

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 428 543**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61K 31/495** (2006.01)

**A61P 25/24** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.09.2007 E 07814842 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2013 EP 2076515**

54 Título: **Compuestos de tiofenopirazolopirimidina**

30 Prioridad:

**20.09.2006 US 826273 P**

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

**08.11.2013**

73 Titular/es:

**ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)  
LILLY CORPORATE CENTER  
INDIANAPOLIS IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**CHEN, ZHAOGEN;  
HAMDOUCHI, CHAFIQ HAMDOUCHI;  
HEMBRE, ERIK JAMES;  
HIPSKIND, PHILIP ARTHUR;  
JIA, SHAOJUAN y  
TOTH, JAMES LEE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 428 543 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

Compuestos de tiofenopirazolopirimidina

### Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a nuevos compuestos de tiofenopirazolopirimidina, a composiciones farmacéuticas de los mismos y a su uso como antagonistas del receptor CRF1 en el tratamiento de trastornos psiquiátricos y neuroendocrinos, enfermedades neurológicas y síndrome metabólico.

### Antecedentes de la invención

10 El factor de liberación de la corticotropina (CRF) es un péptido de 41 aminoácidos que es el regulador principal de la secreción del péptido derivado de proopiomelanocortina (POMC) de la glándula pituitaria anterior. Además de este papel endocrino en la glándula pituitaria, la localización inmunohistoquímica del FCR ha demostrado que la hormona tiene una distribución extrahipotalámica amplia en el sistema nervioso central y produce un amplio espectro de efectos electrofisiológicos y conductuales autónomos concordantes con un papel neurotransmisor o neuromodulador en el cerebro. También hay evidencia de que el CRF juega un papel importante en la integración de la respuesta en el sistema inmune a agentes de tensión fisiológicos, psicológicos e inmunológicos.

15 El CFR se ha implicado en trastornos psiquiátricos y enfermedades neurológicas incluida la depresión y la ansiedad, así como en las siguientes dolencias: enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, parálisis supranuclear progresiva, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Parkinson, epilepsia, migraña, abuso de alcohol y sustancias y síntomas de abstinencia asociados, obesidad, síndrome metabólico, hiperplasia suprarrenal congénita, enfermedad de Cushing, hipertensión, accidente cerebrovascular, síndrome de intestino inestable, 20 ulceración gástrica inducida por la tensión, síndrome premensual, disfunción sexual, parto prematuro, trastornos inflamatorios, alergias, esclerosis múltiple, dolor visceral, tumores pituitarios o tumores derivados de pituitaria, síndrome de fatiga crónica y fibromialgia.

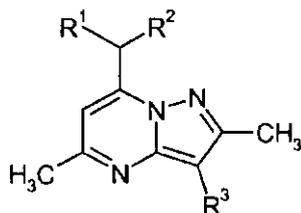
25 Se han identificado los subtipos del receptor CFR, CFR1 y CFR2, que están distribuido heterogéneamente dentro de cerebro, sugiriendo por ello una diversidad funcional potencial. Por ejemplo, los receptores CRF1 ampliamente distribuidos en el cerebro están fuertemente implicados en la exposición emocionalmente acompañante a agentes de tensión ambiental. Significativamente, los receptores CRF1, no los CRF2, parece que seleccionan como mediadores los comportamientos de tipo generador de ansiedad. Una distribución septal/hipotámica más discreta y la disponibilidad de ligandos endógenos alternativos sugieren un papel funcional diferente para el receptor CRF2. Por ejemplo, se ha dado cuenta de que un nuevo neuropéptido de la familia de FCR con una afinidad preferente 30 para CRF2 respecto a los receptores CRF1 suprime el apetito sin producir el perfil de activación conductual observada con agonismo selectivo de CRF1. En otros casos, el agonismo de CRF2 produce efectos similares a los de los antagonistas de CFR1 o la supresión del gen de CRF1. Por ejemplo, mientras que los agonistas de CRF2 han sido propuestos como agentes antiobesidad, los antagonistas de CRF1 pueden ser también un tratamiento importante para la obesidad.

35 En los documentos WO 94/13676, WO 97/29109, WO 98/08847 y WO 98/03510 se describen ciertas pirrolo[2,3-d]pirimidinas, pirrolo[3,2-d]pirimidinas, pirazolo[1,5-a]pirimidinas, 1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinas y pirazolo[1,5-a]triazinas útiles como antagonistas de CRF. El documento WO 2005/063755 da cuenta de otros compuestos de pirazolo[1,5-a]pirimidina que son útiles como antagonistas de CRF. Majo y otros (Adv. Synth. Catal. 2003, 345, 620-624) dan cuenta de una vía de síntesis catalizada con paladio para la preparación de 3-arilpirazolo-[1,5-a]- 40 pirimidinas.

La presente invención proporciona nuevas tiofenopirazolopirimidinas útiles como antagonistas de receptores de CRF1. A la vista de lo anterior, es deseable descubrir nuevos antagonistas eficaces y selectivos de CRF1 como agentes terapéuticos potencialmente valiosos para el tratamiento de trastornos psiquiátricos y neuroendocrinos, enfermedades neurológicas y síndrome metabólico. Además, puesto que una mayoría de fármacos comerciales para el SNC y cardiovasculares presentan perfiles de biodisponibilidad indeseables, es también deseable descubrir 45 nuevos compuestos con perfiles de biodisponibilidad superiores a los antagonistas de CRF conocidos tales como CP154526 y NB130775.

### Sumario de la invención

En una realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula I

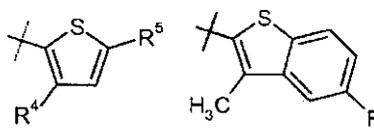


Fórmula I

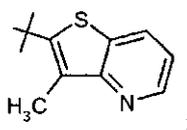
en la que:

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-3</sub>,

R<sup>3</sup> es



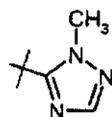
o



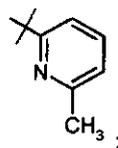
5

R<sup>4</sup> es Cl o metilo,

R<sup>5</sup> es hidrógeno, Br, nitro, metoxi, metoximetilo, dimetilamino, etoxicarbonilo, acetamido, acetoxi,



o



o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

- 10 En otra realización, la presente invención se refiere a un procedimiento para tratar la depresión o un trastorno depresivo importante, la ansiedad, el abuso de alcohol o sustancias, la obesidad, la hipertensión, el síndrome metabólico, el síndrome de intestino irritable, la epilepsia, un accidente cerebrovascular, trastornos del sueño, alergia, la migraña, el síndrome premensual (PMS), la infertilidad, la disfunción sexual, la hiperplasia suprarrenal congénita, la enfermedad de Cushing, parto prematuro, la ulceración gástrica inducida por tensión, trastornos inflamatorios, tumores pituitarios o ectópicos derivados de la pituitaria, el síndrome de fatiga crónica, fibromialgia, dolor visceral o esclerosis múltiple en un paciente, que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

- 15 En otra realización, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la depresión o un trastorno depresivo importante, la ansiedad, el abuso de alcohol o sustancias, la obesidad, la hipertensión, el

20

síndrome metabólico, el síndrome de intestino irritable, la epilepsia, un accidente cerebrovascular, trastornos del sueño, alergia, la migraña, el síndrome premensual (PMS), la infertilidad, la disfunción sexual, la hiperplasia suprarrenal congénita, la enfermedad de Cushing, parto prematuro, la ulceración gástrica inducida por tensión, trastornos inflamatorios, tumores pituitarios o ectópicos derivados de la pituitaria, el síndrome de fatiga crónica, fibromialgia, dolor visceral o esclerosis múltiple.

En otra realización, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable para uso como producto farmacéutico.

### Descripción detallada de la invención

Tal como se usa en la presente memoria, y a lo largo de la descripción de la invención, ha de entenderse que los siguientes términos tienen el significado siguiente, a no ser que se indique lo contrario:

“Alquilo” significa un grupo hidrocarburo alifático saturado, que puede ser de cadena lineal o ramificada, que tiene de 1 a 5 átomos de carbono en la cadena.

“Excipiente farmacéuticamente aceptable” se refiere a una formulación, un vehículo, una solución o un aditivo farmacéuticamente aceptables para intensificar las características de la formulación. Tales excipientes deben ser compatibles con los otros ingredientes de la formulación y no deben ser perjudiciales para su receptor, y son bien conocidos por los expertos (véase, por ejemplo, Remingtons Pharmaceutical Sciences, 19ª edición, Mack Publishing Company, 1995).

“Sales farmacéuticamente aceptables” se refiere a sales de adición de ácido inorgánico u orgánico relativamente no tóxicas, y a sales de adición de base, de los compuestos de la presente invención. Estas sales se pueden preparar in situ durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos. En particular, las sales de adición de ácido se pueden preparar haciendo reaccionar separadamente el compuesto purificado en su forma de base libre con un ácido orgánico o inorgánico y aislando la sal así formada (véase, por ejemplo, Remingtons Pharmaceutical Sciences, 19ª edición, Mack Publishing Company, 1995).

“Cantidad terapéuticamente eficaz” o “cantidad eficaz” significa la cantidad del compuesto de fórmula I de la presente invención, o de una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula I de la presente invención, que pondrá de manifiesto la respuesta biológica o médica, o el efecto terapéutico deseado en un tejido, sistema, un animal o un ser humano deseado por el investigador, el veterinario, el médico u otro especialista clínico.

Los términos “tratamiento”, “tratar”, “trato” y similares se entiende que incluyen la lentificación y la inversión de la progresión de un trastorno. Estos términos incluyen también aliviar, mejorar, atenuar, eliminar o reducir un síntoma o varios síntomas de un trastorno o una dolencia, incluso si el trastorno o la dolencia no está realmente eliminado o incluso si la progresión del trastorno o dolencia en sí no se ha lentificado o invertido. El término “tratamiento” y los términos similares incluyen también el tratamiento preventivo (por ejemplo, profiláctico) y paliativo. La prevención de la enfermedad se manifiesta por una prolongación o una demora de la aparición de los síntomas de la enfermedad.

El símbolo “-” en una estructura molecular indica la posición de la unión de ese sustituyente particular.

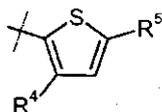
Cuando cualquier variable se presenta más de una vez en cualquier constituyente o en la fórmula I, su definición en cada presencia depende de su definición en cada una de las otras presencias. También, las combinaciones de sustituyentes y/o variables son sólo permisibles si tales combinaciones dan por resultado compuestos estables. Al seleccionar compuestos de la presente invención, un experto de cualificación normal en la técnica reconocerá que los diversos sustituyentes, esto es,  $R^1$ ,  $R^2$ , etc, se han de seleccionar de conformidad con principios bien conocidos de la conectividad en la estructura química.

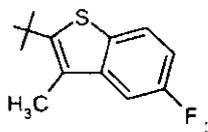
De acuerdo con la nomenclatura estándar usada a lo largo de esta descripción, se describe primeramente la porción terminal de la cadena lateral designada, seguida de la funcionalidad adyacente hacia el punto de unión. Por ejemplo, un sustituyente arilcarbonilaminoalquilo es equivalente a aril-C(O)-NH-alquilo-.

La presente invención contempla clases específicas de invenciones, tales como las siguientes:

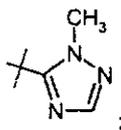
(a) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que  $R^1$  y  $R^2$  son, independientemente, etilo o n-propilo;

(b) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que  $R^3$  es





(c) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R<sup>5</sup> es metoxi, metoximetilo, dimetilamino o



- 5 (d) Uso de un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, para tratar la depresión o ansiedad;
- (e) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, para tratar el abuso de alcohol o sustancias;
- 10 (f) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, que exhibe un valor de K<sub>i</sub> para unir CRF1 de ≤ 500 nM;
- (g) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, que exhibe un valor de K<sub>i</sub> para unir CRF1 de ≤ 50 nM;
- (h) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, que exhibe un valor de K<sub>i</sub> para unir CRF1 de ≤ 5 nM;
- 15 (i) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, que exhibe un valor de K<sub>i</sub> para unir CRF1 de ≤ 500 nM y que se une selectivamente a CRF1 (esto es, K<sub>i</sub> más bajo) respecto a CRF2;
- (j) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, que exhibe un valor de K<sub>i</sub> para unir CRF1 de ≤ 50 nM y que se une selectivamente a CRF1 (esto es, K<sub>i</sub> más bajo) respecto a CRF2; y
- 20 (k) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, que exhibe un valor de K<sub>i</sub> para unir CRF1 de ≤ 5 nM y que se une selectivamente a CRF1 (esto es, K<sub>i</sub> más bajo) respecto a CRF2;
- (l) Un compuesto de fórmula I, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, con un perfil de biodisponibilidad superior respecto a antagonistas de CRRF conocidos (por ejemplo, CP154526 y NBI30775).

