(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 529 641**

(51) Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **20.09.2011** **E 11757886 (4)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.11.2014** **EP 2619207**

(54) Título: **Derivados de 4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ilamina útiles como inhibidores de beta-secretasa (BACE)**

(30) Prioridad:

11.03.2011 EP 11157858
22.09.2010 EP 10178315

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
24.02.2015

(73) Titular/es:

JANSSEN PHARMACEUTICA, N.V. (100.0%)
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse, BE

(72) Inventor/es:

TRABANCO-SUÁREZ, ANDRÉS AVELINO;
TRESADERN, GARY JOHN y
DELGADO-JIMÉNEZ, FRANCISCA

(74) Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 529 641 T3

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

DESCRIPCIÓN

Derivados de 4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ilamina útiles como inhibidores de beta-secretasa (BACE)

Campo de la invención

La presente invención se refiere a derivados de 4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ilamina novedosos como inhibidores de beta-secretasa, también conocida como enzima de escisión de amiloide en el sitio beta, BACE, BACE1, Asp2 o memapsina 2. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos, a procedimientos para preparar tales compuestos y composiciones, y al uso de tales compuestos y composiciones para el tratamiento de trastornos en los que está implicada la beta-secretasa, tales como enfermedad de Alzheimer (EA), deterioro cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con accidente cerebrovascular, demencia asociada con enfermedad de Parkinson o demencia asociada con beta-amiloide.

Antecedentes de la invención

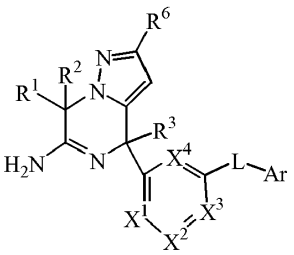
La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa asociada con el envejecimiento. Los pacientes con EA presentan déficits cognitivos y pérdida de memoria así como problemas conductuales tales como ansiedad. Más del 90% de los afectados con EA tienen una forma esporádica del trastorno mientras menos del 10% de los casos son familiares o hereditarios. En los Estados Unidos, aproximadamente 1 de cada 10 personas a la edad de 65 años tiene EA mientras a la edad de 85 años, 1 de cada dos individuos está afectado con EA. La esperanza de vida promedio desde el diagnóstico inicial es de 7-10 años, y los pacientes con EA requieren de amplios cuidados o bien en una residencia asistida que es muy costoso o bien por miembros de la familia. Con el número en aumento de ancianos en la población, la EA es una preocupación médica creciente. Las terapias disponibles actualmente para la EA meramente tratan los síntomas de la enfermedad e incluyen inhibidores de la acetilcolinesterasa para mejorar las propiedades cognitivas así como ansiolíticos y antipsicóticos para controlar los problemas conductuales asociados con esta dolencia.

Las características patológicas distintivas en el cerebro de pacientes con EA son ovillos neurofibrilares que se generan mediante hiperfosforilación de la proteína tau y placas amiloides que se forman mediante agregación de péptido de beta-amiloide 1-42 (Abeta 1-42). Abeta 1-42 forma oligómeros y luego fibrillas, y en última instancia placas amiloides. Se cree que los oligómeros y las fibrillas son especialmente neurotóxicos y pueden provocar la mayor parte del daño neurológico asociado con EA. Los agentes que previenen la formación de Abeta 1-42 tienen el potencial de ser agentes modificadores de la enfermedad para el tratamiento de EA. Abeta 1-42 se genera a partir de la proteína precursora amiloide (APP), que se compone de 770 aminoácidos. El extremo N-terminal de Abeta 1-42 se escinde por la beta-secretasa (BACE), y luego la gamma-secretasa escinde el extremo C-terminal. Además de Abeta 1-42, la gamma-secretasa también libera Abeta 1-40 que es el producto de escisión predominante así como Abeta 1-38 y Abeta 1-43. Estas formas de Abeta también pueden agregarse para formar oligómeros y fibrillas. Por tanto, se esperaría que inhibidores de BACE prevengan la formación de Abeta 1-42 así como Abeta 1-40, Abeta 1-38 y Abeta 1-43 y que sean agentes terapéuticos potenciales en el tratamiento de EA.

