

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 405 054**

51 Int. Cl.:

C07D 413/14 (2006.01)

A61K 31/4245 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.01.2010 E 10701183 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.12.2012 EP 2382211**

54 Título: **Derivados de pirazol-1,2,4-oxadiazol como agonistas de esfingosina-1-fosfato**

30 Prioridad:

23.01.2009 US 146849 P

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

30.05.2013

73 Titular/es:

**BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY (100.0%)
Route 206 and Province Line Road
Princeton, NJ 05843-4000, US**

72 Inventor/es:

**DYCKMAN, ALARIC J.;
PITTS, WILLIAM J. y
WATTERSON, SCOTT HUNTER**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 405 054 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de pirazol-1, 2, 4-oxadiazol como agonistas de esfingosina-1-fosfato

La presente invención se refiere generalmente a compuestos de pirazol sustituidos útiles como agonistas de S1P₁. Están proporcionados en el presente documento compuestos de pirazol sustituidos, composiciones que comprenden
5 tales compuestos y procedimientos para su uso. La invención está relacionada adicionalmente con composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de acuerdo con la invención que es útil para el tratamiento de afecciones relacionadas con agonismo de S1P₁, tales como enfermedades autoinmunes y enfermedad cardiovascular.

Se ha demostrado que esfingosina-1-fosfato (S1P) induce muchos efectos celulares, incluyendo aquellos que resultan en agregación plaquetaria, proliferación celular, morfología celular, invasión de células tumorales, quimiotaxis de células endoteliales y quimiotaxis leucocitaria, angiogénesis *in vitro* de células endoteliales y tráfico linfocítico. Los receptores de S1P son por lo tanto buenos objetivos para una amplia diversidad de aplicaciones terapéuticas tales como inhibición de crecimiento tumoral, enfermedad vascular y enfermedades autoinmunes. S1P envía señales a las células en parte por medio de un grupo de receptores acoplados a proteínas G llamados S1P₁, o S1P₁, S1P₂ o S1P₂, S1P₃ o S1P₃, S1P₄ o S1P₄ y S1P₅ o S1P₅ (anteriormente llamados EDG-1, EDG-5, EDG-3, EDG-6 y EDG-8, respectivamente).
10

S1P es importante en el cuerpo humano completo como es también un regulador principal de los sistemas inmune y vascular. En el sistema vascular, S1P regula angiogénesis, estabilidad vascular y permeabilidad. En el sistema inmune, S1P se reconoce como un regulador principal de tráfico de células T y B. Se necesita interacción de S1P con su receptor S1P₁, para la salida de células inmunes de los órganos linfoides (tales como timo y nódulos linfáticos) en los vasos linfáticos. Por lo tanto, la modulación de receptores de S1P estaba mostrando ser crítica para inmunomodulación y los moduladores de receptor de S1P son agentes inmunosupresores novedosos.
15

El receptor S1P₁ se expresa en un número de tejidos. Es el miembro de la familia dominante expresado en linfocitos y juega un papel importante en tráfico de linfocitos. La regulación a la baja del receptor S1P₁, desbarata la migración de los linfocitos y la migración de regreso de los linfocitos a diversos tejidos. Esto da como resultado secuestro de los linfocitos en órganos linfáticos disminuyendo por lo tanto el número de linfocitos circulantes que son capaces de migración a los tejidos afectados. Así, el desarrollo de un agente receptor S1P₁ que suprime migración de linfocitos a los sitios objetivo asociados con procedimientos inflamatorios autoinmunes y aberrantes podría ser eficaz en un número de enfermedades autoinmunes y estados morbosos inflamatorios.
20

Entre los cinco receptores de S1P, S1P₁ tiene una distribución generalizada y es altamente abundante en células endoteliales donde trabaja en concierto con S1P₃ para regular la migración celular, la diferenciación y la función barrera. La inhibición de recirculación linfocitaria por modulación de receptor de SP1 no selectivo produce inmunosupresión clínica evitando rechazo de trasplantes, pero tal modulación también da como resultado bradicardia transitoria. Los estudios han mostrado que la actividad de S1P₁ está significativamente correlacionada con depleción de los linfocitos circulantes. En contraste, el agonismo de receptor S1P₃ no se requiere para eficacia. En cambio, la actividad de S1P₃ juega un papel significativo en la toxicidad aguda observada de agonistas de receptores de SP1 no selectivos, dando como resultado los efectos cardiovasculares indeseables, tales como bradicardia e hipertensión. (Véanse, *por ejemplo*, Hale y cols., *Bioorg. Med Chem. Lett.*, 14: 3501 (2004); Sanna y cols., *J. Biol. Chem.*, 279: 13839 (2004); Anliker y cols., *J. Biol. Chem.*, 279: 20555 (2004); Mandala y cols., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 309: 758 (2004)).
25

Un ejemplo de un agonista de S1P₁ es FTY720. Este compuesto inmunosupresor FTY720 (documento JPI 1080026-A) ha estado mostrando reducir linfocitos circulantes en animales y seres humanos y tener actividad moduladora en modelos animales de rechazo de órganos y trastornos inmunitarios. El uso de FTY720 en seres humanos ha sido efectivo en reducir la velocidad de rechazo de órganos en trasplante renal humano y en incrementar las velocidades de remisión en recaída de esclerosis múltiple remitente (véanse Brinkman y cols., *J. Biol. Chem.*, 277: 21453 (2002); Mandala y cols., *Science*, 296: 346 (2002); Fujino y cols., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 305: 45658 (2003); Brinkman y cols., *Am. J. Transplant.*, 4: 1019 (2004); Webb y cols., *J. Neu- roimmunol.*, 153: 108 (2004); Morris y cols., *Eur. J. Immunol.*, 35: 3570 (2005); Chiba, *Pharmacology & Therapeutics*, 108: 308 (2005); Kahan y cols., *Transplantation*, 76: 1079 (2003); y Kappos y cols., *N. Engl. J. Med.*, 335: 1124 (2006)). De forma subsiguiente a su descubrimiento, se ha establecido que FTY720 es un profármaco, que está fosforilado *in vivo* por esfingosina cinasas a un agente más biológicamente activo que tiene actividad agonista en los receptores S1P₁, S1P₃, S1P₄ y S1P₅. Es esta actividad sobre la familia S1P de receptores la que es responsable en gran medida de los efectos farmacológicos de FTY720 en animales y humanos.
30

Los estudios clínicos han demostrado que el tratamiento con FTY720 da como resultado bradicardia en las primeras 24 horas de tratamiento (Kappos y cols., *N. Engl. J. Med.*, 335: 1124 (2006)). Se piensa comúnmente que la bradicardia observada se debe a agonismo en el receptor S1P₃. Esta conclusión se basa en un número de experimentos basados en células y de experimentos con animales. Estos incluyen el uso de animales con S1P₃ desactivado que, a diferencia de ratones de tipo silvestre, no demuestran bradicardia tras administración de FTY720
35

y tras el uso de compuestos selectivos para S1P₁. (Hale y cols., Bioorg. Med. Chem. Lett., 14: 3501 (2004); Sanna y cols., J. Biol. Chem., 279: 13839 (2004); y Koyrakh y cols., Am. J. Transplant., 5: 529 (2005)).

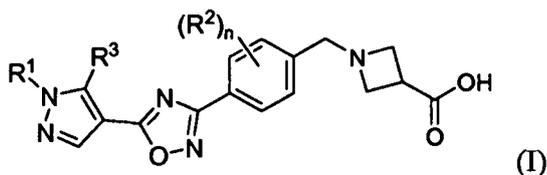
5 Las siguientes solicitudes han descrito compuestos como agonistas de S1P₁: documentos WO 03/061567 (Publicación de los EE.UU. N.º: 2005/0070506), WO 03/062248 (Publicación de los EE.UU. N.º: 7.351.725), WO 03/062252 (Publicación de los EE.UU. N.º: 2005/0033055), WO 03/073986 (Patente de los EE.UU. N.º: 7.309.721), WO 03/105771, WO 05/058848, WO 06/047195, WO 06/100633, WO 06/115188, WO 06/131336, WO 2007/024922, WO 07/116866, WO 08/023783 (Publicación de los EE.UU. N.º: 2008/0200535) y WO 08/074820. Véase además Hale y cols., J. Med. Chem., 47: 6662 (2004).

Aún queda una necesidad de compuestos útiles como agonistas de S1P₁ y que tengan aún selectividad sobre S1P₃.

10 Los solicitantes han encontrado compuestos potentes que tienen actividad como agonistas de S1P₁. Adicionalmente, los solicitantes han encontrado compuestos que tienen actividad como agonistas de S1P₁ y son selectivos por encima de S1P₃. Estos compuestos se proporcionan para ser útiles como productos farmacéuticos con estabilidad, biodisponibilidad, índice terapéutico y valores de toxicidad deseables que son importantes para su capacidad para convertirse en fármacos.

15 **Sumario de la invención**

La presente invención satisface la necesidad precedente proporcionando compuestos de Fórmula (I):



20 o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la que: n es cero o un número entero seleccionado desde 1 hasta 4;

R¹ es cicloalquilo, arilo, heteroarilo, o heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄ haloalquilo, bencilo, -OR⁴, y/o halógeno; cada R² está seleccionado independientemente de hidrógeno, alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno; R³ es hidrógeno, alquilo, haloalquilo, halógeno, -NR^aR^b, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, o heterociclilo, en los que dichos cicloalquilo, arilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar cada uno opcionalmente sustituidos con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno; cada R⁴ está seleccionado independientemente de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ to C₄, y/o bencilo; y R^a y R^b son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, y/o bencilo.

30 También se describen composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Se describe adicionalmente un procedimiento de tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con la actividad de receptor S1P₁ acoplado a proteínas G, comprendiendo el procedimiento administrar a un paciente mamífero un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 Los compuestos de Fórmula (I) y las composiciones que comprenden los compuestos son agonistas de S1P₁, que son selectivas para actividad S1P₁ sobre la actividad S1P₃. Los compuestos de Fórmula (I) y las composiciones que comprenden dichos compuestos se pueden usar en tratar, evitar o curar diversas afecciones relacionadas con receptor S1P₁ reduciendo o minimizando mientras los efectos secundarios debidos a la actividad de S1P₃. Las composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos son útiles en tratar, evitar, o ralentizar la progresión de enfermedades o trastornos en una diversidad de áreas terapéuticas, tales como enfermedades autoinmunes o cardiovasculares.

Descripción detallada

Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

45 n es cero o un número entero seleccionado desde 1 hasta 4;

R^1 es cicloalquilo C_3 to C_8 , arilo, heteroarilo, o heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes

seleccionados independientemente de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , bencilo, $-OR^4$, y/o halógeno;

5 cada R^2 está seleccionado independientemente de hidrógeno, alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno;

R^3 es alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , halógeno, $-NR^aR^b$, cicloalquilo C_3 a C_8 , arilo, heteroarilo, o heterociclilo,

en el que dicho cicloalquilo, arilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno a cinco sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno;

10 cada R^4 está seleccionado independientemente de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , y/o bencilo; y

R^a y R^b son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo C_1 a C_6 , y/o bencilo.

Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que n es cero o 1.

15 Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que n es cero.

Una realización proporciona una sal de ácido trifluoroacético de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I).

20 Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^1 es arilo opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno. Preferentemente, R^1 es fenilo. Por ejemplo, esta realización proporciona compuestos de Fórmula (I) en los que n es cero o 1. Preferentemente, R^3 es alquilo C_1 a C_4 , haloalquilo C_1 a C_2 , halógeno, $-NH$ (alquilo C_1 a C_4), cicloalquilo C_3 a C_6 , fenilo, o piridinilo, en el que dichos cicloalquilo, fenilo y piridinilo pueden estar opcionalmente sustituidos con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno. Están incluidos en esta realización compuestos en los que R^1 es arilo, preferentemente fenilo, opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , bencilo, $-OR^4$, y/o halógeno; y R^3 es haloalquilo, $-NR^aR^b$, cicloalquilo, heteroarilo, o heterociclilo, en los que dicho cicloalquilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar cada uno opcionalmente sustituidos con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno.

30 Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^1 es fenilo opcionalmente sustituido con uno, dos, o tres sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno; R^3 es alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , halógeno, $-NR^aR^b$, cicloalquilo C_3 a C_6 , fenilo, o piridilo; R^4 es alquilo C_1 a C_4 ; y R^a y R^b son independientemente hidrógeno y/o alquilo C_1 a C_6 . Por ejemplo, esta realización proporciona compuestos de Fórmula (I) en los que n es cero o 1; y preferentemente, n es cero. Otros ejemplos de esta realización incluyen compuestos en los que R^3 es metilo, etilo, 1-propilo, ciclopentilo, trifluorometilo, bromo, cloro, fenilo, 2-piridilo, o $-NHR^a$; y compuesto en el que R^a es metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, n-butilo, o isobutilo.

40 Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^1 es cicloalquilo, heteroarilo, o heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituida con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , bencilo, $-OR^4$, y/o halógeno. Grupos adecuados para R^1 incluyen cicloalquilo C_3 a C_8 , heteroarilos de 1 anillo que tienen uno o dos heteroátomos seleccionados independientemente de N, O, y S; y heteroarilos de 1 anillo que tienen uno o dos heteroátomos independientemente seleccionados de N, O y S. Ejemplos de grupos R^1 adecuados incluyen, pero no están limitados a, ciclopentilo, ciclohexilo, fenilo, piridinilo, pirimidinilo, pirazolilo y piperidinilo. Esta realización proporciona compuestos de Fórmula (I) en los que n es cero o 1; y preferentemente, n es cero. Otros ejemplos de esta realización incluyen compuestos en los que R^3 es metilo, etilo, 1-propilo, ciclopentilo, trifluorometilo, bromo, cloro, fenilo, 2-piridilo, o $-NHR^a$; y compuesto en el que R^a es metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, n-butilo, o isobutilo. Están incluidos en esta realización compuestos en los que R^1 es cicloalquilo, heteroarilo, o heterociclilo, preferentemente ciclopentilo o piridinilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , bencilo, $-OR^4$, y/o halógeno; y R^3 es haloalquilo, $-NR^aR^b$, cicloalquilo, heteroarilo, o heterociclilo, en los que dicho cicloalquilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar cada uno opcionalmente sustituidos con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno.

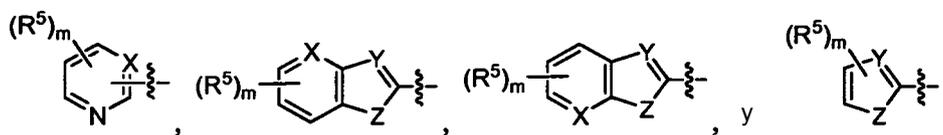
50 Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R^1 es cicloalquilo, opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de

alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, bencilo, -OR⁴, y/o halógeno. Grupos adecuados para R¹ incluyen grupos cicloalquilo C₃ a C₈ y grupos cicloalquilo C₃ a C₆. Esta realización proporciona compuestos de Fórmula (I) en los que n es cero o 1; y preferentemente, n es cero. Otros ejemplos de esta realización incluyen compuestos en los que R³ es metilo, etilo, 1-propilo, ciclopentilo, trifluorometilo, bromo, cloro, fenilo, 2-piridilo, o -NHR^a; y compuesto en el que R^a es metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, n-butilo, o isobutilo. Están incluidos en esta realización compuestos en los que R¹ es cicloalquilo, preferentemente ciclopentilo o ciclohexilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, bencilo, -OR⁴, y/o halógeno; y R³ es haloalquilo, -NR^aR^b, cicloalquilo, heteroarilo, o heterociclilo, en los que dicho cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno.

Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R¹ es un heteroarilo, opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, bencilo, -OR⁴, y/o halógeno. Grupos adecuados para R¹ incluyen heteroarilos de 1 y de 2 anillos que tienen uno a cuatro heteroátomos independientemente seleccionados de N, O y S. Otros grupos adecuados para R¹ incluyen heteroarilos de 1 y de 2 anillos que tienen un heteroátomo de nitrógeno y opcionalmente uno a tres heteroátomos distintos independientemente seleccionados de N, O y S. Ejemplos de grupos heteroarilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, pirrolilo, pirazolilo, pirazolinilo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, isotiazolilo, furanilo, tiofenilo, oxadiazolilo, piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, triazinilo, tetrazolilo e indolilo. Preferentemente, R¹ está sustituido con cero a tres sustituyentes; y más preferentemente, cero a dos sustituyentes. Otros ejemplos de esta realización incluyen compuestos en los que R³ es metilo, etilo, 1-propilo, ciclopentilo, trifluorometilo, bromo, cloro, fenilo, 2-piridilo, o -NHR^a; y compuesto en el que R^a es metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, n-butilo, o isobutilo. Están incluidos en esta realización compuestos en los que R¹ es heteroarilo, preferentemente un heteroarilo de 1 anillo tal como piridinilo, opcionalmente sustituidos con uno a cinco sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, bencilo, -OR⁴, y/o halógeno; y R³ es haloalquilo, -NR^aR^b, cicloalquilo, heteroarilo, o heterociclilo, en el que dichos cicloalquilo, heteroarilo, y heterociclilo pueden estar sustituidos cada uno opcionalmente con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno. Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

R¹ está seleccionado de:

30



en las que:

- m es 0, 1, 2, o 3;
- 35 X e Y son cada uno independientemente nitrógeno (N) y/o CR⁵;
- Z es oxígeno (O), azufre (S), o N-R⁶;
- cada R⁵ está independientemente seleccionado de alquilo C₁ to C₄, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno;
- R⁶ es alquilo C₁ a C₄ o bencilo; y
- cada R⁴ está independientemente seleccionado de alquilo C₁ a C₄.

40 Esta realización proporciona compuestos de Fórmula (I) en los que n es cero o 1; y preferentemente, n es cero.

Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- R¹ es 2-piridilo opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₄, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno;
- 45 R³ es alquilo C₁ a C₄, cicloalquilo C₃ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, halógeno, fenilo, piridilo, o -NR^aR^b; R⁴ es alquilo C₁ a C₄; y

R^a y R^b son cada uno independientemente hidrógeno y/o alquilo C₁ a C₄.

Esta realización proporciona compuestos de Fórmula (I) en los que n es cero o 1; y preferentemente, n es cero.

Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R¹ es un heterociclilo, opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, bencilo, -OR⁴, y/o halógeno. Grupos adecuados para R¹ incluyen heterociclilos de 1 y 2 anillos que tienen uno a tres heteroátomos seleccionados independientemente de N, O, y S. Otros grupos adecuados para R¹ incluyen heterociclilos de 1 y 2 anillos que tienen un heteroátomo de nitrógeno y opcionalmente uno o dos heteroátomos distintos seleccionados independientemente de N, O y S. Ejemplos de grupos heterociclilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, oxetanilo, azetidino, pirrolidino, imidazolinilo, oxazolidinilo, isoxazolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo, tetrahidrofurano, piperidino, piperazino, 2-oxopiperazino, 2-oxopiperidino, 2-oxopirrolidino, 2-oxoazepino, azepino, 4-piperidino, tetrahidropirano, morfolino, tiamorfolino, tiamorfolinilsulfóxido, tiamorfolinilsulfona, 1,3-dioxolano, tetrahydro-1,1-dioxotieno y quinuclidino. Otros ejemplos de esta realización incluyen compuestos en los que R³ es metilo, etilo, 1-propilo, ciclopentilo, trifluorometilo, bromo, cloro, fenilo, 2-piridilo, o -NHR^a; y compuesto en el que R^a es metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, n-butilo, o isobutilo. Están incluidos en esta realización compuestos en los que R¹ es heterociclilo, preferentemente heterociclilo de 1 anillo, opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, bencilo, -OR⁴, y/o halógeno; y R³ es haloalquilo, -NR^aR^b, cicloalquilo, heteroarilo, o heterociclilo, en los que dicho cicloalquilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar cada uno opcionalmente sustituidos con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno.

Una realización proporciona un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado del grupo que consiste en:

ácido 1-(4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

ácido 1-(4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

25 ácido 1-(4-(5-(5-(isopropilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

ácido 1-(4-(5-(5-(etilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

ácido 1-(4-(5-(5-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

ácido 1-(4-(5-(5-propil-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

ácido 1-(4-(5-(5-ciclopentil-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

30 ácido 1-(4-(5-(1-(6-etoxipiridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

ácido 1-(4-(5-(1-ciclohexil-5-metil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

ácido 1-(4-(5-(5-fenil-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

ácido 1-(4-(5-(5-cloro-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

ácido 1-(4-(5-(5-(isobutilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

35 ácido 1-(4-(5-(5-(n-butilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

ácido 1-(4-(5-(5-bromo-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

y ácido 1-(4-(5-(1-fenil-5-(piridin-3-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico. Los compuestos de esta realización pueden proporcionarse como sales de ácido 2,2,2-trifluoroacético.

40 Una realización proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Una realización proporciona un procedimiento de tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con la actividad de receptor S1P₁ acoplado a proteínas G, el procedimiento comprende administrar a un paciente mamífero de un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Definiciones

45 Las características y ventajas de la invención pueden ser más fácilmente entendibles por aquellos de habilidad normal en la técnica tras leer la siguiente descripción detallada. Se apreciará que ciertas características de la invención que se describen anteriormente y más adelante, por razones de claridad, en el contexto de realizaciones

diferentes, también pueden proporcionarse combinadas para formar una única realización. Por el contrario, diversas características de la invención que se describen, para mayor brevedad, en el contexto de una única realización, también pueden combinarse de tal manera que formen subcombinaciones de los mismos. Las realizaciones identificadas en el presente documento como ejemplares o preferidas se desean para ser ilustrativas y no limitantes.

- 5 A menos que se indique específicamente lo contrario, las referencias hechas en singular pueden incluir también el plural. Por ejemplo, "un" y "uno" pueden hacer referencia bien a uno, o bien a uno o más.

A menos que se indique lo contrario, se asume que cualquier heteroátomo con valencias insatisfechas tiene átomos de hidrógeno suficientes para satisfacer las valencias.

- 10 Las definiciones expuestas en el presente documento tienen prioridad sobre las definiciones expuestas en cualquier patente, solicitud de patente y/o publicación de solicitud de patente incorporada en el presente documento por referencia.

Están enumeradas a continuación definiciones de diversos términos usados para describir la presente invención. Estas definiciones se aplican a los términos según se usan a lo largo de la especificación (a menos que estén limitados de otra manera en ejemplos específicos) bien individualmente o bien como parte de un grupo más grande.

- 15 A lo largo de la memoria descriptiva, los grupos y sustituyentes de los mismos se pueden elegir por alguien experto en la técnica para proporcionar restos y compuestos estables.



De acuerdo con una convención usada en la técnica,

se usa en fórmulas estructurales en el presente documento para representar el enlace que es el punto de unión del resto o sustituyente a la estructura del núcleo o armazón.

- 20 Los términos "halo" y "halógeno", tal como se usa en el presente documento, se refieren a F, Cl, Br, o I.

El término "alquilo" como se usa en el presente documento, hace referencia tanto a grupos ramificados como a grupos hidrocarburos alifáticos saturados de cadena lineal que contienen, por ejemplo, desde 1 hasta 12 átomos de carbono, desde 1 hasta 6 átomos de carbono y desde 1 hasta 4 átomos de carbono. Ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo (Me), etilo (Et), propilo (por ejemplo, n-propilo e i-propilo), butilo (por ejemplo, n-butilo, i-butilo, sec-butilo y t-butilo) y pentilo (*por ejemplo*, n-pentilo, isopentilo, neopentilo), n-hexilo, 2-metilpentilo, 2-etilbutilo, 3-metilpentilo y 4-metilpentilo. Cuando los números aparecen en un subíndice después del símbolo "C", el subíndice describe con más especificidad el número de átomos de carbono que puede contener un grupo particular. Por ejemplo, "alquilo C₁-C₆" designa grupos lineales y ramificados con uno a seis átomos de carbono.