25 Los compuestos de la presente invención se formulan preferiblemente como composiciones farmacéuticas que se administran por una variedad de vías. Preferiblemente, tales composiciones son para administración oral. Tales composiciones farmacéuticas y los procedimientos para prepararlas son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, A. Gennaro y otros, edits., 19 edición Mack Publishing Co., 1995).

30 Los compuestos de fórmula I generalmente son eficaces en un intervalo de dosificación amplio. Por ejemplo, las dosificaciones diarias normalmente están en un intervalo de aproximadamente 0,0001 a aproximadamente 30 mg por kg de peso corporal. En algunos casos pueden ser adecuadas niveles de dosificación inferiores a los del intervalo indicado, mientras que en otros casos se pueden emplear dosis aún mayores sin causar un efecto secundario perjudicial y, por tanto, debe entenderse que los intervalos de dosificación anteriores no limitan de forma alguna el alcance de la invención. Se ha de entender que la cantidad del compuesto activo realmente administrada será determinada por el médico a la luz de las circunstancias relevantes, incluida la dolencia a tratar, la vía de administración escogida, el compuesto los compuestos que se administran, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual y la gravedad de los síntomas del paciente.

35

40 Los compuestos de fórmula I son antagonistas de CRF1 y como tales son útiles para tratar una dolencia que sea tratable reduciendo la estimulación del receptor de CRF1. Se ha asociado a un número de dolencias médicas el factor de liberación de corticotropina (CRF), un péptido de 41 aminoácidos que es el regulador fisiológico principal de la secreción de péptido derivado de la proopiomelanocortina (POMC) de la glándula pituitaria anterior [J. River y otros, Proc. Natl. Acad. Sci USA) 80:4851 (1983); W. Vale y otros, Science 213:1394 (1981)]. Por ejemplo, además de su papel endocrino en la glándula pituitaria, la localización inmunohistoquímica de CRF ha demostrado que la hormona tiene una amplia distribución extrahipotalámica en el sistema nervioso central y produce un espectro amplio de efectos autónomos, electrofisiológicos y conductuales concordables con un papel neurotransmisor o

neuromodulador en el cerebro [W. Vale y otros, *Rec. Prog. Horm. Res.* 39:245 (1983); G.F. Koob, *Persp. Behav. Med.* 2:39 (1985); E.B. De Souza y otros, *J. Neurosci.* 5:3189 (1985)]. También hay evidencia de que el CRF juega un papel importante en la integración de la respuesta en el sistema inmune a agentes de tensión fisiológicos, psicológicos e inmunológicos [véase, por ejemplo, J.E. Blalock, *Physiological Reviews* 69:1 (1989); J.E. Morley, *Life Sci.* 41:527 (1987)].

El CRF está implicado en trastornos psiquiátricos y enfermedades neurológicas, incluidas depresión y ansiedad [D.M. Nielsen, *Life Sci.* 78:909-919; H.E. Kunzel y otros, *J. Psychiatr. Res.* 37:525-533; D.R. Gehlert y otros, *Eur. J. Pharmacol.* 509:145-153]. También se ha postulado un papel para CRF en la etiología y patología de la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, parálisis supranuclear progresiva y esclerosis lateral amiotrófica, pues se relacionan con la disfunción de neuronas de CRF en el sistema nervioso central [para una recapitulación, véase: E.B. De Souza, *Hosp. Practice* 25:59 (1988)]. La administración crónica de CRF ha demostrado que produce una alteración del sistema de dopamina, lo que sugiere un papel en la enfermedad de Parkinson [E. Izzo y otros, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 81:701-708 (2005)]. Entre otros trastornos neurológicos en que está implicado el CRF figuran epilepsia [T.Z. Baram y otros, *Brain Res.* 770:89-95 (1997)] y migraña [T.C. Theocharides y otros, *Endocrinology* 136:5745-5750 (1995)]. El CRF ha sido implicado en el abuso de alcohol y sustancias y ha sido considerado como asociado con síntomas de abstinencia. [D.H. Overstreet y otros, *Pharmacol. Biochem. Behav.* 77:405-413; Y. Shaham y otros, *Psychopharmacology (Berl)* 137:184-190]. Además hay evidencia de que el CRF tiene un papel en varios trastornos endocrinos y enfermedades cardiovasculares tales como la obesidad [E. Timofeeva y D. Richard, *Neuroendocrinology* 66:327-340 (1997)], síndrome metabólico [A.M. Ward y otros, *Metabolism* 53:720-726 (2004)], hiperplasia suprarrenal congénita [D.P. Merke y G.B. Cutler Jr., *Endocrinol Metab. Clin. North Am.* 30:121-135 (2001)], enfermedad de Cushing [M. Labeur y otros, *Curr. Drug Targets Immune Endocrinol. Metabol. Disord.* 4:335-342 (2004)], hipertensión [R.J. Briscoe y otros, *Brain Res.* 881:204-207 (2000)] y accidente cerebrovascular [S.L. Stevens y otros, *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 23: 1151-1159 (2003)]. Perturbaciones gástricas tales como síndrome de intestino irritable [Y. Tache y otros, *Eur. J. Surg. Suppl.* 16-22 (2002)] y ulceración gástrica inducida por la tensión, [K.E. Gabry y otros, *Mol. Psychiatry* 7:474-483, 433 (2002)] han demostrado estar relacionadas con el CRF. Además se ha indicado que el CRF tiene un papel en diversas áreas de la salud de la mujer, por ejemplo el síndrome premenstrual [F. Facchinetti y otros, *Psychosom. Med.* 56:418-422 (1994)], la infertilidad [L. Ghizzoni y otros, *Endocrinology* 138:4806-4811 (1997)], la disfunción sexual [J.E. Jones y otros, *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 283:R591-597 (2002)] y parto prematuro [P.D. Wadhwa y otros, *Am. J. Obstet. Gynecol.* 191:1063-1069 (2004)]. También hay evidencia de que el CRF tiene un papel significativo en el sistema inmune, lo que indica un potencial terapéutico para tratar trastornos inflamatorios [A. Gravanis y A.N. Margioris, *Curr. Med. Chem.* 12:1503-1512 (2005)], alergias, [L.K. Singh y otros, *Brain Behav. Immun.* 13:225-239 (1999)], esclerosis múltiple y otros trastornos autoinmunes [C. Benou y otros, *J. Immunol.* 174:5407-5413 (2005)]. Además de lo precedente, el CRF ha sido implicado en el dolor visceral [M. Nijssen y otros, *Neurogastroenterol. Motil.* 17:423-432 (2005)], trastornos del sueño [T.M. Buckley y A.F. Schatzberg, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90:3106-3114 (2005)], tumores pituitarios o tumores ectópicos derivados de la pituitaria [K.D. Dieterich y otros, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 83:3327-3331 (1998)], síndrome de fatiga crónica y fibromialgia [G. Neeck y L.J. Crofford, *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 26:989-1002 (2000)].

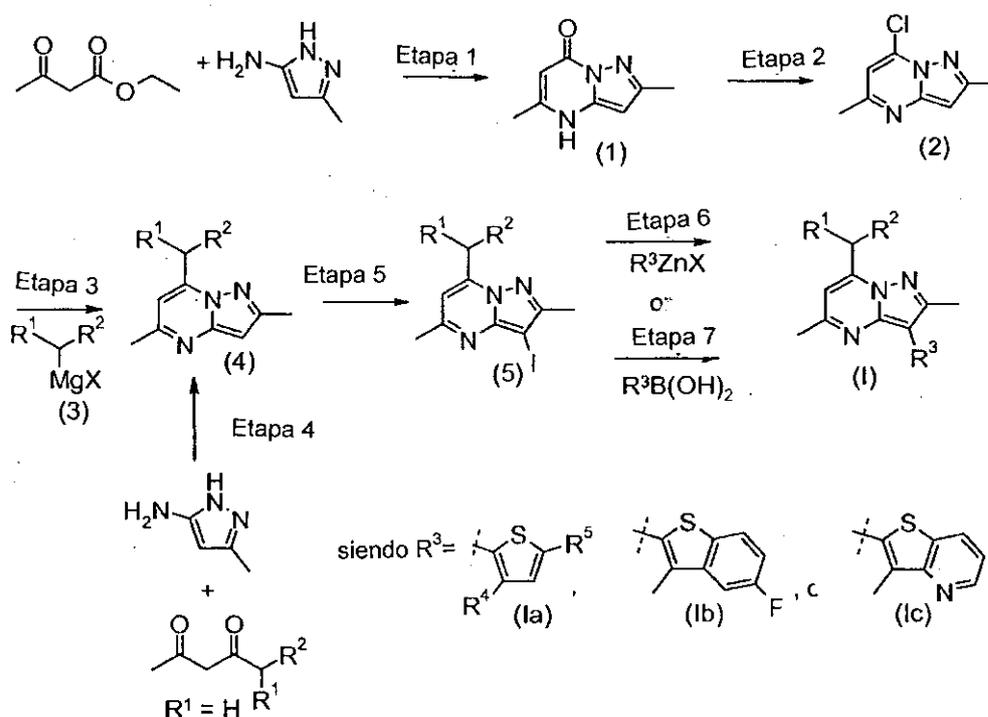
Se han identificado los subtipos CFR1 y CFR2 de receptor de CFR y están distribuidos heterogéneamente dentro del cerebro. [D.T. Chalmers y otros, *TIPS* 17:166-72], lo que sugiere una diversidad funcional potencial [S.C. Heinrichs y otros, *Regul. Peptides* 71:15 (1997)]. Por ejemplo, los receptores de CFR1 ampliamente distribuidos en el cerebro están fuertemente implicados en la exposición, emocionalmente acompañante, a agentes de tensión ambientales [G. Liebsch. y otros, *Regul. Peptides* 59:229-39 (1995); D.W. Schulz, *PNAS* 93:10477-82 (1996)]. Significativamente, parece que los receptores CRF1, no los CRF2, median la selección de comportamientos de tipo ansiogénico [Heinrichs y otros, 1997]. Una distribución septal/hipotálamica más discreta [D.T. Chalmers y otros, *J. Neurosci.* 15(10):6340-50 (1995)] y la disponibilidad de ligandos endógenos alternativos [J. Vaughan y otros, *Nature* 378:287-92 (1995)] sugieren un papel funcional diferente para el receptor CRF2 [Heinrich y otros, 1997]. Por ejemplo, se da cuenta de que un nuevo neuropéptido de la familia CRF2 con afinidad preferente para CRF2 respecto a los receptores de CFR1, suprime el apetito sin producir el perfil de activación conductual observado con agonismo selectivo de CFR1 (H. Tezval y otros, *PNAS* 101(25): 9468-9473 (2004)]. En algunos casos, el agonismo de CRF2 produce efectos similares a los dados a conocer para agonistas de CRF1 o la eliminación del gen de CRF12 [S.C. Heinrichs, *Trends in Pharmacological Sciences* 20(8): 311-5 (1999)]. Por ejemplo, si bien se han propuesto como agentes antiobesidad agonistas de CRF2, los antagonistas de CRF1 pueden ser asimismo un tratamiento importante para la obesidad [C. Contoreggi y otros, *Neuroendocrinology* 80(2):111-23 (2004)].

#### Preparación de compuestos de la invención

Todos los compuestos de la presente invención se pueden preparar químicamente siguiendo las vías de síntesis expuestas en los esquemas siguientes. Sin embargo, la discusión siguiente no tiene por finalidad limitar el alcance de la presente invención de alguna manera. Por ejemplo, las etapas específicas de síntesis para cada una de las vías descritas se pueden combinar de diferentes maneras o junto con etapas de diferentes esquemas, para preparar compuestos adicionales de fórmula (I). Los productos de cada etapa se pueden recuperar por métodos

convencionales, incluidas extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración, cristalización y similares: En los Esquemas siguientes, todos los sustituyentes, a no ser que se indique lo contrario, son lo definido previamente y los reactivos adecuados son bien conocido y apreciados en la técnica.