El documento WO 2006/138265 da a conocer 7-amino-1,2,4,5-tetrahidro-2-oxo-pirazolo[1,5-c]pirimidinas y el documento WO 2007/058583 da a conocer 1-amino-3,4-dihidroisoquinolinas útiles como inhibidores de BACE.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I)



(I)

o un tautómero o una forma estereoisomérica del mismo, en la que

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C_{1-3};

R^3 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-6}, mono y polihaloalquilo C_{1-3},

homoarilo y heteroarilo;

X^1, X^2, X^3, X^4 son independientemente $C(R^4)$ en el que cada R^4 se selecciona de hidrógeno y halógeno;

L es un enlace o $-N(R^5)CO-$, en el que R^5 es hidrógeno;

R^6 es hidrógeno o trifluorometilo;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

homoarilo es fenilo o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C_{1-3} y alquiloxilo C_{1-3};

heteroarilo se selecciona del grupo que consiste en piridilo, pirimidilo y pirazilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C_{1-3} y alquiloxilo C_{1-3};

o una sal de adición o un solvato del mismo.

Es ilustrativa de la invención una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y cualquiera de los compuestos descritos anteriormente. Una ilustración de la invención es una composición farmacéutica preparada mezclando cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un portador farmacéuticamente aceptable. Ilustra la invención un procedimiento para preparar una composición farmacéutica que comprende mezclar cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un portador farmacéuticamente aceptable.

Otro ejemplo de la invención es cualquiera de los compuestos descritos anteriormente para su uso en el tratamiento de: (a) enfermedad de Alzheimer, (b) deterioro cognitivo leve, (c) senilidad, (d) demencia, (e) demencia con cuerpos de Lewy, (f) síndrome de Down, (g) demencia asociada con accidente cerebrovascular, (h) demencia asociada con enfermedad de Parkinson y (i) demencia asociada con beta-amiloide, en un sujeto que lo necesita.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula (I) tal como se definieron anteriormente en el presente documento, y a sales farmacéuticamente aceptables y solvatos de los mismos. Los compuestos de fórmula (I) son inhibidores de la enzima beta-secretasa (también conocida como enzima de escisión en el sitio beta, BACE, BACE1, Asp2 o memapsina 2), y son útiles en el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia asociada con accidente cerebrovascular, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson y demencia asociada con beta-amiloide, preferiblemente enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve o demencia, más preferiblemente enfermedad de Alzheimer.

En otra realización de la presente invención, R^1 y R^2 son hidrógeno;

X^1, X^2, X^3, X^4 son CH;

L es un enlace o $-N(R^5)CO-$, en el que R^5 es hidrógeno;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

homoarilo es fenilo sustituido con cloro;

heteroarilo se selecciona del grupo que consiste en piridilo y pirimidilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en cloro, fluoro, ciano, metilo y metoxilo; o

una sal de adición o un solvato del mismo.

En otra realización, el átomo de carbono sustituido con R^3 tiene la configuración R.

En otra realización de la presente invención, R^1 y R^2 son hidrógeno;

X^1 es CH o CF, y X^2, X^3, X^4 son CH;

L es $-N(R^5)CO-$, en el que R^5 es hidrógeno;

Ar es piridinilo sustituido con uno o dos átomos de halógeno, o pirazinilo sustituido con metoxilo; o

una sal de adición o un solvato del mismo.