- 30 El término "haloalquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo en el que uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan con átomo(s) de halógeno(s), el número de los cuales puede variar desde uno hasta el número total de átomos de hidrógeno que podrían existir en el grupo alquilo parental. Ejemplos representativos de grupos haloalquilo incluyen, pero no se limitan a, clorometilo (CH₂Cl-), trifluorometilo (CF₃-) y 2,2,2-trifluoroetilo (CF₃CH₂-). Cuando los números aparecen en un subíndice después del símbolo "C", el subíndice describe con más especificidad el número de átomos de carbono que puede contener un grupo haloalquilo particular. Por ejemplo, "haloalquilo C₁-C₄" designa grupos haloalquilo de cadena lineal y ramificada con uno a seis átomos de carbono.

- 40 El término "cicloalquilo," como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo derivado de una molécula de hidrocarburo monocíclica o policíclica por eliminación de un átomo de hidrógeno a partir de un átomo de carbono de anillo saturado. Ejemplos representativos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no están limitados a, ciclopropilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Cuando los números aparecen en un subíndice después del símbolo "C", el subíndice describe con más especificidad el número de átomos de carbono que puede contener un grupo cicloalquilo particular. Por ejemplo, "cicloalquilo C₃-C₆", designa grupos cicloalquilo con tres a seis átomos de carbono.

El término "alcoxi", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo unido al resto molecular parental por un átomo de oxígeno, por ejemplo, grupo metoxi (-OCH₃).

- 45 El término "arilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo de átomos derivado de una molécula que contiene anillo(s) eliminando un hidrógeno que está unido al/a los anillo(s) aromático(s). Los ejemplos representativos de grupos arilo incluyen, pero no están limitados a, fenilo, naftilo, indanilo, indenilo y 1,2,3,4-tetrahidronaft-5-ilo.

- 50 El término "bencilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo metilo en el que uno de los átomos de hidrógeno se reemplaza por un grupo fenilo.

El término "heteroátomo" como se usa en el presente documento se refiere a oxígeno, azufre y nitrógeno.

El término "heterociclilo" como se usa en el presente documento se refiere a grupos monocíclicos no aromáticos de de 3 a 7 miembros, grupos bicíclicos de 7 a 11 miembros y grupos tricíclicos de 11 a 15 miembros, en los que al menos uno de los anillos tiene al menos un heteroátomo (O, S o N), teniendo dicho anillo que contiene heteroátomos preferentemente 1, 2, o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de O, S, y/o N. Cada anillo de un grupo tal que contenga un heteroátomo puede contener dos átomos de oxígeno o azufre y/o de uno a cuatro átomos de nitrógeno dado que el número total de heteroátomos en cada anillo es cuatro o menos, y dado adicionalmente que el anillo contiene al menos un átomo de carbono. Los átomos de nitrógeno y de azufre pueden estar opcionalmente oxidados y los átomos de nitrógeno pueden estar opcionalmente cuaternizados. Los anillos condensados que completan los grupos bicíclico y tricíclico pueden contener solamente átomos de carbono y pueden estar saturados, parcialmente saturados o insaturados. El grupo heterociclo puede estar unido a un nitrógeno disponible o a un átomo de carbono.

Los grupos ejemplares heterocíclicos monocíclicos incluyen oxetaniolo, azetidiniolo, pirrolidiniolo, imidazoliniolo, oxazolidiniolo, isoxazoliniolo, tiazolidiniolo, isotiazolidiniolo, tetrahidrofuranilo, piperidilo, piperaziniolo, 2-oxopiperaziniolo, 2-oxopiperidilo, 2-oxopirrolidiniolo, 2-oxoazepiniolo, azepiniolo, 4-piperidoniolo, tetrahidropiraniolo, morfoliniolo, tiamorfoliniolo, tiamorfoliniolsulfóxido, tiamorfoliniolsulfona, 1,3-dioxolano y tetrahidro-1,1-dioxotienilo y similares. Los grupos heterociclo bicíclicos ejemplares incluyen quinucidiniolo.

El término "heteroarilo" como se usa en el presente documento se refiere a grupos monocíclicos de 5 o 6 miembros aromáticos, grupos bicíclicos de 9 a 10 miembros y grupos tricíclicos de 11 a 14 miembros que tienen al menos un heteroátomo (O, S o N) en al menos uno de los anillos, teniendo dicho anillo que contiene heteroátomos preferentemente 1, 2, o 3 heteroátomos seleccionados independientemente de O, S, y/o N. Cada anillo del grupo heteroarilo que contiene un heteroátomo puede contener 1 o dos átomos de oxígeno o de azufre y/o de uno a cuatro átomos de nitrógeno dado que el número total de heteroátomos en cada anillo es cuatro o menos y cada anillo tiene al menos un átomo de carbono. Los anillos condensados que completan los grupos bicíclico y tricíclico pueden contener solamente átomos de carbono y pueden estar saturados, parcialmente saturados o insaturados. Los átomos de nitrógeno y de azufre pueden estar opcionalmente oxidados y los átomos de nitrógeno pueden estar opcionalmente cuaternizados. Los grupos heteroarilo que son bicíclicos o tricíclicos deben incluir al menos un anillo totalmente aromático pero el otro anillo o los otros anillos condensados pueden ser aromáticos o no aromáticos. El grupo heteroarilo puede estar unido en cualquier nitrógeno disponible o en cualquier átomo de carbono de cualquier anillo.

Los grupos heteroarilo monocíclicos ejemplares incluyen pirrolilo, pirazolilo, pirazoliniolo, imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, isotiazolilo, furanilo, tiofenilo, oxadiazolilo, piridinilo, piraziniolo, pirimidiniolo, piridaziniolo, triaziniolo y tetrazolilo.

Los grupos heteroarilo bicíclicos ejemplares incluyen indolilo, benzotiazolilo, benzodioxolilo, benzoxazolilo, benzotienilo, quinoliniolo, tetrahidroisoquinoliniolo, isoquinoliniolo, bencimidazolilo, benzopiraniolo, indoliziniolo, benzofuranilo, cromonilo, cumarinilo, benzopiraniolo, cinoliniolo, quinoxaliniolo, indazolilo, pirrolopiridilo, furopiridilo, dihidroisoindolilo y tetrahidroquinoliniolo.

Los grupos heteroarilo tricíclicos ejemplares incluyen carbazolilo, bencindolilo, fenantroliniolo, acridiniolo, fenantridiniolo y xantenilo.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente memoria para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones, y/o formas farmacéuticas que son, según el juicio médico cabal, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de los seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, que corresponde a una relación razonable entre beneficio y riesgo.

Tal como se usa en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados de los compuestos divulgados en los que el compuesto progenitor se modifica fabricando sales de ácidos o de bases del mismo. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; y sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales o las sales de amonio cuaternario del compuesto progenitor que se forman, por ejemplo, a partir de ácidos inorgánicos u orgánicos no tóxicos. Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención se pueden sintetizar a partir del compuesto progenitor que contiene un resto ácido o básico, mediante procedimientos químicos convencionales. Generalmente, tales sales se pueden preparar haciendo reaccionar las formas de base o ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o del ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente se prefieren medios no acuosos como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo. Las listas de las sales adecuadas se encuentran en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª Edición, Mack Publishing Company, Easton, PA, p. 1418, (1985), la divulgación de las cuales se incorpora en el presente documento mediante referencia.

La(s) sal(es) de los compuestos de Fórmula (I) se pueden formar, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto de Fórmula (I) con, por ejemplo, una cantidad equivalente de ácido o base en un medio que permite a la sal recién formada, por ejemplo, bien precipitarse aparte, o bien aislarse por medio de liofilización. La(s) sal(es) de ácidos ejemplares que puede(n) formar los compuestos de Fórmula (I) con ácidos inorgánicos y/o orgánicos incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, sales de acetato, ascorbato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, bitartrato, citrato ácido, citrato, etanosulfonato, formiato, fumarato, gentisinato, gluconato, glucaronato, glutamato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, isonicotinato, maleato, mesilato, metanosulfonato, nitrato, pantotenato, fosfato, fosfato ácido, sacarato, salicilato, succinato, sulfato, tartrato, p-toluenosulfonato, trifluoroacetato, lactato y pamoato [*es decir*, 1,1'-metileno-bis-(2-hidroxi-3-naftoato)]. Tales sales se pueden formar de acuerdo con procedimientos conocidos para una persona de habilidad ordinaria en la técnica.

La(s) sal(es) de bases ejemplares que puede(n) formar los compuestos de Fórmula (I) con ácidos inorgánicos y/o orgánicos incluyen, pero no se limitan a, por ejemplo, sales de amonio; sales de metales alcalinos, tales como, por ejemplo, sales de sodio, litio y potasio; sales de metales alcalinotérreos, tales como, por ejemplo, sales de calcio y de magnesio; sales formadas con bases orgánicas, tales como, por ejemplo, benzatinas, dicitclohexilaminas, 2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol (trisamina o tris), hidrabaminas (tales como, por ejemplo, N,N-bis(dehidroabietil)etilnodiamina), N-metil-D-glucaminas, N-metil-D-glucomidas y t-butilaminas; sales formadas con aminoácidos, tales como, por ejemplo, arginina y lisina; y sales formadas usando agentes, tales como, por ejemplo, haluros de alquilo inferiores (*por ejemplo*, cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo), sulfatos de dialquilo (*por ejemplo*, sulfatos de dimetilo, dietilo, dibutilo y diamilo), haluros de cadena larga (*por ejemplo*, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, miristilo y esterarilo) y haluros de aralquilo (*por ejemplo*, bromuros de n-bencilo y bromuros de fenetilo) para cuaternizar grupos que contienen nitrógeno básicos. Tales sales se pueden formar de acuerdo con procedimientos conocidos para una persona de habilidad ordinaria en la técnica.

Además, los compuestos de Fórmula (I) son, después de su preparación, preferentemente aislados y purificados para obtener una composición que contiene una cantidad en peso igual o superior al 99 % de un compuesto de Fórmula (I) ("sustancialmente puro"), que después se usa o se formula como se describe en el presente documento. Tales compuestos "sustancialmente puros" de Fórmula I se contemplan también en el presente documento como parte de la presente invención.

Cualquier compuesto que pueda convertirse *in vivo* para proporcionar el agente bioactivo (*es decir*, un compuesto de Fórmula (I)) es un profármaco dentro del alcance y del espíritu de la invención.

El término "profármacos" tal como se emplea en el presente documento, incluye los ésteres y carbonatos que se forman haciendo reaccionar uno o más hidroxilos de compuestos de Fórmula (I) con agentes acilantes sustituidos con alquilo, alcoxi, o arilo, empleando procedimientos conocidos por los expertos en la técnica para generar acetatos, pivalatos, metilcarbonatos, benzoatos y similares.

Son bien conocidos en la técnica diversas formas de profármacos y se describen en:

- a) Wermuth, C.G. y cols., *The Practice of Medicinal Chemistry*, Capítulo 31, Academic Press (1996);
- b) *Design of Prodrugs*, H. Bundgaard, ed., Elsevier (1985);
- c) Bundgaard, H., Capítulo 5, "Design and Application of Prodrugs", *A Textbook of Drug Design and Development*, páginas 113-191, Krosgaard-Larsen, P. y cols., eds., Harwood Academic Publishers (1991); y
- d) Testa, B. y cols., *Hydrolysis in Drug and Prodrug Metabolism*, Wiley-VCH (2003).

Además, los compuestos de la Fórmula (I) son, después de su preparación, preferentemente aislados y purificados para obtener una composición que contiene una cantidad en peso igual o superior a compuesto de Fórmula (I) al 99 % (compuesto I "sustancialmente puro"), que después se usa o se formula como se describe en el presente documento. Tales compuestos "sustancialmente puros" de la Fórmula I se contemplan también en el presente documento como parte de la presente invención.

"Compuesto estable" y "estructura estable" se pretende que indiquen un compuesto que es suficientemente resistente para sobrevivir al aislamiento en un grado de pureza útil a partir de una mezcla de reacción y a la formulación en un agente terapéutico eficaz. Se pretende que la presente invención realice compuestos estables.

Se pretende que "cantidad terapéuticamente efectiva" incluya una cantidad de un compuesto de la presente invención solo o una cantidad de la combinación de compuestos reivindicada o una cantidad de un compuesto de la presente invención en combinación con otros ingredientes activos efectivos para regular al alza S1P₁ o para tratar o evitar enfermedad vascular o enfermedades autoinmunes .

Tal como se usa en el presente documento, "tratar" o "tratamiento" abarca el tratamiento de un estado de enfermedad en un mamífero, particularmente en un ser humano, e incluye: (a) evitar que el estado de enfermedad tenga lugar en un mamífero, en particular, cuando dicho mamífero está predispuesto al estado de enfermedad pero

todavía no se ha diagnosticado que lo tenga; (b) inhibir el estado de enfermedad, *es decir*, su desarrollo; y/o (c) aliviar el estado de enfermedad, *es decir*, provocar la regresión del estado de enfermedad.

Los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos adicionales y por lo tanto existir en dos o más formas estereoisómeras. La presente invención incluye todos los estereoisómeros individuales posibles, las formas tautómeras individuales de los mismos, conjuntamente con las mezclas de los mismos. La separación de diastereómeros se puede lograr por técnicas convencionales, por ejemplo, por cristalización fraccional, cromatografía o HPLC de una mezcla estereoisómera de un compuesto de la presente invención, o de una sal adecuada o derivado adecuado del mismo. Un enantiómero individual del compuesto puede prepararse también a partir de un intermedio ópticamente puro correspondiente o por resolución, tal como por HPLC del racemato correspondiente usando un soporte quiral o por cristalización fraccional de las sales diastereoméricas formadas por reacción del racemato correspondiente con un ácido o base ópticamente activo adecuado, según sea apropiado. Se contemplan todos los estereoisómeros de los compuestos de la presente invención, tanto en mezcla como en forma pura o sustancialmente pura.

Se pretende que los compuestos de la presente invención incluyan todos los isótopos de átomos que aparecen en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen los átomos que tienen el mismo número atómico pero diferentes números másicos. Como ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio y tritio. Los isótopos de carbono incluyen ^{13}C y ^{14}C . Los compuestos marcados con isótopos de la invención generalmente se pueden preparar por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procesos análogos a los descritos en el presente documento, usando un reactivo marcado con isótopo apropiado en lugar del reactivo no marcado que se usa en otros casos.

También está abarcada en la presente invención una clase de composiciones farmacéuticas que comprende los compuestos activos de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en asociación con uno o más vehículos no tóxicos, farmacéuticamente aceptables y/o diluyentes y/o coadyuvantes (referidos colectivamente para el presente documento como materiales "vehículo") y si se desea, otros principios activos. Los compuestos de Fórmula (I) pueden administrarse por cualquier vía adecuada, preferentemente en forma de una composición farmacéutica adaptada a una vía tal y en una dosis eficaz para el tratamiento pretendido. Por ejemplo, los compuestos y composiciones de la presente invención, pueden, por ejemplo administrarse oralmente, mucosalmente o parenteralmente incluyendo intravascularmente, intravenosamente, intraperitonealmente, subcutáneamente, intramuscularmente, intraesternalmente y por técnicas de infusión, en formulaciones de unidades de dosificación que contienen vehículos, coadyuvantes y excipientes farmacéuticamente aceptables. Por ejemplo, el vehículo farmacéutico puede contener una mezcla de manitol o lactosa y celulosa microcristalina. La mezcla puede contener componentes adicionales tales como un agente lubricante, *por ejemplo*, estearato de magnesio y un agente disgregante tal como crospovidona. La mezcla de vehículo puede cargarse en una cápsula de gelatina o comprimirse como un comprimido.

Los compuestos farmacéuticamente activos de la presente invención se pueden procesar de acuerdo con procedimientos convencionales de farmacia para producir agentes medicinales para su administración a pacientes, incluidos seres humanos y otros mamíferos.

Para administración oral, la composición farmacéutica puede estar en forma de, por ejemplo, un comprimido, cápsula, suspensión o líquido. Preferentemente, la composición farmacéutica se prepara en forma de una unidad de dosificación que contiene una cantidad particular del principio activo. Son ejemplos de estas unidades de dosificación los comprimidos o las cápsulas. Por ejemplo, pueden contener una cantidad de principio activo de aproximadamente 1 a 2000 mg, preferentemente de aproximadamente 1 a 500 mg, más preferentemente de aproximadamente 5 a 150 mg. Una dosis diaria adecuada para un ser humano u otro mamífero puede variar ampliamente en función de la afección del paciente y de otros factores, pero, una vez más, se puede determinar usando procedimiento rutinarios.

Las cantidades de compuestos que se administran y la pauta de dosificación para tratar una afección patológica con los compuestos y/o composiciones de la presente invención dependen de una variedad de factores, incluidos la edad, el peso, el sexo y el estado médico del sujeto, el tipo de enfermedad, la gravedad de la enfermedad, la vía y la frecuencia de administración y el compuesto empleado en particular. Así, la pauta de dosificación puede variar ampliamente, pero se puede determinar de forma rutinaria usando procedimientos estándar. Una dosis diaria de aproximadamente 0,01 a 1500 mg/kg de peso corporal, preferentemente entre aproximadamente 0,5 y aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal y lo más preferentemente entre aproximadamente 0,1 a 20 mg/kg de peso corporal, puede ser apropiada. Se puede administrar la dosis diaria en de una a cuatro dosis al día.

Con fines terapéuticos, los compuestos activos de la presente invención se combinan normalmente con uno o más adyuvantes apropiados para la vía de administración indicada. Si se administran oralmente, se pueden mezclar los compuestos con lactosa, sacarosa, polvo de almidón, ésteres de ácidos alcanoicos de celulosa, ésteres de alquilo de celulosa, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, óxido de magnesio, sales de ácido fosfórico y sulfúrico de sodio y calcio, gelatina, goma arábiga, alginato sódico, polivinilpirrolidona y/o alcohol polivinílico, y después formar comprimidos o cápsulas para facilitar su administración. Estas cápsulas o comprimidos pueden contener una

formulación de liberación controlada, como se puede proporcionar en una dispersión de compuesto activo en hidroxipropilmetilcelulosa.

La fase oleosa de las emulsiones que comprenden compuestos de Fórmula (I) se puede constituir a partir de ingredientes conocidos de una manera conocida. Aunque la fase puede comprender simplemente un emulsionante, puede comprender una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o con una grasa y un aceite. Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo conjuntamente con un emulsionante lipófilo que actúa como un estabilizador. También se prefiere incluir un aceite y una grasa. El/los emulsionante(s) con o sin estabilizador(es) constituyen conjuntamente la así llamada cera emulsionante, y la cera junto con el aceite y la grasa constituye la llamada base de pomada emulsionante que forma la fase dispersa oleosa de las formulaciones de crema. Los emulsionantes y estabilizantes de emulsiones adecuadas para su uso en la formulación de la presente invención incluyen Tween 60, Span 80, alcohol cetoestearílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo, lauril sulfato de sodio, diestearato de glicerilo solo o con una cera u otros materiales bien conocidos en la técnica.

La elección de aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en conseguir las propiedades cosméticas deseadas, dado que la solubilidad del compuesto activo en la mayoría de los aceites de uso probable en formulaciones de emulsión farmacéutica es muy baja. Por tanto, preferentemente, la crema debería ser un producto no graso, que no manche y lavable con consistencia adecuada para evitar fugas de tubos u otros recipientes. Se pueden usar ésteres de alquilo mono o dibásicos, de cadena lineal o ramificada, tales como di-isoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-etilhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada. Se pueden usar solos o en combinación, en función de las propiedades requeridas. De forma alternativa, se pueden usar lípidos con punto de fusión alto, tales como vaselina suave blanca y/o vaselina líquida u otros aceites minerales.

Las formulaciones para administración parenteral pueden estar en forma de soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles inyectables. Estas soluciones y suspensiones se pueden preparar a partir de polvos o gránulos estériles usando uno o más de los excipientes o diluyentes mencionados para su uso en las formulaciones para administración oral o usando otros agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. Los compuestos se pueden disolver en agua, polietilenglicol, propilenglicol, etanol, aceite de maíz, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, alcohol bencílico, cloruro sódico, goma de tragacanto y/o diversos tampones. En la técnica farmacéutica se conocen bien y ampliamente otros adyuvantes y modos de administración. El principio activo también se puede administrar por inyección como una composición con excipientes adecuados, incluidos solución salina, dextrosa o agua, o con ciclodextrina (es decir, CAPTISOL®), solubilización codisolvente (es decir, propilenglicol) o solubilización micelar (es decir Tween 80).

La preparación inyectable estéril también puede ser una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el agua, la solución de Ringer y la solución isotónica de cloruro sódico. Además, convencionalmente se emplean aceites fijos estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este propósito, se puede emplear cualquier aceite fijo suave, incluidos mono o diglicéridos sintéticos. Además, ácidos grasos tales como el ácido oleico encuentran uso en la preparación de sustancias inyectables.

Las composiciones farmacéuticas se pueden someter a operaciones farmacéuticas convencionales tales como esterilización y/o pueden contener adyuvantes convencionales, tales como conservantes, estabilizantes, agentes humectantes, emulsionantes, tampones, etc. Adicionalmente, se pueden preparar comprimidos y pastillas con recubrimientos entéricos. Estas composiciones también pueden comprender adyuvantes, tales como agentes humectantes, edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden el compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y opcionalmente un agente adicional seleccionado de cualquier transportador, coadyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones alternativas de la presente invención comprenden un compuesto de las Fórmula (I) descritas en el presente documento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable.

Los excipientes, adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que se pueden usar en las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen, pero sin limitación, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, sistemas de administración de fármacos auto-emulsionantes (SEDDS) tales como d-alfa-tocoferol polietilenglicol 1000 succinato, tensioactivos usados en formas de dosificación farmacéuticas tales como Tween u otras matrices de administración poliméricas similares, proteínas séricas, tales como seroalbúmina humana, sustancias tamponadoras tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato potásico, mezclas de glicérido parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato potásico, cloruro sódico, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinil pirrolidona, sustancias a base de celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa sódica, poliácridatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxipileno, polietilenglicol y lanolina. También se pueden usar de forma ventajosa ciclodextrinas tales como alfa-, beta- y gamma-ciclodextrina, o derivados

modificados químicamente tales como hidroxialquilciclodextrinas, incluyendo 2 y 3-hidroxipropil-ciclodextrinas, u otros derivados solubilizados para potenciar la administración de compuestos de las fórmulas descritas en el presente documento.

Utilidad

5 El sistema inmune humano ha evolucionado para defender el cuerpo de microorganismos, virus y parásitos que pueden causar infección, enfermedad o muerte. Los mecanismos reguladores complejos aseguran que los diversos componentes celulares del sistema inmune tienen como objetivo las sustancias u organismos exógenos, mientras que no causen daño permanente o significativo al individuo. Mientras que los eventos iniciales no se entienden bien en este momento, en los estados morbosos autoinmunes el sistema inmune dirige su respuesta inflamatoria a los
10 órganos objetivo del individuo afectado. Diferentes enfermedades autoinmunes se caracterizan típicamente por el órgano o tejidos objetivo afectados de forma predominante o inicial; tales como la articulación en el caso de artritis reumatoide, la glándula tiroidea en el caso de tiroiditis de Hashimoto, el sistema nervioso central en el caso de esclerosis múltiple, el páncreas en el caso de diabetes tipo I y el intestino en el caso de enfermedad inflamatoria del intestino. Así se ha observado que los agentes terapéuticos que actúan sobre el sistema inmune o sobre ciertos
15 tipos celulares del sistema inmune (tales como linfocitos B y linfocitos T, células T) pueden tener utilidad en más de una enfermedad autoinmune.