## Esquema 1



5

La formación de un compuesto de fórmula (I) se puede realizar de acuerdo con reacciones representadas en el Esquema 1. Un compuesto apropiado de fórmula (I) es uno en el que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son lo definido para la fórmula I.

10

En la etapa 1, se condensan acetoacetato de etilo y 5-metil-2H-pirazol-3-ilamina formando 2,5-dimetil-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidin-7-ona (1) en ácido acético a reflujo.

La 2,5-dimetil-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidin-7-ona de fórmula (1) se convierte seguidamente en 7-cloro-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina en la Etapa 2 usando oxícloruro fosforoso y dimetilalanilina en un disolvente inerte, tal como tolueno, a la temperatura de reflujo del disolvente.

15

En el Esquema 1, Etapa 3, se hace reaccionar un reactivo de Grignard de fórmula(3) (X=Cl o Br) con el cloruro de fórmula (2) en un disolvente inerte tal como tolueno, a temperatura de reflujo, formándose la 7-alkuilpirazolopirimidina de fórmula (4). Alternativamente, la 7-alkuilpirazolopirimidina de fórmula (4) se obtiene por condensación de una dicetona con 5-metil-2H-pirazol-3-ilamina como se muestra en la Etapa 4. La reacción se realiza en etanol con una cantidad catalítica de piperidina a una temperatura de 60 a 80°C. (Novinson, . y otros, J. Med. Chem. 1975, 16, 460). Cuando R<sup>1</sup>=H se obtiene una mezcla de regioisómeros; por ejemplo, cuando R<sup>2</sup> = propilo, que se separan después de la yodación de la Etapa 5.

20

La pirazolopirimidina de fórmula (4) se funcionaliza a una yodopirazolopirimidina de fórmula (5) en la Etapa 5 usando un exceso de N-yodosuccinimida en acetonitrilo.

25

En el Esquema 1, Etapa 6, la yodopirazolopirimidina de fórmula (5) se hace reaccionar con un haluro heterocíclico de zinc (R<sup>3</sup>ZnX) (X= Cl o Br) en una reacción de Negishi de acoplamiento por cruce. El haluro heterocíclico de zinc e puede generar usando procedimientos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, el reactivo organozinc se genera haciendo reaccionar el bromuro heterocíclico con zinc metal o, alternativamente, usando el heterociclo no halogenado para formar el reactivo heterocíclico de litio con n-, s- o t-butil litio, a lo que sigue el intercambio litio-zinc con ZnCl<sub>2</sub>. El reactivo organozinc se acopla con la yodopirazolopirimidina de fórmula (5) en presencia de un catalizador de paladio, por ejemplo dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano, en un disolvente inerte tal como THF, a temperatura de reflujo durante aproximadamente 12 a 36 horas, obteniéndose una pirazolopirimidina de fórmula (I).

30

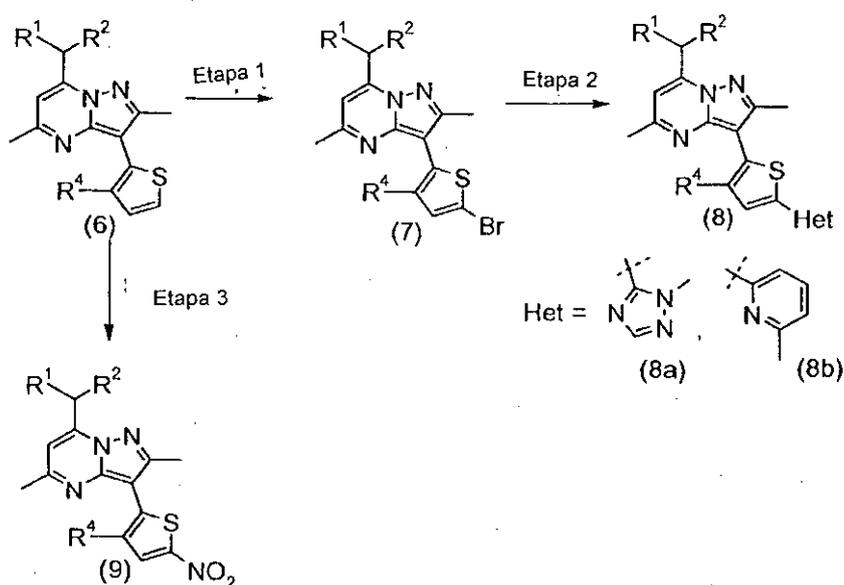
Alternativamente, en la Etapa 7, se usa un ácido borónico heterocíclico (R<sup>3</sup>B(OH)<sub>2</sub>) en una reacción de acoplamiento de Suzuki con el compuesto de yodo de fórmula (5). Hay disponibles numerosas condiciones de

reacción para el operario experto con el fin de realizar este acoplamiento. Las condiciones preferidas usan una mezcla disolvente de tolueno/etanol/carbonato sódico 2M con un catalizador de paladio, por ejemplo, bis(tri-*t*-butilfosfina)pladio(0), a de 60°C a la temperatura de reflujo, durante aproximadamente 12 a 36 horas.

5 Como se apreciará fácilmente, los ácidos borónicos heterocíclicos se pueden preparar por procedimientos similares a los descritos aquí usando métodos bien conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, se pueden bromar tiofenos y benzotiofenos usando *N*-bromosuccinimida y convertir luego a ácido borónico usando intercambio de metal halógeno con un reactivo alquil litio, a lo que sigue el tratamiento con borato de trimetilo e hidrólisis final.

10 Un experto en la técnica apreciará que se obtiene fácilmente una tienopiridina, por ejemplo en un compuesto de fórmula (1c), por conversión de tieno[3,2-*b*]piridin-7-ol, disponible comercialmente, en el bromuro, a lo que sigue el intercambio metal halógeno y el apagado con una fuente de protones tal como metanol/agua. La posterior bromación con bromo en la posición 3 seguida de acoplamiento de Suzuki con ácido metilborónico da la etil-tieno[3,2-*b*]piridina, que se acopla con una yodopirazolopirimidina de fórmula (5) usando  $ZnCl_2$  como se ha descrito antes.

Esquema 2



15 La formación de un compuesto de fórmula (7), (8) o (9) se puede realizar de acuerdo con las reacciones representadas en el Esquema 2. Un compuesto apropiado de fórmula (7), (8) o (9) es uno en el que  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^4$  son lo dsefinido para la fórmula I y "Het" se define como se muestra.

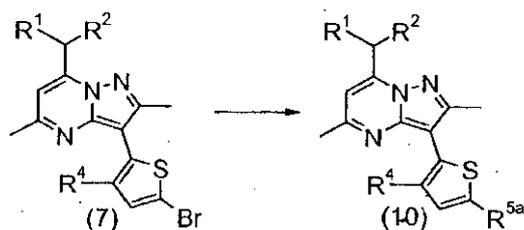
20 En el Esquema 2, Etapa 1, un tiofeno de fórmula (6) se broma con *N*-succinimida en un disolvente inerte tal como diclorometano o cloroformo.

25 En la Etapa 2, un bromotiofeno de fórmula (7) se acopla con un reactivo de zinc heterocíclico para que resulte un heterociclo de tíofo de fórmula (8). El reactivo de zinc heterocíclico se forma a partir del bromoheterociclo y zinc metal y se hace reaccionar in situ con un bromotiofeno de fórmula (7). La reacción se realiza en un disolvente inerte, tal como THF, a la temperatura de reflujo del disolvente. Alternativamente, se puede formar un reactivo heterocíclico de litio, por ejemplo, usando *n*-, *s*- o *t*-butil litio con 1-metil-1,2,4-triazol, a lo que sigue el intercambio de litio-zinc con  $ZnCl_2$ , obteniéndose el reactivo de zinc heterocíclico.

30 En el Esquema 2, Etapa 3, se nitra un tiofeno de fórmula (6) obteniéndose un nitrotiofeno de fórmula (9). En las condiciones preferidas se usa una mezcla disolvente de diclorometano y TFA con ácido nítrico al 70%. Un experto en la técnica apreciará que el nitrotiofeno de fórmula (9) puede actuar como intermedio para posterior funcionalización. Por ejemplo, el grupo nitro se puede reducir y acilar para que resulte la acetamida o alquilar para obtener la dialquilamina.

35 Se reconoce también que las etapas requeridas para preparar un compuesto de fórmula (8) se pueden realizar en cualquier orden, como puede ser la preparación de 2-heterociclotiofeno usando procedimientos conocidos en la técnica y su funcionalización posterior como bromotiofeno o ácido tiofenilborónico y acoplamiento seguidamente con una yodopirazolopirimidina de fórmula (5).

Esquema 3



5 Se puede formar un compuesto de fórmula (10) de acuerdo con las reacciones representadas en el Esquema 3. Un compuesto de fórmula (10) apropiado es uno en el que  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^4$  son lo definido para la fórmula I y  $R^{5a} = \text{OCH}_3$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{OCH}_3$  o  $-\text{CO}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ .

10 Como se apreciará fácilmente, un bromotiofeno de fórmula (7) representa un intermedio útil que un experto puede transformar fácilmente en una variedad de tiofenos sustituidos. Por ejemplo, la formación del reactivo de Grignard de tienilo seguida del tratamiento con oxígeno (Hurd, C.D. y Kreuz, K. JACS 1950, 72, 5543) proporciona un 2-hidroxitiofeno que se acila proporcionando el derivado acetoxi. Tal reactivo de Grignard se puede tratar también con un compuesto electrófilo, tal como cianoformiato de etilo, obteniéndose un tiofeno sustituido con etoxicarbonilo. El intercambio halógeno-litio con n-, s- o t-butil litio puede proporcionar un reactivo tienil litio que posteriormente se puede hacer reaccionar con compuestos electrófilos tales como haluros de alquilo, como yodometilmetiléter. Además, el tratamiento con óxido de cobre, yoduro sódico y metóxido sódico proporciona un 2-metoxitiofeno.

15 Tal como se usa aquí, "TLC" se refiere a cromatografía en capa delgada; "HPLC" se refiere a cromatografía de alta resolución; "δ" se refiere a partes por millón de tetrametilsilano campo abajo; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; "HOAc" se refiere a ácido acético; "MeOH" se refiere a metanol; "DME" se refiere a dimetoxietano,

### Ejemplos

20 Se cree que un experto en la técnica usando la descripción precedente, sin elaborarla más, practicará la presente invención en su totalidad. Las preparaciones y ejemplos siguientes se proporcionan para describir la invención más detalladamente. Tienen la finalidad de ilustrar la invención y no de limitarla en forma alguna. Los reactivos y los materiales de partida están disponibles fácilmente, o puede sintetizarlos un experto en la técnica de cualificación normal. Los Ejemplos 1-27 proporcionan compuestos representativos e ilustran su preparación. Los Ejemplos A-C ilustran varios ensayos biológicos que se pueden usar para determinar las propiedades biológicas de los compuestos de la invención. Los expertos en la técnica reconocerán rápidamente variaciones apropiadas de los procedimientos descritos en los ejemplos. Los nombres de los compuestos de la presente invención los proporciona ChemDraw Ultra®, versión 7.0.1

### Preparación 1

30 2,5-dimetil-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidin-7-ona

Se añade acetoacetato de etilo (128 g, 0,98 mol) a gotas a una solución en ácido acético (500 ml) de 5-metil-2H-pirazol-3-ilamina (100 g, 0,95 mol), manteniendo la temperatura a 25-28°C. Se calienta la mezcla a reflujo durante 10 h y luego se enfría a temperatura ambiente. Se añade la mezcla de reacción a t-butil metil éter (5 l) enfriado a 5°C manteniendo la temperatura por debajo de 10°C. Se agita durante 1 h a 5°C y se filtra. Se seca el material resultante en vacío durante la noche, obteniéndose un sólido blanco (158 g, 96%).

