solución de *N*-[(5*S*)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tiazol-5-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (497 mg, 977,17 μmol , 1,00 *equiv.*) en AcOH (3 ml) se añadió HBr/AcOH (1 ml, pureza del 33 %) a 0 °C. La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. La CLEM indicó que la reacción se había completado. Se añadió H₂O (10 ml), la solución se lavó con MTBE (20 ml). La fase orgánica se extrajo con H₂O (20 ml x 2) la fases acuosas se combinaron y se liofilizaron para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/ H₂O/TFA), para dar trifluoroacetato de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tiazol-5-carboxamida (139,46 mg, 285,49 μmol , rendimiento del 29,2 %, ee del 82,2 %) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 375,1 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 30. Preparación de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil] tiazol-2-

carboxamida (39).

Esquema 30

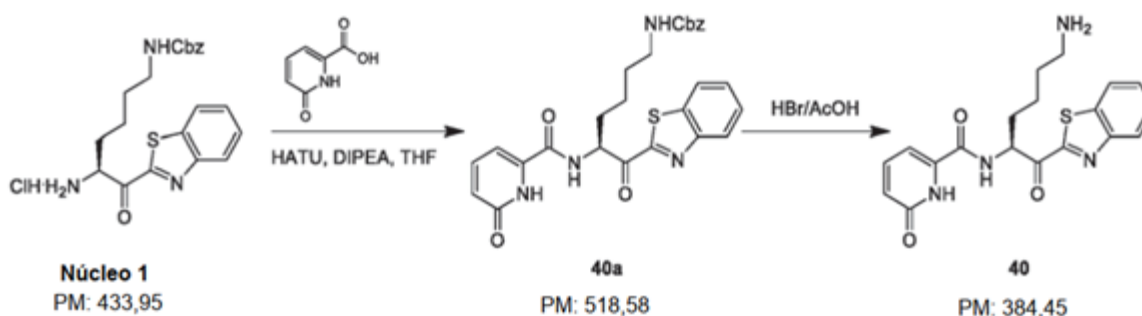


5 **N-[(5S)-6-(1,3-Benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tiazol-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (39a)**. A una solución de ácido tiazol-2-carboxílico (110 mg, 851,79 μmol , 1,23 *equiv.*) en THF (6 ml) se añadieron HATU (390 mg, 1,03 mmol, 1,48 *equiv.*) y DIPEA (270 mg, 2,09 mmol, 3,02 *equiv.*) bajo 0 °C. Después de agitarse durante 0,5 h bajo 0 °C, se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*, HCl) y la mezcla resultante se agitó a 28 °C durante 14 h. Se diluyó con H₂O (10 ml) y se extrajo con EA (15 ml x 2). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tiazol-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (510 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. Se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

10 **N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]tiazole-2-carboxamida (39)**. A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-(tiazol-2-carbonilamino)hexil]carbamato de bencilo (1,00 mmol, 1,00 *equiv.*) (0,51 g, en bruto) en AcOH (5 ml) se añadió HBr/AcOH (1,00 mmol, 1,00 *equiv.*) (2 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 28 °C durante 1 h. La CLEM indicó que el producto deseado se hacía detectado. La mezcla se diluyó con H₂O (10 ml) y MeOH (2 ml), se lavó con MTBE (10 ml x 2). La solución resultante se diluyó con H₂O (80 ml) y después se liofilizó para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil) pentil]tiazole-2-carboxamida (20 mg) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 375,0 (MH⁺).

25 **Ejemplo de referencia 31. Preparación de N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-6-oxo-1H-piridin-2-carboxamida (40)**.

Esquema 31

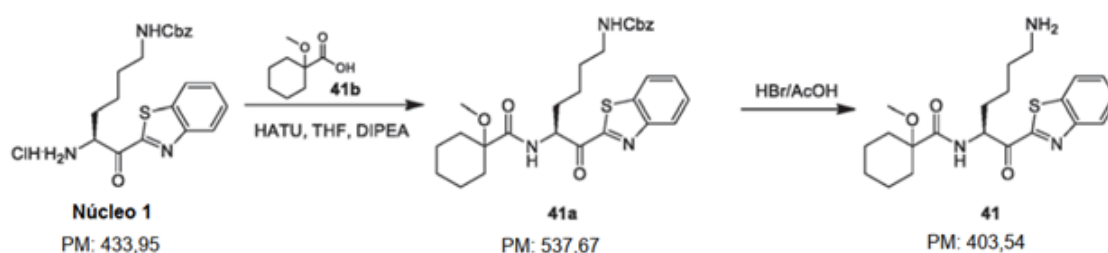


30 **N-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[(6-oxo-1H-piridin-2-carbonil)amino]hexil]carbamato de bencilo (40a)**. Una solución de ácido 6-oxo-1H-piridin-2-carboxílico (115 mg, 829,59 μmol , 1,20 *equiv.*), DIPEA (268 mg, 2,07 mmol, 3,00 *equiv.*) y HATU (315 mg, 829,58 μmol , 1,20 *equiv.*) en THF (3 ml) se agitó a 0 °C durante 15 min. Después se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol , 1,00 *equiv.*) a 0 °C, la mezcla resultante se agitó a 25 °C durante 3 h más. La CLEM indicó que la reacción se había completado. Se añadió H₂O (10 ml) y se extrajo con EA (20 ml x 2). La fase orgánica combinada se lavó con una solución acuosa saturada de salmuera (20 ml) y se concentró para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[(6-oxo-1H-piridin-2-carbonil)amino]hexil]carbamato de bencilo (612 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo.

N-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-6-oxo-1H-piridin-2-carboxamida (40). A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-5-[(6-oxo-1H-piridin-2-carbonil)amino]hexil]carbamato de bencilo (612 mg, 1,18 mmol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (3 ml) se añadió HBr/AcOH (1 ml, pureza del 33 %) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 1 h. La CLEM indicó que el compuesto deseado se había detectado. La reacción se interrumpió con H₂O (10 ml), se lavó con MTBE (20 ml). La fase orgánica se extrajo con H₂O (20 ml x 2) y las fases acuosas se combinaron y se liofilizaron para dar producto en bruto, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-6-oxo-1H-piridin-2-carboxamida (51,45 mg, 103,22 μmol, rendimiento del 80,4 %, ee del 74,1 %) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 385,1 (MH⁺).

Ejemplo de referencia 32. Preparación de (S)-N-(6-amino-1-(benzo[d]tiazol-2-il)-1-oxohexan-2-il)-1-metoxiciclohexanocarboxamida (41)

Esquema 32



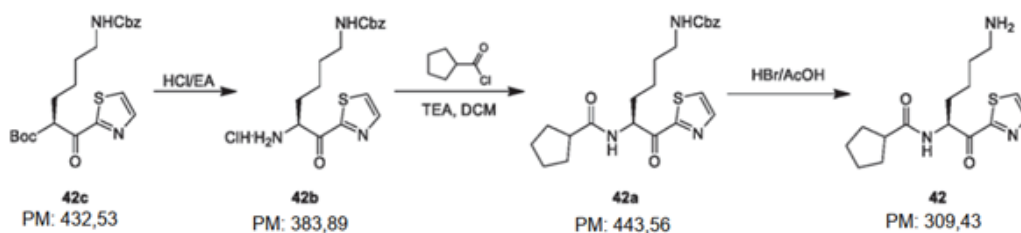
Ácido 1-metoxiciclohexanocarboxílico (41b). A una solución de ciclohexanona (2,00 g, 20,38 mmol, 1,00 *equiv.*) en CHCl₃ (2,43 g, 20,38 mmol, 1,00 *equiv.*) (10 ml) se añadió una solución de KOH (10,00 g, 178,22 mmol, 8,74 *equiv.*) en MeOH (10 ml) a 0-5 °C. La mezcla resultante se agitó a 23 °C durante 3 h. La suspensión se filtró y el filtrado se concentró para dar un producto en bruto, que se diluyó con H₂O (20 ml) y se extrajo con EA (20 ml x 2). Después, la capa acuosa se ajustó a pH = 5-6 con HCl (1 M). La solución resultante se extrajo con DCM (40 ml x 2). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar ácido 1-metoxiciclohexanocarboxílico (1,21 g, 7,65 mmol, rendimiento del 37,53 %) en forma de un aceite de color amarillo.

***N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-[(1-metoxiciclohexanocarboxil)amino]-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (41a).** A una solución de ácido 1-metoxiciclohexanocarboxílico (164 mg, 1,04 mmol, 1,50 *equiv.*) en THF (6 ml) se añadieron HATU (390 mg, 1,03 mmol, 1,48 *equiv.*) y DIPEA (300 mg, 2,32 mmol, 3,36 *equiv.*) bajo 0 °C. Después de agitar durante 0,5 h bajo 0 °C, se añadió clorhidrato de *N*-[(5S)-5-amino-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (300 mg, 691,32 μmol, 1,00 *equiv.*) y la mezcla resultante se agitó a 20 °C durante 14 h. Se diluyó con H₂O (10 ml) y se extrajo con EA (15 ml x 2). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-[(1-metoxiciclohexanocarboxil)amino]-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (830 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. Se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

(S)-N-(6-amino-1-(benzo[d]tiazol-2-il)-1-oxohexan-2-il)-1-metoxi-ciclohexanocarboxamida (41). A una solución de *N*-[(5S)-6-(1,3-benzotiazol-2-il)-5-[(1-metoxiciclohexanocarboxil)amino]-6-oxo-hexil]carbamato de bencilo (1,00 *equiv.*) (0,83 g, en bruto) en AcOH (5 ml) se añadió HBr/AcOH (1,00 *equiv.*) (1,5 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 18 °C durante 1 h. La mezcla se diluyó con H₂O (100 ml) y se lavó con MBTE (40 ml). La capa acuosa se liofilizó para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar una solución. La solución se liofilizó para dar trifluoroacetato de *N*-[(1S)-5-amino-1-(1,3-benzotiazol-2-carbonil)pentil]-1-metoxiciclohexanocarboxamida (55 mg, 106,27 μmol) en forma de un sólido de color amarillo claro. MS *m/z* = 404,2 (MH⁺).