Está bien reconocido en la técnica, incluyendo las referencias bibliográficas citadas en el presente documento, que los receptores SP1 son receptores buenos para una amplia diversidad de aplicaciones terapéuticas, incluyendo enfermedades autoinmunes. Los receptores de S1P hacen buenos objetivos de fármacos, debido a que los
20 receptores individuales son tanto específicos de tejidos como específicos de respuestas. La especificidad tisular de los receptores de S1P es importante, debido a que el desarrollo de un agonista o antagonista selectivo para un receptor localiza la respuesta celular a tejidos que contienen ese receptor, limitando efectos secundarios indeseados. La especificidad de respuesta de los receptores de S1P es también importante debido a que tiene en cuenta el desarrollo de agonistas o antagonistas que inicien o supriman ciertas respuestas celulares sin afectar a
25 otros procedimientos. Por lo tanto, los compuestos que actúan en algunos miembros de la familia de los receptores de S1P mientras que tienen actividad disminuida o no tienen ninguna actividad en otros miembros de la familia son deseables y se espera que proporcionen un efecto terapéutico con un perfil de efectos secundarios mejorado (*es decir*, reducción o eliminación de efectos secundarios indeseados).

Como se usa en el presente documento, el término "agonista" en referencia a S1P₁ se refiere a un agente que ejerce efectos farmacéuticos tales como motilidad disminuida de células T, tráfico disminuido de células T, o salida
30 disminuida de células T a partir de tejidos linfoides. (Rosen y cols., Trends in Immunology, 28: 102 (2007)).

En virtud de su actividad de S1P₁ como agonistas, los compuestos de la presente invención son agentes inmunorreguladores útiles para tratar o evitar enfermedades autoinmunes o enfermedades inflamatorias crónicas. Los compuestos de la presente invención son útiles para suprimir el sistema inmune en ejemplos donde la
35 inmunosupresión está organizada, tales como en rechazo de médula ósea, órganos o trasplantes, enfermedades autoinmunes o inflamatorias crónicas, incluyendo eritematosis de lupus sistémico, artritis reumatoide crónica, diabetes mellitus de tipo I, enfermedad inflamatoria del intestino, cirrosis biliar, uveítis, esclerosis múltiple, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, penfigoide buloso, sarcoidosis, soriasis, miositis autoinmune, granulomatosis de Wegener, ictiosis, oftalmología de Graves y asma.

Más particularmente, los compuestos de la presente invención son útiles para tratar o evitar una enfermedad o un trastorno seleccionado del grupo que consiste en: trasplante de órganos o tejido, enfermedades de injerto frente a
40 hospedador ocasionadas por trasplante, síndromes autoinmunes que incluyen artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, tiroiditis de Hashimoto, esclerosis múltiple, miastenia gravis, diabetes de tipo I, uveítis, uveítis posterior, encefalomielitís alérgica, glomerulonefritis, enfermedades autoinmunes postinfecciosas que incluyen fiebre reumática y glomerulonefritis post-infecciosa, enfermedades de la piel inflamatorias e hiperproliferativas, soriasis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto, dermatitis eczematosa, dermatitis seborréica, liquen plano, pénfigo, penfigoide
45 buloso, epidermolisis bullosa, urticaria, angioedemas, vasculitis, eritema, eosinofilia cutánea, lupus eritematoso, acné, alopecia areata, queratoconjuntivitis, conjuntivitis vernal, uveítis asociada con enfermedad de Behcet, queratitis, queratitis herpética, córnea cónica, distrofia epitelial corneal, leucoma corneal, pénfigo ocular, úlcera de Mooren, escleritis, oftalmopatía de Graves, síndrome de Vogt-Koy-anagi-Harada, sarcoidosis, alergias polínicas, enfermedad de las vías respiratorias obstructiva reversible, asma bronquial, asma alérgica, asma intrínseca, asma
50 extrínseca, asma en polvo, asma crónica o inveterada, asma tardía e hiperresponsividad de las vías respiratorias, bronquitis, úlceras gástricas, daño vascular causado por enfermedades isquémicas y trombosis, enfermedades intestinales isquémicas, enfermedades intestinales inflamatorias, enterocolitis necrotizante, lesiones intestinales asociadas con quemaduras térmicas, enfermedades celíacas, proctitis, gastroenteritis eosinofílica, mastocitosis, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, migraña, rinitis, eccema, nefritis intersticial, síndrome de Goodpasture, síndrome hemolítico-urémico, nefropatía diabética, miositis múltiple, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Meniere, polineuritis, neuritis múltiple, mononeuritis, radiculopatía, hipertiroidismo, enfermedad de Basedow, aplasia de células rojas pura, anemia aplásica, anemia hipoplásica, púrpura trombocitopénica idiopática, anemia hemolítica autoinmune, agranulocitosis, anemia perniciosa, anemia megaloblástica, aneritroplasia, osteoporosis, sarcoidosis,
60

5 pulmón fibroide, neumonía intersticial idiopática, dermatomiositis, leucodermia vulgar, ictiosis vulgar, sensibilidad fotoalérgica, linfoma cutáneo de linfocitos T, arteriosclerosis, aterosclerosis, síndrome de aortitis, poliarteritis nodosa, miocardiosis, esclerodermia, granuloma de Wegener, síndrome de Sjögren, adiposis, fascitis eosinófila, lesiones de encía, periodonto, hueso alveolar, cemento, glomerulonefritis, alopecia masculina o alopecia senil previniendo la depilación o proporcionando germinación de pelo y/o promoviendo la generación de pelo y el crecimiento de pelo, distrofia muscular; pioderma y piodermia y síndrome de Sezary, enfermedad de Addison, lesión de isquemia por reperusión de órganos que tiene lugar tras preservación, trasplante de enfermedad isquémica, choque endotóxico, colitis pseudomembranosa, colitis causada por fármaco o radiación, insuficiencia renal isquémica aguda, insuficiencia renal crónica, toxinosis causada por oxígeno-pulmón o fármacos, cáncer de pulmón, enfisema pulmonar, cataratas, siderosis, retinitis, pigmentosa, degeneración macular senil, cicatrización del vítreo, quemadura por bases de la córnea, eritema multiforme por dermatitis, dermatitis vesicular IgA lineal y dermatitis por cemento, gingivitis, periodontitis, sepsis, pancreatitis, enfermedades producidas por polución medioambiental, envejecimiento, carcinogénesis, metástasis de carcinoma e hipobaropatía, enfermedad producida por liberación de histamina o leucotrieno C₄, metástasis de carcinoma e hipobaropatía, enfermedad producida por liberación de histamina o leucotrieno-C₄, enfermedad de Behcet, hepatitis autoinmune, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante, resección parcial del hígado, necrosis hepática aguda, necrosis causada por toxina, hepatitis vírica, choque, o anoxia, hepatitis por virus B, hepatitis no-A/no-B, cirrosis, cirrosis alcohólica, insuficiencia hepática, insuficiencia hepática fulminante, insuficiencia hepática de aparición tardía, insuficiencia hepática "aguda sobre crónica", aumento del efecto quimioterapéutico, infección por citomegalovirus, infección por HCMV, SIDA, cáncer, demencia senil, traumatismo e infección bacteriana crónica.

También se presentan dentro de la presente invención los compuestos de fórmula (I) para su uso en un procedimiento de evitación o tratamiento de resistencia a trasplante o rechazo de trasplante de órganos o tejidos en un paciente mamífero en necesidad del mismo.

25 Los compuestos de Fórmula (I) para su uso en un procedimiento de supresión del sistema inmune en un paciente mamífero en necesidad del mismo.

Muy particularmente, el procedimiento descrito en el presente documento abarca un procedimiento de tratamiento o evitación de rechazo de trasplante de médula ósea o de órganos que está constituido por administrar a un paciente mamífero en necesidad de un tratamiento o prevención tal un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Se puede administrar una cantidad terapéuticamente efectiva para tratar o evitar rechazo de trasplantes de médula ósea o de órganos.

35 Otra realización proporciona los compuestos de Fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, para su uso en terapia para el tratamiento de enfermedades autoinmunes y/o inflamatorias. En otra realización, se proporciona el uso de los compuestos de Fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o profilaxis de enfermedad autoinmune y/o inflamatoria. Se puede emplear en estas realizaciones una cantidad terapéuticamente efectiva. Preferentemente, en estas realizaciones, las enfermedades autoinmunes e inflamatorias están seleccionadas de esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino (incluyendo enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa), soriasis y como un agente para evitar el rechazo de órganos trasplantados.

40 Otra realización proporciona los compuestos de Fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, para su uso en terapia para el tratamiento de enfermedad vascular. En otra forma de realización, la presente invención proporciona el uso de los compuestos de Fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad vascular. Se puede emplear en estas realizaciones una cantidad terapéuticamente efectiva. Preferentemente, en estas realizaciones, la enfermedad vascular se selecciona de aterosclerosis y de daño por reperusión de isquemia.

45 Una realización proporciona los compuestos de Fórmula (I) para su uso en un procedimiento de tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con la actividad de receptor acoplado a proteínas G S1P₁.

Los procedimientos de tratamiento de afecciones S1P₁-asociadas pueden comprender administrar compuestos de Fórmula (I) solos o en combinación entre sí y/o con otros agentes terapéuticos adecuados útiles en tratar tales afecciones. De acuerdo con ello, "cantidad terapéuticamente efectiva" se desea también para incluir una cantidad de la combinación de compuestos reivindicados que son efectivos para actuar como un agonista en el receptor S1P₁. La combinación de compuestos es preferentemente una combinación sinérgica. La sinergia, según se describe, por ejemplo, por Chou y cols., Adv. Enzyme Regul., 22: 27-55 (1984), tiene lugar cuando el efecto de los compuestos cuando se administran en combinación es mayor que el efecto aditivo de los compuestos cuando se administran solos como un agente individual. En general, un efecto sinérgico se demuestra de la forma más clara a concentraciones sub-óptimas de los compuestos. La sinergia puede ser en términos de citotoxicidad más baja, eficacia incrementada, o algún otro efecto benéfico de la combinación comparada con los componentes individuales.

Ejemplares de tales otros agentes terapéuticos incluyen corticosteroides o glucocorticoides tales como dexametasona, metilprednisolona, prednisolona y prednisona; inhibidores de PDE4 tales como rolipram, cilomilast,

roflumilast y oglemilast; fármacos antiinflamatorios supresores de citocinas (CSAID) e inhibidores de cinasa p38, imidazo[1,2-A]quinoxalinas 4-sustituidas como se divulga en la Patente de los EE.U. N.º: 4.200.750; anticuerpos o proteínas de condensación dirigidas a moléculas de superficie celular tales como CD2, CD3, CD4, CD8, CD20 tales como RITUXAN®, CD25, CD30, CD40, CD69, CD80 (B7.1), CD86 (B7.2), CD90, CTLA, por ejemplo abatacept (ORENCIA®), o sus ligandos incluyendo CD154 (GP39, o CD40L); anticuerpos para, proteínas de fusión, o receptores solubles de citocinas humanas o factores de crecimiento, por ejemplo, TNF tal como, infliximab (REMICADE®), etanercept (ENBREL®), adalimumab (HUMIRA®), LT, Il-1 tales como anakinra (KINERET®) (un antagonista de receptor de IL-1), IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, tales como CNTO 328 (un anticuerpo anti-IL-6 quimérico), IL-7, IL-8, IL-12, IL-15, IL-16, IL-17, IL- 21, IL-23 tales como Ustekinumab (un anticuerpo monoclonal anti-IL-12/23), e interferones tales como interferón beta 1a (AVOREX®, REBIF®), interferón beta 1b (BETASERON®); antagonistas de receptores de integrinas tales como TYSABRI®; agentes poliméricos tales como acetato de glatirámico (COPAXONE®); sulfasalazina, mesalamina, hidroxicloroquina, fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) tales como salicilatos que incluyen aspirina, salsalato y salicilato de magnesio y no salicilatos tales como ibuprofeno, naproxeno, meloxicam, celecoxib y rofecoxib; agentes antivirales tales como abacavir; agentes antiproliferativos tales como metotrexato, mercaptopurina, leflunomida, ciclosporina, micofenolato, FK506 (tacrolimus, PROGRAF®); fármacos citotóxicos tales como azatioprina y ciclofosforamida; inhibidores de traslocación nuclear, tales como deoxispergualina (DSG); productos que contienen oro tales como auronofina; penicilamina y rapamicina (sirolimus o RAPAMUNE®) o derivados de los mismos.

Los agentes terapéuticos distintos anteriores, cuando se emplean en combinación con los compuestos de la presente invención, se pueden usar, por ejemplo, en aquellas cantidades indicadas en el Vademécum de los Médicos (PDR) o de otro modo según se determine por alguien de habilidad normal en la técnica. En los procedimientos de la presente invención, tal(es) agente(s) terapéutico(s) distinto(s) se puede(n) administrar antes de, simultáneamente con, o después de la administración de los compuestos de la invención.

Procedimientos de preparación

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar por medio de una serie de rutas bien conocidas por un experto en la técnica de la síntesis orgánica. Los compuestos de la presente invención se pueden sintetizar usando los procedimientos descritos más adelante, conjuntamente con procedimientos sintéticos conocidos en la técnica de química orgánica sintética, o por variaciones en ellos como se apreciará por aquellos expertos en la técnica. Los procedimientos preferidos incluyen, pero no se limitan a, aquellos descritos más adelante. Todas las referencias citadas en el presente documento se incorporan por la presente mediante referencia en su totalidad.

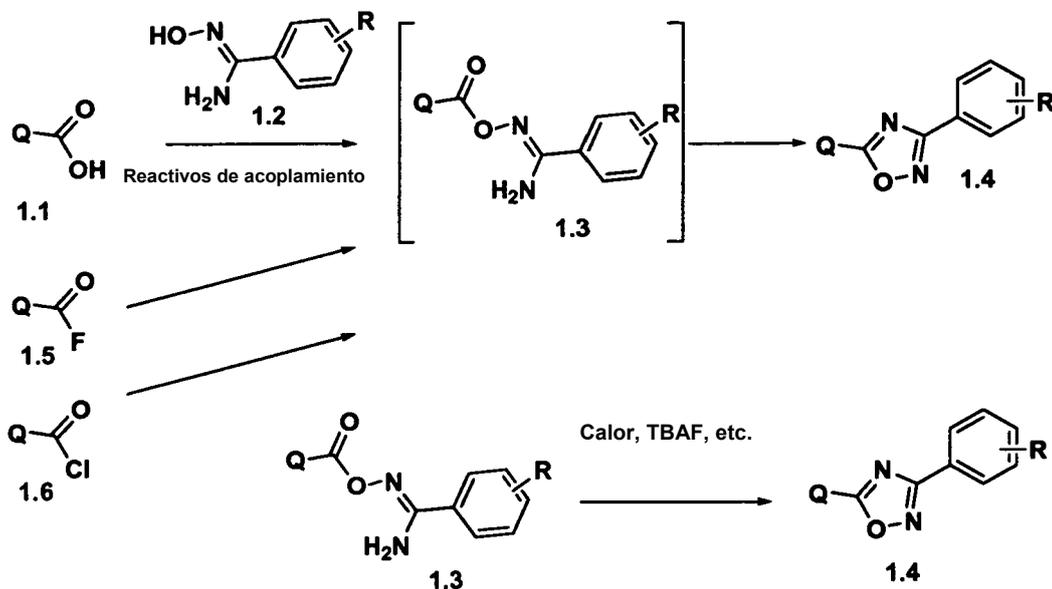
Los compuestos de esta invención se pueden preparar usando las reacciones y técnicas descritas en esta sección. Las reacciones se llevan a cabo en disolventes apropiados para los reactivos y materiales empleados y son adecuadas para las transformaciones que se efectúan. Además, en la descripción de los procedimientos de síntesis descritos más adelante, se entiende que todas las condiciones de reacción propuestas, incluyendo elección de disolvente, atmósfera de reacción, temperatura de reacción, duración del experimento y procedimientos de estimulación, se eligen para ser las condiciones convencionales para esa reacción, que se reconocería fácilmente por un experto en la técnica. Se entiende por alguien experto en la técnica que la funcionalidad presente en diversas partes de la molécula debe ser compatibles con los reactivos y reacciones propuestos. Tales restricciones a los sustituyentes que son compatibles con las condiciones de reacción pueden ser fácilmente patentes para alguien experto en la técnica y se deben usar entonces procedimientos alternativos. Esto requerirá algunas veces sentido común para modificar el orden de las etapas de síntesis o para seleccionar un esquema de procedimiento en particular en vez de otro con el fin de obtener un compuesto deseado de la invención. Se reconocerá que otra consideración principal reconocida en la planificación de cualquier ruta de síntesis en este campo es la elección acertada del grupo protector usado para proteger los grupos funcionales reactivos presentes en los compuestos descritos en esta invención. Un informe magistral que describe las muchas alternativas para el experto es Greene y cols. (Protective Groups in Organic Synthesis, Tercera Edición, Wiley and Sons (1999)).

Los compuestos de Fórmula (I) se pueden preparar por referencia a los procedimientos ilustrados en los siguientes Esquemas. Como se muestra en el presente documento el producto final es un compuesto que tiene la misma fórmula estructural que la Fórmula (I). Se entenderá que cualquier compuesto de Fórmula (I) se puede producir por los esquemas por la selección adecuada de reactivos con sustitución apropiada. Disolventes, temperaturas, presiones y otras condiciones de reacción se pueden seleccionar por alguien de habilidad ordinaria en la técnica. Los materiales de partida están comercialmente disponibles o se preparan fácilmente por alguien de habilidad ordinaria en la técnica. Los constituyentes o compuestos son según se definen en la presente invención o en otros puntos en la memoria descriptiva.

Como se muestra en el Esquema 1, los compuestos de oxadiazol de la presente invención (1.4) pueden prepararse por la reacción de ácidos carboxílicos (1.1) con N'-hidroxibencimidamidas (1.2) con una diversidad de agentes de acoplamiento (por ejemplo, EDC, HOBt, BOP, BOP-Cl). Alternativamente, las N'-hidroxibencimidamidas se pueden hacer reaccionar con compuestos de fluoruro ácido (1.5) o con compuestos de cloruro ácido (1.6). En cada caso, las N'-aciloxibencimidamidas (1.3) formadas inicialmente pueden convertir espontáneamente los oxadiazoles en las condiciones de reacción. En casos donde la N'-aciloxibencimidamida (1.3) no se cicla espontáneamente, se puede

aislar y someter a condiciones de reacción para efectuar la ciclodeshidratación a 1.4. Tales condiciones pueden incluir calentamiento (bien convencional o de microondas), o tratamiento con fuente de fluoruro (tal como fluoruro de amonio de tetrabutilo).

Esquema 1

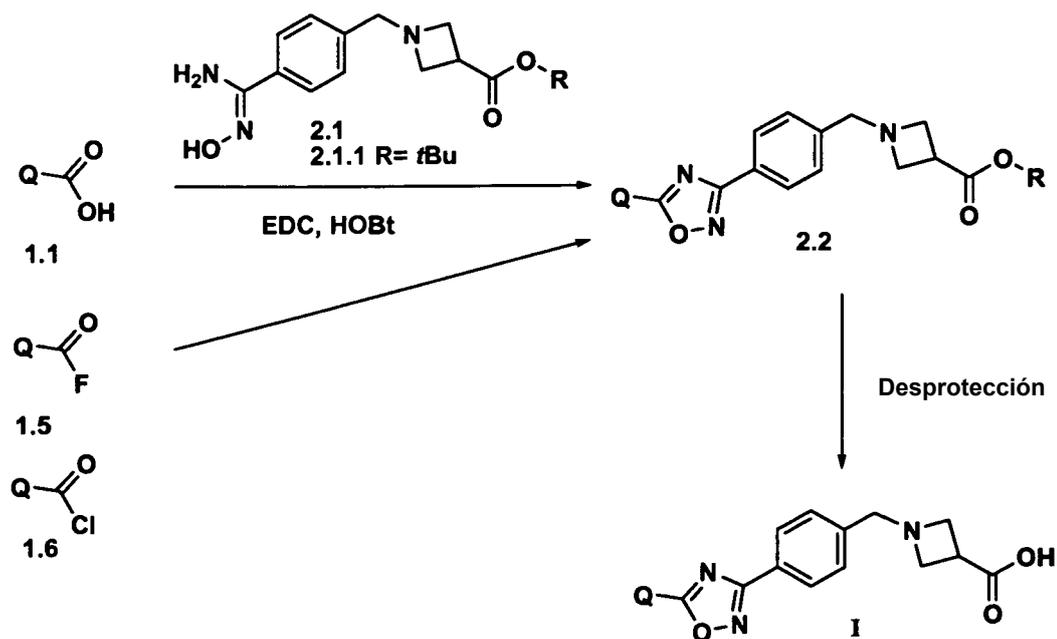


5

Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar por la reacción de ácidos (1.1) fluoruros ácidos (1.5) o cloruros ácidos (1.6) con derivados de N-hidroxiamidina 2.1 tales como 1-(4-(N'-hidroxicarbamimidoyl)encil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-terc-butilo (2.1.1) por medio de medios descritos anteriormente para producir compuestos de estructura 2.2. La desprotección de los derivados de éster (2.2) (por tratamiento con un ácido, por ejemplo ácido trifluoroacético, en el caso de derivados de éster t-butílico) proporciona compuestos de Fórmula (I).