### Preparación 2

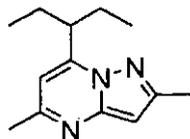
7-cloro-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina

A una suspensión de 2,5-dimetil-4H-Pirazolo[1,5-a]pirimidin-7-ona (10,0 g, 61,3 mmol) en tolueno (150 ml) se añade N,N-dimetilanilina (9,7 ml, 76,7 mmol). A esta suspensión blanca se añade oxiclورو de fósforo (11,2 ml, 122,6 mmol) a gotas. Se mantiene a reflujo durante 3 h bajo atmósfera inerte, se enfría a temperatura ambiente y se concentra la mezcla de reacción a un aceite castaño a presión reducida. Se disuelve el aceite en acetato de etilo (250 ml) y se basicifica con NaOH 1 N. Se separa y somete a extracción la fase acuosa básica con más acetato de etilo (2 x 100 ml). Se combinan las fases orgánicas, la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida, obteniéndose un sólido marrón. Se purifica el material usando cromatografía rápida, eluyendo con hexano al 80%/20% de (30% de THF/hexano) a 0% de hexano/100% de (30% de THF/hexano) en un gradiente de la etapa de 20% de incrementos, obteniéndose un sólido verde claro (6,65 g,

59%). ES/EM m/z ( $^{35}\text{Cl}$ ) 182,3 (M+1)<sup>+</sup>.

### Preparación 3

7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina



- 5 Se carga un matraz secado en horno, provisto de condensador de reflujo, con una cantidad catalítica de yodo y magnesio Rieke® (1,0 M en THF, 52 ml, 52 mmol) en atmósfera inerte. Se calienta a 45°C y se añade 3-bromopentano (5,3 ml, 42,9 mmol) a la mezcla de reacción. La temperatura repunta a medida que se inicia la reacción de Grignard. Se agita la mezcla de reacción durante 4 h más a 50°C y se enfría a temperatura ambiente. Se deja que sedimente el magnesio metal y se extrae con cánula el reactivo de Grignard a una presión positiva de argón pasándolo a un matraz que contiene 7-cloro-2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidina (5,19 g, 28,6 mmol) en tolueno anhidro (50 ml). Se calienta a reflujo bajo atmósfera inerte durante 48 horas. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se apaga con agua. Se diluye la mezcla de reacción con acetato de etilo (150 ml) y se añade agua (50 ml). Se separa la fase acuosa y se somete a extracción con acetato de etilo (75 ml). Se combinan las fases orgánicas y la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra a presión reducida. Se purifica por cromatografía rápida, eluyendo con pentano al 80%/20% de (30% de THF/pentano) a 0% de pentano/100% de (30% de THF/pentano) en un gradiente de la etapa de 20% de incrementos, obteniéndose un aceite amarillo (2,59 g, 42%). ES/EM m/z 218,1 (M+1)<sup>+</sup>.

Se preparan los compuestos siguientes esencialmente como se ha descrito en la Preparación 3, usando el reactivo de Grignard comercialmente disponible o preparando el reactivo de Grignard como se ha descrito antes.

20

Preparación N°.	Nombre químico	Datos físicos: RMN o EM (m/z)
4	7-(1-propil-butil)2,5-dimetil-pirazolo-[1,5-a]pirimidina	246,3(M+1) <sup>+</sup>
5	7-isopropil-2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]-pirimidina	RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ): 6,41 (s, 1H), 6,30 (s, 1H), 3,81-3,77 (m, 1H), 2,52 (s, 3H), 2,47 (s, 3H), 1,37 (d, J = 7,0 Hz, 6H)

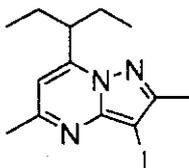
### Preparación 6

7-butil-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina

- 25 Se añade 5-metil-2H-pirazol-3-ilamina (217 mg, 2,17 mmol), nonano-2,4-diona (339 mg, 2,39 mmol) y piperidina (1 gota) a etanol (10 ml) y se calienta a 80°C durante la noche. Se enfría a temperatura ambiente y se concentra a sequedad. Se purifica por cromatografía en columna de sílice (0-20% de acetato de etilo en hexano) obteniéndose una mezcla de dos isómeros (2 g).

### Preparación 7

7-(1-etil-propil)-3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina



30

Se disuelve 7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (2,14 g, 9,84 mmol) en acetonitrilo anhidro (25 ml) y se añaden 6 porciones (0,5 g cada una) de N-yodosuccinimida (3,0 g, 13,3 mmol) a intervalos de 10 min. Se agita la mezcla de reacción durante 4 h. Se elimina el acetonitrilo y el aceite resultante se diluye con diclorometano (100 ml). La solución de color naranja se lava con solución saturada de cloruro amónico (2 x 50 ml). Se recoge la fase

orgánica, se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida, obteniéndose un aceite rojo oscuro. Se purifica por cromatografía rápida eluyendo con pentano al 100%/0% de acetato de etilo al 20%/pentano) a 0% de pentano/100% (de acetato de etilo al 20%/pentano) en gradiente de etapa de incrementos de 50%, obteniéndose un aceite de color naranja (3,28 g, 97%). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 6,44 (s, 1H), 3,59 (m, 1H), 2,61 (s, 3H), 2,49 (s, 3H), 1,86-1,76 (m, 4H), 0,85 (t, J=7,5 Hz, 6H).

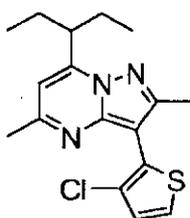
Se preparan los compuestos siguientes esencialmente como se describe en la Preparación 7.

Preparación nº.	Nombre químico	Datos químicos: RMN o EM (m/z)
8	7-(1-propil-butil)-3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina	RMN <sup>1</sup> H (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ): 6,42 (s, 1h), 3,74-3,70 (m, 1H), 2,58 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 1,74-1,68 (m, 4H), 1,28-1,14 (m, 4H), 0,84 (t, J=7,0 Hz, 6H).
9	7-isopropil-3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina	316,0 (M+1) <sup>+</sup>
10*	7-butil-3-yodo-2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidina	330 (M+1) <sup>+</sup>

\* Elaboración: se lavan las materias orgánicas con solución acuosa de Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. La reacción se realiza en mezcla de isómeros de la Preparación 6. Se separan los dos isómeros sobre gel de sílice (0-20% de EtOAc/hexano)

### Ejemplo 1

10 3-(3-cloro-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina



Se pone en suspensión zinc Reike® (5 g/100 ml, THF, 20 ml, 15,0 mmol) en THF anhidro (10 ml) y se añade 2-bromo-3-clorotiofeno (1,98 g, 10,0 mmol). Se calienta a reflujo la mezcla bajo atmósfera inerte en baño de aceite (85°C) durante 3 h. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se centrifuga el zinc metal remanente. Se pasa con cánula la solución de reacción a un nuevo recipiente bajo presión positiva de argón y se añade 7-(1-etil-propil)-3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (1,72 g, 5,0 mmol). Se desgasea la solución por presión positiva de argón durante 10-15 min y se añade dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano (0,225 g, 0,275 mmol). Se agita a la temperatura de reflujo durante la noche bajo atmósfera inerte. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se apaga con solución saturada de cloruro amónico y se diluye con acetato de etilo (75 ml). Se separa la porción acuosa y se somete a extracción con acetato de etilo (50 ml), se combinan las fases orgánicas, se seca la combinación sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (acetato de etilo al 15%/hexano) a 0% de hexano/(100% de (acetato de etilo al 15%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%, obteniéndose un sólido amarillo(1,35 g, 40%). ES/EM m/z (<sup>35</sup>Cl) 334,4 (M+1)<sup>+</sup>.

Los compuestos siguientes se preparan esencialmente como se ha descrito en el Ejemplo 1

Ejemplo nº.	Nombre químico	EM (m/z)
2	3-(3-cloro-tiofeno-2-il)-7-(1-propil-butil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina	( <sup>35</sup> Cl) 362,0 (M+1) <sup>+</sup>

3	3-(3-cloro-tiofeno-2-il)-7-isopropil-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina	$(^{35}\text{Cl})$ 306,0 (M+1) <sup>+</sup>
---	--	---

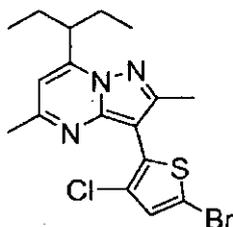
**Ejemplo 4**

## 3-(3-metil-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina

Se carga un matraz secado en horno con bromuro de 3-metil-2-tienilzinc (11,0 ml, 5,5 mmol), THF anhidro (6,0 ml) y 7-(1-etil-propil)-3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (0,536 g, 1,56 mmol). Se desgasea durante 10-15 min con presión positiva de argón y se añade dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano (0,12 g, 0,15 mmol). Se mantiene a reflujo durante la noche en baño de aceite (100°C) bajo atmósfera inerte. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se apaga con solución acuosa de cloruro amónico y se diluye con acetato de etilo (75 ml). Se separa la porción acuosa y se somete a extracción con acetato de etilo (50 ml). Se combinan las fases orgánicas, la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo resultante por cromatografía rápida eluyendo con pentano al 100%/0% de (acetato de etilo al 25%/pentano) a 0% de pentano/100% de (acetato de etilo al 25%/pentano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%, obteniéndose una espuma blanca. Se tritura con hexano y se filtra (0,432 g, 8%). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7,26 d, J=4,8 MHz, 1H), 6,96 (d, J = 5,3 Hz, 1H), 6,42 (s, 1H), 3,64-3,60 (m, 1H), 2,53 (s, 3H), 2,43 (s, 3H), 2,14 (s, 3H), 1,87-1,79 (m, 4H), 0,88 (t, J=7,0 Hz, 6H).

**Ejemplo 5**

## 3-(5-bromo-3-cloro-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina



Se disuelve 3-(3-cloro-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (1,16 g, 3,5 mmol) en diclorometano (15 ml) y se añade N-bromosuccinimida (0,69 g, 3,85 mmol) en una parte alícuota. Se agita durante 2 h bajo atmósfera inerte y se confirma que la reacción ha sido completa usando TLC. Se diluye la mezcla de reacción con diclorometano (50 ml), se lava con agua (75 ml), salmuera (50 ml) y se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida, obteniéndose un sólido amarillo (1,56g, rendimiento cuantitativo). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO): 7,39 (s, 1H), 6,88 (s, 1H), 3,48-3,44 (m, 1H), 2,45 (s, 3H), 2,39 (s, 3H), 1,80-1,73 (m, 4H), 0,76 (t, J=7,0 Hz, 6H).

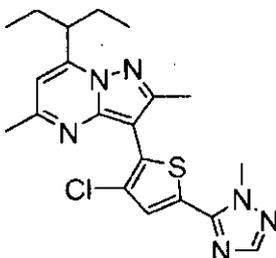
Los compuestos siguientes se preparan esencialmente como se ha descrito en el Ejemplo 5

Ejemplo n°.	Nombre químico	EM (m/z)
6	3-(5-bromo-3-cloro-tiofen-2-il)-7-(1-propilbutil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina	$(^{35}\text{Cl}^{81}\text{Br})$ 441,7 (M+)
7*	3-(5-bromo-3-metil-tiofen-2-il)-7-(1-etilpropil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina	$(^{81}\text{Br})$ 393,8 (M+1) <sup>+</sup>
8*	3-(5-bromo-3-cloro-tiofen-2-il)-7-(1-isopropil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina	$(^{35}\text{Cl}^{81}\text{Br})$ 385,0 (M+)

\* Se purifica por cromatografía en columna eluyendo con hexanos/acetato de etilo

**Ejemplo 9**

3-[3-cloro-5-(2-metil-2H-[1,2,4]triazol-3-il)-tiofen-2-il]-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina



5 Se pone en suspensión zinc Reike® (5 g/100 ml, THF, 5,5 ml, 5,5 mmol) en THF anhidro (5 ml) y se añade 1-metil-5-bromo-1,2,4-triazol (0,4 g, 2,5 mmol). Se calienta a reflujo la mezcla bajo atmósfera inerte en baño de aceite (85°C) durante 3 h. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se centrifuga el zinc metal remanente. Se pasa con cánula la solución de reacción a un nuevo recipiente bajo presión positiva de argón y se añade 3-(5-bromo-3-cloro-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (0,64 g, 1,45 mmol). Se desgasifica la solución por presión positiva de argón durante 10-15 min y se añade dicloro[1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano (0,136 g, 0,167 mmol). Se agita a la temperatura de reflujo durante la noche bajo atmósfera inerte. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se apaga con solución saturada de cloruro amónico y se diluye con acetato de etilo (75 ml). Se separa la porción acuosa y se somete a extracción con acetato de etilo (50 ml). Se combinan las fases orgánicas, se seca la combinación sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (THF al 30%/hexano) a 0% de hexano/(100% de (THF al 30%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%, obteniéndose un sólido amarillo (0,298 g, 50%). ES/EM m/z (<sup>35</sup>Cl) 415,0 (M+1)<sup>+</sup>.