Ejemplo 33. Preparación de *N*-[(1S)-5-amino-1-(tiazol-2-carbonil)pentil] ciclohexanocarboxamida (42).

Esquema 33



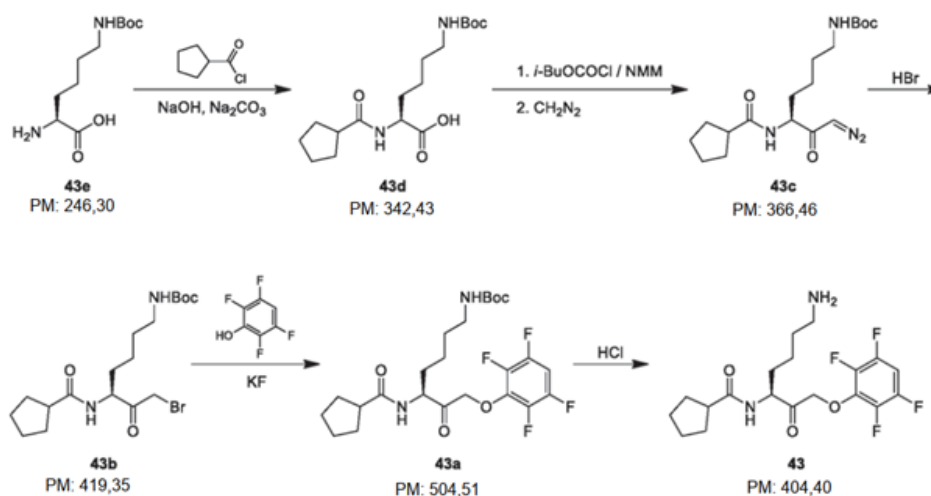
5 **N-[(5S)-5-amino-6-oxo-6-tiazol-2-il-hexil]carbamato de bencilo (42b)**. A una solución de *N*-[(1S)-5-(benciloxicarbonilamino)-1-(tiazol-2-carbonil)pentil]carbamato de *tert*-butilo (300 mg, 670,32 μmol , 1,00 *equiv.*) en EA (10 ml) se añadió HCl/EA (4 M, 2 ml, 11,93 *equiv.*). La mezcla de reacción se agitó a 10 °C durante 14 h. La CLEM indicó que aún quedaba material de partida y que se había detectado el producto deseado. Se añadió HCl/EA (4 M, 2,00 ml, 11,93 *equiv.*). Después, la mezcla de reacción se agitó a 10 °C durante 4 h más. La TLC (EP: EA=3:1) indicó que el material de partida se había consumido completamente. Se concentró para dar clorhidrato de *N*-[(5S)-5-amino-6-oxo-6-tiazol-2-il-hexil]carbamato de bencilo (310 mg, bruto, HCl) en forma de un sólido de color pardo. Se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

15 **N-[(5S)-5-Amino-6-oxo-6-tiazol-2-il-hexil]carbamato de bencilo (42a)**. A una solución de clorhidrato de *N*-[(5S)-5-amino-6-oxo-6-tiazol-2-il-hexil]carbamato (300 mg, 781,47 μmol , 1,00 *equiv.*, HCl) en DCM (10 ml) se añadió TEA (240 mg, 2,37 mmol, 3,04 *equiv.*) y cloruro de ciclopentanocarbonilo (130 mg, 980,47 μmol , 1,25 *equiv.*). La mezcla de reacción se agitó a 10 °C durante 3 h. La CLEM indicó que se había consumido el material de partida y que el producto mayoritario era el producto deseado. La solución se lavó con H₂O (15 ml x 2). La capa acuosa se extrajo con DCM (20 ml x 2). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con una solución acuosa saturada de salmuera (100 ml), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar un producto en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna (PE: EA=4: 1 a 2: 1) para dar *N*-[(5S)-5-(ciclopentanocarbonilamino)-6-oxo-6-tiazol-2-il-hexil]carbamato de bencilo (230 mg, 482,23 μmol , rendimiento del 61,7 %, pureza del 93 %) en forma de un sólido color amarillo.

25 **N-[(1S)-5-amino-1-(tiazol-2-carbonil)pentil] ciclopentanocarboxamida (42)**. A una solución de *N*-[(5S)-5-(ciclopentanocarbonilamino)-6-oxo-6-tiazol-2-il-hexil]carbamato de bencilo (210 mg, 473,44 μmol , 1,00 *equiv.*) en AcOH (5 ml) se añadió HBr/AcOH (2 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 15 °C durante 1 h. La CLEM indicó que quedaba material de partida y que se había detectado el producto deseado. La mezcla se agitó a 15 °C durante 1 h más. La CLEM indicó que aún quedaba material de partida y que se había detectado el producto deseado. Se añadió a la mezcla agua desionizada (20 ml) y MeOH (2 ml), se lavó con MTBE (20 ml x 2). La solución resultante se diluyó con agua desionizada (80 ml) y después se liofilizó para dar un residuo, que se ajustó a pH=7-8 con solución acuosa saturada de NaHCO₃. La solución resultante se diluyó con agua desionizada (80 ml) y después se liofilizó de nuevo para dar un residuo, que se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) para dar trifluoroacetato de *N*-[(1S)-5-amino-1-(tiazol-2-carbonil)pentil]ciclopentanocarboxamida (53 mg) en forma de un sólido de color amarillo. MS *m/z* = 304,2 (MH⁺).

35 **Ejemplo 34. Preparación de N-[(1S)-5-amino-1-[2-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)acetil]-pentil]ciclopentanocarboxamida (43).**

Esquema 34



5 **Ácido (2S)-6-(*tert*-butoxicarbonylamino)-2-(ciclopentanocarbonylamino)hexanoico (43d).** A una solución de ácido (2S)-2-amino-6-(*tert*-butoxicarbonylamino)hexanoico (5,00 mg, 20,30 mmol, 1,00 *equiv.*) en H₂O (40 ml) se añadieron NaOH (820 mg, 20,50 mmol, 1,01 *equiv.*) y Na₂CO₃ (2,58 g, 24,36 mmol, 1,20 *equiv.*). Después de agitarse durante 10 min, se enfrió a 0 °C y se añadió cloruro de ciclopentanocarbonylo (2,96 g, 22,33 mmol, 1,10 *equiv.*) en EA (20 ml) bajo 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 10 °C durante 14 h. EA se retiró y después la solución se enfrió a 0 °C, el pH se ajustó a 6-7 con KHSO₄ sólido. La suspensión se filtró y la torta de filtro se lavó con PE (60 ml) y se secó al vacío para dar ácido (2S)-6-(*tert*-butoxicarbonylamino)-2-(ciclopentanocarbonylamino)hexanoico (4,50 g, en bruto) en forma de un sólido de color blanco.

15 **N-[(5S)-5-(ciclopentanocarbonylamino)-7-diazo-6-oxo-heptil] carbamato de *tert*-butilo (43c).** A una solución de ácido (2S)-6-(*tert*-butoxicarbonylamino)-2-(ciclopentano-carbonylamino)hexanoico (2,00 g, 5,84 mmol, 1,00 *equiv.*) en THF (20 ml) se añadió cloroformiato de isobutilo (798 mg, 5,84 mmol, 1,00 *equiv.*) y NMM (591 mg, 5,84 mmol, 1,00 *equiv.*). La mezcla se agitó a -20 °C durante 2 h en atmósfera de N₂. Después se añadió diazometano (491 mg, 11,68 mmol, 2,00 *equiv.*). La mezcla se agitó a 0 °C durante 10 h. La mezcla se diluyó con H₂O (20 ml), se extrajo con EA (20 ml x 3). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida para dar un residuo, que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EP/AE= 1/1) para dar N-[(5S)-5-(ciclopentanocarbonylamino)-7-diazo-6-oxo-heptil]carbamato de *tert*-butilo (2,00 g, 5,46 mmol, rendimiento del 93,4 %) en forma de un sólido de color amarillo.