10

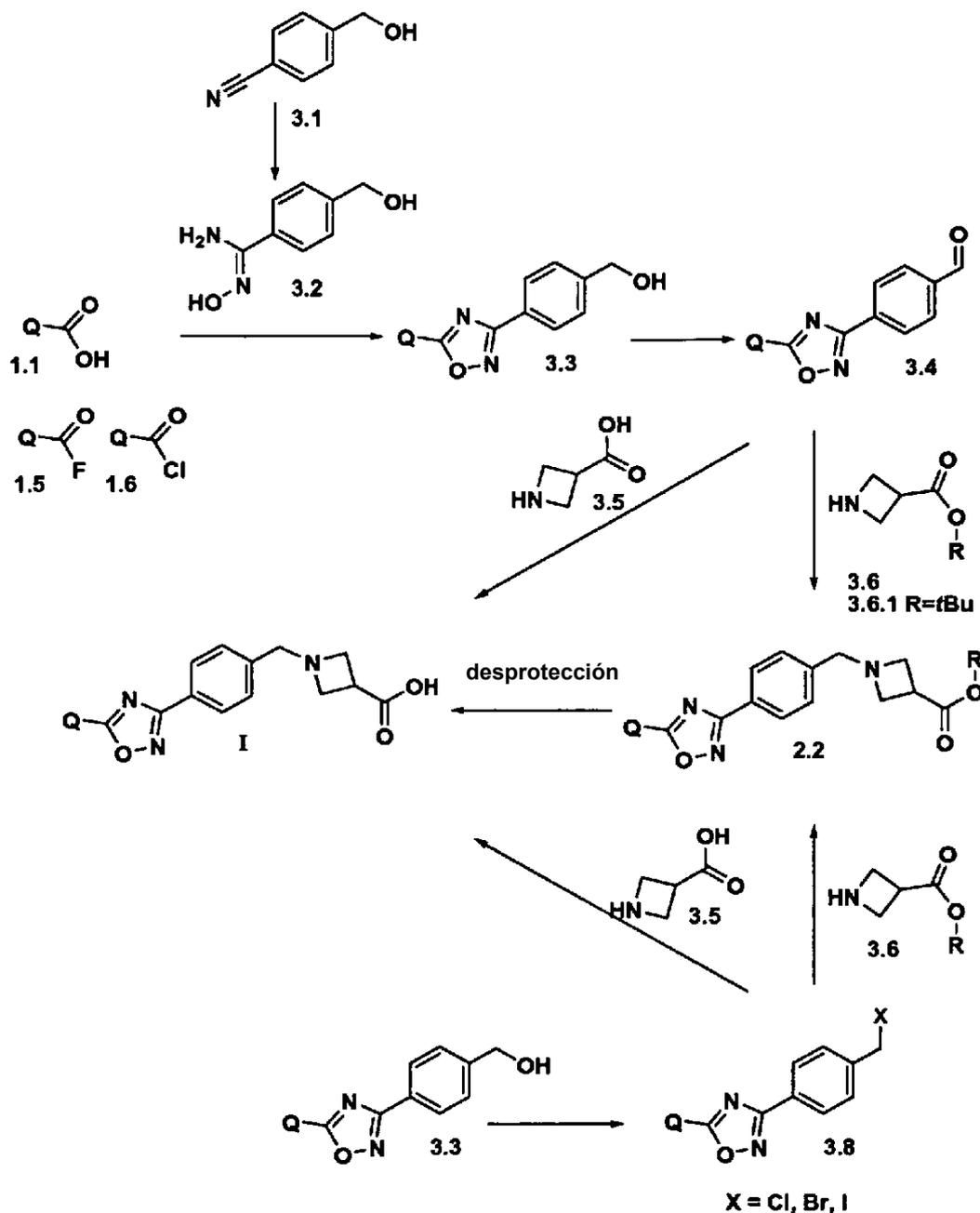
Esquema 2



Alternativamente, se pueden producir también compuestos de fórmula (I) como se describe en el Esquema 3. La reacción de ácidos (1.1) fluoruros ácidos (1.5) o cloruros ácidos (1.6) con (Z)-N'-hidroxi-4-(hidroximetil)bencimidamida (3.2) por medio de medios descritos anteriormente puede producir compuestos de estructura 3.3 que, después de oxidación al aldehído correspondiente (3.4), pueden sufrir aminación reductora con compuesto de ácido azetidina-3-carboxílico (3.5) o ésteres de azetidina-3-carboxilato (3.6) para proporcionar compuestos de fórmula (I) o 2.2 respectivamente. El compuesto 2.2 puede convertirse a un compuesto de fórmula (I) como se describe anteriormente. Los compuestos hidroximetilo (3.3) se pueden convertir a derivados de haluro de bencilo (3.8). La reacción de 3.8 con ácido azetidina-3-carboxílico (3.5) o con ésteres de azetidina-3-carboxilato (3.6) proporciona compuestos de fórmula (I) o 2.2 respectivamente.

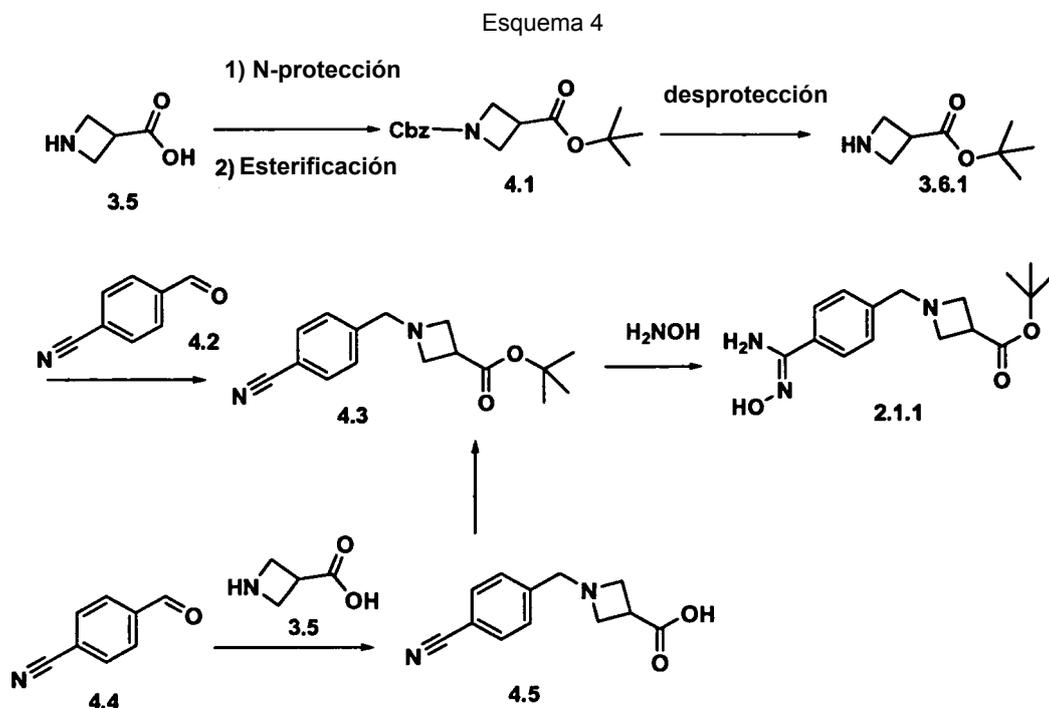
5

Esquema 3



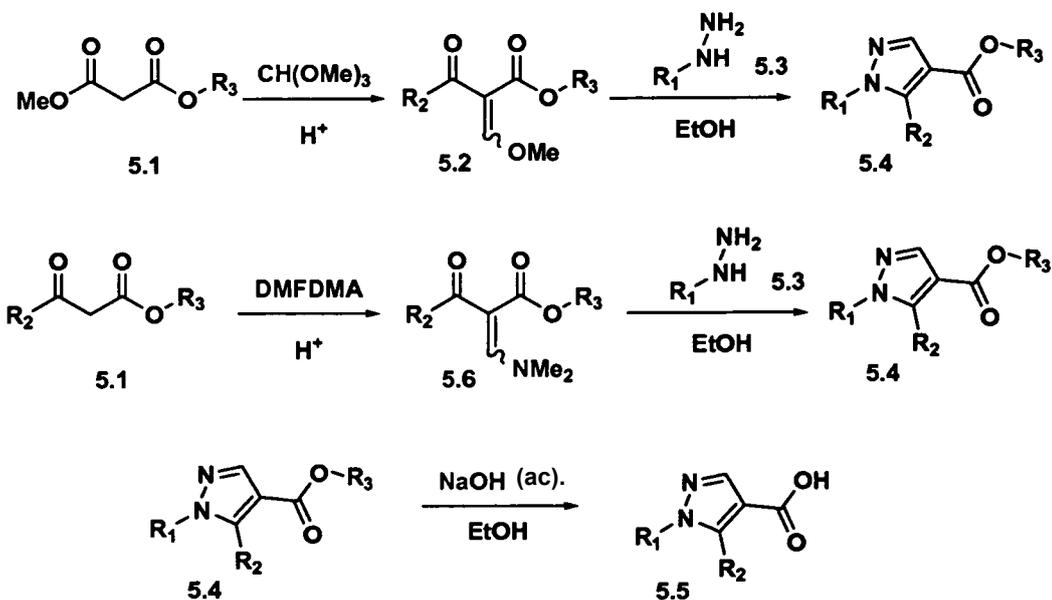
Se puede preparar azetidina-3-carboxilato de *terc*-butilo (3.6.1) a partir de ácido azetidina-3-carboxílico (3.5) por medio de protección de la amina (por ejemplo con el grupo CBZ) seguida por esterificación del ácido con alcohol

- 5 terc-butilico en presencia de un reactivo de acoplamiento (por ejemplo CDI) y después por retirada del grupo protector de amina. 1-(4-(N'-hidroxycarbamimidoil)encil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-terc-butilo (**2.1.1**) está disponible a partir de la reacción de azetidina-3-carboxilato de terc-butilo (**3.6.1**) con 4-formilbenzonitrilo (**4.2**) en condiciones reductoras para dar **4.3**, que se hace reaccionar después con hidroxilamina. Alternativamente, se puede preparar compuesto **4.3** por esterificación de **4.5**, que se obtiene a partir de la reacción de ácido azetidina-3-carboxílico (**3.5**) con 4-formilbenzonitrilo (**4.2**) en condiciones reductoras.



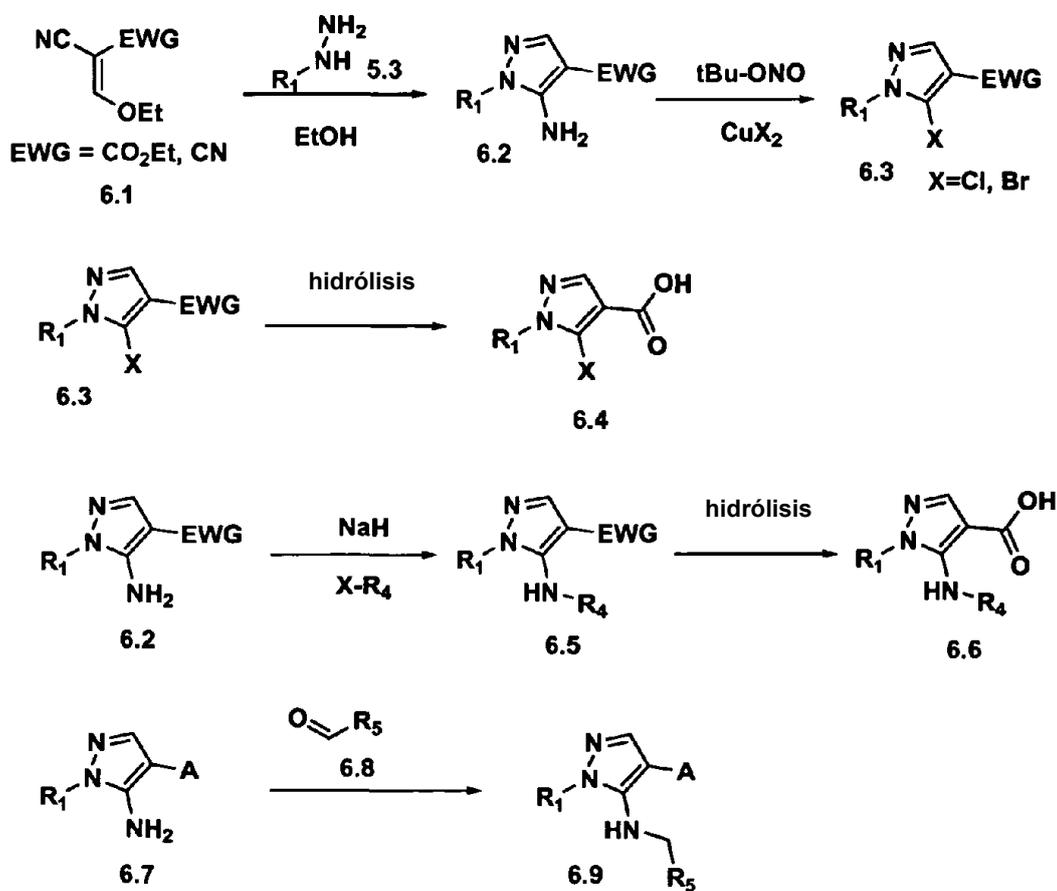
- 10 Los fragmentos de ácidos carboxílicos (1.1) de la presente invención se pueden preparar por una diversidad de procedimientos, incluyendo aquellos ilustrados en el Esquema 5. Los compuestos de ésteres de acetoacetato (5.1) se pueden convertir a derivados de metileno activado (5.2 o 5.6) por ejemplo por reacción con ortoformiato de trietilo o N,N-dimetilformamida-dimetilacetil (DMF-DMA) respectivamente en presencia de una cantidad catalítica de ácido (tal como ácido para-toluenosulfónico). Los compuestos **5.2** o **5.6** pueden hacerse reaccionar después con hidrazinas monosustituidas en una diversidad de disolventes (polares, no polares, próticas, apróticas) en presencia o ausencia de base adicional como se requiere para proporcionar ésteres de pirazol (**5.4**), los Compuestos **5.4** se pueden aislar o directamente hidrolizar a los ácidos de pirazol correspondientes (**5.5**).
- 15

Esquema 5



- 5 Los pirazoles que llevan sustitución de halo, amino o alquilamino en C5 se pueden preparar de acuerdo con el Esquema 5. La reacción de compuestos **6.1** (tales como 2-etoximetileno-malononitrilo o éster etílico del ácido 2-ciano-3-etoxi-acrílico) con hidrazinas monosustituidas da C5-amino-pirazoles **6.2**, donde la posición C4 está sustituida con un nitrilo, o éster. La conversión del grupo C5-amino al grupo C5-halo se puede llevar a cabo por reacción con tBuONO y bromuro de cobre (II) o cloruro de cobre (II). La hidrólisis del éster o el nitrilo al ácido carboxílico (**6.4**) puede tener lugar en condiciones convencionales (básicas o ácidas).
- 10 Los aminopirazoles **6.2** pueden alquilarse por reacción con haluros de alquilo (tales como bromuro de etilo) en presencia de una base adecuada (tal como NaH). La hidrólisis del éster o del nitrilo conduce a los ácidos carboxílicos de pirazol C5-alquilamino sustituidos (**6.6**). Se pueden modificar también aminopirazoles (**6.7**) por aminación reductora con compuestos de carbonilo (**6.8**).

Esquema 6



Abreviaturas:

- | | | |
|----|---------|--|
| 5 | Ac | acetilo |
| | AcOH | ácido acético |
| | AIBN | azobisisobutironitrilo |
| | ac. | acuoso |
| | CDI | carbonildiimidazol |
| 10 | CEM | CEM Corp., PO Box 200, 3100 Smith Farm Rd, Matthews NC 28106 |
| | Biotage | Biotage AB, Kungsgatan 76 SE-753 18 Uppsala, Suecia |
| | Bn | bencilo |
| | Boc | terc-butiloxicarbonilo |
| | BOP | benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)-fosfonio-hexafluorofosfato |
| 15 | BOP-Cl | cloruro bis(2-oxooxazolidin-3-il)fosfínico |
| | Bu | butilo |
| | DIPEA | diisopropiletilamina (base de Hunig) |
| | DCE | 1,2 dicloroetano |

	DMAP	N,N-dimetilpiridina-4-amina
	DMA	N,N-dimetilacetamida
	DMF	dimetilformamida
	DMF-DMA	N,N-dimetilformamida dimetilacetal
5	DMSO	dimetilsulfóxido
	EDC, EDCI	clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
	EtOAc	acetato de etilo
	TOCIsco	Teledyne Isco, Inc. 4700 Superior St., Lincoln NE 68504
	Hex.	hexanos
10	HMPA	hexametilfosforamida
	HOAc	ácido acético
	HOBt	1H-benzo[d][1,2,3]triazol-1-ol
	HPLC cromatografía líquida de alta presión	
	CL	cromatografía líquida
15	Me	metilo
	MeOH	metanol
	MeOD	metanol deuterado (CD ₃ OD)
	min.	minutos
	M+ ¹	(M+H) ⁺
20	EM	espectrometría de masas
	<i>n</i>	<i>normal</i>
	Pd/C	paladio en carbono
	éter pet.	éter de petróleo
	Ph	fenilo
25	Pr	propilo
	Prep. HPLC	HPLC preparativa en fase reversa
	psi	libras por pulgada cuadrada
	Tiempo ret.	tiempo de retención
	ta o TA	temperatura ambiente
30	sat.	saturado
	<i>t</i>	<i>terciario</i>
	TFA	ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano
	TLC	cromatografía en capa fina
35	TMS	trimetilsililo
	Phenomenex	Phenomenex, Macclesfield, Cheshire, Reino Unido

YMC YMC, Inc, Wilmington, NC 20403

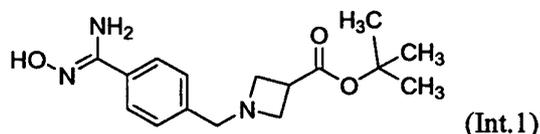
Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran las realizaciones particulares y preferidas de la presente invención y no limitan el alcance de la presente invención. Las abreviaturas y los símbolos químicos así como las abreviaturas y los símbolos científicos tienen sus significados usuales y habituales a menos que se especifique lo contrario. Se definen anteriormente abreviaturas adicionales empleadas en los Ejemplos y en otros puntos en esta solicitud. Los intermedios comunes son generalmente útiles para la preparación de más de un Ejemplo y se identificaron secuencialmente (*por ejemplo*, Intermedio 1, Intermedio 2, etc. y se abreviaron como Int.1, Int. 2, etc. En muchos casos la preparación de intermedios comunes puede requerir múltiples etapas para prepararse. Cada etapa se identifica por el intermedio común y la etapa (*por ejemplo*, Int. 1-A, Int. 1-B y así sucesivamente. Los compuestos de los Ejemplos se identificaron por el ejemplo y la etapa en los que se prepararon (*por ejemplo*, "1-A" designa el Ejemplo 1, etapa A), o por el ejemplo solo donde el compuesto es el compuesto del título del ejemplo (*por ejemplo*, "1" designa el compuesto del título de Ejemplo 1). En algunos ejemplos se describen preparaciones alternativas de intermedios o Ejemplos. Frecuentemente químicos expertos en la técnica de síntesis pueden idear preparaciones alternativas que pueden ser deseables en base a una o más consideraciones tales como tiempo de reacción más corto, materiales de partida menos caros, facilidad de operación, susceptibles a catálisis, evitación de reactivos tóxicos, accesibilidad de instrumentación especializada y número de etapas lineales disminuido, etc. El intento de describir preparaciones alternativas es permitir adicionalmente la preparación de ejemplos de esta invención.

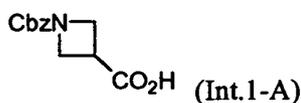
Aquellos experimentos que especifican que se llevan a cabo en un horno de microondas se llevaron a cabo en un horno SmithSynthesizer elaborado por Personal Chemistry o en un horno de microondas Discover elaborado por CEM corporation. Los hornos de microondas generan una temperatura que se puede seleccionar para estar entre 60-250 °C. Los hornos de microondas realizan un seguimiento automáticamente de la presión que está entre 0-2.068.427,73 pascales (0-300 PSI). Se comunican los tiempos de retención de reacción y los puntos de ajuste de la temperatura.

Preparación de Intermedio 1 (Int. 1):

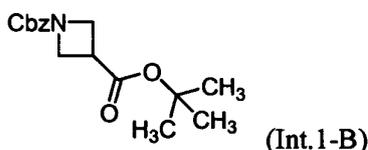
1-(4-(N'-hidroxicarbamidóil)-bencil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-terc-butilo



Int. 1-A. Ácido 1-(benciloxycarbonil)azetidina-3-carboxílico



A una solución de ácido azetidina-3-carboxílico (88 g, 0,871 mol) y bicarbonato de sodio (161 g, 1,92 mol) en agua (1,75 l) a temperatura ambiente se añadió una solución de 2,5-dioxipirrolidin-1-ilcarbonato de bencilo (239 g, 0,959 mol) en tetrahidrofurano (3,5 l). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se retiró a presión reducida y la fase acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 500 ml). La fase acuosa se acidificó con una solución acuosa 1,0 N de ácido clorhídrico y se extrajo después con acetato de etilo (3 x 750 ml). La capa orgánica se lavó con agua, seguida por salmuera y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. La concentración a presión reducida proporcionó 1-(benciloxycarbonil)azetidina-3-carboxílico como aceite incoloro (202 g, rendimiento al 99 %). El compuesto tenía un tiempo de retención de HPLC = 2,27 minutos.-Columna: YMC COMBISCREEN® ODS-A 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, TFA al 0,1 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, TFA al 0,1 %. CL/EM M⁺¹ = 236,15. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 3,39-3,49 (m, 1H), 4,22 (d, J = 7,28 Hz, 4H), 5,11 (s, 2H) y 7,29-7,39 (m, 5H).

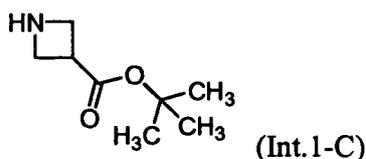
Int. 1-B. Azetidina-1,3-dicarboxilato 3-terc-butil-1-bencilico

5 A una solución de ácido 1-(benciloxicarbonil)azetidina-3-carboxílico (200 g, 0,851 mol) en diclorometano (6,0 l) a 0 °C se añadió t-butanol (158 g, 2,13 mol), DMAP (52,0 g, 0,425 mol) y EDCI (163 g, 0,853 mol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró y el residuo se disolvió en acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con ácido cítrico acuoso al 10 %, solución de bicarbonato de sodio acuoso al 10 % y salmuera. El secado sobre sulfato de sodio anhidro y la concentración a presión reducida proporcionaron 1-bencil-3-terc-butil-azetidina-1,3-dicarboxilato (200 g, rendimiento del 81 %) como un aceite incoloro. El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 3.27 min.-Columna: YMC COMBISCREEN® ODS-A 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, TFA al 0,1 %; Disolvente

10 B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, TFA al 0,1 %. CL/EM M⁺¹ = 292,15. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,46 (s, 9H), 3,24-3,33 (m, 1H), 4,14 (d, J = 7,53 Hz, 4H), 5,10 (s, 2H) y 7,30-7,39 (m, 5H).

Int. 1-C. Azetidina-3-carboxilato de terc-butilo

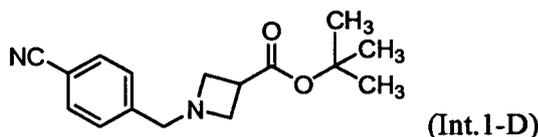
15



20 Una mezcla de 1-bencil-3-terc-butil-azetidina-1,3-dicarboxilato (140 g, 0,480 mol) y paladio al 10 % en carbono (28,0 g) en acetato de etilo (1,40 l) se situó en un autoclave a 294.199,56 pascales (3,0 kg/cm²) de presión de hidrógeno durante toda una noche. Se filtró la mezcla de reacción a través de CELITE® y el CELITE® se lavó con acetato de etilo. Se añadió ácido acético (28,9 g, 0,480 mol) al filtrado y se concentró a presión reducida manteniendo la temperatura por debajo de 50 °C dando sal azetidina-3-carboxilato de terc-butilo de ácido acético (96 g, rendimiento al 92 %) como un aceite incoloro. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,47 (s, 9H), 2,02 (s, 3H), 3,52-3,63 (m, 1H) y 4,00-4,10 (m, 4H).