El compuesto siguiente se prepara esencialmente como se describe en el Ejemplo 9 usando bromuro de 6-metil-2-piridilzinc, disponible comercialmente.

20

Ejemplo nº.	Nombre químico	EM (m/z)
10	3-[3-5-(6-metil-piridin-2-il)-tiofen-2-il]-7-(1-etilpropil)-2,5-dimetil-pirazolo [1,5-a]-pirimidina	( <sup>35</sup> Cl) 424,8 (M+1) <sup>+</sup>

**Ejemplo 11**

3-(3-cloro-5-metoxi-tiofen-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina

25 Se carga un matraz secado en horno con bromuro de 3-(5-bromo-3-cloro-tiofeno-2-il)-7-(etilpropil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (0,46 g, 1,1 mmol), óxido de cobre (0,045 g, 0,56 mmol), yoduro sódico (0,020 g, 0,11 mmol), solución de metóxido sódico al 25%/metanol (10 ml) y metanol anhidro (10 ml). Se mantiene a reflujo la solución durante el fin de semana bajo atmósfera inerte. Se apaga la reacción con agua-hielo y se somete a extracción con éter (3 x 100 ml). Se combinan las fases orgánicas, la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo resultante por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (acetato de etilo al 35%/hexano) a 0% de hexano/100% de (acetato de etilo al 35%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%, obteniéndose una espuma blanca (0,086 g, 21%). ES/EM m/z (<sup>35</sup>Cl) 363,7 (M+1)<sup>+</sup>.

30

**Ejemplo 12**

Éster acetato de 4-cloro-5-[7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il]

35 Se añade bromuro de isopropilo (0,25 ml, 2,7 mmol) a una suspensión de 3-(5-bromo-3-cloro-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil]pirazolo[1,5-a\*]pirimidina (0,74 g, 1,8 mmol) en magnesio Reike®(1,0 M en THF, 2,7 ml, 2,7 mmol) y THF anhidro (3 ml). Se calienta a reflujo en atmósfera inerte durante 1 h y la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente. Se burbujea oxígeno en la mezcla de reacción exotérmica bajo presión positiva a temperatura ambiente durante 90 min. Se apaga la reacción con solución saturada de cloruro amónico (30 ml), se somete a extracción con acetato de etilo (2 x 100 ml) y se concentra a presión reducida. El aceite se disuelve en éter (150 ml), se lava con hidróxido sódico 1,1 N (3 x 75 ml) y se somete a retroextracción la fase acuosa básica con

40

éter (50 ml). Se acidifica la fase acuosa con solución saturada de cloruro amónico y se somete a extracción con diclorometano (4 x 75 ml). Se combinan las porciones de diclorometano, la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. El aceite en bruto (0,138 g, 0,39 mmol) se disuelve en diclorometano (2 ml) con trietilamina (0,23 ml, 1,6 mmol) y cloruro de acetilo (0,034 ml, 0,47 mmol). Se agita bajo atmósfera inerte durante 1 h, se diluye con diclorometano (50 ml) y se lava con agua (50 ml). La fase orgánica se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (acetato de etilo al 25%/hexano) a 0% de hexano/100% de (acetato de etilo al 25%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%, obteniéndose una espuma blanca (0,084 g, 21%). ES/EM m/z (<sup>35</sup>Cl) 392,0 (M+1)<sup>+</sup>.

#### 10 Ejemplo 13

3-(3-cloro-5-metoximetil-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina

Se carga un matraz secado en horno con bromuro de 3-(5-bromo-3-cloro-tiofeno-2-il)-7-(etilpropil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (0,46 g, 1,1 mmol) y THF anhidro (5 ml). Se enfría a -70°C bajo atmósfera inerte y se añade n-butil litio (solución 6 M en hexano, 0,42 ml, 1,05 mmol). La mezcla de reacción amarilla se vuelve de color rojo oscuro. Se añade yodometil metil éter (0,09 ml, 1,10 mmol) y se deja que la mezcla de reacción se caliente a temperatura ambiente. Se diluye la mezcla de reacción con acetato de etilo (100 ml), se lava con agua (75 ml) y salmuera (75 ml). La porción orgánica se seca sobre sulfato magnésico anhidro y se concentra a presión reducida, resultando un aceite de color naranja. Se purifica el residuo resultante por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (acetato de etilo al 20%/hexano) a 0% de hexano/100% de (acetato de etilo al 20%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%, obteniéndose un sólido amarillo (0,107 g, 28%). ES/EM m/z (<sup>35</sup>Cl) 378,3 (M+1)<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 14

Éster etílico del ácido 4-cloro-5-[7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il]-tiofeno -2-carboxílico

Se enfría a 0°C una mezcla de 3-(bromo-3-cloro-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidina (0,62 g, 1,5 mmol) en THF anhidro (5 ml) bajo atmósfera inerte y se añade cloruro de etilmagnesio (solución 2 M en THF, 0,83 ml, 1,65 mmol). Se agita la mezcla de reacción durante 5 min, se calienta a temperatura ambiente y se agita durante 15 min más antes de bajar la temperatura de reacción a 0°C. Se añade cianoformiato de etilo (0,16 ml, 1,58 mmol) diluido en THF anhidro (1 ml). Se calienta la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se agita durante 1 h. Se apaga la reacción con solución saturada de bicarbonato sódico (20 ml) y se somete a extracción con éter (2 x 75 ml). Se combinan las porciones orgánicas y la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (acetato de etilo al 20%/hexano) a 0% de hexano/100% de (acetato de etilo al 20%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%. Se seca en vacío el material resultante, obteniéndose un sólido blanco (0,114 g, 19%), ES/EM m/z (<sup>35</sup>Cl) 406,3 (M+1)<sup>+</sup>.

#### 35 Preparación 11

2-(5-bromo-4-metil-tiofen-2-il)-6-metil-piridina

Se añade diisopropilamida de litio 2,0 M (9,76 ml, 19,52 mmol) a una solución a -78°C de 2-bromo-3-metil-tiofeno (2,0 ml, 17,75 mmol) y THF (30 ml). Después de 45 min se añade ZnCl<sub>2</sub> (0,5 M en THF, 39,0 ml, 19,50 mmol) y se agita la solución durante 30 min. Se añade 2-bromo-6-metil-piridina (2,4 ml, 21,29 mmol) y Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (0,50 g, 0,44 mmol). Se calienta la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se agita durante 2 h. Se lava la mezcla de reacción con solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (20 ml). La capa acuosa se lava con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Se combinan las capas orgánicas, la combinación se lava con solución saturada de cloruro amónico (20 ml), se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra. Se purifica el residuo resultante por cromatografía de gel de sílice en columna (gradiente de 10%-20% EtOAc/hexano), obteniéndose el compuesto del título (2,34 g, 49%). CL-ES/EM (<sup>79</sup>Br/<sup>81</sup>Br) 267,7/269,5 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Preparación 12

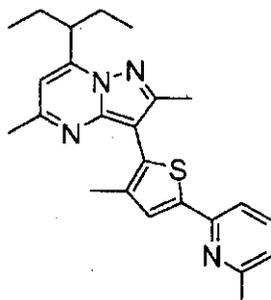
Ácido 3-metil-5-(6-metil-piridin-2-il)tiofeno-2-borónico

Se disuelve 2-(5-bromo-4-metil-tiofen-2-il)-6-metil-piridina (37,6 g, 0,14 mol) y borato de triisopropilo (34,2 g, 0,182 mol, 42,3 ml) en tolueno (100 ml) y THF (160 ml) bajo atmósfera de nitrógeno. Se enfría la solución a -40°C. Se añade lentamente n-butil litio (2,5 M en hexano, 70 ml, 0,175 mol) usando un embudo de adición a lo largo de 40 min. La temperatura dentro de la solución pasó de -40°C a -35°C. Finalizada la adición se agita la mezcla a -40°C durante 2 h. Se calienta la mezcla de reacción a 0°C y se añade THF (40 ml) y luego HCl acuoso 2 N (120 ml) formándose un sólido blanco. Se añade NaOH 1 N hasta pH 7 y se disuelven todas las sales. Se separa la capa orgánica y la fase acuosa se somete a extracción con dietil éter (3x). Se combinan las capas orgánicas, la combinación se seca sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra. Al residuo se añade THF y luego hexano. Se filtra el precipitado amarillo resultante y se repite la etapa de precipitación varias veces, obteniéndose el compuesto del

título (19,7 g, 60%). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ):  $\delta$  2,47 (sa, 3H), 2,61 (s, 3H), 7,20 (d,  $J=7,7$  Hz, 1H), 7,60 (sa, 1H), 7,64 (da,  $J=7,7$  Hz, 1H), 7,75 (t,  $J=7,7$  Hz, 1H).

### Ejemplo 15

7-(1-etil-propil-2,5-dimetil-3-[3-metil-5-(6metil-piridin-2-il)tiofen-2-il]-pirazolo[1,5-a]pirimidina



5

Se carga un matraz secado en horno con bromuro de 2-(5-ácido borónico-4-metil-tiofen-2-il)-6-metil-piridina (0,29 g, 1,24 mmol), tolueno anhidro (4 ml), etanol absoluto (1 ml), carbonato sódico 2M (1,1 ml, 2,2 mmol) y 7-(1-etil-propil)-3-yodo-2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidina (0,25 g, 0,73 mmol). Se desgasea la mezcla durante 30 min con una presión de argón positiva y se añade bis(tri-*t*-butilfosfina)paladio(0) (0,10 g, 0,086 mmol). Se mantiene a reflujo la solución durante la noche en baño de aceite (100°C) bajo atmósfera inerte. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente y se diluye con acetato de etilo (75 ml) y agua (25 ml). Se separa la porción acuosa y se somete a extracción con acetato de etilo (50 ml). Se combinan las fases orgánicas, la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo resultante por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (acetato de etilo al 25%/hexano) a 0% de hexano/100% de (acetato de etilo al 25%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%, obteniéndose una espuma blancuzca (0,215 g, 73%). ES/EM  $m/z$  ( $^{35}\text{Cl}$ ) 405,4 ( $M+1$ )<sup>+</sup>.

10

15

### Preparación 13

7-bromo-tieno[3,2-*b*]piridina

20

Se calienta tieno[3,2-*b*]piridin-7-ol (5,00 g, 33 mmol) y oxibromuro de fósforo (50 g, 174 mmol) juntos a 110°C durante 3 h. La mezcla de reacción caliente se vierte sobre una mezcla de hielo y NaOH 5 N y se somete a extracción con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Se seca la porción orgánica sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evapora. Se purifica el material en bruto resultante por cromatografía de gel de sílice en columna (hexano:EtOAc= 3:1), obteniéndose el compuesto del título (4,19 g, 59). ES/EM  $m/z$  ( $^{81}\text{Br}$ ) 215 ( $M+$ ).

### Preparación 14

25 Tieno[3,2-*b*]piridina

Se disuelve 7-bromo-tieno[3,2-*b*]piridina (3,69 g, 17 mmol) en THF seco (20 ml) y se enfría a  $-78^\circ\text{C}$ . Se añade lentamente a la mezcla a  $-78^\circ\text{C}$  *n*-BuLi (1,6 M en hexano, 21,2 ml, 34 mmol) y se agita a  $-78^\circ\text{C}$  durante 20 min. Se añade MeOH/ $\text{H}_2\text{O}=1/1$ ) (20 ml) y se agita a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se somete a extracción con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . La porción orgánica se lava con solución saturada de NaCl, se seca sobre sulfato sódico y se evapora. Se purifica el residuo resultante por cromatografía en gel de sílice eluyendo con 100% de hexano a hexano:acetato de etilo=10:1, obteniéndose el compuesto del título (1,44 g, 62%) ES/MS  $m/z$  136 ( $M+1$ )<sup>+</sup>.