25 **N-[(5S)-7-bromo-5-(ciclopentanocarbonylamino)-6-oxoheptil]carbamato de *tert*-butilo (43b).** A una solución de N-[(5S)-5-(ciclopentanocarbonylamino)-7-diazo-6-oxo-heptil]carbamato de *tert*-butilo (1,00 g, 2,73 mmol, 1,00 *equiv.*) en EA (20 ml) se añadió HBr/AcOH (Pureza: 33 %, 1 ml). La mezcla se agitó a -20 °C durante 10 min en atmósfera de N₂ y después se basificó con NaHCO₃ sat. hasta pH = 8, se extrajo con EA (20 ml x 3). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar N-[(5S)-7-bromo-5-(ciclopentanocarbonylamino)-6-oxoheptil]carbamato de *tert*-butilo (1,10 g, 2,62 mmol, rendimiento del 96,08 %) en forma de un sólido de color amarillo.

30 **N-[(5S)-5-(ciclopentanocarbonylamino)-6-oxo-7-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)heptil]carbamato de *tert*-butilo (43a).** A una solución de N-[(5S)-7-bromo-5-(ciclopentanocarbonylamino)-6-oxo-heptil]carbamato de *tert*-butilo (1,10 g, 2,62 mmol, 1,00 *equiv.*) en DMF (20 ml) se añadió 2,3,5,6-tetrafluorofenol (523 mg, 3,15 mmol, 1,20 *equiv.*) y KF (457 mg, 7,87 mmol, 3,00 *equiv.*). La mezcla de reacción se agitó a 20 °C durante 3 h. La mezcla se diluyó con H₂O (50 ml) y se extrajo con EA (40 ml x 3). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (50 ml x 5), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (EP/AE = 4/1) para dar N-[(5S)-5-(ciclopentanocarbonylamino)-6-oxo-7-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)heptil]carbamato de *tert*-butilo (1,10 g, 2,18 mmol, rendimiento del 83,2 %) en forma de un sólido de color blanco.

40 **N-[(1S)-5-amino-1-[2-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)acetil]pentil]ciclopentanocarboxamida (43).** A una solución de N-[(5S)-5-(ciclopentanocarbonylamino)-6-oxo-7-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)heptil]carbamato de *tert*-butilo (500 mg, 991,06 μmol, 1,00 *equiv.*) en EA (10 ml) se añadió HCl/EA (4 M, 5 ml, 20,18 *equiv.*). La mezcla se agitó a 20 °C durante 1 h. La mezcla se diluyó con H₂O (20 ml), la capa acuosa se separó y se liofilizó para dar clorhidrato de N-[(1S)-5-amino-1-[2-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)acetil]pentil]ciclopentanocarboxamida (280 mg, 635,12 μmol, rendimiento del 64,1 %) en forma de un sólido de color blanco. MS m/z = 405 (MH⁺). RMN ¹H ((CD₃)₂SO, 400 MHz) δ 8,38 (d, J = 7,2,

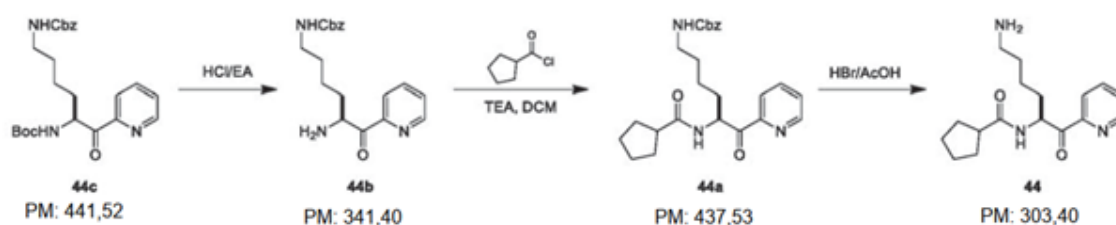
45

1H), 8,05 (s a, 3H), 7,58 (ddd, J = 4,5, J = 8,3, J = 15,5, 1H), 5,25 (d, J = 17,6, 1H), 5,18 (d, J = 17,6, 1H), 4,29 (ddd, J = 2,4, J = 4,6, J = 10,6, 1H), 2,77 - 2,64 (m, 3H), 1,78 - 1,24 (m, 14H).

Ejemplo 35. Preparación de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(piridin-2-carbonil)pentil]ciclopentanocarboxamida (44).

5

Esquema 35



***N*-[(5*S*)-5-Amino-6-oxo-6-(2-piridil)hexil]carbamato de bencilo (44b).** A una solución de *N*-[(1*S*)-5-(benciloxycarbonilamino)-1-(piridin-2-carbonil)pentil]carbamato de *tert*-butilo (480 mg, 1,09 mmol, 1,00 *equiv.*) en EA (10 ml) se añadió HCl/EA (4 M, 4 ml, 14,68 *equiv.*). La mezcla de reacción se agitó a 10 °C durante 14 h. La CLEM indicó que el material de partida se había consumido completamente y que se había detectado el producto deseado. Se concentró para dar clorhidrato de *N*-[(5*S*)-5-amino-6-oxo-6-(2-piridil)hexil]carbamato de bencilo (400 mg, en bruto) en forma de un sólido de color amarillo. Se usó directamente para la siguiente etapa sin purificación adicional.

10

***N*-[(5*S*)-5-(Ciclopentanocarbonilamino)-6-oxo-6-(2-piridil)-hexil]carbamato de bencilo (44a).** A una solución de clorhidrato de *N*-[(5*S*)-5-amino-6-oxo-6-(2-piridil)hexil]carbamato de bencilo (400 mg, 1,06 mmol, 1,00 *equiv.*) en DCM (10 ml) se añadió TEA (320 mg, 3,16 mmol, 2,98 *equiv.*) y cloruro de ciclopentanocarbonilo (160 mg, 1,21 mmol, 1,14 *equiv.*). La mezcla de reacción se agitó a 10 °C durante 3 h. La CLEM indicó que se había consumido el material de partida y que el producto mayoritario era el producto deseado. La solución se lavó con H₂O (15 ml x 2). La capa acuosa se extrajo con DCM (20 ml x 2). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con una solución acuosa saturada de salmuera (100 ml), se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para dar un producto en bruto, que se purificó por cromatografía en columna (PE: EA=4: 1 a 2: 1) para dar *N*-[(5*S*)-5-(ciclopentanocarbonilamino)-6-oxo-6-(2-piridil)hexil]carbamato de bencilo (250 mg, 571,39 μmol, rendimiento del 53,9 %) en forma de un sólido de color amarillo claro.

20

25

***N*-[(1*S*)-5-amino-1-(piridin-2-carbonil)pentil]ciclopentanocarboxamida (44).** A una solución de *N*-[(5*S*)-5-(ciclopentanocarbonilamino)-6-oxo-6-(2-piridil)hexil]carbamato de bencilo (230 mg, 525,68 μmol, 1,00 *equiv.*) en AcOH (5 ml) se añadió HBr/AcOH (2 ml, pureza del 33 %) en atmósfera de N₂. La mezcla de reacción se agitó a 15 °C durante 1 h. La CLEM indicó que aún quedaba material de partida y que se había detectado el producto deseado. La mezcla de reacción se agitó a 15 °C durante 1 h más. La CLEM indicó que aún quedaba material de partida y que se había detectado el producto deseado. La mezcla se diluyó con agua desionizada (20 ml) y MeOH (2 ml), se lavó con MTBE (20 ml x 2). La solución resultante se diluyó con agua desionizada (80 ml) y después se liofilizó para dar un residuo, que se ajustó a pH=7-8 con solución acuosa saturada de NaHCO₃. La solución resultante se diluyó con agua desionizada (80 ml) y después se liofilizó de nuevo para dar un residuo. Una parte del producto en bruto se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/NH₃-H₂O) para dar el producto deseado pero que contenía el producto ciclado. Otra parte del producto en bruto se purificó por HPLC prep. (CH₃CN/H₂O/TFA) a trifluoroacetato de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-(piridin-2-carbonil)pentil]ciclopentanocarboxamida (56 mg) en forma de un sólido de color amarillo. MS m/z = 304,2 (MH⁺).

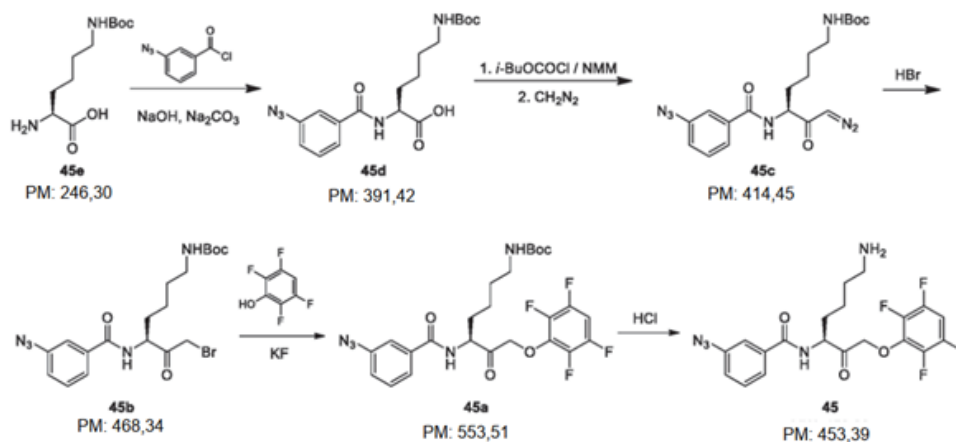
30

35

Ejemplo 36. Preparación de *N*-[(1*S*)-5-amino-1-[2-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)acetil]-pentil]-3-azido-benzamida (45).