Int. 1-D. 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxilato de terc-butilo

25

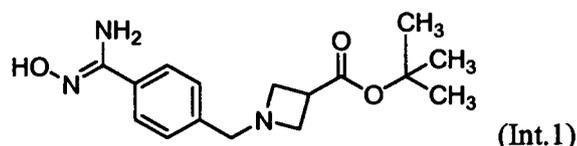


30 A una solución de sal azetidina-3-carboxilato de terc-butilo de ácido acético (92,0 g, 0,423 mol) en metanol (1,0 l) a temperatura ambiente se añadió 4-formilbenzonitrilo (50,8 g, 0,381 mol). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió parte a parte cianoborohidruro de sodio (28,8 g, 0,458 mol) (precaución: generación de cianuro potencial). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y la agitación se continuó durante la noche. Después de que la mezcla de reacción se concentró a presión reducida el residuo se diluyó con solución de bicarbonato de sodio al 10 % y se extrajo con acetato de etilo. Se recogió la fase orgánica, se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de sodio anhidro. La concentración a presión reducida se siguió por purificación por cromatografía en gel de sílice usando acetato de etilo al 20 % en éter de petróleo proporcionó 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxilato de

35

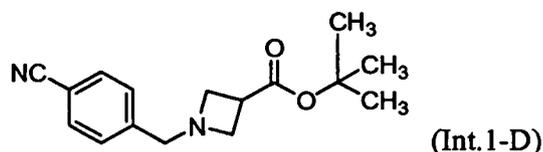
terc-butilo (al 89 %). (Después de cromatografía, Int. 1-D contenía una pequeña cantidad de 4-hidroximetilbenzonitrilo pero se llevó a la etapa siguiente sin purificación adicional). CL/EM $M^{+1} = 273,18$. RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 1,46 (s, 9H), 3,22-3,31 (m, 3H), 3,48-3,56 (m, 2H), 3,66 (s, 2H), 7,39 (d, J = 8,28 Hz, 2H) y 7,60 (d, J = 8,28 Hz, 2H).

5 **Int. 1. Preparación de 1-(4-(N'-hidroxicarbamimidoil)bencil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-terc-butilo**

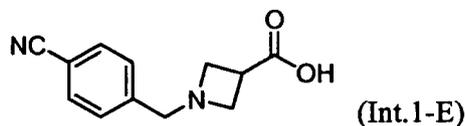


10 A (4-cianobencil)azetidina-3-carboxilato de terc-butilo (89,0 g, 0,326 mol) en terc-butanol (1,30 l) se añadió bicarbonato de sodio (109,8 g, 1,31 mol) y clorhidrato de hidroxilamina (45,5 g, 0,654 mol). La reacción se calentó a reflujo durante 7 horas y después se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante toda una noche. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Se recogió la fase orgánica, se lavó con agua, se lavó con salmuera, después se secó sobre sulfato de sodio anhidro. La concentración seguida por purificación por cromatografía en gel de sílice usando metanol al 2,5 % en cloroformo conteniendo trietilamina al 0,2 % como eluyente proporcionó 1-(4-(N'-hidroxicarbamimidoil)bencil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-terc-butilo (64 g, 0,210 mol, rendimiento al 55 % durante 2 etapas). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 7.03 min.-Columna: XBridge Fenilo 150 x 4,6 mm 3,5 μ , SC/749. 1 ml/min. Disolvente A = MeCN al 5 %, H_2O al 95 %, TFA al 0,05 %; Disolvente B = MeCN al 95 %, H_2O al 5 %, TFA al 0,05 %. Tiempo/B en %: 0 min./0 %, 15 min./50 %, 18 min./100 %, 20 min./100 %. CL/EM $M^{+1} = 306,2$. RMN de 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ ppm 1,45 (s, 9H), 3,23-3,30 (m, 3H), 3,49-3,57 (m, 2H), 3,63 (s, 2H), 4,85 (s, 2H), 7,31 (d, J = 8,28 Hz, 2H) y 7,57 (d, J = 8,28 Hz, 2H).

Preparación alternativa de Int. 1-D: 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxilato de terc-butilo



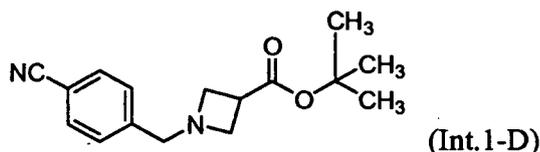
25 **Int. 1-E. Ácido 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxílico**



30 Una mezcla de 4-formilbenzonitrilo (2,88 g, 22,0 mmol), ácido azetidina-3-carboxílico (2,02 g, 20 mmol) y ácido acético (1,15 ml, 20,0 mmol) en diclorometano (20 ml) y metanol (80 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (6,78 g, 32,0 mmol) y la agitación se continuó a temperatura ambiente durante 18 horas. Los productos volátiles se retiraron a presión reducida y el residuo se fraccionó entre agua (50 ml) y éter dietílico (50 ml). La capa acuosa se recogió, se lavó con éter dietílico (50 ml) y se concentró. El residuo se disolvió en agua (20 ml) y se cargó sobre una columna HP-20 de 2,5 x 20 cm [Preparación de Gel HP-20: ~400 ml de MCI seco, no usado CHP-20 Gel (75-150 micrómetros) se hinchó en metanol durante 24 horas. El gel se filtró y se aclaró con 1 litro de metanol. Se transfirió después a una botella para almacenar en metanol. Inmediatamente

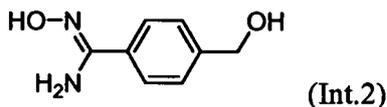
antes de usar, la cantidad deseada de gel se aclaró exhaustivamente con 20 volúmenes de agua]. La columna se eluyó con 240 ml de agua y 400 ml de metanol. Las fracciones de producto se concentraron y co-evaporaron a partir de etanol y acetato de etilo/heptano proporcionando ácido 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxílico (3,25 g, 15,0 mmol, rendimiento al 75 %) como un sólido blanco. EM: (M+H) = 217,18. RMN de ^1H (400 MHz, MeOD) δ ppm 3,39 (m, 1H), 4,08 (m, 4H), 4,32 (s, 2H), 7,63 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H) y 7,82 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H).

Int. 1-D2 Alt. 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxilato de *terc*-butilo



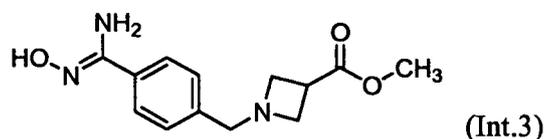
10 A una mezcla de ácido 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxílico (3,25 g, 15,0 mmol), DMAP (1,84 g, 15,0 mmol) y *terc*-butanol (14,1 ml, 150 mmol) en dicloroetano (150 ml) se añadió EDCI (4,32 g, 22,5 mmol) y la mezcla de reacción se dejó agitar durante el fin de semana. Los productos volátiles se retiraron a presión reducida y el residuo se fraccionó entre acetato de etilo (250 ml) y una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (250 ml). La capa orgánica se lavó con agua (250 ml), se lavó con salmuera (100 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La concentración a presión reducida proporcionó un aceite amarillo claro que se cromatografió en una columna del gel de sílice de 5 x 15 cm, eluyendo con gradiente de acetato de etilo al 0-40 %/hexano dando un 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxilato de *terc*-butilo (3,5 g, 12,9 mmol, rendimiento al 86 %) como un líquido incoloro. Tiempo de retención de HPLC = 1,38 minutos - Columna: columna YMC-Combi 4,6 x 50 mm S-5 ODS) eluyendo con metanol acuoso al 10-90 % + ácido fosfórico al 0,2 % durante un gradiente de 4 minutos. EM: (M+H) = 273,18. RMN de ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,46 (s, 9H), 3,26 (m, 3H), 3,52 (m, 2H), 3,66 (s, 2H), 7,39 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H) y 7,60 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H).

Preparación del Intermedio 2 (Int. 2) N'-hidroxi-4-(hidroximetil)bencimidamida

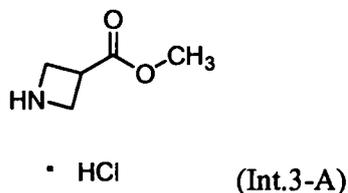


25 Una solución de 4-(hidroximetil)benzonitrilo (22,43 g, 0,1685 mol), clorhidrato de hidroxilamina (18,67 g, 0,2689 mol) y NaHCO_3 (45,22 g, 0,538 mol) en metanol (250 ml) se calentó a reflujo durante toda una noche. Tras enfriamiento, la mezcla heterogénea se filtró y los sólidos se lavaron con metanol adicional. El filtrado se evaporó a sequedad proporcionando un sólido blanquecino. Los sólidos se suspendieron en 75 ml de metanol caliente, después se enfriaron a temperatura ambiente y se filtraron. El filtrado se evaporó proporcionando N'-hidroxi-4-(hidroximetil)bencimidamida (28,5 g) como un sólido blanco. El material se usó sin purificación adicional. El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 0.232 min.-Columna: CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H_2O al 90 %, H_3PO_4 al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H_2O al 10 %, H_3PO_4 al 0,2 %. CL/EM $\text{M}^+ = 167,3$.

35

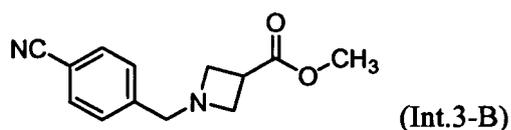
Preparación del intermedio 3 (Int. 3)**(1-(4-(N'-hidroxicarbamimidoil)encil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-metilo**

5

Int.3-A. Azetidina-3-carboxilato de metilo, HCl

10 Se añadió cloruro de acetilo (0,852 ml, 11,99 mmol) a metanol (5 ml), se pre-enfriado a 0 °C. Después de agitar 5 minutos a 0 °C, la mezcla de reacción se dejó calentar a TA. En este momento, se añadió ácido azetidina-3-carboxílico (404 mg, 4,00 mmol) y la mezcla de reacción se sometió a reflujo durante 2,5 horas. Después de enfriar a ta, los volátiles se *retiraron al vacío* y el residuo se secó proporcionando azetidina-3-carboxilato de metilo, HCl (600 mg, 3.96 mmol) como un sólido blanco. RMN de ¹H (400 MHz, metanol-d₄) δ ppm 3,77 (m, 1H) 3,81 (s, 3H) 4,22-4,33 (m, 4H).

15

Int. 3-B. 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxilato de metilo:

20 Se agitó enérgicamente una mezcla de 4-formilbenzonitrilo (510 mg, 3,89 mmol), azetidina-3-carboxilato de metilo (590 mg, 3,89 mmol), ácido acético (0,245 ml, 4,28 mmol) y ~1 gm de tamices moleculares de 4 Angstrom en polvo en DCE (15 ml) a TA durante 1 hora. En este momento, se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (907 mg, 4,28 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a TA durante 2 horas. Después de filtrar a través de un embudo de vidrio sinterizado, el filtrado se concentró a un residuo que se fraccionó entre EtOAc (50 ml) y bicarbonato de sodio saturado (50 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera (50 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró proporcionando un aceite incoloro que se cromatografió en un cartucho de gel de sílice Isco de 12 gm, eluyendo con un gradiente de EtOAc del 0 al 100 %/hexano. Las fracciones esencialmente puras se concentraron proporcionando 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxilato de metilo (765 mg, 3,32 mmol). Tiempo de retención de HPLC = 0,49 minutos [pico amplio] (columna PHENOMENEX® Luna 4,6 x 30 mm S-5 ODS) eluyendo con metanol acuoso al 10-90 % + TFA al 0,1 % durante un gradiente de 2 minutos. EM: (M+H) = 231,23. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 3,32-3,36 (m, 3H) 3,49-3,58 (m, 2H) 3,67 (s, 2H) 3,72 (s, 3H), 7,39 (d, J = 8,6 Hz, 2H) 7,60 (d, J = 8,3 Hz, 2H).

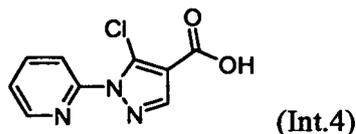
30

Int. 3-C. 1-(4-(N'-hidroxicarbamimidoil)encil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-metilo

Una mezcla de 1-(4-cianobencil)azetidina-3-carboxilato (760 mg, 3,30 mmol), clorhidrato de hidroxilamina (459 mg, 6,60 mmol) y bicarbonato de sodio (1109 mg, 13,20 mmol) en MeOH (4,9 ml) se calentó a reflujo durante 2,5 horas.

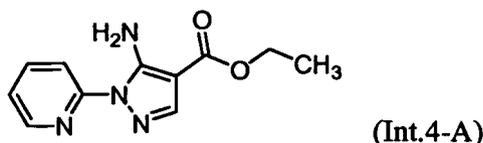
Después de enfriar a ta, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a un residuo que se fraccionó entre EtOAc (75 ml) y agua (50 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (75 ml) y las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron proporcionando 1-(4-(N'-hidroxicarbamimidoil) bencil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-metilo (470 mg, 1,785 mmol) como una espuma incolora. EM: (M+H) = 264,28. RMN de ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm 3,30-3,39 (m, 3H) 3,54 (m, 2H) 3,64 (s, 2H) 3,71 (s, 3H), 4.86 (sa, 2H) 7,31 (d, J = 8,3 Hz, 2H) 7,57 (d, J = 8,3 Hz, 2H).

Preparación de Intermedio 4 (Int. 4) ácido 5-cloro-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxílico



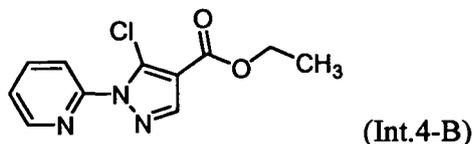
10

Int. 4-A. 5-amino-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo



Una mezcla de 2-hidrazinopiridina (4,84 g, 44,3 mmol), cianoacetato de etilo (etoximetileno) (5 g, 29,6 mmol) y Et₃N (12,36 ml, 89 mmol) que se calentó a 80 °C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró y se purificó en columna de gel de sílice con CH₂Cl₂/EtOAc proporcionando 5-amino-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (5,97g, 25,7 mmol) HPLC ta = 2,856 min. HPLC: Columna: YMC S5 COMBISCREEN® 4,6 x 50 mm; Tiempo de gradiente: 4 minutos; velocidad de flujo = 4 ml/min.; Disolvente A = MeOH al 10 %-Agua al 90 %-H₃PO₄ al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %-agua al 10 %-H₃PO₄ al 0,2 %; % de partida B = 0; % final de B = 100. CL-EM: M⁺ = 233,1. RMN de ¹H (500 MHz, metanol-d₃) δ ppm 8,44 (1 H, ddd, J = 4,95, 1,92, 0,82 Hz), 7,92-7,96 (1 H, m), 7,87-7,90 (1 H, m), 7,74 (1 H, s), 7,27 (1 H, ddd, J = 7,22, 5,02, 1,24 Hz), 4,29 (2 H, c, J = 7,15 Hz), 1,35 (3 H, t, J = 7,15 Hz).

Int. 4-B. 5-cloro-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo



25

Procedimiento 1: A una solución de 5-amino-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (200 mg, 0,861 mmol) y cloruro de cobre (II) (116 mg, 0,861 mmol) en 1,2-dicloroetano (8 ml) se añadió terc-butilnitrilo (0,154 ml, 1,292 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 16 horas. La mezcla de reacción se diluyó con 30 ml de diclorometano y se lavó con 10 ml de solución de NH₄OH 2 M, 10 ml de salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. La filtración y la concentración proporcionaron un producto en bruto que se purificó en columna de gel de sílice con hexanos/EtOAc proporcionando 5-cloro-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo.

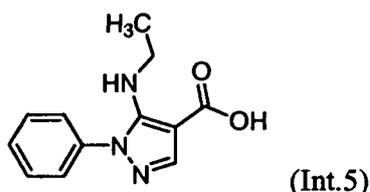
Procedimiento 2: A una solución de 5-amino-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (200 mg, 0,861 mmol) y 1-cloropirrolidina-2,5-diona (172 mg, 1,292 mmol) en diclorometano (8 ml) se añadió nitrilo de terc-butilo (0,154 ml, 1,292 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 30 minutos, tiempo después del que se concentró

proporcionando un producto en bruto que se purificó en una columna de gel de sílice eluyendo con hexanos/EtOAc proporcionando 5-cloro-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo. El material del procedimiento 1 y del procedimiento 2 se combinaron (106 mg, 0,42 mmol). Tiempo de retención de HPLC = 2,50 min. HPLC: Columna: YMC S5 COMBISCREEN® 4,6 x 50 mm; Tiempo de gradiente: 4 minutos; velocidad de flujo = 4 ml/min.; Disolvente A = MeOH al 10 %-Agua al 90 %-H3PO4 al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %-agua al 10 %-H3PO4 al 0,2 %; % de partida B = 0; % final de B = 100. CL-EM: M⁺ = 252,1. RMN de ¹H (400 MHz, MeOD) δ ppm 8,61 (1 H, dd, J = 4,89, 1,13 Hz), 8,16 (1 H, s), 8,09 (1 H, td, J = 7,78, 1,76 Hz), 7,74 (1 H, d, J = 8,03 Hz), 7,57 (1 H, ddd, J = 7,53, 4,77, 1,00 Hz), 4,36 (2 H, c, J = 7,28 Hz), 1,38 (3 H, t, J = 7,15 Hz).

Int. 4-C. Ácido 5-cloro-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxílico

Una solución de 5-cloro-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxilato (106 mg, 0,421 mmol) y NaOH 1 N (0,632 ml, 0,632 mmol) en EtOH (3,5 ml) se calentó hasta 100 °C en irradiación de microondas durante 15 minutos. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se diluyó con 5 ml de agua que se acidificaron después con solución de HCl 1 N hasta aproximadamente pH 3. Después de agitar durante 5 minutos, el sólido se recogió como ácido 5-cloro-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-carboxílico (39,6 mg, 0,177 mmol). Tiempo de retención de HPLC = 1,67 min. HPLC: Columna: YMC S5 COMBISCREEN® 4,6 X 50 mm; Tiempo de gradiente: 4 minutos; velocidad de flujo = 4 ml/min.; Disolvente A = MeOH al 10 %-Agua al 90 %-H3PO4 al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %-agua al 10 %-H3PO4 al 0,2 %; % de partida B = 0; % final de B = 100. CL-EM: CLEM: M⁺ = 224,1.

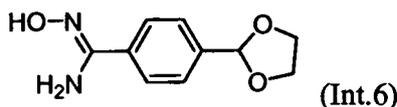
Preparación de Intermedio 5 (Int. 5). Ácido 5-(etilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-carboxílico

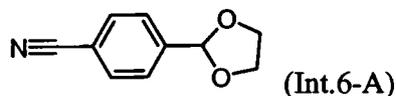


A una solución de 5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (10 g, 43 mmol) en DMF (100 ml) a 0 °C se añadió lentamente hidruro de sodio (dispersión al 60 %, 1,9 g, 47,6 mmol). Después de que la evolución del gas ha cesado, se añadió bromoetano (3,55 g, 47,6 mmol) gota a gota. La reacción se agitó a 0 °C durante 2 horas, después se calentó gradualmente a TA. Se añadió agua a la reacción, dando como resultado la formación de un precipitado que se recogió por filtración y se usó directamente en la etapa siguiente. El material así obtenido se disolvió en EtOH (50 ml) junto con NaOH 3 N (38 ml) y la solución se calentó a reflujo durante toda una noche. Se enfrió la reacción a 0 °C y se ajustó el pH lentamente a entre 3-4 usando HCl 1N. El precipitado blanco resultante se recogió por filtración y se recristalizó a partir de acetonitrilo proporcionando ácido S-(etilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-carboxílico (6,6 g, 28,6 mmol). El compuesto tuvo un tiempo de retención de HPLC = 2,32 min. CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, H₃PO₄ al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, H₃PO₄ al 0,2 %. CL/EM M⁺ = 232,3. RMN de ¹H (500 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 0,89 (t, J = 7,2 Hz, 3H), 2,77 (m, 2H), 6,14 (sa, 1H), 7,43 (m, 1H), 7,52 (m, 4H), 7,72 (s 1H).

Preparación de intermedio 6 (Int. 6):

(Z)-4-(1,3-dioxolan-2-il)-N'-hidroxibencimidamida



Int. 6-A. 4-(1,3-dioxolan-2-il)benzonitrilo

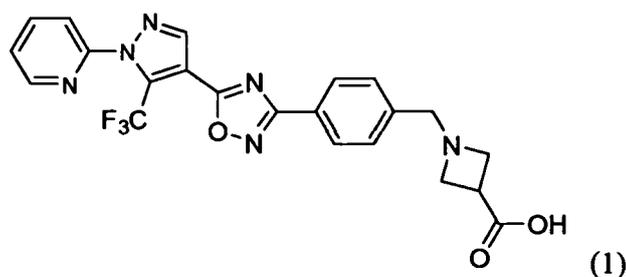
5 Una solución de 4-formilbenzonitrilo (10 g, 76,3 mmol), etilenglicol (18,95 g, 305 mmol) y ácido p-toluenosulfónico (7 mg, 0,003 mmol) en tolueno (100 ml) se calentó a reflujo durante 9 horas. Durante este tiempo se usó una trampa Dean-Stark para eliminar el agua formada durante la reacción. A la reacción se añadió Na₂CO₃ acuoso (150 ml). Se lavó la fase orgánica dos veces con agua (100 ml), después se secó sobre Na₂SO₄. El disolvente se retiró al vacío proporcionando 4-(1,3-dioxolan-2-il)benzonitrilo (12 g, 68 mmol). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 4.24 min.-Columna: HYPERSIL® BDS C18 (4,6 x 50 mm) Caudal = 0,8 ml/minuto. Disolvente A = TFA al 0,1 % en agua; Disolvente B = acetonitrilo. B al 5 %-100 % (0-6 min.), B al 100 % (6-9 min.), B al 100 %-B al 5 % (9-11 minutos).

Int. 6-B. (Z)-4-(1,3-dioxolan-2-il)-N'-hidroxibencimidamida

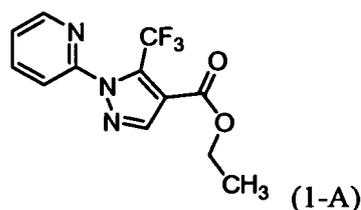
15 Una mezcla de 4-(1,3-dioxolan-2-il)benzonitrilo (16,4 g, 93,6 mmol), clorhidrato de hidroxilamina (9,76 g, 140 mmol) y bicarbonato de sodio (15,7 g, 187 mmol) en MeOH (100 ml) se calentó a reflujo durante 4 horas. Después de enfriar a TA, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró proporcionando sólidos que se recogieron por filtración y se lavaron con metanol frío proporcionando (Z)-4-(1,3-dioxolan-2-il)-N'-hidroxibencimidamida (16 g, 76,8 mmol). El compuesto tiene tiempo de retención de HPLC = 0,38 min. - CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 30 mm. flujo = 5 ml/min. (gradiente de 2 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, TFA al 0,1 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, TFA al 0,1 %. CL/EM M⁺¹ = 209,2.

Ejemplo 1

Ácido carboxílico 1-(4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-isoxazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-



25

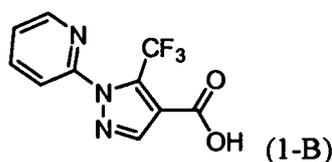
1-A. 1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo

30

Una solución de 2-hidrazinopiridina (5 g, 45,8 mmol) en THF (200 ml) en nitrógeno se enfrió en un baño de hielo seco/isopropanol a -34 °C. Se añadió una solución de 2-(etoximetileno)-4,4,4-trifluoro-3-oxobutanoato de (Z)-etilo (11 g, 45,8 mmol) en THF (73 ml) en una corriente lenta durante 25 minutos, con lavado de nitrógeno. Durante la adición, temperatura de reacción interna promediaba -34 °C y nunca excedió de -31 °C. Después de finalización de la adición, se continuó la agitación a -33,5 °C durante -40 min. Se añadió (Z)-etilo 2-(etoximetileno)-4,4,4-trifluoro-3-oxobutanoato de (Z)-etilo (0,89 ml, 0,10 eq.) y la agitación a -30 °C se continuó durante 11 minutos EtOAc (270 ml) junto con solución de NaHCO₃ acuosa saturada (250 ml) y salmuera (20 ml). Se separaron las capas y se lavó la capa acuosa con solución de NaHCO₃ acuosa saturada, salmuera, después se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron al vacío proporcionando un aceite viscoso naranja. Cromatografía ultrarrápida en gel de sílice proporcionó 1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (10,62 g) como un sólido amarillo. El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 2,5 min.-Columna: YMC COMBISCREEN® ODS-A 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, TFA al 0,1 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, TFA al 0,1 %. CL/EM M⁺¹ = 286,1.