30

### Preparación 15

3-bromo-tieno[3,2-*b*]piridina

Se combinan tieno[3,2-*b*]piridina (3,45 g, 25,6 mmol), bicarbonato sódico (2,15 g, 25,6 mmol),  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (6,69 g, 38,4 mmol) y  $\text{MgSO}_4$  (4,01 g, 33,3 mmol) en  $\text{CHCl}_3$  (60 ml). Se agita la mezcla a reflujo y se añade lentamente  $\text{Br}_2$  (1,57 ml, 30,7 mmol). Se agita la mezcla de reacción a reflujo durante la noche. Se añade más bromo (0,7 ml) y se agita la mezcla de reacción a reflujo durante 4 h. Se enfría a temperatura ambiente, se añade agua y se somete a extracción con  $\text{CHCl}_3$ . La porción orgánica se lava con solución saturada de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$  y salmuera saturada. Se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se evapora. Se recrystaliza el material en hexano/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , obteniéndose el compuesto del título (3,94 g, 72%). ES/EM  $m/z$  ( $^{81}\text{Br}$ ) 215 ( $M+$ ).

40

### Preparación 16

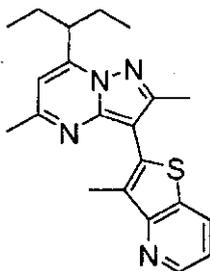
3-metil-tieno[3,2-*b*]piridina

Se preparan tres viales de reacción que se pueden tratar en horno de microondas que contienen 3-bromo-tieno[3,2-

b]piridina (214 mg, 1,0 mmol) y ácido metilborónico (180 mg, 3,0 mmol) en DME/agua/EtOH = 7/3/1 (4 ml). Se añade Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2M (1,5 ml, 3,0 mmol) y se burbujea nitrógeno gas durante 15 min. Se añade Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (58 mg, 0,05 mmol) y se cierran los viales. Se calientan los viales a 130°C durante 30 min en el horno de microondas. Se combinan todas las mezcla de reacción, se añade agua y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y se somete a extracción. Se separa la capa de CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se evapora. Se purifica el material resultante por cromatografía en gel de sílice eluyendo con hexano:acetato de etilo: NH<sub>3</sub> 2M en MeOH = 20:4:1, obteniéndose el compuesto del título (193 mg, 43%, ES/EM m/z 150 (M+1)<sup>+</sup>

### Ejemplo 16

7-(1-etil-propil)2,5-dimetil-3-(3-metil-tieno[3,2-b]piridin-2-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidina



Se carga un matraz secado en horno con 3-metiltieno[3,2-b]piridina (0,213 g, 1,42 mmol) y THF anhidro (5 ml) y se enfría a -78°C bajo atmósfera inerte. Se añade n-butil litio (2,5 M en hexano, 0,72 ml, 1,78 mmol) y se agita a temperatura reducida durante 30 min. Se añade cloruro de zinc anhidro (0,58 g, 4,26 mmol) en una parte alícuota y se agita a temperatura reducida durante 15 min. Se deja que la mezcla de reacción se caliente a temperatura ambiente y se agita durante 30 min más. Se diluye la mezcla de reacción con THF anhidro (5 ml) y se añade 7-(1-etilpropil)-3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (0,406 g, 0,08 mmol). Se desgasea durante 15 min con presión positiva de argón y se añade dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio(II) diclorometano (0,093 g, 0,114 mmol). Se mantiene la mezcla de reacción a reflujo en baño de aceite (90°C) durante la noche bajo atmósfera inerte. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se apaga con solución saturada de cloruro amónico y se diluye con acetato de etilo (75 ml). Se separa la porción acuosa y se somete a extracción con acetato de etilo (50 ml). Se combinan las fases orgánicas, la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (acetato de etilo al 15%/hexano) a 0% de hexano/100% de (acetato de etilo al 15%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%, obteniéndose una espuma blanca (0,059 g, 14%). ES/EM m/z 365 (M+1)<sup>+</sup>.

### Ejemplo 17

3-[3-metil-5-(2-metil-2H-[1,2,4]triazol-3-il)-tiofeno-2-il]-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina

Se carga un matraz secado en horno con 1-metil-1,2,4-triazol (0,320, 3,81 mmol), THF anhidro (10 ml) y se enfría a -78°C bajo atmósfera inerte. Se añade n-butil litio (2,5 M en hexano, 1,52 ml, 3,81 mmol) y se agita a temperatura reducida durante 30 min más. Se añade a la mezcla de reacción 3-(5-bromo-3-metil-tiofen-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (0,50 g, 1,27 mmol) en THF anhidro (5 ml). Se desgasea durante 15 min con presión positiva de argón y se añade dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio(II) diclorometano (0,147 g, 0,127 mmol). Se mantiene la mezcla de reacción a reflujo en baño de aceite (90°C) durante la noche bajo atmósfera inerte. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se apaga con solución saturada de cloruro amónico y se diluye con acetato de etilo (75 ml). Se separa la porción acuosa, se apaga con cloruro amónico saturado y se somete a extracción con acetato de etilo (50 ml). Se separa la porción acuosa y se somete a extracción con acetato de etilo (50 ml). Se combinan las fases orgánicas, la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (THF al 40%/hexano) a 0% de hexano/100% de (THF al 40%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%. Se tritura el material resultante con hexano/éter (3:1) obteniéndose un sólido blanco (0,371 g, 74%). ES/EM m/z 395,0 (M+1)<sup>+</sup>.

### Ejemplo 18

3-(5-nitro-3-metil-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidina.

Se disuelve 3-(3-metil-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (0,419 g, 1,33 mmol) en diclorometano (2,5 ml), se agita bajo atmósfera inerte, se enfría en baño de hielo a 0°C y se añade ácido tricloroacético (5 ,l). Se añade a gotas a la mezcla de reacción ácido nítrico concentrado (al 70%, 0,132 g, 1,47 mmol). La solución cambia de color de amarillo a verde oscuro. Se agita durante 1 h en atmósfera inerte estando en baño de hielo y se confirma por TLC que la reacción ha sido completa. Se diluye la mezcla de reacción con diclorometano (80 ml) y se apaga con solución saturada de bicarbonato sódico. Se separa la fase acuosa básica y

se somete a extracción con diclorometano (50 ml). Se combinan las capas orgánicas, la combinación se seca sobre MgSO<sub>4</sub> anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica el residuo resultante por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (acetato de etilo al 30%/hexano) a 0% de hexano/100 de (acetato de etilo al 30%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%, obteniéndose un sólido amarillo. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>): δ 7,81 (s, 1H), 6,51 (s, 1H), 3,62-3,58 (m, 1H), 2,56 (s, 3H), 2,48 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,88-1,70 (m, 4H), 0,88 (t, J=7,5 Hz, 6H).

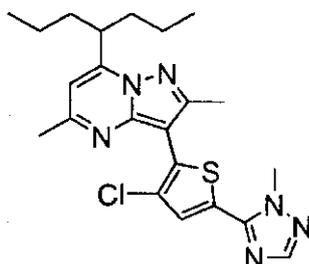
### Ejemplo 19

N-{5-[7-(etil-propil)-2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il]-4-metiltiofen-2-il acetamida

Se disuelve 3-(5-nitro-3-metil-tiofeno-2-il)-7-(1-etil-propil)2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidina (0,33 g, 0,92 mmol) en THF (10 ml) con paladio al 10% sobre carbón (0,10 g), se desgasea con chorro de vacío/atmósfera de hidrógeno (3 x) y se agita bajo atmósfera de hidrógeno (379 kPa) a temperatura ambiente durante 3 h. Se confirma que se ha completado la reacción por TLC. Se diluye la mezcla de reacción con THF (50 ml) y se filtra a través de tierra de diatomeas, concentrándose seguidamente a un aceite en bruto de color naranja. (0,328 g). Se disuelve el aceite en diclorometano (4 ml) y NaOH 1,0M (1 ml). Se añade a la mezcla de reacción cloruro de acetilo (0,038 ml, 0,52 mmol) y se agita durante el fin de semana en un recipiente de reacción cerrado a temperatura ambiente. Se diluye la mezcla de reacción con diclorometano (100 ml) y se lava con agua. Se recoge la fase orgánica, se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida obteniéndose un aceite rojo. Se purifica el aceite por cromatografía rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (acetato de etilo al 15%/10% de metanol amoniacal 7 N/75% en hexano) a 0% de hexano/100 de (acetato de etilo al 15%/metanol amoniacal 7N al 10%/hexano al 75%) en un gradiente de etapa de incrementos de 10%, obteniéndose una espuma de color castaño (0,48 g, 26%). ES/EM m/z 371,0 (M+1)<sup>+</sup>.

### Ejemplo 20

3-[3-cloro-5-(2-metil-2H-[1,2,4]triazol-3-il)-tiofeno-2-il]-7-(1-propil-butil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina



Se carga un matraz secado en horno con 1-metil-1,2,4-triazol (0,120, 1,43 mmol) en THF anhidro (5 ml) y se enfría a -78°C bajo atmósfera inerte. Se añade n-butil litio (2,5 M en hexano, 0,60 ml, 1,43 mmol) y se agita a temperatura reducida durante 30 min más. Se añade a la mezcla de reacción cloruro de zinc anhidro (0,400 g, 2,90 mmol) en una parte alícuota y se agita durante 15 min a temperatura reducida. Se deja que la mezcla de reacción se caliente a temperatura ambiente y se agita durante 30 min más. Se añade a la mezcla de reacción 3-(5-bromo-3-cloro-tiofeno-2-il)-7-(1-propil-butil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (0,500 g, 1,27 mmol) en THF anhidro (5 ml). Se desgasea durante 15 min con presión positiva de argón y se añade tetraquis(trifenilfosfina)paladio(0) (0,060 g, 0,052 mmol). Se mantiene la mezcla de reacción a reflujo en baño de aceite (90°C) durante la noche bajo atmósfera inerte. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se apaga con solución saturada de cloruro amónico y se diluye con acetato de etilo (75 ml). Se separa la porción acuosa y se somete a extracción con acetato de etilo (50 ml). Se combinan las fases orgánicas, la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica por cromatografía rápida el residuo resultante eluyendo con hexano al 100%/0% de (THF al 25%/hexano) a 0% de hexano/100% de (THF al 25%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 20%, obteniéndose un sólido amarillo (0,140 g, 66%). ES/EM m/z (<sup>35</sup>Cl) 441,7 (M+1)<sup>+</sup>.

Se prepara el compuesto siguiente esencialmente como se describe en el Ejemplo 20

Ejemplo nº.	Nombre químico	EM (m/z)
21	3-[3-cloro-5-(2-metil-2H[1,2,4]triazol-3-il)-tiofeno-2-il]-7-isopropil-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina	387,0 (M+1) <sup>+</sup>

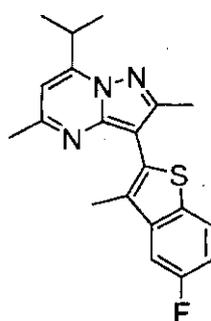
**Preparación 17**

## 2-bromo-5-fluoro-3-metilbenzo[b]tiofeno

- 5 Se trata una solución agitada mecánicamente de 5-fluoro-3-metilbenzo[b]tiofeno (50,32 g, 0,303 mol) en acetonitrilo (350 ml) con N-bromosuccinimida (56,32 g, 0,318 mol, 1,05 equiv). Una endoterma inicial reduce la temperatura de reacción a 17°C. Una exoterma posterior aumenta la temperatura de reacción a 40°C en un período de 10 min, enfriándose luego la temperatura de reacción a 18-20°C aplicando un baño de agua-hielo. Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 35 min más y se diluye lentamente la suspensión resultante con agua
- 10 (350 ml). Se agita la suspensión durante 10 min. Se filtra el producto, se lava con acetonitrilo:agua 50:50 (100 ml) y se seca a un sólido cristalino incoloro (65,56 g, 68%).