40

Esquema 36



Ácido (2S)-2-[(3-azidobenzoyl)amino]-6-(tercbutoxicarbonilamino)hexanoico (45d). A una solución de ácido (2S)-2-amino-6-(*terc*-butoxicarbonilamino)hexanoico (10,00 g, 40,60 mmol, 1,00 *equiv.*) en EA/H₂O (1/1.200 ml) se añadieron NaOH (1,62 g, 40,60 mmol, 1,00 *equiv.*), Na₂CO₃ (4,30 g, 40,60 mmol, 1,00 *equiv.*) y cloruro de 3-azidobenzoylo (7,37 g, 40,60 mmol, 1,00 *equiv.*). La mezcla se agitó a 20 °C durante 4 h. La mezcla se acidificó con KHSO₄ hasta pH = 4, se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con DCM/MeOH = 10/1 para dar ácido (2S)-2-[(3-azidobenzoyl)amino]-6-(*terc*-butoxicarbonilamino)hexanoico (10,00 g, 25,55 mmol, rendimiento del 62,9 %) en forma de un sólido de color amarillo.

N-[(5S)-5-[(3-Azidobenzoyl)amino]-7-diazo-6-oxo-heptil]carbamato de *terc*-butilo (45c). A una solución de ácido (2S)-2-[(3-azidobenzoyl)amino]-6-(*terc*-butoxicarbonilamino)hexanoico (3,50 g, 8,94 mmol, 1,00 *equiv.*) en THF (50 ml) se añadió NMM (904 mg, 8,94 mmol, 1,00 *equiv.*) y cloroformiato de isobutilo (1,22 g, 8,94 mmol, 1,00 *equiv.*). La mezcla se agitó a -20 °C durante 1 h en atmósfera de N₂. Después se añadió diazometano (376 mg, 8,94 mmol, 1,00 *equiv.*). La mezcla se agitó a -20 °C durante 4 h en atmósfera de N₂. La mezcla se diluyó con H₂O (50 ml), se extrajo con EA (50 ml x 3). Las capas orgánicas se combinaron, se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con EP/AE = 1/1 para dar N-[(5S)-5-[(3-azidobenzoyl)amino]-7-diazo-6-oxoheptil]carbamato de *terc*-butilo (2,90 g, 6,98 mmol, rendimiento del 78,1 %) en forma de un sólido de color amarillo.

N-[(5S)-5-[(3-azidobenzoyl)amino]-7-bromo-6-oxo-heptil]-carbamato de *terc*-butilo (45b). A una solución de (3-azidobenzoyl)-[(1S)-5-(*terc*-butoxicarbonilamino)-1-(2-diazoacetil)pentil]amonio (2,90 g, 6,96 mmol, 1,00 *equiv.*) en EA (50 ml) se añadió HBr/AcOH (2,56 g, 10,44 mmol, 1,50 *equiv.*, Pureza: 33 %). La mezcla se agitó a -20 °C durante 10 min. La mezcla se diluyó con H₂O (50 ml), se extrajo con EA (50 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (50 ml x 3), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida para dar N-[(5S)-5-[(3-azidobenzoyl)amino]-7-bromo-6-oxo-heptil]carbamato de *terc*-butilo (2,90 g, en bruto Pureza: 62,2 %) en forma de un sólido de color amarillo.

N-[(5S)-5-[(3-azidobenzoyl)amino]-6-oxo-7-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)heptil]carbamato de *terc*-butilo (45a). A una solución de N-[(5S)-5-[(3-azidobenzoyl)-amino]-7-bromo-6-oxo-heptil]carbamato de *terc*-butilo (2,90 g, 6,19 mmol, 1,00 *equiv.*) en DMF (20 ml) se añadieron 2,3,5,6-tetrafluorofenol (1,54 g, 9,29 mmol, 1,50 *equiv.*) y KF (1,80 g, 30,95 mmol, 5,00 *equiv.*). La mezcla se agitó a 20 °C durante 12 h. La mezcla se diluyó con H₂O (100 ml), se extrajo con EA (100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml x 5), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con PE: EA = 4:1 para dar N-[(5S)-5-[(3-azidobenzoyl)amino]-6-oxo-7-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)heptil]carbamato de *terc*-butilo (2,80 g, 5,06 mmol, rendimiento del 81,7 %) en forma de un sólido de color blanco.

N-[(1S)-5-amino-1-[2-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)acetil]pentil]-3-azidobenzamida (45). Una solución de N-[(5S)-5-[(3-azidobenzoyl)amino]-6-oxo-7-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi) heptil]carbamato de *terc*-butilo (2,20 g, 3,97 mmol, 1,00 *equiv.*) en HC1/EA (20 ml, 4 M) se agitó a 20 °C durante 30 min. La mezcla se diluyó con H₂O (20 ml), la capa acuosa se liofilizó para dar N-[(1S)-5-amino-1-[2-(2,3,5,6-tetrafluorofenoxi)acetil]pentil]-3-azido-benzamida en forma de un sólido de color blanco. MS m/z = 454,1 (MH⁺).

Ejemplo 37. Inhibición de la lisina gingipaína mediante los compuestos de la invención.

Las capacidades de los compuestos de la presente invención y de los compuestos de referencia para inhibir la actividad de la lisina gingipaína se midieron en un ensayo fluorogénico similar a los descritos en Barret Biochemical Journal. 1980, 187(3), 909. Las condiciones específicas del ensayo fueron las siguientes. Tampón: pH = 7,5, Tris-HCl

- 100 mM, NaCl 75 mM, CaCl₂ 2,5 mM, cisteína 10 mM, DMSO al 1 % después de todas las adiciones. Proteína: Kgp 0,1 nM, aislada de un cultivo de *Porphyromonas gingivalis*, como se describe en Pike *et al.* J. Biol. Chem. 1994, 269(1), 406 y Potempa y Nguyen. Current Protocols in Protein Scienc. 2007, 21.20.1-21.20.27. Sustrato fluorogénico: Z-His-Glu-Lys-MCA 10 uM. Tiempo = 90 minutos. Temperatura = 37 °C. Cada compuesto: 10 concentraciones, partiendo bien de 100 uM o bien de 100 nM, generadas las concentraciones menores mediante diluciones en serie de 3 veces.
- 5 Al analizar una gama de concentraciones de cada compuesto, se determinó la concentración requerida para inhibir la actividad de la lisina gingipaína en un 50 % (la "Cl₅₀"). En las condiciones de ensayo descritas, la relación señal a ruido fue excelente y el factor z fue mayor de 0,6.
- 10 La actividad inhibidora de los compuestos descritos en el presente documento se analizó frente a Kgp, RgpB y tripsina. Los valores de Cl₅₀ de Kgp para diversos compuestos se definen en la Tabla 2. El compuesto 43 mostró un valor de la Cl₅₀ de RgpB mayor de 475 nM y los restantes compuestos de la Tabla 2 presentaron valores de Cl₅₀ de RgpB mayores de 2,5 µM. Todos los compuestos en la Tabla 2 presentaron valores de Cl₅₀ de tripsina mayores de 1 µM.

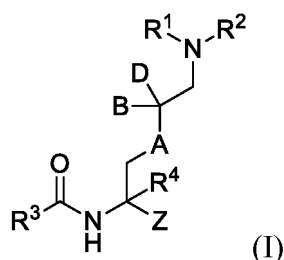
15 **Tabla 2.** Actividad inhibidora de lisina gingipaína. Los compuestos de referencia están denotados con "†".

Compuesto	Cl ₅₀ de Kgp promedio	N.º de Compuesto	Cl ₅₀ de Kgp promedio
1†	+++	23†	++
1†	*	24†	***
2†	**	25†	*
2†	***	26†	*
3†	**	29†	**
4†	***	30†	*
7†	*	31†	**
8†	**	32†	***
9†	***	33†	***
10†	**	34†	***
11†	***	35†	***
12†	+++	38†	**
13†	*	39†	+++
14†	***	40†	*
15†	***	41†	**
18†	**	42	+++
19†	**	43	****
22†	**	44	+
	****		Cl ₅₀ ≤ 1 nM
	***		1 nM < Cl ₅₀ ≤ 10 nM
	**		10 nM < Cl ₅₀ ≤ 25 nM
	*		25 nM < Cl ₅₀ ≤ 50 nM
	+++		50 nM < Cl ₅₀ ≤ 100 nM
	++		100 nM < Cl ₅₀ ≤ 250 nM
	++		250 nM < Cl ₅₀

Aunque lo anterior se ha descrito con cierto nivel de detalle a modo de ilustración y ejemplo con fines de claridad de entendimiento, un experto en la materia apreciará que pueden llevarse a la práctica ciertos cambios y modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de acuerdo con la Fórmula I:



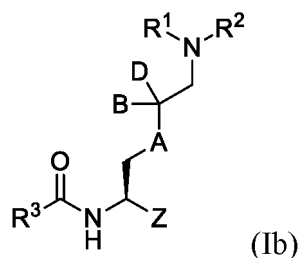
5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