1-B. Ácido 1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico

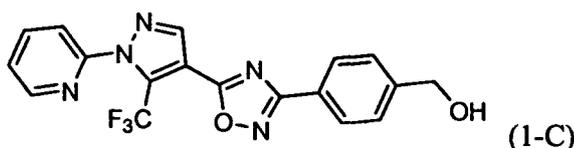
15



A una solución de 1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (8,7 g, 30,5 mmol) en etanol (2 ml) se añadió NaOH 3 N (30,5 ml, 92 mmol). Después la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora, el disolvente se evaporó y se añadió HCl acuoso 3N. Los sólidos resultantes se recogieron por filtración proporcionando 1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (5,58 g, 21,7 mmol). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 2,0 min.-Columna: PHENOMENEX® Luna 5u C 18 4,6 x 30 mm (2 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, TFA al 0,1 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, TFA al 0,1 %. CL/EM M⁺¹ = 258,1.

1-C. (4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil)metanol

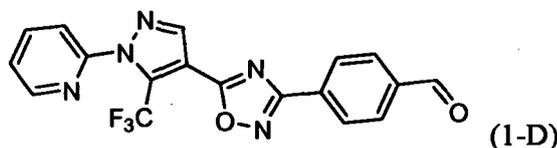
25



A una solución de ácido 1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (2,57 g, 9,99 mmol) en DMF (30 ml) se añadió EDC (2,395 g, 12,49 mmol), HOBT (1,913 g, 12,49 mmol) y base de Hunig (5,24 ml, 30,0 mmol). La reacción se agitó durante 40 min. a temperatura ambiente, después se añadió N-hidroxi-4-(hidroximetil)benzimidamida, Int. 2, (2,076 g, 12,49 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 7 h, después se añadieron EDC (2,395 g, 12,49 mmol), HOBT (1,913 g, 12,49 mmol) y base de Hunig (5,24 ml, 30,0 mmol) adicionales. La reacción se calentó a 60 °C durante 2 h, después a 110 °C durante 10 min. Se añadió HCl ac. 1N ajustando el pH a 1, después se añadieron 30 ml de agua.

El producto precipitado resultante se recogió por filtración y se lavó con agua proporcionando (4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil)metanol (2,28 g, 5,83 mmol, al 58 %) como el sólido amarillo claro. El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 3,37 min.-Columna: CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, H₃PO₄ al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, H₃PO₄ al 0,2 %. CL/EM M⁺¹ = 388,0 RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 4,61 (d, J = 6 Hz, 2H), 5,39 (t, J = 6 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,70 (ddd, J = 0,9 Hz, 4,8 Hz, 7,5 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 8,06 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 8,20 (dt, J = 2,2 Hz, 7,5 Hz, 1H), 8,67 (dd, J = 1,3 Hz, 4,8 Hz, 1H), 8,73 (s, 1H).

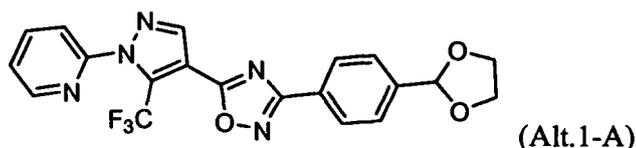
40

1-D. 4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído

- 5 Se enfriaron 300 ml de DCM a -78 °C, después se añadió cloruro de oxalilo (0,475 ml, 5,42 mmol) y la mezcla se agitó a -78 °C durante 10 min. Se añadió DMSO (0,586 ml, 8,26 mmol) y la mezcla se agitó a -78 °C durante 15 minutos. Una solución de 4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil)metanol (1 g, 2,58 mmol) en 60 ml de DCM gota a gota durante 10 minutos dentro de la mezcla de reacción, con el matraz de SM aclarándose con otros 10 ml de DCM que se añadieron también en la reacción gota a gota. La reacción se mantuvo a -78 °C durante 40 minutos, después se añadió la base de Hunig (3,61 ml, 20,66 mmol) durante 10 minutos. La agitación a -78 °C se continuó durante 10 minutos, después del baño de hielo se retiró y el matraz de reacción se calentó gradualmente a temperatura ambiente. Se añadió una solución de KHSO₄ 0,5N (70 ml) y la mezcla se extrajo con DCM (50 ml). Los compuestos orgánicos se combinaron, se secaron con Na₂SO₄ y se concentraron. Se añadió éter dietílico (100 ml) al producto, con la mezcla agitándose durante toda una noche, después se filtró y los sólidos se lavaron con éter dietílico proporcionando 4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído (700 mg, 1,74 mmol). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 3.69 min.-
- 10 Columna: CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, H₃PO₄ al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, H₃PO₄ al 0,2 %. CL/EM M⁺¹ = 386,01. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δppm 7,69 (ddd, J = 0,8 Hz, 5,0 Hz, 7,4 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,15 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 8,20 (dt, J = 1,9 Hz, 7,7 Hz, 1H), 8,32 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 8,67 (dd, J = 1,9 Hz, 4,7 Hz, 1 H), 8,76 (s, 1H), 10,13 (s, 1H).
- 15
- 20

1-E. Preparación de ácido 1-(4-(S-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico

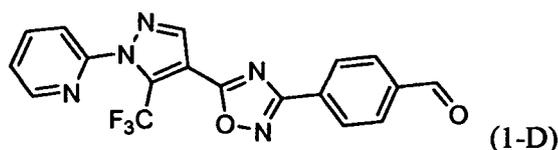
- A una solución de 4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído (1,0 g, 2,60 mmol) en DCM (10 ml) se añadió ácido acético (15 ml) y ácido azetidina-3-carboxílico (1,5 eq., 3,90 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 40 min., después se añadió gota a gota una solución de triacetoxiborohidruro de sodio (1 eq., 2,60 mmol) en DCM (30 ml) durante 1,5 h. Los volátiles se retiraron *al vacío*, se añadió agua (200 ml) y el sólido resultante se recogió por filtración. Se añadió acetato de etilo (40 ml) al producto en bruto después de sonicación durante 30 min., los sólidos se recogieron por filtración y se lavó acetato de etilo proporcionando ácido 1-(4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico (777 mg, 1,65 mmol) como un sólido blanco. El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 2,55 min. Columna: CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, H₃PO₄ al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, H₃PO₄ al 0,2 %. CL/EM M⁺¹ = 471,05. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,21-3,25 (m, 3H), 3,40-3,44 (m, 2H), 3,64 (s, 2H), 7,51 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,69 (ddd, J = 0,8 Hz, 4,7 Hz, 8,3 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,03 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 8,20 (dt, J = 1,9 Hz, 7,7 Hz, 1H), 8,66 (dd, J = 1,1 Hz, 4,1 Hz, 1H), 8,73 (s, 1H).
- 25
- 30
- 35

Preparación alternativa de ejemplo 1 (Alt. 1)**Alt. 1-A. 3-(4-(1,3-dioxolan-2-il)fenil)-5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol**

- 40 A una solución de ácido 1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (31,46 g, 122 mmol) en DMF (200 ml) se añadió EDCI (23,34 g, 134 mmol) y HOBt (16,53 g, 122 mmol). Después la reacción se agitó durante 30 min. a temperatura ambiente se añadió 4-(1,3-dioxolan-2-il)benzonitrilo, Int. 6-A, (16,53 g, 122 mmol). La mezcla de

reacción se agitó a 140 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida retirando los productos volátiles. El residuo se fraccionó entre agua y acetato de etilo y la fase orgánica se lavó con solución acuosa de HCl, solución de NaHCO₃, agua y salmuera antes de secarse sobre Na₂SO₄ y concentrarse proporcionando 3-(4-(1,3-dioxolan-2-il)fenil)-5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol (25 g, 58 mmol). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 6.15 min.-Columna: HYPERSIL® BDS C18 (4,6 x 50 mm) Caudal = 0,8 ml/minuto. Disolvente A = TFA al 0,1 % en agua; Disolvente B = acetonitrilo. B al 5 %-100 % (0-6 min.), B al 100 % (6-9 min.), B al 100 %-B al 5 % (9-11 minutos). CL/EM M⁺¹ = 430,0.

Preparación alternativa de 1-D. 4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído



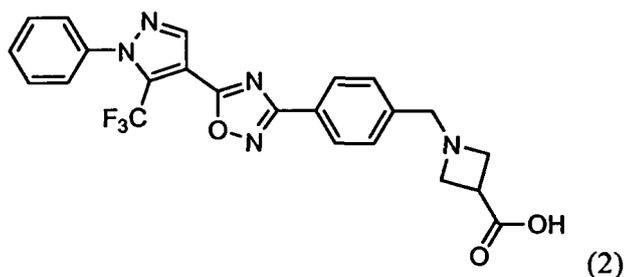
Una solución de 3-(4-(1,3-dioxolan-2-il)fenil)-5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol (25 g, 58,2 mmol) y HCl con. (500 ml) en THF/agua (500 ml/500 ml) se agitó a TA durante 3 horas. Tras finalización de la reacción, según se somete a seguimiento por TLC, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera y después se secó y se concentró a presión reducida proporcionando 4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído (19 g, 49 mmol). El compuesto tiene tiempo de retención de HPLC = 1,90 min.-CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 30 mm. flujo = 5 ml/min. (gradiente de 2 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, TFA al 0,1 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, TFA al 0,1 %. CL/EM M⁺¹ = 386,2.

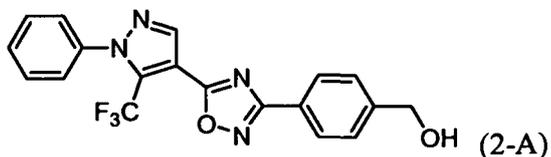
Preparación alternativa de ejemplo 1. Ácido 1-(4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico

Se agitó una solución de 4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído (21 g, 54,5 mmol) y ácido azetidina-3-carboxílico (6,61 g, 65,4 mmol) en etanol (750 ml) y ácido acético (20 ml) a TA durante 30 min. La reacción se enfrió a 0 °C y se añadió lentamente una solución de cianoborohidruro de sodio (*precaución: fuente potencial de generación de cianuro*) (1,17 g, 27,3 mmol) en etanol. La reacción se calentó a TA y se agitó durante toda una noche. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se disolvió con agua. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua. El producto se purificó una vez cada una con DCM:metanol (98:2), DCM:metanol (96:4) y acetato de etilo proporcionando ácido 1-(4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico (16 g., 34 mmol). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 8.48 min.-Columna: XbridgeA 4,6 x 150 mm. Caudal = 1,0 ml/min. Tampón = TFA al 0,05 % en agua a pH 2,5. Disolvente A = Tampón: Acetonitrilo (95:5), Disolvente B = Acetonitrilo:Tampón (95:5). B al 0-100% durante 12 minutos. CL/EM M⁺¹ = 471,2.

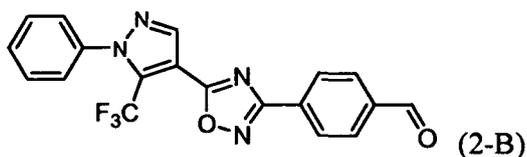
Ejemplo 2

Ácido 1-(4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico



2-A. (4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil)metanol

5 Se disolvieron ácido 1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-carboxílico (2 g, 7,811 mmol), HOBT (1,315 g, 8,59 mmol) y EDC (1,646 g, 8,59 mmol) en DMF (18 ml) en nitrógeno a temperatura ambiente. La solución amarilla pálida, transparente resultante se agitó durante 20 minutos, después se añadió N-hidroxi-4-(hidroximetil)bencimidamida, Int. 2, (1,297 g, 7,81 mmol) en varias partes. La reacción se situó en un baño de aceite precalentado a 140 °C y se agitó durante 10 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en agua (150 ml), se agitó vigorosamente y se situó en un baño sonicador durante 1 hora. Los sólidos se recogieron por filtración, se lavaron con agua, se secaron al aire y se situaron después a vacío dando (4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil)metanol (2,5 g, 6,47 mmol) como un sólido amarillo muy claro. El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 3,76 min.-Columna: CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, H₃PO₄ al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, H₃PO₄ al 0,2 %. CL/EM M⁺¹ = 387,1 RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ ppm 4,70 (s, 2H), 7,53-7,57 (m, 4 H), 7,57-7,62 (m, 1H), 7,61 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 8,12 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 8,48 (s, 1H).

2-B. Ácido 4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído

20 Un matraz de fondo redondo de 50 ml se secó a la llama y se enfrió en una corriente de nitrógeno frío. Se añadieron DCM (25 ml) seguido por cloruro de oxalilo (6,79 ml, 13,59 mmol) (2M en DCM) al matraz y se enfriaron en un baño de acetona/hielo seco. Se añadió gota a gota dimetilsulfóxido (1,47 ml, 20,71 mmol). Después de 10 minutos, se añadió (4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil)metanol (2,5 g, 6,47 mmol) en pequeñas porciones durante 5-10 minutos proporcionando una suspensión amarilla pálida. Después de agitar durante 5 minutos, se añadió gota a gota DIPEA (9,27 ml, 53,1 mmol). La mezcla turbia comienza a aclararse, después llegó a ser turbia de nuevo con el color palideciendo desde amarillo pálido hasta blanquecino durante el curso de la adición. Después de 5 minutos, se retiró el baño de hielo y la reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas los disolvente se evaporaron y el residuo se fraccionó entre EtOAc (100 ml) y KH₂SO₄ 0,5 N (70 ml). La fase de EtOAc se lavó con 50 ml cada vez de HCl 1N, agua, NaHCO₃ saturado acuoso, agua y salmuera, después se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó. El sólido se suspendió en hexanos (con EtOAc al 5 %) con sonicación y calentamiento, después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. Los sólidos se lavaron con hexanos, se secaron al aire y se situaron al vacío proporcionando 4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído (1,55 g). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 2,04 min.-Columna: PHENOMENEX® Luna 5u C18 4,6 x 30 mm (2 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, TFA al 0,1 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, TFA al 0,1 %. CL/EM M⁺¹ = 385,17.

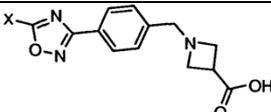
2-C. Preparación de ácido 1-(4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico

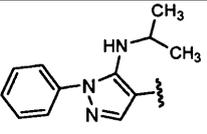
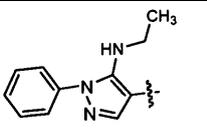
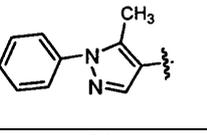
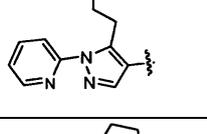
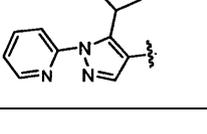
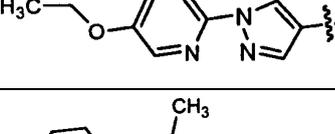
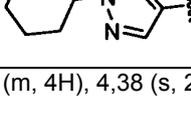
40 A una solución de 4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído (700 mg, 1,821 mmol) en MeOH (12 ml) y 1,2-dicloroetano (3 ml) se añadieron 0,1 ml de ácido acético y ácido azetidina-3-carboxílico (203 mg, 2,0 mmol). La mezcla se dejó agitar a temperatura ambiente durante 40 min. y después se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (618 mg, 2,91 mmol). La mezcla se dejó agitar a temperatura ambiente durante 5 horas, después se filtró proporcionando un sólido blanco que se lavó con agua (1 ml) y MeOH (3 x 1ml). El sólido

5 se secó el vacío dando ácido 1-(4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzil)azetidina-3-carboxílico (480 mg, 1,02 mmol). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 6,91 min.-Columna: Col-1 de pH bajo: Sunfire C18 3,5 μm , 4,6 x 150 mm; % de partida de B = 10; a 12 min. al 100 %; a 15 min. al 100 %; caudal = 2 ml/min.; longitud de onda 1 = 220; longitud de onda 2 = 254; par de disolventes = TFA-MeCN/H₂O; disolvente A = TFA al 0,05 % en H₂O:MeCN (95:5); disolvente B = TFA al 0,05 % en H₂O:MeCN (5:95); columna 1 = pH bajo-HPLC paralela; a 220 nm CL/EM $\text{M}^{-1} = 470,1$. RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ ppm 3,41 (dt, J = 8,8 Hz, 7,7

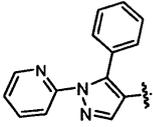
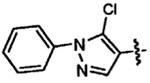
Tabla 1

Los compuestos en Tabla 1 se prepararon de una manera similar a los Ejemplos anteriores, por reacción del pirazol ácido carboxílico correspondiente con Int. 2 y se elaboró como describe por 1-C. Lo ácidos carboxílicos requeridos bien estuvieron disponibles comercialmente (como en el caso de Ej. 5, Ej. 6 y Ej. 11), o se prepararon por condensación similar a aquella descrita por la preparación de 1-A, a partir de las hidrazinas correspondientes (todas disponibles comercialmente) con el producto de la condensación del beta cetoéster requerido y con dimetilacetal DMF, (3-ciclopentil-3-oxopropanoato de terc-butilo en el caso de Ej. 7, 2-acetoacetato de etilo, en el caso de Ej. 9, 3-oxo-3-fenilpropanoato de etilo en el caso de Ej. 10. El carboxilato de pirazol para Ej. 3 se preparó en una manera similar a aquella descrita para Int. 5, sustituyendo isopropilamina por etilamina. El carboxilato de pirazol para Ej. 8 se preparó por la condensación de 2-fluoro-6-hidrazinilpiridina con 2-(etoximetileno)-4,4,4-trifluoro-3-oxobutanoato.



Ej. N.º	X	PM	Tiempo ret. de HPLC (min.)	Procedimiento de HPLC	EM (M^{-1})
3		458,51	6,81	C	459,3
4		444,49	7,46	C	445,3
5		415,44	2,81	A	416,2
6		444,49	6,635	C	445,4
7		470,52	2,74	B	471,2
8		514,26	3,21	B	515,2
9		421,49	6,76	C	422,3

Hz, 1H), 4,12-4,18 (m, 4H), 4,38 (s, 2H), 7,57-7,66 (m, 7H), 8,23 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 8,50 (s, 1H).

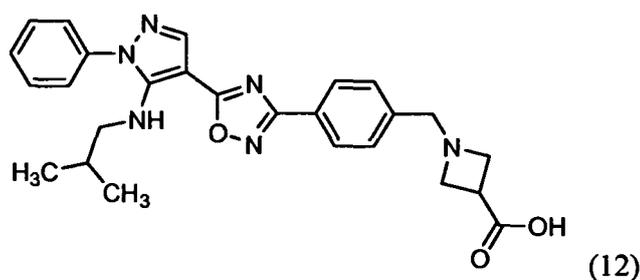
10		478,5	1,57	D	478,9
11		435,86	6,51	C	436,2

Procedimiento de HPLC	Condiciones de HPLC
A	CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H ₂ O al 90 %, H ₃ PO ₄ al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H ₂ O al 10 %, H ₃ PO ₄ al 0,2 %.
B	Columna: YMC COMBISCREEN® ODS-A 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H ₂ O al 90 %, H ₃ PO ₄ al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H ₂ O al 10 %, H ₃ PO ₄ al 0,2 %.
C	Col-1 de pH bajo: Sunfire C18 3,5 µm, 4,6 x 150 mm; % de partida de B = 10; 100 % a 12 min.; 100% a 15 min.; caudal = 2 ml/min.; longitud de onda 1 = 220; longitud de onda 2 = 254; par de disolventes = TFA-MeCN/H ₂ O; disolvente A = TFA al 0,05 % en H ₂ O:MeCN (95:5); disolvente B = TFA al 0,05 % en H ₂ O:MeCN (5:95); columna 1 = pH bajo-HPLC paralela; a 220 nm
D	Columna: XbridgeA 4,6 x 50 mm (4 min.); disolvente A = acetonitrilo al 5 % H ₂ O al 95 %, NH ₄ OAc 10 mM; disolvente B = acetonitrilo al 95 % H ₂ O al 5 %, NH ₄ OAc 10 mM;

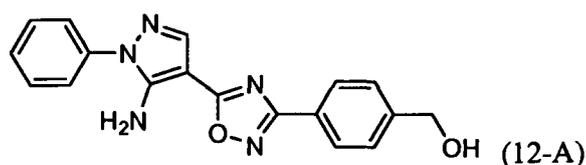
Ejemplo 12

Ácido 1-(4-(5-(5-(isobutilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico;

5



12-A. (4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)metanol

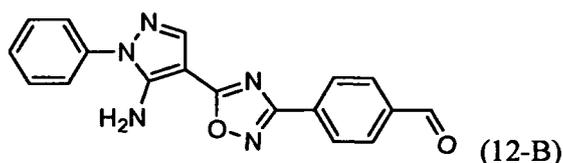


10

Se disolvieron ácido 5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-carboxílico (1,8 g, 8,86 mmol), HOBT (1,357 g, 8,86 mmol) y EDCI

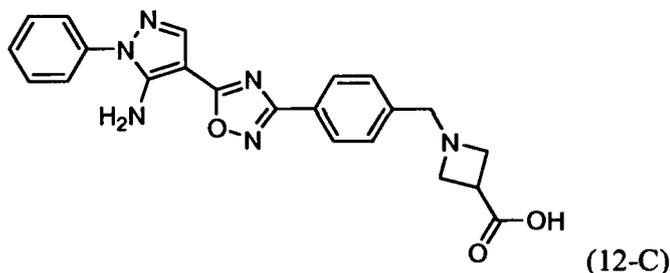
(1,698 g, 8,86 mmol) en DMF (12 ml) en nitrógeno a temperatura ambiente. La solución amarilla pálida, transparente resultante se agitó durante 30 minutos después se añadió N-hidroxi-4-(hidroximetil)bencimidamida (1,472 g, 8,86 mmol) en varias partes. La reacción se situó en un baño de aceite ajustado a 130 °C. Después de 4 horas, la solución se enfrió a RT y después se añadió agitando agua rápidamente (50 ml). El precipitado inicial se agitó y se sonicó dando un sólido amarillo que se recogió por filtración, se lavó con agua, se secó al aire y se secó al vacío proporcionando 4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil)metanol (1,5 g 4,05 mmol). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 3,19 min. Columna: CHROMOLITH® SpeedROD 4,6 x 50 mm (4 min.); Disolvente A = MeOH al 10 %, H₂O al 90 %, H₃PO₄ al 0,2 %; Disolvente B = MeOH al 90 %, H₂O al 10 %, H₃PO₄ al 0,2 %. CL/EM M⁺¹ = 334,2. RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ ppm 3,34 (s, 2H), 7,53-7,57 (m, 4H), 7,57-7,62 (m, 1H), 7,61 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 8,12 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 8,48 (s, 1H).