**Ejemplo 22**

## 3-(5-fluoro-3-metil-benzo[b]tiofen-2-il)-7-isopropil-2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidina



- 15 Se carga un matraz secado en horno con 2-bromo-5-fluoro-3-metil-benzo[b]tiofeno (0,490, 2,00 mmol) y THF anhidro (5 ml) y se enfría a -50°C bajo atmósfera inerte. Se añade n-butil litio (2,5 M en hexano, 0,60 ml, 1,43 mmol) y se agita a temperatura reducida durante 30 min más. Se añade a gotas a la mezcla de reacción n-butil litio (2,5 M en hexano, 0,80 ml, 2,0 mmol) y se agita durante 30 min. Se añade cloruro de zinc anhidro (0,550 g, 4,00 mmol) en una parte alícuota y se agita durante 30 min a temperatura reducida. Se deja que la mezcla de reacción
- 20 se caliente a temperatura ambiente y se agita durante 30 min más. Se añade a la mezcla de reacción 7-isopropil-3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (0,316 g, 1,00 mmol) en THF anhidro (5 ml): Se desgasea durante 15 min con presión positiva de argón y se añade dicloro[1,1'-bis(difenilfosfo)ferroceno]paladio (II) diclorometano (0,082 g, 0,1 mmol). Se mantiene la mezcla de reacción a reflujo en baño de aceite (90°C) durante la noche en atmósfera inerte. Se enfría la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se apaga con solución saturada de cloruro amónico
- 25 y se diluye con acetato de etilo (75 ml). Se separa la porción acuosa y se somete a extracción con acetato de etilo (50 ml). Se combinan las fases orgánicas, la combinación se seca sobre sulfato magnésico anhidro, se filtra y se concentra a presión reducida. Se purifica por cromatografía rápida el residuo resultante eluyendo con hexano al 100%/0% de(acetato de etilo al 20%/hexano) a 0% de hexano (acetato de etilo al 20%/hexano) en un gradiente de etapa de incrementos de 20%, obteniéndose una espuma blancuzca (0,206 g, 58%). ES/EM m/z 354,0 (M+1)<sup>+</sup>.
- 30 Se preparan los compuestos siguientes esencialmente como se describe en el Ejemplo 22.

Ejemplo nº.	Nombre químico	EM (m/z)
23	7-(1-etil-propil)-3-(5-fluoro-3-metil-benzo[b]tiofen-2-il)-2,5dimetilpirazolo [1,5-a]pirimidina	(APCI) 382,2 (M+1) <sup>+</sup>
24	7-(1-propil-butil)-3-(5-fluoro-3-metil-benzo[b]tiofen-2-il)-2,5dimetilpirazolo [1,5-a]pirimidina	(APCI) 410,0 (M+1) <sup>+</sup>

**Preparación 18**

## Ácido borónico, 5-fluoro-3-metil-benzo[b]tiofen-2-il

- 35 En un matraz seco se combina 5-fluoro-3-metil-benzo[b]tiofeno (312 mg, 1,88 mmol) con THF seco (4 ml) Se enfría a -78°C y se añade n-butil litio (1,6 N en hexanos, 1,18 ml, 1,90 mmol). Se agita durante 1,5 h a -78°C y luego se añade borato de trimetilo (0,23 ml, 2,02 mmol). Se agita durante 3 h y se deja que el baño alcance la temperatura

de  $-20^{\circ}\text{C}$ . Se añade ácido clorhídrico 5 N hasta acidificación de la solución ( $\text{pH} = 4$ ). Se diluye con agua y se somete a extracción con acetato de etilo (3 x). Se combinan las porciones orgánicas, la combinación se seca sobre sulfato sódico, se filtra y se evapora. Se tritura en cloruro de metileno, obteniéndose un sólido blanco (258 mg, 65%). ES/EM m/z 209 ( $\text{M}+1$ )<sup>+</sup>.

## 5 Ejemplo 25

7-butil-3-(5-fluoro-3-metil-benzo[b]tiofen-2-il)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina

Se añade tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) (31 mg, 0,03 mmol) y 7-butil-3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (174 mg, 0,53 mmol) a THF anhidro desgasado (10 ml). Se agita la mezcla durante 10 min. Se añade 2-ácido borónico-5-fluoro-3-metil-benzo[b]tiofeno (111 mg, 0,53 mmol) y solución acuosa de carbonato sodio (112 mg, 1,06 mmol en 5 ml de agua). La mezcla se calienta a  $70^{\circ}\text{C}$  durante 24 h. Se enfría a temperatura ambiente. Se diluye con éter, luego se lava con agua y salmuera. La fase orgánica se seca sobre sulfato magnésico, se filtra y se concentra. El residuo se purifica por HPLC eluyendo con acetonitrilo/agua/TFA, obteniéndose el compuesto del título (55 mg, 28%). ES/EM m/z 368 ( $\text{M}+1$ )<sup>+</sup>.

## Preparación 19

15 4-cloro-tiofeno-2-carbonitrilo

Se equipa un matraz de reacción de 22 l con baño de enfriamiento, agitador de aire, tubo de adición de gas y sonda para termómetro. Se purga el matraz con nitrógeno, luego se carga con  $\text{AlCl}_3$  (1025 g, 7,69 mol) y  $\text{CHCl}_3$  (6,6 l, 16,5 vol). Se enfría la mezcla a  $0-5^{\circ}\text{C}$  y se añade 2-tiofenocarbonitrilo (400 g, 3,66 mol) a gotas usando un embudo de adición en 10-15 min manteniendo la temperatura a  $\leq 10^{\circ}\text{C}$ . Se carga la mezcla con  $\text{Cl}_2$  gas (300 g, 4,23 mol, 1,16 equiv) bajo la superficie a  $\leq 10^{\circ}\text{C}$  a lo largo de 1,25 h. Se controla el progreso de la reacción por CG. Se apaga una parte alícuota de la mezcla de reacción con HCl 6N, se somete a extracción con EtOAc, se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtra y se inyecta el filtrado.

Cuando según GC la reacción se ha completado (se considera que la reacción es completa cuando la relación de material de partida:producto:material dicloro es de aproximadamente (1:5,8:1) por CG en % de área) se añade HCl 6N (8,0 l) a gotas usando un embudo de adición en 1,5 h, mientras que se mantiene la temperatura a  $\leq 20^{\circ}\text{C}$ . La adición de HCl es extremadamente exotérmica y desprende gas. Se pasa la mezcla de reacción a un embudo separador y se separan las capas. La capa acuosa se somete a extracción con  $\text{CHCl}_3$  (4,0 l), se combinan las capas de cloroformo y la combinación se lava con agua (6,0 l). La porción orgánica se seca sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , se filtra y se concentra en vacío, obteniéndose un semisólido amarillo pálido (575 g, 109%). El análisis del % de área por CG (gradiente de temperatura de  $60^{\circ}\text{C}$  a  $280^{\circ}\text{C}$ ) muestra aproximadamente 68% de producto ( $t_{\text{ret}} = 6,5$  min) siendo las impurezas mayoritarias material de partida sin reaccionar ( $t_{\text{ret}} = 5,1$  min) y el producto diclorado ( $t_{\text{ret}} = 7,4$  min). Proced. de CG: columna: DB1;  $T_{\text{inyecc.}} = 300^{\circ}\text{C}$ ;  $T_{\text{inicial}} = 60^{\circ}\text{C}$ ;  $t = 2$  min;  $T_{\text{final}} = 280^{\circ}\text{C}$ , velocidad =  $18^{\circ}\text{C}/\text{min}$ .

## Preparación 20

4-cloro-2-tiofenocarboxamida

35 Se equipa un matraz de reacción de 12 l con baño de enfriamiento, agitador de aire y sonda para termómetro y se se carga con KOH (288,6 g, 5,143 mol) y agua (6,04 l) formando una solución que presenta exotermia a aproximadamente  $31^{\circ}\text{C}$ . Se deja que la solución se enfríe a aproximadamente  $20^{\circ}\text{C}$  y la mezcla se carga con 4-cloro-2-tiofenocarbonitrilo (671,3 g, 4,675 mol) (una pequeña cantidad de sólidos queda sin disolverse). Se añade EtOH (675 ml), a cuyo término se produce una exotermia gradual que continúa durante 1-1,5 h a aproximadamente  $38^{\circ}\text{C}$ . Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche. Se filtra en vacío la mezcla de reacción, se lava con agua y se seca, obteniéndose un producto en bruto. Se disuelven los sólidos en EtOAc (10,0 l), se trata con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y carbón activo durante 1-2 h, luego se filtra y se lava con EtOAc. Se concentra el filtrado en un evaporador rotatorio a  $45^{\circ}\text{C}$  hasta que comienzan a precipitar sólidos. Se libera el vacío y se aumenta la temperatura a  $60-65^{\circ}\text{C}$  para redissolver los sólidos. Agitando a  $60^{\circ}\text{C}$ , se añade heptano (3,5 l) lentamente para que precipiten los sólidos. Se agita durante 15-20 min a  $60^{\circ}\text{C}$ , luego se enfría la mezcla a  $30-40^{\circ}\text{C}$  y se filtra. Se lavan los sólidos con heptano (2 x 0,75 l) y se seca, obteniéndose el compuesto del título como un sólido blanco (253,9 g, 31%). Se obtiene una segunda cosecha (67,8 g, 9%) del filtrado.

## Preparación 21

4-cloro-N-dimetilaminometileno-2 tiofenocarboxamida

50 Se equipa un matraz de reacción de 5 l con una camisa de calentamiento, agitador de aire, aparato Dean-Stark y sonda para termómetro. Se carga con 4-cloro-2-tiofenocarboxamida (300 g, 1,856 mol) y dimetilformamida dimetilacetil (872 ml) formando una suspensión. Se calienta la mezcla gradualmente a  $96^{\circ}\text{C}$  mientras que se recoge el destilado (en su mayor parte MeOH). Se quita la camisa de calentamiento y se enfría a  $\leq 25^{\circ}\text{C}$ . Se añade agua (3,0 l) usando un embudo de adición y se mantiene la temperatura a  $\leq 35^{\circ}\text{C}$ . La mezcla de reacción se somete a extracción con EtOAc (3,0 l, 1,5 l). Se combinan los orgánicos y la combinación se lava con agua (1,5 l). Se seca

la fase orgánica sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra en vacío, obteniéndose el producto en bruto (400 g).

El material se disuelve en EtOAc (320 ml, 0,8 vol) a 50-60°C, Se añade lentamente heptano (1700 ml, 4,25 vol) mientras que se aumenta la temperatura gradualmente a 70°C. A la solución turbia se añade un cristal de siembra para iniciar la precipitación. Se agita la mezcla resultante a temperatura ambiente durante la noche, luego se filtra y se lava con heptano. Se secan los sólidos, obteniéndose el compuesto del título como un sólido blanco (329,8 g, 82%).

### Preparación 22

5-(4-cloro-tiofen-2-il)-1-metil-<sup>1</sup>H-[1,2,4]triazol

Se equipa un matraz de reacción de 3 l con baño de enfriamiento, agitador de aire y sonda para termómetro y se carga con 4-cloro-N-dimetilaminometilen-2-tiofenocarboxamida (155 g, 0,715 mol) y HOAC (1500 ml) formando una solución. Usando un baño de enfriamiento de hielo-agua para mantener la temperatura a ≤30°C, se añade a gotas metilhidrazina (33,2 g, 0,721 mol) mediante un embudo de adición a lo largo de 15-20 min, formándose una suspensión de color amarillo pálido. Se calienta la mezcla de reacción gradualmente a 90°C y se mantiene a 90°C durante 30 min. Se analiza la mezcla por CG y luego se enfría la mezcla a aproximadamente 70°C y se concentra a un aceite/suspensión espeso. Se añade agua (1,67 l) lentamente para que precipiten sólidos, se enfría la mezcla a <30°C, se filtra y se lava con agua (1,67 l). Se disuelven los sólidos húmedos (125,8 g) en t-butil metil éter caliente (1,64 l), se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra a sequedad, obteniéndose el compuesto del título como un sólido amarillo pálido (85,8 g, 60%).

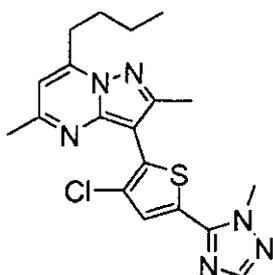
### Preparación 23

5-(5-bromo-4-cloro-tiofen-2-il)-1-metil-<sup>1</sup>H-[1,2,4]triazol

Se equipa un matraz de reacción de 3 l con baño de enfriamiento, agitador de aire y sonda para termómetro y se carga con 5-(4-cloro-tiofen-2-il)-1-metil-1H-[1,2,4]triazol (105,3 g, 0,527 mol), acetonitrilo (1053 ml) y HOAC (105 ml) formando una solución. Se añade N-bromosuccinimida (103,2 g, 0,580 mol) en porciones a lo largo de 30-60 min mientras que se mantiene la temperatura a ≤31°C. Se agita durante 1 h, a cuyo término el análisis por CG indica que la reacción ha sido completa. La mezcla de reacción se vierte en agua (2,1 l, 20 vol), se agita durante 30 min, se filtra y se lava con agua (2 x 1 l). Se seca el material en horno de vacío a 45°C durante la noche, obteniéndose el compuesto del título como un sólido amarillo pálido (123,0 g, 84%).