DEFINICIONES

"Halógeno" indicará fluoro, cloro y bromo; "alquilo C_{1-3}" indicará un grupo alquilo saturado lineal o ramificado que tiene 1, 2 ó 3 átomos de carbono, por ejemplo metilo, etilo, 1-propilo y 2-propilo; "alquiloxilo C_{1-3}" indicará un radical éter en el que alquilo C_{1-3} es tal como se definió anteriormente; "mono y polihaloalquilo C_{1-3}" indicará alquilo C_{1-3} tal como se definió anteriormente, sustituido con 1, 2, 3 o cuando sea posible con más átomos de halógeno tal como se definió anteriormente; "mono y polihaloalquiloxilo C_{1-3}" indicará un radical éter en el que mono y polihaloalquilo C_{1-3} es tal como se definió anteriormente; "cicloalquilo C_{3-6}" indicará ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo;

El término "sujeto" tal como se usa en el presente documento, se refiere a un animal, preferiblemente un mamífero, lo más preferiblemente un ser humano, que es o ha sido objeto de tratamiento, observación o experimento.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" tal como se usa en el presente documento, significa aquella cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que provoca la respuesta biológica o farmacéutica en un sistema tisular, animal o ser humano que está buscándose por un investigador, veterinario, doctor en medicina u otro médico clínico, que incluye alivio de los síntomas de la enfermedad o el trastorno que esté tratándose.

Tal como se usa en el presente documento, el término "composición" pretende abarcar un producto que comprende los componentes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulta, directa o indirectamente, de combinaciones de los componentes especificados en las cantidades especificadas.

Se apreciará que algunos de los compuestos según la fórmula (I) y las sales de adición, hidratos y solvatos de los mismos pueden contener uno o más centros de quiralidad y existir como formas estereoisoméricas.

El término "formas estereoisoméricas" tal como se usó anteriormente en el presente documento o tal como se usa a continuación en el presente documento incluye todas las posibles formas estereoisoméricas que pueden presentar los compuestos según la fórmula (I) y sus sales de adición. A menos que se mencione o se indique de otro modo, la designación química de los compuestos indica la mezcla de todas las posibles formas estereoquímicamente isoméricas, conteniendo dichas mezclas todos los diastereómeros y enantiómeros de la estructura molecular básica así como cada una de las formas isoméricas individuales según la fórmula (I) y sus sales, solvatos, sustancialmente libre, es decir asociado con menos del 10%, preferiblemente menos del 5%, en particular menos del 2% y lo más preferiblemente menos del 1%, de los demás isómeros.

Cuando los compuestos según esta invención tienen al menos un centro quiral, pueden existir por consiguiente como enantiómeros. Cuando los compuestos presentan dos o más centros quirales, pueden existir adicionalmente como diastereómeros. Ha de entenderse que todos de tales isómeros y mezclas de los mismos están abarcados dentro del alcance de la presente invención. Preferiblemente, cuando el compuesto está presente como un enantiómero, el enantiómero está presente en un exceso enantiomérico mayor de o igual a aproximadamente el 80%, más preferiblemente, en un exceso enantiomérico mayor de o igual a aproximadamente el 90%, más preferiblemente todavía, en un exceso enantiomérico mayor de o igual a aproximadamente el 95%, más preferiblemente todavía, en un exceso enantiomérico mayor de o igual a aproximadamente el 98%, lo más preferiblemente, en un exceso enantiomérico mayor de o igual a aproximadamente el 99%. De manera similar, cuando el compuesto está presente como un diastereómero, el diastereómero está presente en un exceso diastereomérico mayor de o igual a aproximadamente el 80%, más preferiblemente, en un exceso diastereomérico mayor de o igual a aproximadamente el 90%, más preferiblemente todavía, en un exceso diastereomérico mayor de o igual a aproximadamente el 95%, más preferiblemente todavía, en un exceso diastereomérico mayor de o igual a aproximadamente el 98%, lo más preferiblemente, en un exceso diastereomérico mayor de o igual a aproximadamente el 99%.