- Z es ariloximetil-carbonilo sustituido con halógeno;
- A se selecciona del grupo que consiste en $-\text{CH}_2-$ y $-\text{O}-$;
- B y D se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, haloalquilo C_{1-4} y haloalcoxi C_{1-4} ;
- R^1 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y un grupo protector de amina, en donde el grupo protector de amina se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, *tert*-butiloxicarbonilo, aliloxicarbonilo, acetamido y ftalimido;
- R^2 es hidrógeno; y
- R^3 se selecciona del grupo que consiste en arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 12 elementos, alquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-8} , heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos, $-\text{L}-\text{R}^5$ y $-\text{OR}^6$, en donde
- L se selecciona del grupo que consiste en $-\text{O}-$, $-\text{NR}-$, alquilenos C_{1-4} y heteroalquilenos de 2 a 4 elementos, en donde
- R se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C_{1-8} ,
- R^5 se selecciona del grupo que consiste en arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C_{3-8} y heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos, y
- $-\text{OR}^6$ y el carbonilo al que se une forman un grupo protector de amina en donde el grupo protector de amina se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, *tert*-butiloxicarbonilo y aliloxicarbonilo,
- y en donde R^3 está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{N}_3$, $-\text{OH}$, R^a , R^b , $-\text{OR}^a$, $-\text{OR}^b$, $-(\text{CH}_2)_k\text{C}(\text{O})\text{R}^c$, $-\text{NR}^d(\text{CH}_2)_u\text{C}(\text{O})\text{R}^c$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_u\text{C}(\text{O})\text{R}^c$, $-(\text{CH}_2)_k\text{CONR}^d\text{R}^d$, $-(\text{CH}_2)_k\text{NR}^d\text{C}(\text{O})\text{R}^c$, $-\text{NR}^d(\text{CH}_2)_u\text{CONR}^d\text{R}^d$, $-\text{NR}^d(\text{CH}_2)_u\text{NR}^d\text{C}(\text{O})\text{R}^c$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_u\text{NR}^d\text{C}(\text{O})\text{R}^c$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_u\text{NR}^d\text{C}(\text{O})\text{R}^c$, $-(\text{CH}_2)_k\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^d\text{R}^d$, $-(\text{CH}_2)_k\text{NR}^d\text{S}(\text{O})_2\text{R}^c$, $-(\text{CH}_2)_k\text{S}(\text{O})_2\text{R}^c$, $-(\text{CH}_2)_k\text{S}(\text{O})\text{R}^c$, $-(\text{CH}_2)_k\text{SR}^d$, $-\text{NR}^d(\text{CH}_2)_u\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^d\text{R}^d$, $-\text{NR}^d(\text{CH}_2)_u\text{NR}^d\text{S}(\text{O})_2\text{R}^c$, $-\text{NR}^d(\text{CH}_2)_u\text{S}(\text{O})_2\text{R}^c$, $-\text{NR}^d(\text{CH}_2)_u\text{S}(\text{O})\text{R}^c$, $-\text{NR}^d(\text{CH}_2)_u\text{SR}^d$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_u\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^d\text{R}^d$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_u\text{NR}^d\text{S}(\text{O})_2\text{R}^c$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_u\text{S}(\text{O})_2\text{R}^c$, $-\text{O}(\text{CH}_2)_u\text{S}(\text{O})\text{R}^c$ y $-\text{O}(\text{CH}_2)_u\text{SR}^c$, en donde:
- cada R^a se selecciona independientemente del grupo que consiste en alquilo C_{1-4} y haloalquilo C_{1-4} ,
- cada R^b se selecciona independientemente del grupo que consiste en cicloalquilo C_{3-6} , halocicloalquilo C_{3-6} , arilo C_{6-10} , heteroarilo de 5 a 12 elementos y heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos,
- cada R^c se selecciona independientemente del grupo que consiste en $-\text{OH}$, alquilo C_{1-8} , haloalquilo C_{1-8} , cicloalquilo C_{3-8} , halocicloalquilo C_{3-8} , arilo C_{6-10} , (aril C_{6-10})-(alquilo C_{1-8}), heteroarilo de 5 a 12 elementos y heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos,
- cada R^d se selecciona independientemente del grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C_{1-8} , cada subíndice k se selecciona independientemente de 0, 1, 2, 3, 4, 5 y 6 y cada subíndice u se selecciona independientemente de 1, 2, 3, 4, 5 y 6; y
- R^4 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, alquilo C_{1-4} , alcoxi C_{1-4} , haloalquilo C_{1-4} y haloalcoxi C_{1-4} ;
- con la condición de que cuando Z sea fenoximetil-carbonilo sustituido, A sea $-\text{CH}_2-$ y B y D sean hidrógeno, entonces R^3 sea diferente de (2-fenil)etilo o (2-fenil)etilo sustituido.

45

2. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene una estructura de acuerdo con la Fórmula Ib:



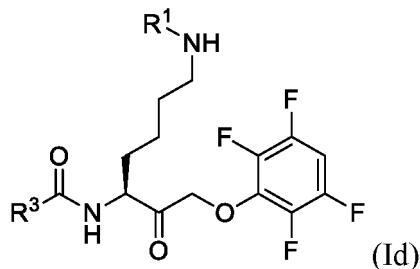
50 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

B y D se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, halometilo y halometoxi.

3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en donde R³ se selecciona del grupo que consiste en arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos y -L-R⁵.

5

4. El compuesto de la reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que tiene una estructura de acuerdo con la Fórmula Id:



10

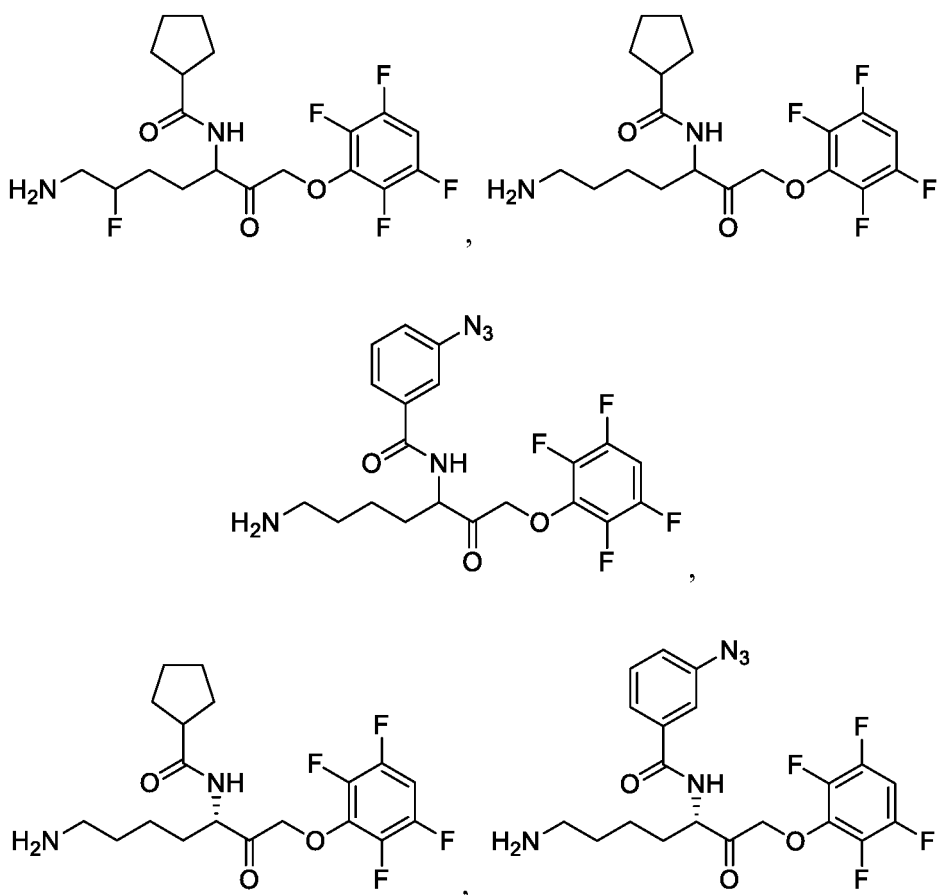
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

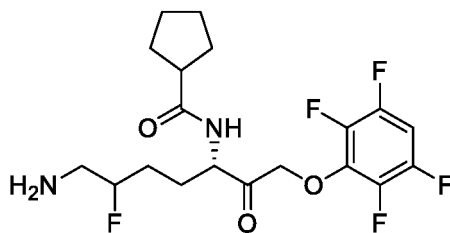
en donde R³ se selecciona del grupo que consiste en arilo C₆₋₁₀, heteroarilo de 5 a 12 elementos, cicloalquilo C₃₋₈, heterociclilo saturado de 5 a 12 elementos y -L-R⁵,

15

en donde L es alquileno C₁₋₄.

5. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto de Fórmula I se selecciona del grupo que consiste en:

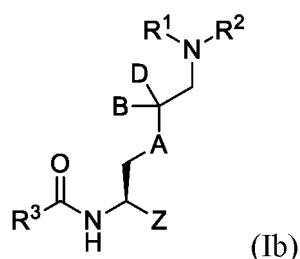




6. El compuesto de la reivindicación 4, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

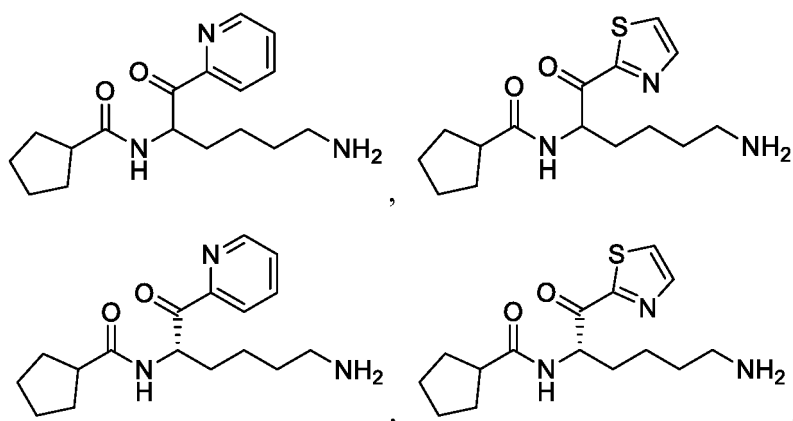
5 R^3 se selecciona del grupo que consiste en ciclohexilo, ciclopentilo, morfolino, fenilo, piperidinilo, piridinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirranilo, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo y tiazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1-3 elementos seleccionados del grupo que consiste en metilo, metoxi, trifluorometilo, acetilo y $-N_3$.

10 7. Un compuesto que tiene una estructura de acuerdo con la Fórmula Ib:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

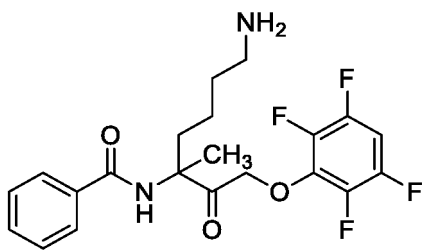
15 A se selecciona del grupo que consiste en $-CH_2-$ y $-O-$;
 B y D se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halógeno, halometilo y halometoxi
 20 R^1 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno y un grupo protector de amina, en donde el grupo protector de amina se selecciona del grupo que consiste en benciloxicarbonilo, 9-fluorenilmetiloxicarbonilo, *tert*-butiloxicarbonilo, aliloxicarbonilo, acetamido y ftalimido;
 R^2 es hidrógeno;
 Z se selecciona del grupo que consiste en piridin-2-il-carbonilo y tiazol-2-il-carbonilo, y
 R^3 se selecciona del grupo que consiste en arilo C_{6-10} y cicloalquilo C_{3-8} ; o
 25 un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:



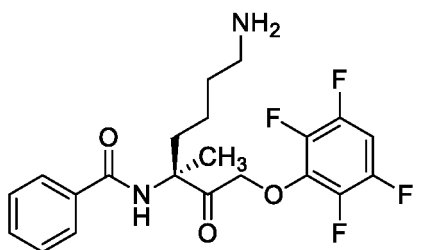
30 y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

8. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R^4 se selecciona del grupo que consiste en alquilo C_{1-4} y haloalquilo C_{1-4} ; opcionalmente, en donde el compuesto es

35



o



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en el tratamiento de una infección por *P. gingivalis*.

11. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en el tratamiento de un trastorno cerebral asociado a una infección por *P. gingivalis*.

12. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 11, en donde el trastorno cerebral se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, epilepsia, autismo, enfermedad de Parkinson, temblor hereditario, demencia frontotemporal, parálisis supranuclear progresiva, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Huntington, esclerosis múltiple, deterioro cognitivo leve, deterioro de la memoria senil, encefalopatía traumática crónica, ictus, enfermedad por cuerpos de Lewy, atrofia de múltiples sistemas, esquizofrenia y depresión.

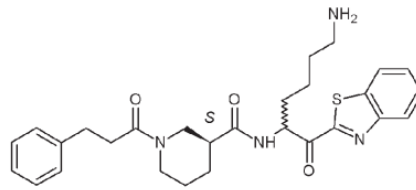
13. El compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el trastorno cerebral es la enfermedad de Alzheimer y en donde el tratamiento comprende, además, administrar al sujeto uno o más agentes activos seleccionados del grupo que consiste en un inhibidor de colinesterasa, un modulador de serotonina, un modulador de NMDA, una terapia dirigida a Aβ, una terapia dirigida a ApoE, una terapia dirigida a la microglía, una terapia dirigida a la barrera hematoencefálica, una terapia dirigida a tau, una terapia dirigida al complemento y un antiinflamatorio.

14. El compuesto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 13, en donde el compuesto se administra al sujeto durante:

- (a) al menos un mes;
- (b) al menos un año; o
- (c) al menos 10 años.

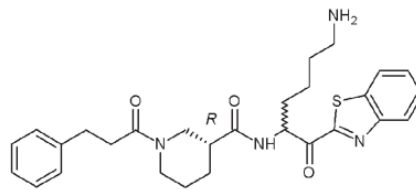
15. El compuesto para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14, en donde el sujeto es un ser humano, un can o un felino.