### Ejemplo 26

7-butil-3-[3-cloro-5-(2-metil-2H-[1,2,4]triazol-3-il)-tiofen-2-il]-2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidina



Se añade 5-(5-bromo-4-cloro-tiofen-2-il)-1-metil-1H-[1,2,4]triazol (169 mg, 0,61 mmol) a THF anhidro (5 ml). Se enfría a -78°C. Se añade t-butil litio (0,81 ml, 1,37 mmol, 1,7 M en pentano). Se agita la mezcla durante 45 min y se añade luego lentamente cloruro de zinc (1,5 ml, 1,76 mmol, 0,5 M en THF). Se agita durante 5 min, luego se calienta a temperatura ambiente y se agita durante 15 min. Se añade bis(tri-t-butilfosfina)paladio(0) (62 mg, 0,12 mmol) y 7-butil-3-yodo-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidina (200 mg, 0,61 mmol). Se calienta a reflujo durante la noche. Se filtra la mezcla de reacción a través de Celite® y se concentra a sequedad. Se purifica por cromatografía en columna con gel de sílice eluyendo con acetato de etilo de 0-50% en hexano, obteniéndose el compuesto del título (36 mg, 15%). ES/EM m/z (<sup>35</sup>Cl) 401 (M+1)<sup>+</sup>.

### Ejemplo 27

Hidrocloreto de {5-[7-(1-etil-propil)-2,5-dimetil-pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il]-4-metil-tiofen-2-il}dimetil-amina

Se disuelve 3-(5-nitro-3-metil-tiofen-2-il)-7-(1-etil-propil)-2,5-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidina (0,36 g, 1,0 mmol) en THF (5 ml) con paladio al 10% sobre carbón (0,20 g), se desgasea con chorro de vacío/atmósfera de hidrógeno (3 x) y se agita bajo atmósfera de hidrógeno (379 kPa) a temperatura ambiente durante 3 h. Se confirma que se ha completado la reacción por TLC. Se diluye la mezcla de reacción con THF (50 ml) y se filtra a través de Celite®. Se añade hidruro sódico como dispersión al 60% en aceite concentrándose seguidamente a un aceite en bruto de color

5 naranja. (0,328 g). Se disuelve el aceite (0,10 g, 2,25 mmol) y se agita a temperatura ambiente durante 20 min. Se  
 añade yodometano (0,140 ml, 2,25 mmol) a la mezcla de reacción y se agita durante la noche a 50°C en un  
 recipiente de reacción sellado. La reacción se para con agua y se diluye con acetato de etilo (100 ml). La porción  
 orgánica se lava con agua, solución saturada de cloruro amónico y salmuera. Se seca sobre sulfato magnésico  
 anhidro, se filtra y se concentra a un aceite a presión reducida. El residuo resultante se purifica por cromatografía  
 rápida eluyendo con hexano al 100%/0% de (acetato de etilo al 25%/hexano) a 0% de hexano/100% de (acetato de  
 etilo al 25%/hexano) en una etapa de gradiente de incrementos de 10%, obteniéndose una espuma (0,145 g, 41%).  
 Se disuelve el material (0,13 g, 0,365 mmol) en metanol (3 ml) y se añade HCl 4,0M-dioxano (3 ml). Se agita la  
 10 mezcla de reacción durante 30 min y se sopla la reacción a una presión positiva de nitrógeno. Se seca en horno de  
 vacío, obteniéndose un sólido blanco (0,125 g). ES/EM m/z 357,2 (M+1)<sup>+</sup>.

### Ejemplo A

Estimación de potencia in vivo usando unión ex vivo

15 Para estimar la potencia in vivo, se evalúa un compuesto de la presente invención usando unión ex vivo. Usando los  
 procedimientos descritos por D.R. Gehlert y otros, EJP 509: 145-153 (2005) se administra un compuesto a una rata  
 por vía oral. Luego se estima ex vivo la unión de <sup>125</sup>I-sauvajina al cerebelo como lo describen Gehlert y otros. Por  
 ejemplo, el Ejemplo 20 proporciona una inhibición de 74% a 10 mg/kg.

### Ejemplo B

Ensayo de unión de filtro de CRF1

20 Las limitaciones de expresión de CRF1 humano basado en plásmido, en términos de generar una línea de células  
 recombinante con una densidad receptora suficiente para desarrollar un ensayo de unión, se soslayan usando un  
 sistema de expresión retroviral Phoenix autorizado por Standford. Se usa la línea de células estable HEK-hCRF1  
 para preparar membranas y las reacciones de unión (200 µl) se preparan de la manera siguiente: 50 µl de <sup>125</sup>I-  
 sauvajina (0,2 nM final), 50 µl de compuesto y 100 µl de membrana de CRF1 (25 µg/reacción). Las reacciones se  
 25 incuban a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se terminan por filtración a través de placas filtrantes  
 de vidrio FB Millipore (96 pocillos). Las placas se lavan dos veces con tampón de ensayo enfriado con hielo (Tris 50  
 mM, NaCl 12,5 mM, EDTA 1 mM, MgCl<sub>2</sub> 10 mM, 0,05% de BSA, pH 7,2), se secan al aire durante la noche y se  
 recuentan con 100 µl de Microscint 40 en un contador MicroBeta. La unión no específica (NSB) se determina en  
 presencia de sauvajina no marcada 0,5 µM. Típicamente se hacen determinaciones por triplicado y los puntos  
 medios de datos se trazan por Graph Pad Prism.

30 Usando este ensayo, los compuestos ejemplificados de la presente invención (excepto los Ejemplos 2, 3, 6, 7 y 8,  
 que se usaron como intermedios para otros Ejemplos y no se ensayaron) inhiben la unión de <sup>125</sup>I-sauvajina (4 nM)  
 en células rodillo/adherentes con una Ki (constante de inhibición) ≤500 nM. Por ejemplo, el Ejemplo 20 tiene una Ki  
 de 4,4 nM.

### Ejemplo C

35 Ensayo de unión de filtro de CRF2

Las limitaciones de expresión de CRF2 humano basado en plásmido, en términos de generar una línea de células  
 recombinante con una densidad receptora suficiente para desarrollar un ensayo de unión, se soslayan usando un  
 sistema de expresión retroviral Phoenix autorizado por Standford. Se usa la línea de células estable HEK-hCRF2  
 para preparar membranas y las reacciones de unión (200 µl) se preparan de la manera siguiente: 50 µl de <sup>125</sup>I-  
 40 sauvajina (concentración final 0,2 nM), 50 µl de compuesto y 100 µl de membrana de CRF2 (25 µg/reacción). Las  
 reacciones se incuban a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se terminan por filtración a través de placas  
 filtrantes de vidrio FB Millipore (96 pocillos). Las placas se lavan dos veces con tampón de ensayo enfriado con  
 hielo (Tris 50 mM, NaCl 12,5 mM, EDTA 1 mM, MgCl<sub>2</sub> 10 mM, 0,05% de BSA, pH 7,2), se secan al aire durante la  
 noche y se recuentan con 100 µl de Microscint 40 en un contador MicroBeta. La unión no específica (NSB) se  
 45 determina en presencia de sauvajina no marcada 0,5 µM. Alternativamente, los compuestos se evalúan usando un  
 ensayo de proximidad de centelleo. Este ensayo se prepara como sigue: 50 µl de <sup>125</sup>I-sauvajina (concentración final  
 0,2 nM), 50 µl de compuesto o sauvajina no marcada (NSB) y perlas de SPA de 250 µg de aglutinina de germen de  
 trigo (WGA) que contienen 100 µl y membrana de CFR2 (1,5 µg/reacción). Las placas se incuban durante 4-5 h a  
 temperatura ambiente y luego se centrifugan a 200 x durante 10 min. La radiactividad unida se estima usando un  
 50 contador de centelleo Wallac Trilux. La unión típicamente se estima usando determinaciones por triplicado y los  
 puntos medios de datos se trazan por Graph Pad Prism. Los compuestos se exploran inicialmente a una  
 concentración fija y, si se observa actividad suficiente, posteriormente se generan curvas de concentración-  
 respuesta.

55 Preferiblemente, los compuestos de la presente invención presentan una afinidad débil para el receptor de CFR2  
 (en relación a CFR1). Por ejemplo, el Ejemplo 20 tiene una inhibición de 39% a una concentración de 50 µM.

**Ejemplo D**

## Biodisponibilidad y propiedades farmacocinéticas

5 El volumen de distribución ( $V_{dist}$ ) relaciona la cantidad del fármaco en el cuerpo con la concentración del fármaco en la sangre o el plasma. El volumen de distribución se refiere al volumen de fluido que se requeriría para contener la cantidad del fármaco en el cuerpo a la misma concentración que en la sangre o plasma:  $V_{dist} = \text{cantidad de fármaco en el cuerpo} / \text{concentración de fármaco en sangre o plasma}$  (Goodman y Gillman's). Para una dosis de 10 mg y una concentración en plasma de 10 mg/l, el volumen de distribución sería de 1 litro. El volumen de distribución refleja la cuantía en que el fármaco está presente en el tejido extravascular. Un volumen de distribución grande refleja la tendencia de un compuesto a unirse a los componentes del tejido en comparación con la unión de proteína de plasma. En un estudio clínico, se puede usar la  $V_{dist}$  para determinar una dosis de carga para conseguir una concentración en estado estacionario.

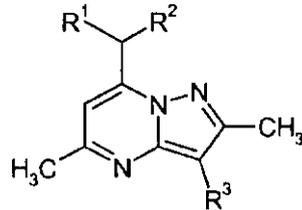
10 Para ensayar el volumen de distribución, a ratas macho Sprague Dawley (N=3) se administra por vía intravenosa una dosis individual de 1 mg/kg de compuesto. Se recogen múltiples muestras de plasma al cabo de tiempos de 0,06 a 24 horas después de la dosis. Las muestras de plasma se analizan por CL/EM/ES para determinar las concentraciones en plasma. Se realizan cálculos farmacocinéticos de plasma para determinar los parámetros farmacocinéticos, incluidos  $V_{dist}$  y aclaramiento de plasma (Clp).

15 Los compuestos de la presente invención preferiblemente tienen perfiles de biodisponibilidad favorables respecto a los otros antagonistas de CRF tales como CP154526 (Schulz y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. (USA), 93:10477 (1996)) y NBI30775 (Chen y otros, Drug Development Research, 62:216 (2005)).

20

REIVINDICACIONES

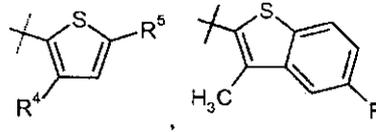
1. Un compuesto de fórmula I



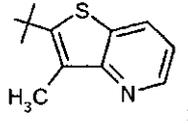
Fórmula I

en la que:

- 5 R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente hidrógeno o alquilo C<sub>1-3</sub>,  
R<sup>3</sup> es

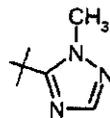


o

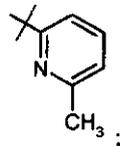


R<sup>4</sup> es Cl o metilo,

R<sup>5</sup> es hidrógeno, Br, nitro, metoxi, metoximetilo, dimetilamino, etoxicarbonilo, acetamido, acetoxi,



o

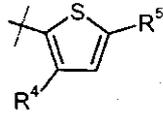


10

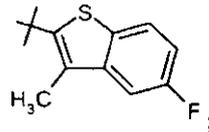
o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son independientemente etilo o n-propilo.

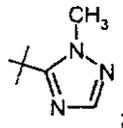
15 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en el que R<sup>3</sup> es



o



4. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R<sup>5</sup> es metoxi, metoximetilo, dimetilamino o



5. Una composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, para su uso como producto farmacéutico.
7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento de la depresión o ansiedad.
8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, para su uso en el tratamiento del abuso del alcohol o sustancias.
9. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, para su uso en la fabricación de un medicamento para tratar la ansiedad o la depresión.
10. Uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, para la fabricación de un medicamento para tratar del abuso del alcohol o sustancias.