Además, algunas de las formas cristalinas para los compuestos de la presente invención pueden existir como polimorfos y como tal pretenden estar incluidos en la presente invención. Además, algunos de los compuestos de la presente invención pueden formar solvatos con agua (es decir, hidratos) o disolventes orgánicos comunes, y también se pretende que tales solvatos estén abarcados dentro del alcance de esta invención.

Para su uso en medicina, las sales de los compuestos de esta invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas. Sin embargo, otras sales pueden ser útiles en la preparación de compuestos según esta invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos incluyen sales de adición de ácido que pueden formarse, por ejemplo, mezclando una disolución del compuesto con una disolución de un ácido farmacéuticamente aceptable tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido carbónico o ácido fosfórico. Además, cuando los compuestos de la invención portan un resto ácido, las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los mismos pueden incluir sales de metales alcalinos, por ejemplo, sales de sodio o potasio; sales de metales alcalinotérreos, por ejemplo, sales de calcio o magnesio; y sales formadas con ligandos orgánicos adecuados, por ejemplo, sales de amonio cuaternario.

Los ácidos representativos que pueden usarse en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: ácido acético, ácido 2,2-dicloroacético, aminoácidos acilados, ácido adípico, ácido algínico, ácido ascórbico, ácido L-aspártico, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido (+)-canfórico, ácido canforsulfónico, ácido cáprico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido D-glucónico, ácido D-glucurónico, ácido L-glutámico, ácido beta-oxo-glutárico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido (+)-L-láctico, ácido (±)-DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido maleico, ácido (-)-L-málico, ácido malónico, ácido (±)-DL-mandélico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico, ácido fosfórico, ácido L-piroglutámico, ácido salicílico, ácido 4-aminosalicílico, ácido sebácico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiociánico, ácido p-toluenosulfónico, ácido trifluorometilsulfónico y ácido undecilénico. Las bases representativas que pueden usarse en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: amoniaco, L-arginina, benetamina, benzatina, hidróxido de calcio, colina, dimetiletanolamina, dietanolamina, dietilamina, 2-(dietilamino)-etanol, etanolamina, etilendiamina, *N*-metil-glucamina, hidrabamina, 1*H*-imidazol, L-lisina, hidróxido de magnesio, 4-(2-hidroxietil)-morfolina, piperazina, hidróxido de potasio, 1-(2-hidroxietil)-pirrolidina, amina secundaria, hidróxido de sodio, trietanolamina, trometamina e hidróxido de zinc.

Los nombres químicos de los compuestos de la presente invención se generaron según las reglas de nomenclatura acordadas por Chemical Abstracts Service. Los compuestos según la fórmula (I) también pueden existir en su forma tautomérica. Tales formas aunque no indicadas explícitamente en la fórmula anterior se pretende que estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.

A. PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS FINALES

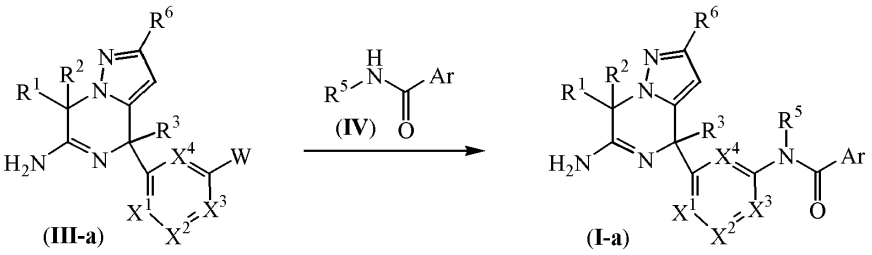
Procedimiento experimental 1

Pueden prepararse los compuestos finales según la fórmula (I), haciendo reaccionar un compuesto intermedio de fórmula (II) con una fuente de amoniaco apropiada tal como, por ejemplo, cloruro de amonio o amoniaco acuoso, según el esquema de reacción (1), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, agua o metanol, en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 60ºC, por ejemplo durante 6 horas. En el esquema de reacción (1), todas las variables se definen tal como en la fórmula (I).