Fig. 1A



Compuesto 3

Fig. 1B



Compuesto 4

Fig. 1C

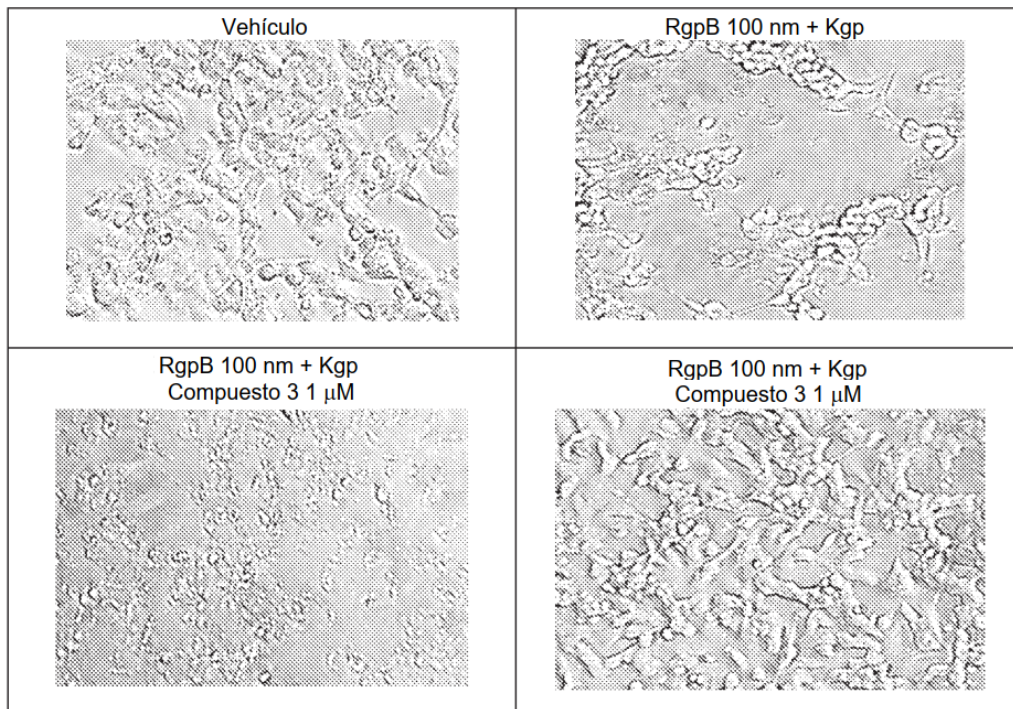


Fig. 2A

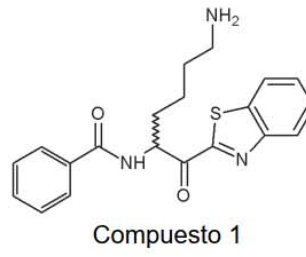


Fig. 2B

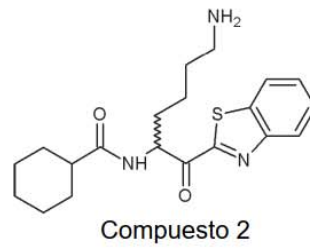


Fig. 2C

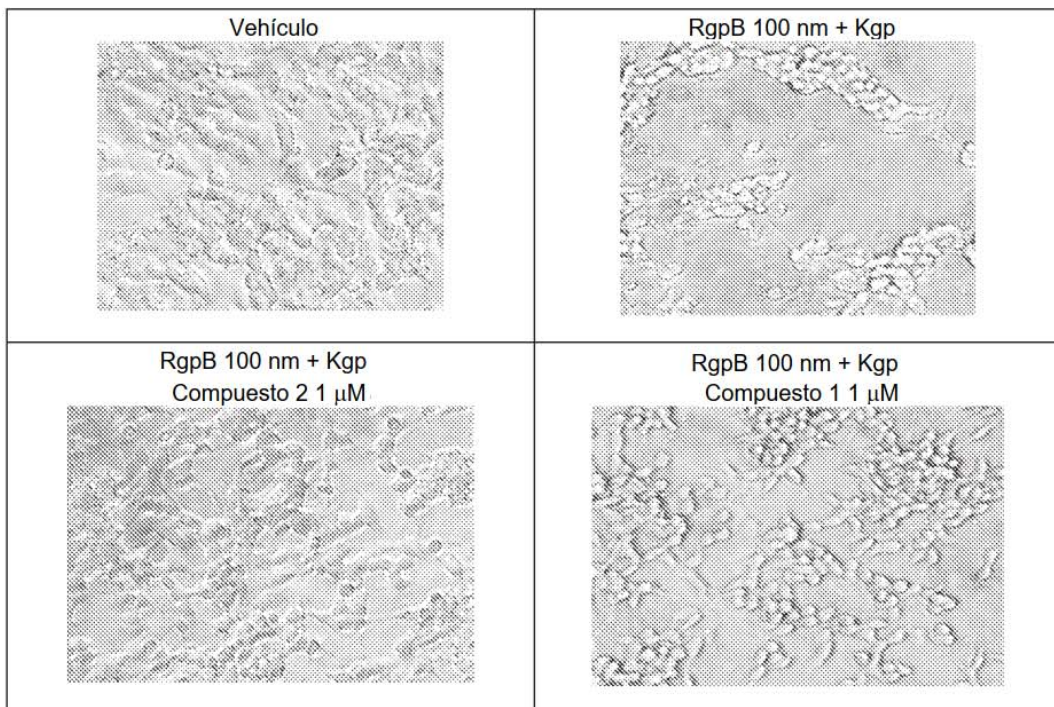
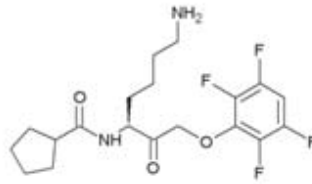