12-B. 4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído



Un matraz de fondo redondo de 50 ml se secó a la llama y se enfrió en una corriente de nitrógeno frío. Se añadió DCM (10 ml) seguido por cloruro de oxalilo (2M en DCM, 0,882 ml, 1,764 mmol) al matraz y se enfrió en un baño de acetona/hielo seco. Se añadió gota a gota DMSO (0,191 ml, 2,69 mmol). Después de 10 minutos, se añadió 4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil)metanol (280 mg, 0,840 mmol) en pequeñas porciones durante 1-2 minutos proporcionando una suspensión amarilla pálida. Después de agitar durante 2-3 minutos, se añadió gota a gota DIPEA (1,203 ml, 6,89 mmol). La mezcla turbia comienza a aclararse, después llegó a ser turbia de nuevo con el color palideciendo desde amarillo pálido hasta blanquecino durante el curso de la adición. Después de 5 minutos, se retiró el baño de hielo y la reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente. Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, los disolvente se evaporaron y el residuo se fraccionó entre EtOAc (60 ml) y KHSO₄ 0,5 N (25 ml). La fase de EtOAc se lavó con 25 ml cada vez de HCl 1N, agua, NaHCO₃ saturado acuoso, agua y salmuera, después se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó. El sólido se suspendió en hexanos (con EtOAc al 10 %) con sonicación y calentamiento, después se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. Los sólidos se lavaron con hexanos, se secaron al aire, después se situaron a vacío proporcionando 4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído (250 mg, 0,664 mmol) que se usó sin purificación adicional. El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 1,77 min. - Columna: (columna PHENOMENEX® Luna 4,6 x 30 mm S-5 ODS) eluyendo con metanol acuoso 10-90 % + TFA al 0,1 % durante un gradiente de 2 minutos. CL/EM M⁺¹ = 334,2.

12-C. Ácido 1-(4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico



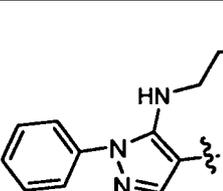
A una solución de 4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benzaldehído (100 mg, 0,302 mmol) en MeOH (6 ml) y 1,2-dicloroetano (2 ml) se añadieron 0,1 ml de ácido acético y ácido azetidina-3-carboxílico (45,8 mg, 0,453 mmol), la mezcla se dejó agitar a TA durante 40 min. y después se añadió triacetoxiborohidruro de sodio (64,0 mg, 0,302 mmol) en varias porciones. La reacción se agitó a TA durante toda una noche después los disolventes se retiraron *al vacío* y el residuo se purificó por HPLC proporcionando ácido 1-(4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico, sal de ácido trifluoroacético (95 mg, 0,18 mmol). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 5.73 min.-Columna: Col-1 de pH bajo: Sunfire C18 3,5 μm, 4,6 x 150 mm; %

de partida de B = 10; 100 % a 12 min.; 100% a 15 min.; caudal = 2 ml/min.; longitud de onda 1 = 220; longitud de onda 2 = 254; par de disolventes = TFA-MeCN/H₂O; disolvente A = TFA al 0,05 % en H₂O:MeCN (95:5); disolvente B = TFA al 0,05 % en H₂O:MeCN (5:95); columna 1 = pH bajo-HPLC paralela; a 220 nm. CLEM M⁺ = 417,2. RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ ppm 3,63 (m, 1H), 4,26 (m, 4H), 4,40 (s, 2H), 7,40 (m, 1H), 7,46 (m, 4H), 7,51 (d, J = 8,3 Hz, 2H), 7,92 (s, 1H), 8,05 (d, J = 8,3 Hz, 2H).

12. Preparación de ácido 1-(4-(5-(5-(isobutilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico, sal de ácido 2,2,2-trifluoroacético

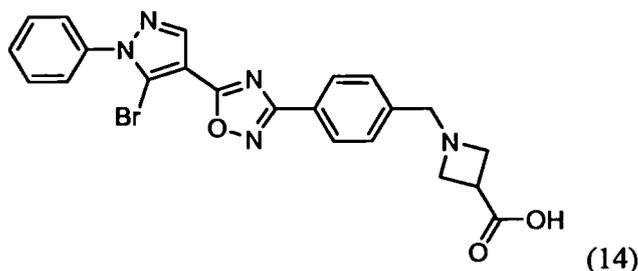
A una solución de ácido 1-(4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico (20 mg, 0,048 mmol) en acetonitrilo (1,5 ml) se añadió isobutilaldehído (10,39 mg, 0,144 mmol), TFA (0,011 ml, 0,144 mmol) y trietilsilano (0,023 ml, 0,144 mmol). La reacción se agitó a 55 °C durante toda una noche. La purificación por HPLC preparativa proporcionó ácido 1-(4-(5-(5-(isobutilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico, sal de ácido 2,2,2-trifluoroacético (9 mg, 0,015 mmol). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 7.17 min.-Columna: Col-1 de pH bajo: Sunfire C18 3,5 μm, 4,6 x 150 mm; % de B de partida B = 10; al 100 % a los 12 minutos; al 100 % a los 15 min.; caudal = 2 ml/min.; longitud de onda 1 = 220; longitud de onda 2 = 254; par de disolventes = TFA-MeCN/H₂O; disolvente A = TFA al 0,05 % en H₂O: MeCN (95:5); disolvente B = TFA al 0,05 % en H₂O:MeCN (5:95); columna 1 = pH bajo-HPLC paralela; a 220 nm. CL/EM M⁺ = 473,3. RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ ppm 0,71 (dt, 6H, J = 6,6 Hz), 1,49-1,61 (m, 1H), 2,67 (d, 2H, J = 6,6 Hz), 3,63-3,69 (m, 1H), 4,25-4,31 (m, 4H), 4,42 (s, 2 H), 7,34-7,41 (m, 1H), 7,44-7,49 (m, 4H), 7,51 (d, 2H, J = 8,3 Hz), 7,88 (s, 1H), 8,10 (d, 2H, J = 8,3 Hz).

Tabla 2

El compuesto en la Tabla 2 se preparó de una manera similar al Ejemplo anterior.					
Ej. N.º	X	PM	Tiempo ret. de HPLC (min.)	Procedimientos de HPLC	EM (M ⁺)
13		472,5	7,2	D	473,3

Ejemplo 14

Ácido 1-(4-(5-(5-bromo-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico, sal de ácido 2,2,2-trifluoroacético

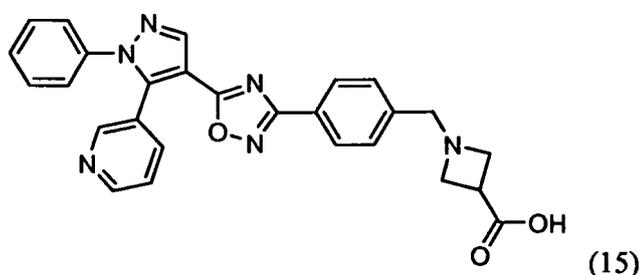


A una solución de ácido 1-(4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico (30 mg, 0,072 mmol) y bromuro de cobre (II) (24,14 mg, 0,108 mmol) en acetonitrilo (2 ml) a 0° C se añadió nitrito de *tert*-butilo (0,013 ml, 0,108 mmol) gota a gota. La mezcla se dejó calentar hasta TA lentamente y se agitó a TA durante 3 horas. Los disolventes se agitaron a vacío y el residuo se purificó por HPLC preparativa proporcionando ácido 1-(4-(5-(5-bromo-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico, sal de ácido 2,2,2-trifluoroacético (9,9 mg, 0,017 mmol). El compuesto tiene un tiempo de retención de HPLC = 6,52 min.-Columna: Col-1 de pH bajo: Sunfire C 18 3,5 µm, 4,6 x 150 mm; % de B de partida = 10; 100 % a los 12 min.; 100 % a los 15 min.; caudal = 2 ml/min.; longitud de onda 1 = 220; longitud de onda 2 = 254; par de disolventes = TFA-MeCN/H₂O; disolvente A = TFA al 0,05 % en H₂O:MeCN (95:5); disolvente B = TFA al 0,05 % en H₂O:MeCN (5:95); columna 1 = pH bajo-HPLC paralela; a 220 nm; CL/EM M⁺¹= 480,1, 482,1. RMN de ¹H (500 MHz, MeOD) δ ppm 3,68-3,75 (m, 1H), 4,34-4,40 (m, 4H), 4,61 (s, 2H), 7,57-7,63 (m, 5H), 7,66 (d, 2H, J = 8,3Hz), 8,25 (d, 2H, J = 8,3 Hz), 8,45 (s, 1H).

Ejemplo 15

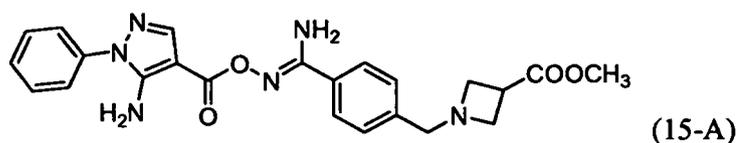
Ácido 1-(4-(5-(1-fenil-5-(piridin-3-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico, sal de ácido 2,2,2-trifluoroacético

15

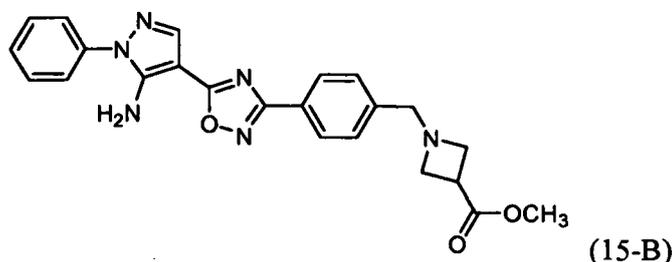


15-A. 1-(4-(N'-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-carboniloxi)carbamimidoil)bencil)azetidina-3-carboxilato

20



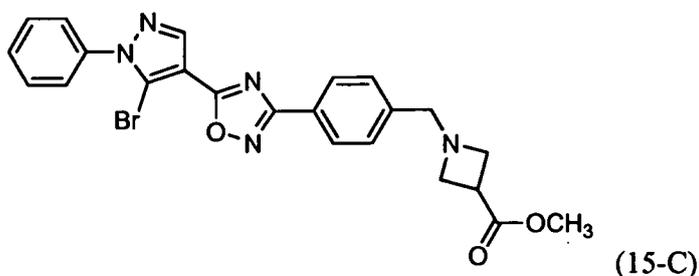
Una mezcla de ácido 5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-carboxílico (90 mg, 0,441 mmol), 1-(4-(N'-hidroxicarbamimidoil)bencil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-metilo (116 mg, 0,441 mmol), EDC (84 mg, 0,441 mmol) y HOBT (67,5 mg, 0,441 mmol) en DMF (1 ml) se agitó a TA durante 1 hora. En este momento, Et₃N (0,061 ml, 0,441 mmol) se añadió y se continuó la agitación a TA durante 3 días. La mezcla se calentó después a 50 °C durante 10 minutos. La mezcla de reacción se fraccionó entre EtOAc (30 ml) y solución de bicarbonato de sodio saturada (30 ml). La fase orgánica se lavó con solución de bicarbonato de sodio saturada (30 ml), agua (30 ml) y salmuera (30 ml). Después de secado (MgSO₄) y filtración, la fase orgánica se concentró proporcionando 1-(4-(N'-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-carboniloxi)carbamimidoil)bencil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-metilo (103 mg, 0,230 mmol) como un sólido blanco. Tiempo de retención de HPLC = 1,05 minutos (columna PHENOMENEX® Luna 4,6 x 30 mm S-5 ODS) eluyendo con metanol acuoso al 10-90 % + TFA al 0,1 % durante un gradiente de 2 minutos. EM: (M+H) = 449,3.

15-B. 1-(4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxilato de metilo

5 A una suspensión de 1-(4-(N'-(S-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-carboniloxi)carbamimidol)encil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-metilo (102 mg, 0,227 mmol) en EtOH (3 ml) se añadió acetato de sodio (37,3 mg, 0,455 mmol) como una solución en agua (1 ml). La mezcla se calentó a 90 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se transfirió a un vial de microondas y se calentó después a 120 °C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se fraccionó entre EtOAc (30 ml) y agua (30 ml). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (15 ml) y las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄) y se concentraron proporcionando un aceite que se cromatografió en un cartucho de gel de sílice Isco (10
12 gm, eluyendo con un gradiente de EtOAc al 0-100 %/hexano. Las fracciones puras se concentraron proporcionando 1-(4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-
15 pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxilato de metilo (70 mg, 0,163 mmol) como un aceite incoloro. Tiempo de retención de HPLC = 1,35 (éster etílico-1,42) minutos (columna PHENOMENEX® Luna 4,6 x 30 mm S-5 ODS) eluyendo con metanol acuoso al 10-90 % + TFA al 0,1 % durante un gradiente de 2 minutos. EM: (M+H) = 431,23 (éster etílico-445,25). (El producto es una muestra de éster metílico y éster etílico debido a la transesterificación parcial durante la reacción. La mezcla se llevó a cabo a través de la secuencia)

15-C. Preparación de 1-(4-(5-(5-bromo-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxilato de metilo:

20



A una solución de 1-(4-(5-(5-amino-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxilato de metilo (69 mg, 0,160 mmol) y bromuro de cobre (II) (53,7 mg, 0,240 mmol) en acetonitrilo (3 ml) a 0 °C se añadió nitrito de terc-butilo (0,029 ml, 0,240 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar a TA y agitar durante 1 h. La mezcla de reacción se fraccionó después entre EtOAc (30 ml) y solución de NH₄Cl: NH₄OH concentrado, 1:1 (30 ml). La fase orgánica se lavó con solución de NH₄Cl saturada: NH₄OH concentrado, 1:1 (30 ml) y solución de NH₄Cl saturada (30 ml). Después de secado (MgSO₄) y filtración, la fase orgánica se concentró proporcionando 1-(4-(5-(5-bromo-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxilato de metilo (48 mg, 0,097 mmol) como un aceite naranja. Tiempo de retención de HPLC = 1,53 (éster etílico-1,58) minutos (columna PHENOMENEX® Luna 4,6 x 30 mm S-5 ODS) eluyendo con metanol acuoso al 10-90 % + TFA al 0,1 % durante un gradiente de 2 minutos. EM:(M+H)= 494/496,11 (éster etílico-508/510,11). (Nota: este producto es una mezcla de éster metílico y éster etílico).

15. Preparación de ácido 1-(4-(5-(1-fenil-5-(piridin-3-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxílico, sal de ácido 2,2,2-trifluoroacético

35

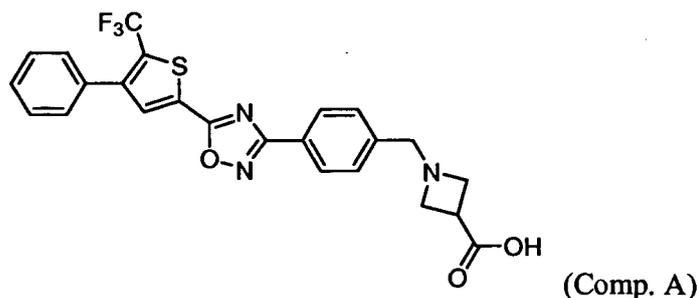
Una mezcla de 1-(4-(5-(5-bromo-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)encil)azetidina-3-carboxilato de metilo

(47 mg, 0,095 mmol), ácido piridin-3-ilbórico (12,86 mg, 0,105 mmol), triciclohexilfosfina (2,67 mg, 9,51 μ mol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (3,48 mg, 3,80 μ mol) y fosfato de potasio, tribásico, (0,081 ml, 0,162 mmol) 2,0M en dioxano (1 ml) se calentó a 100 °C en nitrógeno durante 8 hora. Después de enfriar a ta, la mezcla de reacción se fracciona entre EtOAc (30 ml) y agua (20 ml). La fase orgánica se secó y se concentró a un aceite amarillo Este aceite se disolvió en MeOH (1 ml) y se añadió NaOH 1N (0,2 ml). Después de agitar 1 hora a ta, se añadieron 0,2 ml de HCl 1N y la mezcla de reacción se concentró a sequedad. El residuo se suspendió en agua y el pH se ajustó a -4 dando como resultado una suspensión. La suspensión se filtró y el filtrado se determinó conteniendo el producto deseado. Después de concentrar el filtrado, el residuo de disolvió en MeOH y se sometió a HPLC preparativa (columna YMC 20 x 100 mm S-10 ODS; metanol acuoso al 10-90 % + TFA al 0,1 % durante un gradiente de 10 minutos). La fracción pura se concentró y se secó durante toda una noche proporcionando ácido 1-(4-(5-(1-fenil-5-(piridin-3-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico, sal de ácido 2,2,2-trifluoroacético (5,3 mg, 8,94 μ mol) como un sólido blanco. Tiempo de retención de HPLC = 2,31 minutos (columna YMC-Combi 4,6 x 50 mm S-5 ODS) eluyendo con metanol acuoso al 10-90 % + ácido fosfórico al 0,2 % durante un gradiente de 4 minutos. EM: (M+H) = 479,30. RMN de 1 H (400 MHz, MeOD) δ ppm 3,73 (m, 1H), 4,38 (m, 4H), 4,51 (s, 2H), 7,40 (m, 2H), 7,46 (m, 2H), 7,56 (m, 2H), 7,62 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,96 (m, 1H), 8,12 (d, J = 8,1 Hz, 2H), 8,56 (s, 1H), 8,68 (m, 1H), 8,74 (s, 1H).

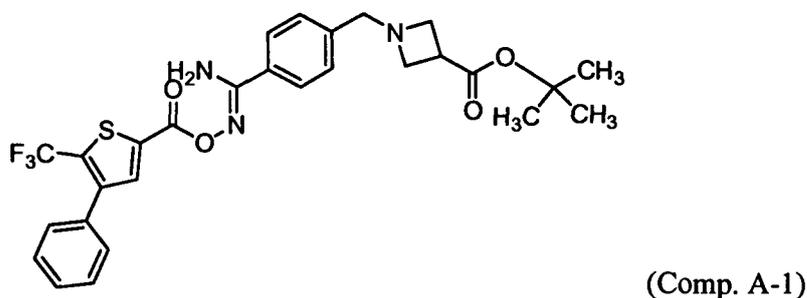
Compuesto comparativo A (Comp. A)

Comp A-1. Ácido 1-(4-(S-(4-fenil-5-(trifluorometil)tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico

Un compuesto comparativo (Comp. A) se preparó para evaluación. Este compuesto es Ejemplo 54 a partir del documento WO 2003/062252 que se ha descrito también en Hale y cols., J. Med. Chem., 6662 (2004).



25 **Comp. A-1. 1-(4-(N'-(4-fenil-5-(trifluorometil)tiofeno-2-carboniloxi)-carbamimidoil)bencil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-terc-butilo**

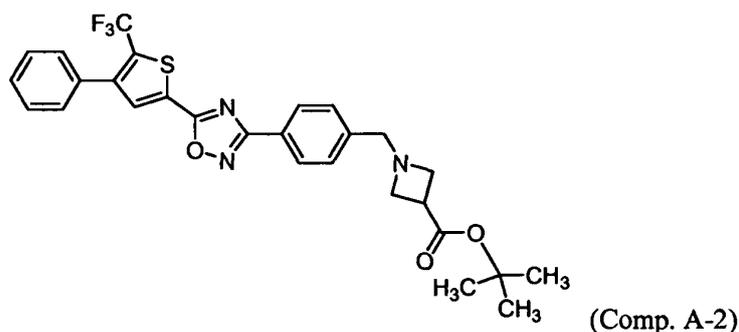


30 Una mezcla de ácido 4-fenil-5-(trifluorometil)tiofeno-2-carboxílico (408 mg, 1,50 mmol), 1-(4-(N'-hidroxicarbamimidoil)bencil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-terc-butilo (Int. 1, 458 mg, 1,50 mmol), HOBT (345 mg, 2,250 mmol), base de Hunig (1,05 ml, 6,00 mmol) y EDC (431 mg, 2,25 mmol) en N,N-dimetilformamida (7,5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla de reacción se fraccionó entre acetato de etilo (120 ml) y una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (60 ml). La fase orgánica se lavó con agua (2 x 120 ml), se lavó con salmuera (120 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La concentración a presión reducida proporcionó 1-(4-(N'-(4-fenil-5-(trifluorometil)tiofeno-2-carboniloxi)carbamimidoil)bencil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-

35

terc-butilo (744 mg, 1,33 mmol, rendimiento del 89 %) como un sólido de color melocotón claro que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. Tiempo de retención de HPLC = 3,26 minutos (columna YMC Combi S-5 4,6 x 50 mm ODS) eluyendo con metanol acuoso al 10-90 % + ácido fosfórico al 0,2 % durante un gradiente de 4 minutos. EM: (M+H) = 560,25.

5 **Comp. A-2. 1-(4-(5-(4-fenil-5-(trifluorometil)tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxilato de terc-butilo**



10 A una solución de 1-(4-(N'-(4-fenil-5-(trifluorometil)tiofen-2-carboniloxi)carbamididoil)bencil)azetidina-3-carboxilato de (Z)-terc-butilo (744 mg, 1,33 mmol) en acetonitrilo (30 ml) se añadió una solución 1M de TBAF en tetrahidrofurano (3,99 ml, 3,99 mmol) y la mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 3 días. Los volátiles se retiraron a presión reducida y el residuo se cromatografió en una columna de gel de sílice de 5 x 12 cm, eluyendo con un gradiente de EtOAc al 0-50 %/hexano. Las fracciones esencialmente puras que contienen producto se concentraron proporcionando 1-(4-(5-(4-fenil-5-(trifluorometil)tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxilato de terc-butilo (521 mg, 0,962 mmol, rendimiento del 72,4 %) como un sólido incoloro. Tiempo de retención de HPLC = 3,636 minutos (columna YMC Combi S-5 4,6 x 50 mm ODS) eluyendo con metanol acuoso al 10-90 % + ácido fosfórico al 0,2 % durante un gradiente de 4 minutos. EM: (M+H) = 542,22. RMN de ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,46 (s, 9H), 3,25-3,31 (m, 3H), 3,52-3,58 (m, 2H), 3,69 (s, 2H), 7,43 (d, J = 8,25 Hz, 2H), 7,47 (m, 5H), 7,91 (s, d, J = 1,65 Hz, 1H) y 8,09 (d, J = 8,25 Hz, 2H).

Comp. A. Preparación de ácido 1-(4-(5-(4-fenil-5-(trifluorometil)tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)-azetidina-3-carboxílico

Una solución de 1-(4-(5-(4-fenil-5-(trifluorometil)tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxilato de terc-butilo (518 mg, 0,956 mmol) en ácido trifluoroacético (15 ml) se dejó reposar a temperatura ambiente durante 1,5 h. Los volátiles se retiraron a presión reducida y el residuo se coevaporó a partir de acetato de etilo/hexanos. (2 x 10 ml). El residuo se suspendió en agua (10 ml) y el pH se ajustó a ~11 con hidróxido de sodio acuoso 1N. A esta solución se añadió suficiente ácido clorhídrico 1N ajustando el pH -4,5. La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante toda una noche. La suspensión blanca se filtró a través de un filtro de gas sinterizado de porosidad media y la torta del filtro se lavó cuidadosamente con agua. El sólido se secó, el polvo blanco se suspendió en metanol y la suspensión se sonicó hasta que fue uniforme. El metanol se retiró a presión reducida y el procedimiento se repitió dos veces más proporcionando un sólido blanco que se agitó como una suspensión en metanol (30 ml) durante toda una noche. La filtración al vacío y el secado proporcionaron ácido 1-(4-(5-(4-fenil-5-(trifluorometil)tiofen-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)-azetidina-3-carboxílico (345 mg, 0,707 mmol, rendimiento del 74 %) como un sólido blanco. Tiempo de retención de HPLC = 3,45 minutos (columna YMC Combi S-5 4,6 x 50 mm ODS) eluyendo con metanol acuoso al 10-90 % + ácido fosfórico al 0,2 % durante un gradiente de 4 minutos. EM: (M+H) = 486,12. RMN de ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 3,23 (s, 3H), 3,39-3,45 (m, 2H), 3,64 (s, 2H), 7,50 (d, J = 8,28 Hz, 2H), 7,58 (m, 5H), 8,02 (d, J = 8,28 Hz, 2H) y 8,26 (d, J = 1,25 Hz, 1H). Análisis Elemental: Calc. para C₂₄H₁₈N₃O₃SF₃ • 0,1 H₂O: C, 59,22; H, 3,76; N, 8,63; S, 6,59; F, 11,71; hallado: C₂₄H₁₈N₃O₃SF₃ • 0,1 H₂O: C 59,06; H 3,45; N 8,60; S 6,61; F 11,42; KF (Hallado) = agua al 0,25 %.