Esquema de reacción 1

Procedimiento experimental 2

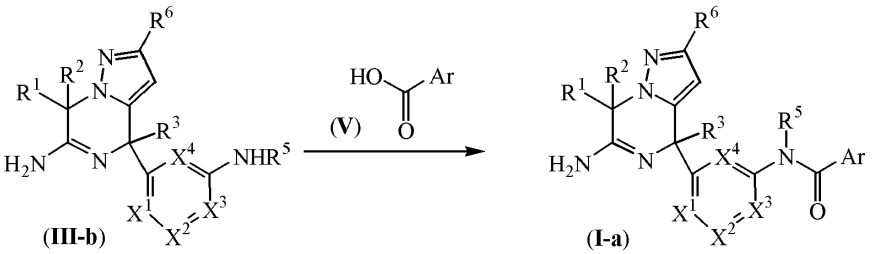
Pueden prepararse los compuestos finales según la fórmula (I-a) en los que L es -N(R^5)CO-, haciendo reaccionar un compuesto intermedio de fórmula (III-a) con un producto intermedio de fórmula (IV) según el esquema de reacción (2), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, *N*,*N*-dimetilformamida, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, K_3PO_4, un catalizador de cobre tal como, por ejemplo, CuI y una diamina tal como por ejemplo (1*R*,2*R*)-(-)-1,2-diaminociclohexano, en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 180ºC, por ejemplo durante 135 minutos con irradiación de microondas. En el esquema de reacción (2), todas las variables se definen tal como en la fórmula (I) y W es halógeno.



Esquema de reacción 2

Procedimiento experimental 3

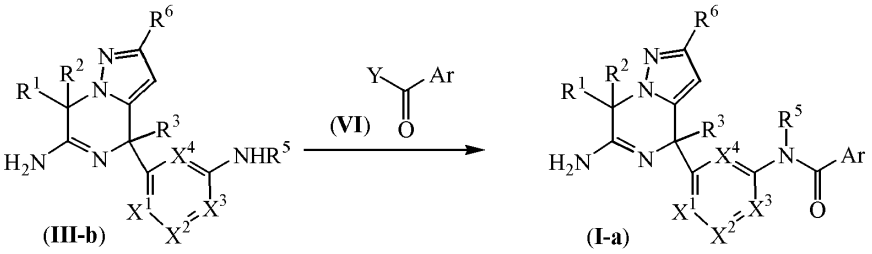
Adicionalmente, pueden prepararse los compuestos finales según la fórmula (I-a), haciendo reaccionar un compuesto intermedio de fórmula (III-b) con un producto intermedio de fórmula (V) según el esquema de reacción (3), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, diclorometano, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, trietilamina, en presencia de un agente de condensación tal como por ejemplo hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N'*,*N'*-tetrametiluronio [HATU, CAS 148893-10-1], en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 25ºC, por ejemplo durante 2 horas. En el esquema de reacción (3), todas las variables se definen tal como en la fórmula (I).



Esquema de reacción 3

Procedimiento experimental 4

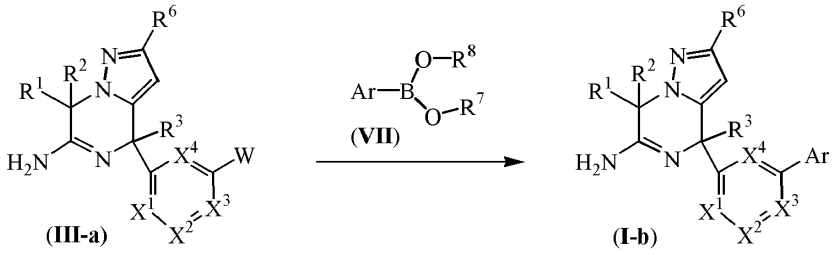
Adicionalmente, pueden prepararse los compuestos finales según la fórmula (I-a), haciendo reaccionar un compuesto intermedio de fórmula (III-b) con un producto intermedio de fórmula (VI) según el esquema de reacción (4), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, diclorometano, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, piridina, en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 25ºC, por ejemplo durante 2 horas. En el esquema de reacción (4), todas las variables se definen tal como en la fórmula (I) e Y es halógeno.