Fig. 3A



Compuesto 43

Fig. 3B

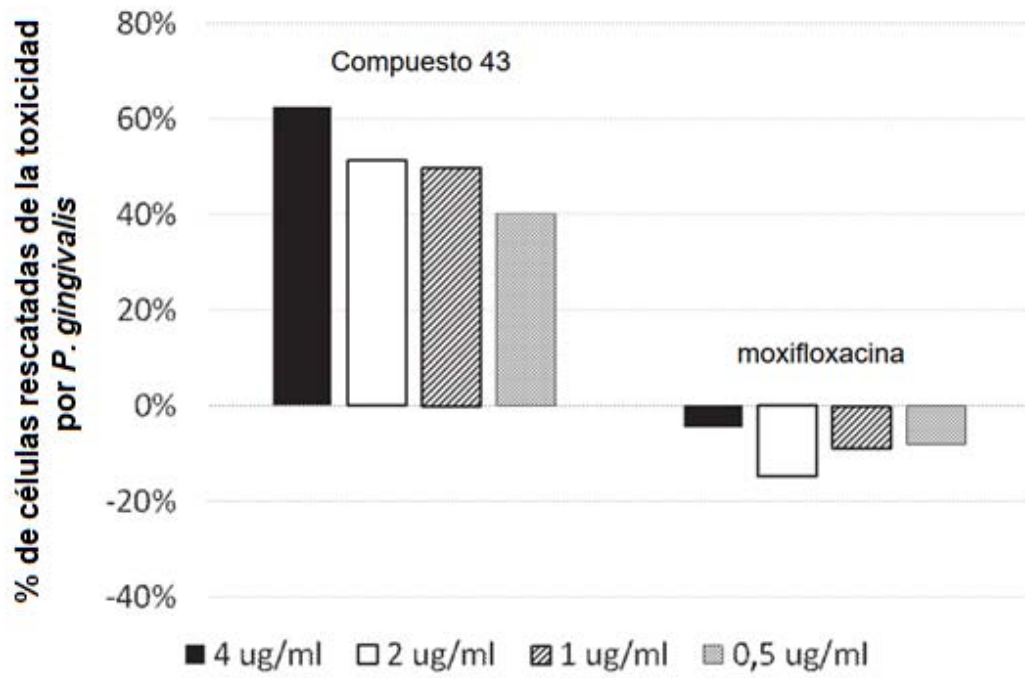


Fig. 4

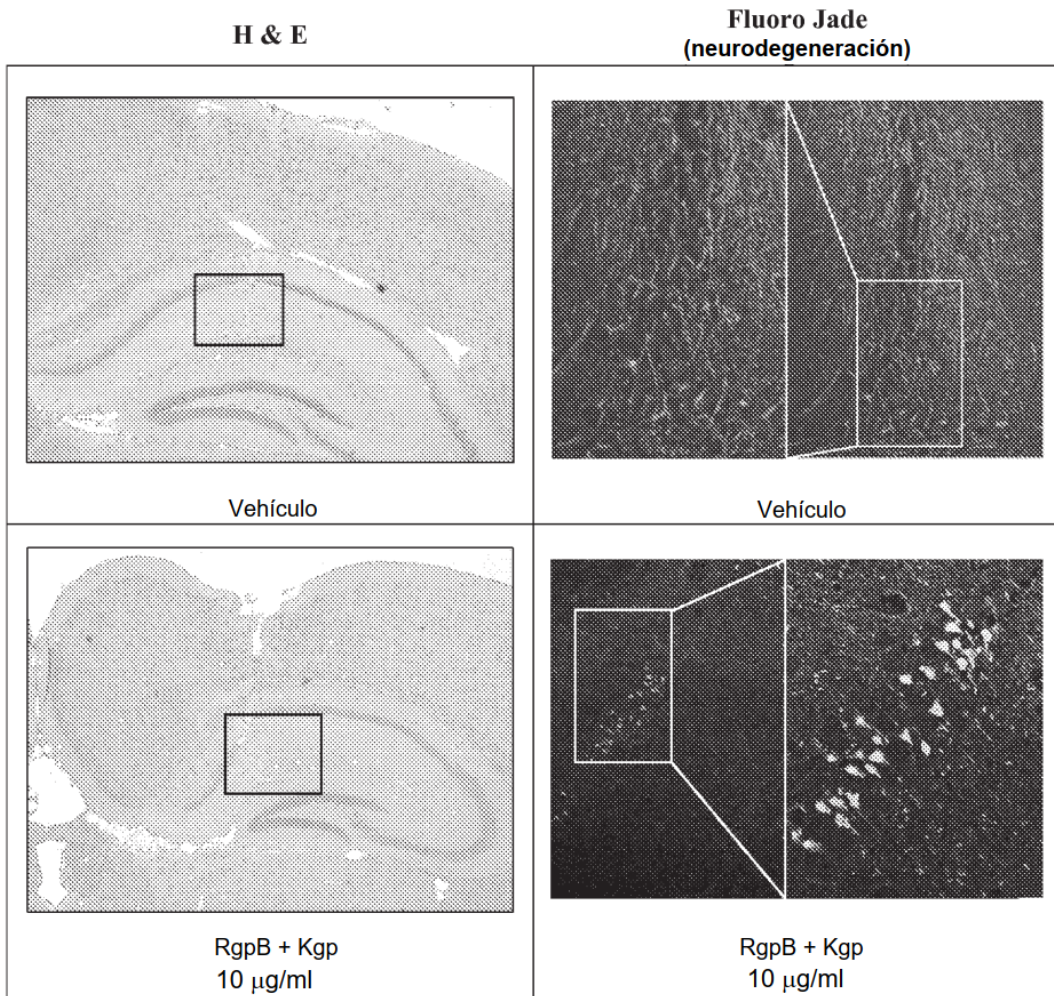


Fig. 5

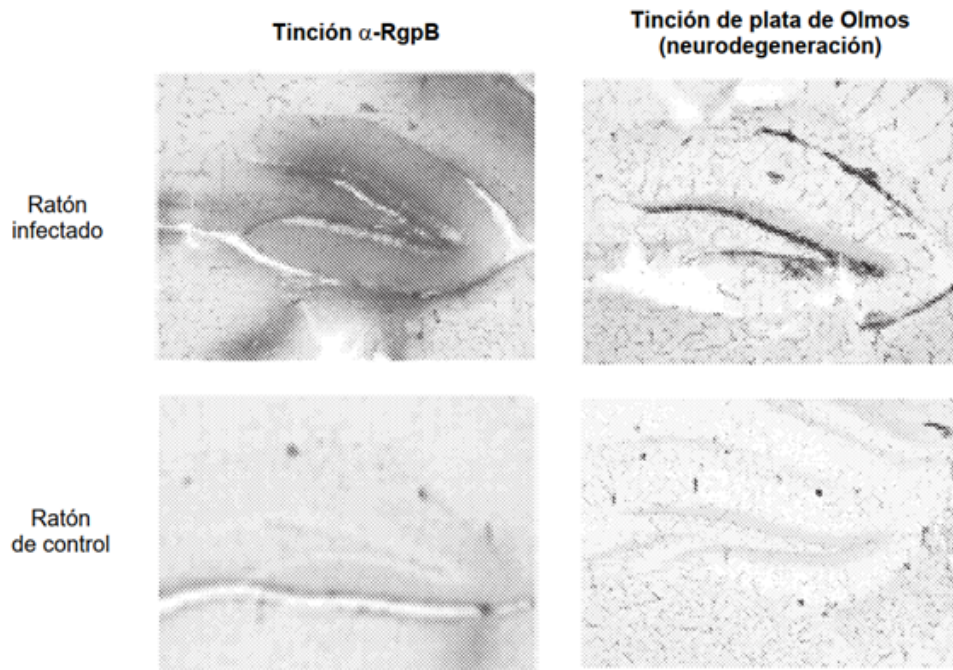


Fig. 6A

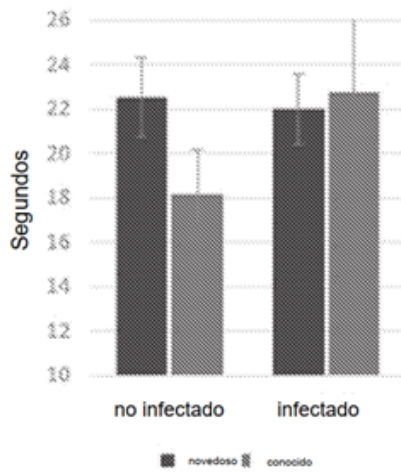


Fig. 6B

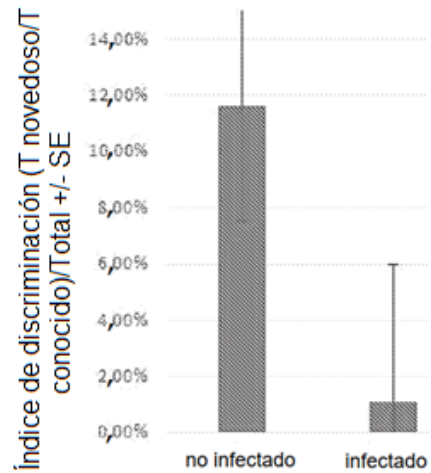


Fig. 7

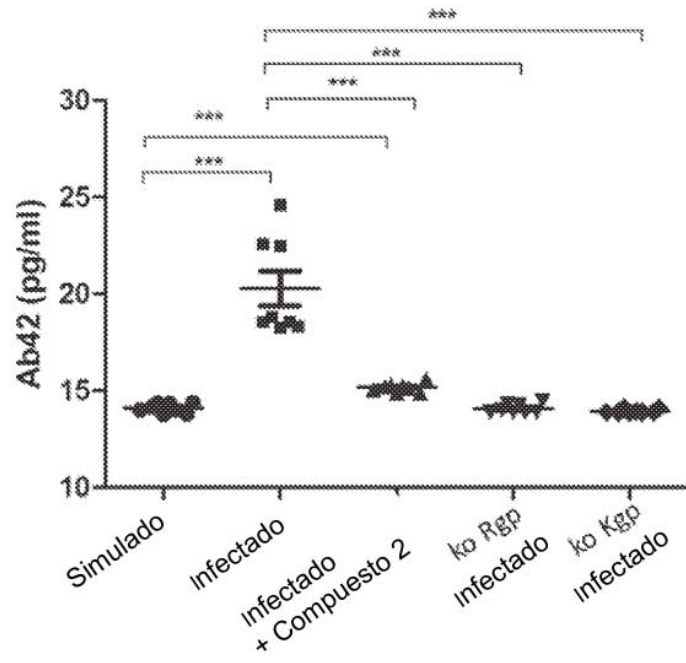


Fig. 8

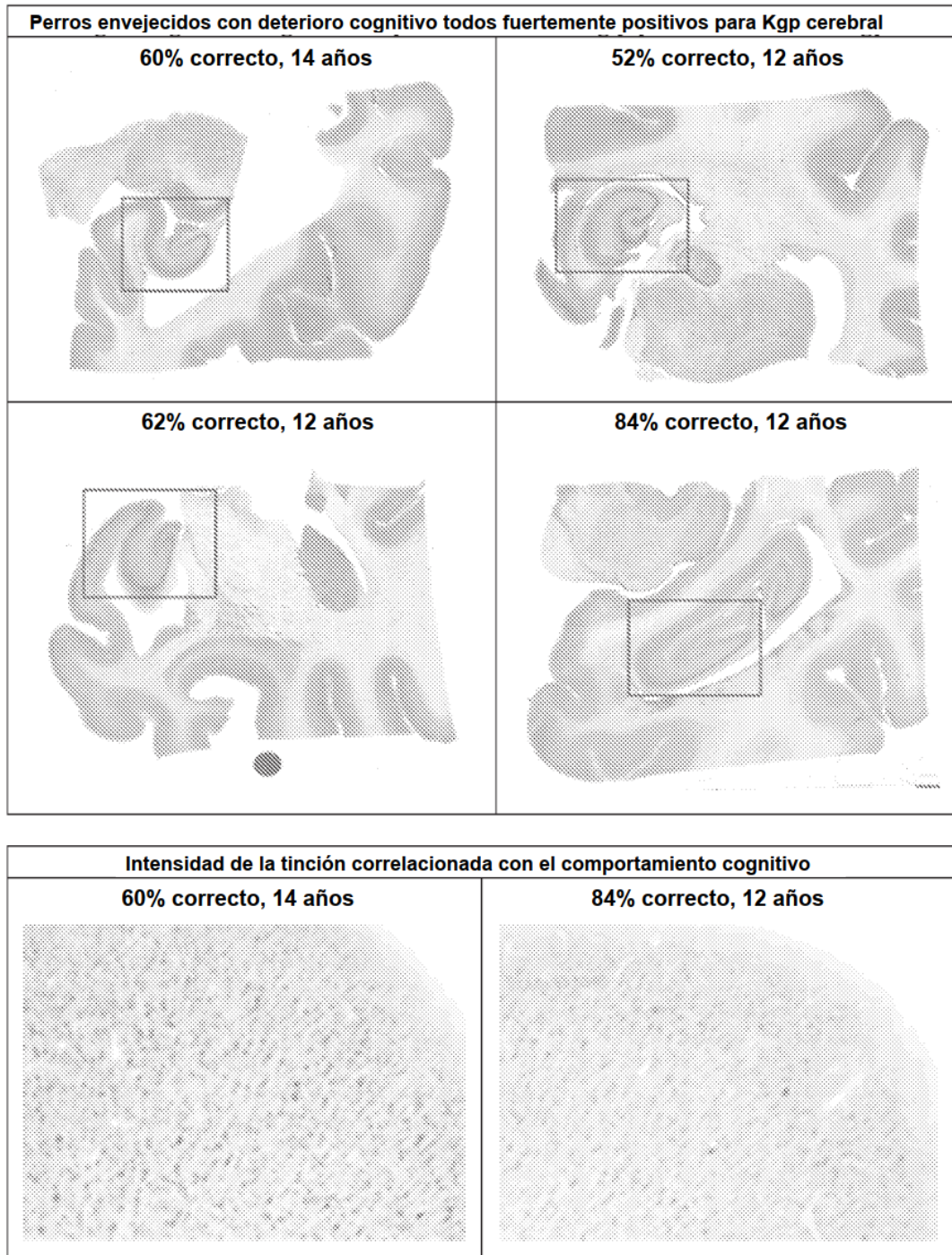


Fig. 9

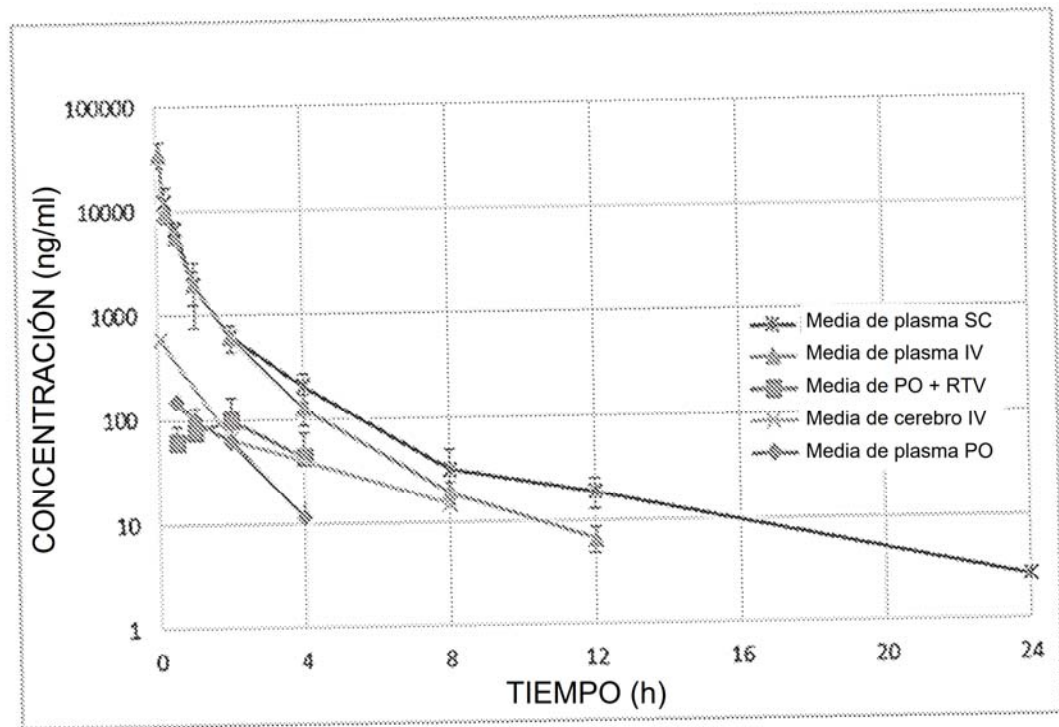


Fig. 10