40 **Ensayos biológicos**

Ensayo de Unión a S1P₁:

Se prepararon membranas a partir de células CHO que expresaban S1P₁ humano. Las células se disociaron en tampón conteniendo HEPES 20 mM, pH 7,5, NaCl 50 mM, EDTA 2 mM y cóctel inhibidor de proteasas (Roche) y se desbarató en hielo usando el homogenizador de Polytron. El homogenado se centrifugó a 20.000 rpm (48.000 g) y el sobrenadante se descartó. Los sedimentos de membrana se resuspendieron en tampón conteniendo HEPES 50

mM, pH 7,5, NaCl 100 mM, MgCl₂ 1 mM, EDTA 2 mM y se almacenaron en alícuotas a -80 °C después de determinación de concentración de proteínas.

5 Se añadieron membranas (2 mg/pocillo) y concentración final de 0,03 nM de ligando ³³P-S1P (1 mCi/ml, American Radiolabeled Chemicals) a las placas de compuesto. La unión se llevó a cabo durante 60 minutos a temperatura ambiente, se terminó recogiendo las membranas sobre placas de filtro de GF/B y se midió radiactividad por TOPCOUNT®. Los datos de competición de los compuestos de prueba a lo largo de un intervalo de concentraciones se representaron gráficamente como porcentaje de inhibición de unión de radioligandos específicos. La CI₅₀ se define como la concentración de ligando que compite necesaria para reducir la unión específica al 50 %.

10 Los compuestos de la presente invención y el compuesto comparativo A se pusieron a prueba en el ensayo de unión de S1 descrito más adelante y se obtuvieron los resultados redondeados a dos dígitos en la Tabla A. En algunos ejemplos, el valor es un promedio de múltiples experimentos donde N es el número de experimentos llevado a cabo que proporcionan curvas de respuesta a dosis satisfactorias. Cuando se puso a prueba más de un lote, el valor presentado es a partir del lote que proporcionó una comparación de GTPγS S1P₁ y GTPγS S1P₃ en procedimiento A (datos mostrados en Tabla B). Los datos no se promediaron a través de diferentes lotes de un mismo compuesto de
15 ejemplo.

Tabla A

Ej.	CI ₅₀ de S1P1 B (nM)	N
1	0,40	2
2	0,30	286
3	0,48	2
4	1,1	2
5	30	6
6	0,12	1
7	0,19	1
8	0,85	1
9	ND	0
10	1,1	1
11	ND	0
12	1,7	2
13	3,1	2
14	0,98	1
15	5,4	1
Comp. A	2,5	1

Procedimiento A: Ensayos de unión a receptor [³⁵S] GTPγS

20 Se cargaron compuestos en una placa de fondo en v de 384 FALCON® (0,5 µl/pocillo en una dilución de 3 veces). Las membranas se prepararon a partir de células S1P₁/CHO o se añadieron células EDG3-Ga15-bla HEK293T a la placa de compuesto (40 µl/pocillo, proteína final 3 µg/pocillo) con MULTIDROP®. [³⁵S]GTP (1250 Ci/mmol, Perkin Elmer) se diluyó en tampón de ensayo: HEPES 20 mM, pH 7,5, MgCl₂ 10 mM, NaCl 150 mM, EGTA 1 mM, DTT 1 mM, GDP 10 mM, ácido graso libre BSA al 0,1 % y saponina 10 µg/ml a 0,4 nM. Se añadió solución 40 µl de la solución de [³⁵S] GTP a la placa de compuesto con una concentración final de 0,2 nM. La reacción se mantuvo a temperatura ambiente durante 45 min. Al final de la incubación, todas las mezclas en la placa de compuesto se transfirieron a placas de filtros de FB de 384 pocillos por medio de un sistema robot de GPCR. La placa de filtro se lavó con agua 4 veces usando el lavador de placas Embla del colector modificado y se secó a 60 °C durante 45 min.
25

Se añadieron 30 µl de fluido de centelleo MicroScint 20 a cada pocillo contando en un Packard TOPCOUNT®. CE₅₀ se define como la concentración de agonista que corresponde al 50 % de la Y_{máx} (respuesta máxima) obtenida de cada compuesto individual puesto a prueba.

Procedimiento B: Ensayos de unión a receptor [35S] GTPγS SPA

5 Las membranas se prepararon a partir de células CHO transfectadas con S1P₁, o S1P₃ (2 µg de proteína) se incubaron en placas blancas de 96 pocillos (CORNING® 3693) con compuestos de prueba diluidos en DMSO, en 50µl de mezcla de reacción conteniendo perlas WGA- PVT de 7,5 µl (20 mg/ml) y GDP 5 µM , HEPES 20 mM pH 7,4, NaCl 100 mM, EDTA 1 mM, MgCl₂ 5 mM, saponina 10 µg/ml, BSA al 0,1 % y leupeptina 1 µM. El ensayo se inició con la adición de 25 µl de [³⁵S]-GTPγS 0,2 nM (1250 Ci/mmol; NEN) en tampón de ensayo. Después de incubación de 90 minutos a temperatura ambiente, hacer girar la placa a 1.000 rpm durante 5 minutos. Los radionúclidos unidos se midieron a TOPCOUNT®, expresado como respuesta en % en relación a activación S1P (1 µM). Se analizaron datos usando la ecuación logística de cuatro parámetros en Excel. Los cuatro parámetros en la ecuación, $Y = A + ((B-A)/(1 + ((CE_{50}/X)^D)))$, se describen como sigue: A es el valor de Y (actividad agonista) en la meseta de la parte inferior; B es el valor de Y en la meseta de la parte superior; CE₅₀ es el valor de X (concentración de agonista) cuando la respuesta está a medio camino entre el fondo y la parte superior; D es coeficiente de Hill. Las curvas no se generaron para compuestos que tienen valores de Y_{máx} que estuvieron por debajo del 50 %.

Los compuestos de la presente invención y el compuesto comparativo A se pusieron a prueba en los ensayos de unión del receptor [35S] GTPγS (procedimiento A) y en los ensayos de unión del receptor [35S] GTPγS SPA (procedimiento B) descritos en el presente documento y se obtuvieron los resultados se redondearon a dos dígitos, mostrados en la Tabla B. En algunos ejemplos, el valor es un promedio de múltiples experimentos donde N es el número de experimentos llevado a cabo que proporcionan curvas de respuesta a dosis satisfactorias. Cuando se puso a prueba más de un lote, el valor presentado es a partir de un lote que proporcionó una comparación de GTPγS S1P₁ y GTPγS S1P₃ en los que la mayoría del número de los experimentos se llevaron a cabo. Preferentemente, el mismo lote se examinó en el Procedimiento A y en el Procedimiento B. Los datos no se promediaron a través de diferentes lotes de un compuesto de ejemplo.

Tabla B

Ej.	Procedimiento A				Procedimiento B			
	GTPγS S1P ₁ CE ₅₀ (nM)	N	GTPγS S1P ₃ CE ₅₀ (nM)	N	GTPγS S1P ₁ CE ₅₀ (nM)	N	GTPγS S1P ₃ CE ₅₀ (nM)	N
1	2,9	2	6.700	2	0,50	31	4.400	9
2	1,9	71	CN*	0	0,17	12	2.100	3
3	ND	0	ND	0	0,15	1	1.700	1
4	ND	0	ND	0	0,19	1	400	2
5	260	3	13.000	2	17	6	CN*	0
6	4,2	2	2.900	2	CN*	0	1.300	1
7	ND	0	ND	0	0,087	1	220	1
8	22	1	5.900	1	CN*	0	CN*	0
9	ND	0	ND	0	1,3	1	710	2
10	ND	0	ND	0	0,42	1	1.100	1
11	ND	0	ND	0	1,9	2	2.000	1
12	ND	0	ND	0	0,28	3	9.800	1
13	ND	0	ND	0	0,17	2	51	51
14	CN*	0	ND	0	2,1	2	7.100	1
15	52	1	3.600	1	2,2	3	4.100	2
Comp. A	84	1	97	1	0,25	10	20	3

ND = no determinado.

NC = no se obtuvo una curva de respuesta a dosis no satisfactoria.

Las proporciones de los valores de CE₅₀ de GTPyS S1P₃ a los valores de CE₅₀ de GTPyS S1P₁, CE₅₀, calculadas a partir de los datos en la Tabla B, se muestran en la Tabla C.

Tabla C

Ej.	GTPyS S1P ₃ /S1P ₁ (procedimiento A)	GTPyS S1P ₃ /S1P ₁ , (procedimiento B)
1	2.300	8.800
2	ND	12.000
3	ND	11.000
4	ND	2.100
5	50	ND
6	690	ND
7	ND	2.500
8	268	ND
9	ND	550
10	ND	2.600
11	ND	1.100
12	ND	35.000
13	ND	300
14	ND	3.400
15	69	1.900
Comp. A	1,2	78

5

En la Tabla C, un valor mayor para la proporción del valor de CE₅₀ de GTPyS S1P₃ al valor de CE₅₀ de GTPyS S1P₁ indica mayor selectividad de la actividad de S1P₁ sobre la actividad de S1P₃.

Los compuestos de la presente invención, según se ejemplifican por los Ejemplos 1 a 15, muestran la ventaja sorprendente como agonistas de S1P₁ y son selectivas por encima de S1P₃ según se compara con el Compuesto Comparativo A. Los compuestos ejemplificados de la invención comunicados en la Tabla C tenían proporciones de selectividad en el intervalo de 50 a 2.300, mientras que en contraste, el compuesto comparativo A tenía una proporción de selectividad de 1,2, según se mide por el procedimiento A. Los compuestos ejemplificados de la invención comunicados en la Tabla C tuvieron proporciones de selectividad en el intervalo de 300 a 35.000, mientras que en contraste, el compuesto comparativo A tuvo una proporción de selectividad de 78, según se mide por el procedimiento B.

Los compuestos de la presente invención poseen actividad como agonistas de S1P₁ y son selectivos por encima de S1P₃ y así se pueden usar en tratar, evitar o curar diversas afecciones relacionadas con S1P₁ reduciendo o minimizando mientras los efectos selectivos debidos a actividad de S1P₃. La selectividad sorprendente de los compuestos de la presente invención indican su uso potencial en tratar, evitar, o curar enfermedades autoinmunes e inflamatorias tales como esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, o soriasis, reduciendo o minimizando mientras los efectos secundarios cardiovasculares posibles tales como bradicardia e hipertensión. Otros usos potenciales de los compuestos dela presente invención incluyen minimizar o reducir rechazo de órganos trasplantados, reduciendo o minimizando mientras los efectos secundarios debidos a la actividad de S1P₃.

20

Ensayo de reducción de linfocitos de la sangre (BLR) en roedores

5 Las ratas de Lewis o los ratones BALB/c se dosificaron oralmente con artículo de prueba (como una solución o suspensión en el vehículo) o vehículo solo (polietilenglicol 300, "PEG300"). La sangre se extrajo a 4 horas y a 24 horas por sangrado retro-orbital. Se determinaron las cuentas de linfocitos en sangre en un Analizador de Hematología ADVIA 120 (Siemens Healthcare Diagnostics). Los resultados se midieron como una reducción en el porcentaje de linfocitos circulantes según se comparan con las medidas del grupo tratados a las 4 horas y a las 24 horas. Los resultados representan los resultados promedio de todos los animales dentro de cada grupo de tratamiento (n = 3-4).

10 Los compuestos de la presente se pusieron a prueba en el ensayo de reducción de linfocitos sanguíneos (BLR) descrito anteriormente y los resultados se muestran en la Tabla D para ratas y en la Tabla E para ratones.

Tabla D

Dosis (mg/kg)	Reducción en linfocitos en % de ejemplo 1 en 4 horas.	Reducción en linfocitos en % de ejemplo 1 en 24 horas.	Reducción en linfocitos en % de ejemplo 2 en 4 horas.	Reducción en linfocitos en % de ejemplo 2 en 24 horas.
0,04	49 %	6 %	64 %	8 %
0,2	77 %	15 %	76 %	55 %
1,0	86 %	61 %	76 %	79 %
3,0	81 %	75 %	NT	NT

Tabla E

Dosis (mg/kg)	Reducción en linfocitos en % de ejemplo 1 en 4 horas.	Reducción en linfocitos en % de ejemplo 1 en 24 horas.	Reducción en linfocitos en % de ejemplo 2 en 4 horas.	Reducción en linfocitos en % de ejemplo 2 en 24 horas.
0,04	NT	NT	68 %	5 %
0,2	NT	NT	76 %	64 %
0,3	74 %	30 %	NT	NT
1,0	85 %	68 %	80 %	82 %
3,0	85 %	76 %	73 %	89 %
10,0	84 %	88 %	NT	NT

15 Ensayo de artritis inducida por coadyuvante en ratas (AA)

20 Se inmunizaron ratas de Lewis machos (150-175 g; Harlan, grupo de tratamiento de n = 8) en la base del rabo con 100 µl de *Mycobacterium butyricum* a 10 mg/ml recién molidos (Difco Laboratories) en coadyuvante de Freund incompleto (sigma). Los animales se dosificaron una vez al día con el artículo de ensayo (como una solución o suspensión en el vehículo) o vehículo solo (polietilenglicol 300, "PEG300") partiendo del día de inmunización. Los volúmenes de sus patas traseras se midieron en un pletismómetro de desplazamiento de agua (Ugo Basile, Italia). Las medidas de zarpa de línea base se tomaron antes de la aparición de la enfermedad (entre el día 7 y el día 10). Las medidas de zarpa se tomaron después tres veces en una semana hasta el final del estudio en el día 20 a 21. Todos los procedimientos que implican animales se revisaron y aprobaron por el Animal Care Use Committee.

25 Los compuestos de la presente se pusieron a prueba en el ensayo de artritis inducida por coadyuvante en ratas descrito anteriormente y los resultados se muestran en Tabla F y Tabla G.

Tabla F

Grupo	Hinchazón de zarpa (ml) en el día 20	
	Vehículo	Media
DE		0,44
Ejemplo 1 (1,0 mg/kg)	Media	2,36
	DE	0,63
Ejemplo 1 (3,0 mg/kg)	Media	1,45
	DE	0,99
Ejemplo 1 (6,0 mg/kg)	Media	0,17
	DE	0,29
Ejemplo 1 (10,0 mg/kg)	Media	0,12
	DE	0,10

Tabla G

Grupo	Hinchazón de zarpa (ml) en el día 21	
	Vehículo	Media
DE		0,63
Ejemplo 2 (0,2 mg/kg)	Media	02,12
	DE	0,33
Ejemplo 2 (1,0 mg/kg)	Media	0,91
	DE	0,73
Ejemplo 2 (3,0 mg/kg)	Media	0,19
	DE	0,29
Ejemplo 2 (10,0 mg/kg)	Media	0,10
	DE	0,20

- 5 En el modelo de artritis inducida por coadyuvante en ratas, un modelo animal para la artritis reumatoide, el Ejemplo 1 y el Ejemplo 2 inhiben progresión de la enfermedad por hinchazón de zarpa en la rata de Lewis usando un régimen de dosificación oral profiláctico.

Ensayo de encefalomiелitis autoinmune experimental de ratón (EAE)

- 10 Se inmunizaron ratones (C57BL/6 hembra, 6-8 semanas de edad, Charles River, grupo de tratamiento de n = 10-12) subcutáneamente con con 150 mg de MOG₃₅₋₅₅ emulsionado 1:1 con medio de Freund incompleto (sigma) suplementado con 150 mg de *Mycobacterium tuberculosis* H37RA (Difco Laboratories). Se inyectaron intraperitonealmente 400 ng de toxina pertúsica (CalBiochem) en el día de la inmunización y dos semanas después. Los animales se dosificaron una vez al día con el artículo de ensayo (como una solución o suspensión en el vehículo) o vehículo solo (polietilenglicol 300, "PEG300") partiendo de 1 día después de inmunización. La puntuación clínica y el peso corporal se tomaron 3 veces al día hasta el final del estudio en el día 24. Sistema de puntuación clínica: 0,5: debilidad de rabo parcial; 1: flojedad de rabo o marcha de pato con tonicidad de rabo; 1,5: marcha de pato con debilidad parcial de rabo;
- 15

2: marcha de pato con flojedad de rabo (ataxia); 2.5: ataxia con parálisis de miembros parcial; 3: parálisis de un miembros total; 3.5: parálisis total de un miembro con parálisis parcial de un segundo miembro; 4: parálisis total de dos miembros; 4,5: moribundo; 5: muerte. Un compuesto de la presente invención se puso a prueba en la Encefalomiелitis Autoinmune Experimental de Ratón descrita en anteriormente y los resultados se muestran en la Tabla H.

5

Tabla H

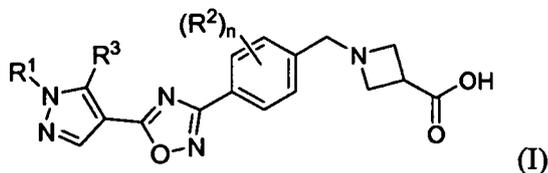
Grupo	Puntuación clínica en el día 24	
	Vehículo	Media
	DE	1,51
Ejemplo 1 (1,0 mg/kg)	Media	0,32
	DE	0,51
Ejemplo 1 (3,0 mg/kg)	Media	0,77
	DE	1,01
Ejemplo 1 (10,0 mg/kg)	Media	0,30
	DE	0,63

En el modelo de encefalomiелitis autoinmune experimental de ratón (EAE), un modelo animal para esclerosis múltiple, el Ejemplo 1 inhibe progresión de la enfermedad como se determina por las puntuaciones clínicas en ratones C57B1/6 usando un régimen de dosificación oral profiláctica.

10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I):



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

n es cero o un número entero seleccionado desde 1 hasta 4;

10 R^1 es cicloalquilo, arilo, heteroarilo, o heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , bencilo, $-OR^4$, y/o halógeno; cada R^2 está independientemente seleccionado de hidrógeno, alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno;

15 R^3 es hidrógeno, alquilo, haloalquilo, halógeno, $-NR^aR^b$, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, o heterociclilo, en el que dicho cicloalquilo, arilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar cada uno opcionalmente sustituidos con uno o cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno;

cada R^4 está seleccionado independientemente de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , y/o bencilo; y

R^a y R^b son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, y/o bencilo.

2. El compuesto de la reivindicación 1 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que

20 R^1 es arilo opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno.

3. El compuesto de la reivindicación 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

n es cero;

R^1 es fenilo opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , $-OR^4$, y/o halógeno;

25 R^3 es alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , halógeno, $-NR^aR^b$, cicloalquilo C_3 a C_6 , fenilo, o piridilo;

R^4 es alquilo C_1 a C_4 ; y

R^a y R^b son independientemente hidrógeno y/o alquilo C_1 a C_6 .

4. El compuesto de la reivindicación 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

30 R^3 es metilo, etilo, 1-propilo, ciclopentilo, trifluorometilo, bromo, cloro, fenilo, 2-piridilo, o $-NHR^a$; y R^a es metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, n-butilo, o isobutilo.

5. El compuesto de la reivindicación 1 o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en el que

R^1 es cicloalquilo, heteroarilo, o heterociclilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C_1 a C_6 , haloalquilo C_1 a C_4 , bencilo, $-OR^4$, y/o halógeno.

35 6. El compuesto de la reivindicación 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

n es cero;

R^3 es alquilo, haloalquilo, halógeno, $-NR^aR^b$, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, o heterociclilo, en el que dichos cicloalquilo, arilo, heteroarilo y heterociclilo pueden estar cada uno opcionalmente sustituidos con uno a

cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno;

cada R⁴ está seleccionado independientemente de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, y/o bencilo; y

R^a y R^b son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo, y/o bencilo.

5 7. El compuesto de la reivindicación 6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

R¹ es piridilo o ciclohexilo, opcionalmente sustituido con uno a cinco sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, bencilo, -OR⁴, y/o halógeno.

8. El compuesto de la reivindicación 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

10 R¹ es cicloalquilo C₃ a C₆ opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes independientemente seleccionados de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno; y

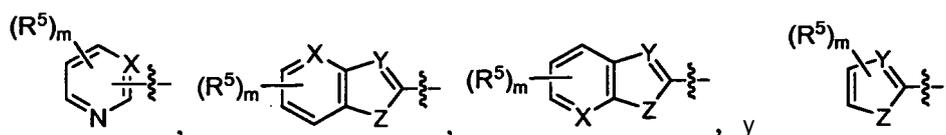
R⁴ es alquilo C₁ a C₆.

9. El compuesto de la reivindicación 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

R¹ es heteroarilo opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, bencilo, -OR⁴, y/o halógeno.

15 10. El compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

R¹ está seleccionado de:



20 en la que:

m es cero, 1, 2, o 3;

X e Y están cada uno independientemente N y/o CR⁵;

Z es O, S, o N-R⁶;

cada R⁵ está seleccionado independientemente de alquilo C₁ a C₄, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno;

25 R⁶ es alquilo C₁ a C₄ o bencilo; y

cada R⁴ está seleccionado independientemente de alquilo C₁ a C₄.

11. El compuesto de la reivindicación 10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

R¹ es 2-piridilo opcionalmente sustituido con uno, dos, o tres sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo C₁ a C₄, haloalquilo C₁ a C₄, -OR⁴, y/o halógeno;

30 R³ es alquilo C₁ a C₄, cicloalquilo C₃ a C₆, haloalquilo C₁ a C₄, halógeno, fenilo, piridilo, o -NR^aR^b;

R⁴ es alquilo C₁ a C₄; y

R^a y R^b son cada uno independientemente hidrógeno y/o alquilo C₁ a C₄.

12. Un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, seleccionado del grupo que consiste en:

35 ácido 1-(4-(5-(1-(piridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;

- ácido 1-(4-(5-(1-fenil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico (2);
 ácido 1-(4-(5-(5-(isopropilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 ácido 1-(4-(5-(5-(etilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 ácido 1-(4-(5-(5-metil-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 5 ácido 1-(4-(5-(5-n-propil-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 ácido 1-(4-(5-(5-ciclopentil-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 ácido 1-(4-(5-(1-(6-etoxipiridin-2-il)-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 ácido 1-(4-(5-(1-ciclohexil-5-metil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 10 ácido 1-(4-(5-(5-fenil-1-(piridin-2-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 ácido 1-(4-(5-(5-cloro-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 ácido 1-(4-(5-(5-(isobutilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 ácido 1-(4-(5-(5-(n-butilamino)-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico;
 ácido 1-(4-(5-(5-bromo-1-fenil-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico; y
 15 ácido 1-(4-(5-(1-fenil-5-(piridin-3-il)-1H-pirazol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)bencil)azetidina-3-carboxílico.

13. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

14. Uso de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad autoinmune o enfermedad inflamatoria crónica.
 20

15. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia en tratar enfermedad autoinmune o enfermedad inflamatoria crónica.