Esquema de reacción 4

Procedimiento experimental 5

Pueden prepararse los compuestos finales según la fórmula (I-b) en los que L es un enlace, haciendo reaccionar un compuesto intermedio de fórmula (III-a) con un producto intermedio de fórmula (VII) según el esquema de reacción (5), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, mezclas de disolventes inertes tales como, por ejemplo, 1,4-dioxano/etanol, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, K_3PO_4 acuoso, un catalizador de complejo de Pd tal como, por ejemplo, tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) [CAS 14221-01-3] en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 80ºC, por ejemplo durante 20 horas o por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 150ºC, durante de 10 minutos a 30 minutos con irradiación de microondas. En el esquema de reacción (5), todas las variables se definen tal como en la fórmula (I) y W es halógeno. R^7 y R^8 pueden ser hidrógeno o alquilo, o pueden tomarse juntos para formar, por ejemplo, un radical bivalente de fórmula $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$ o $-C(CH_3)_2C(CH_3)_2-$.



Esquema de reacción 5

Varios productos intermedios y materiales de partida en las preparaciones anteriores son compuestos conocidos que pueden prepararse según metodologías conocidas en la técnica de preparación de dichos compuestos o similares y algunos productos intermedios son nuevos. Se describirán varios métodos de preparación de este tipo a continuación en el presente documento en más detalle.

B. PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS INTERMEDIOS

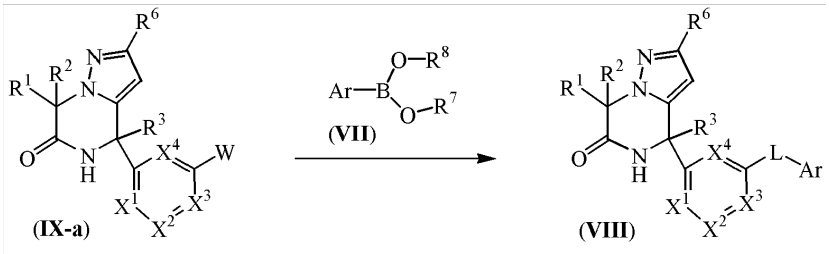
Procedimiento experimental 6

Pueden prepararse los productos intermedios según la fórmula (II) haciendo reaccionar un compuesto intermedio de fórmula (VIII) con un reactivo donador de azufre adecuado para la síntesis de tioamidas tal como, por ejemplo, pentasulfuro de fósforo o 2,4-disulfuro de 2,4-bis-(4-metoxifenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano [reactivo de Lawesson, CAS 19172-47-5] según el esquema de reacción (6), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción, tal como por ejemplo, tetrahidrofurano o tolueno, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, piridina, en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 90ºC, por ejemplo durante 18 horas. En el esquema de reacción (6), todas las variables se definen tal como en la fórmula (I).

Esquema de reacción 6

Procedimiento experimental 7

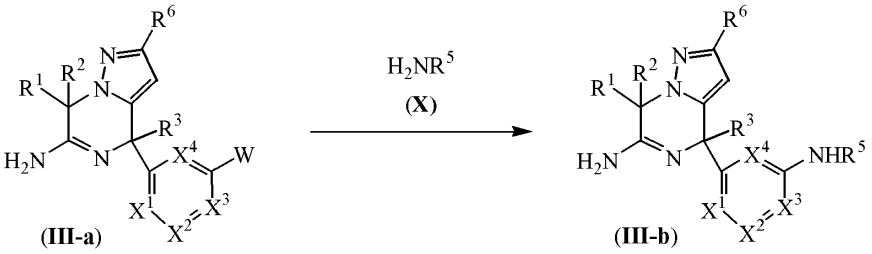
Pueden prepararse los productos intermedios según la fórmula (VIII) en los que L es un enlace, haciendo reaccionar un compuesto intermedio de fórmula (IX-a) con un producto intermedio de fórmula (VII) según el esquema de reacción (7), una reacción que se realiza en una mezcla adecuada de disolventes inertes tales como, por ejemplo, 1,4-dioxano/agua, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, Na_2CO_3 acuoso, un catalizador de complejo de Pd tal como, por ejemplo, tetrakis-(trifenilfosfina)paladio (0) [CAS 14221-01-3] en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 80ºC, por ejemplo durante 20 horas o por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 150ºC, por ejemplo durante 15 minutos con irradiación de microondas. En el esquema de reacción (7), todas las variables se definen tal como en la fórmula (I) y W es halógeno. R^7 y R^8 pueden ser hidrógeno o alquilo, o pueden tomarse juntos para formar por ejemplo un radical bivalente de fórmula $-CH_2CH_2-$, $-CH_2CH_2CH_2-$ o $-C(CH_3)_2C(CH_3)_2-$.



Esquema de reacción 7

Procedimiento experimental 8

Pueden prepararse los productos intermedios según la fórmula (III-b) a partir de los compuestos intermedios correspondientes de fórmula (III-a) siguiendo procedimientos de acoplamiento de tipo Buchwald-Hartwig conocidos en la técnica según el esquema de reacción (8). Puede realizarse dicho acoplamiento mediante tratamiento de compuestos intermedios de fórmula (III-a) con un producto intermedio de fórmula (X) en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, etanol o mezclas de disolventes inertes tales como, por ejemplo, etanol o mezclas de disolventes inertes tales como, por ejemplo, 1,2-dimetoxietano/agua/etanol, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, K_3PO_4 o Cs_2CO_3 acuosos, un catalizador de complejo de Pd tal como, por ejemplo, [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]-dicloropaladio (II) [CAS 72287-26-4] o diacetato de *trans*-bis(diciclohexilamina)paladio [DAPCy, CAS 628339-96-8] en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 80ºC, por ejemplo durante 20 horas o por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 130ºC, por ejemplo durante 10 minutos con irradiación de microondas. En el esquema de reacción (8), todas las variables se definen tal como en la fórmula (I) y W es halógeno. R^5 es hidrógeno o alquilo C_{1-3}.



Esquema de reacción 8

Procedimiento experimental 9

Adicionalmente, pueden prepararse productos intermedios de fórmula (III-b) en los que R^5 es hidrógeno, a partir de los productos intermedios correspondientes de fórmula (III-c) siguiendo procedimientos de reducción de nitro a amino conocidos en la técnica según el esquema de reacción (9). Dicha reducción puede llevarse a cabo convenientemente siguiendo procedimientos de hidrogenación catalítica conocidos en la técnica. Por ejemplo, dicha reducción puede llevarse a cabo agitando los reactantes bajo una atmósfera de hidrógeno y en presencia de un catalizador apropiado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón, platino sobre carbón, níquel Raney y catalizadores similares. Disolventes adecuados son, por ejemplo, agua, alcanoles, por ejemplo metanol, etanol y similares, ésteres, por ejemplo acetato de etilo y similares. Con el fin de potenciar la velocidad de dicha reacción de reducción puede ser ventajoso elevar la temperatura y/o la presión de la mezcla de reacción. Puede impedirse la hidrogenación adicional no deseada de determinados grupos funcionales en los reactantes y los productos de reacción mediante la adición de un veneno de catalizador tal como, por ejemplo, tiofeno y similares, a la mezcla de reacción. En el esquema de reacción (9), todas las variables se definen tal como en la fórmula (I).

Esquema de reacción 9

Procedimiento experimental 10

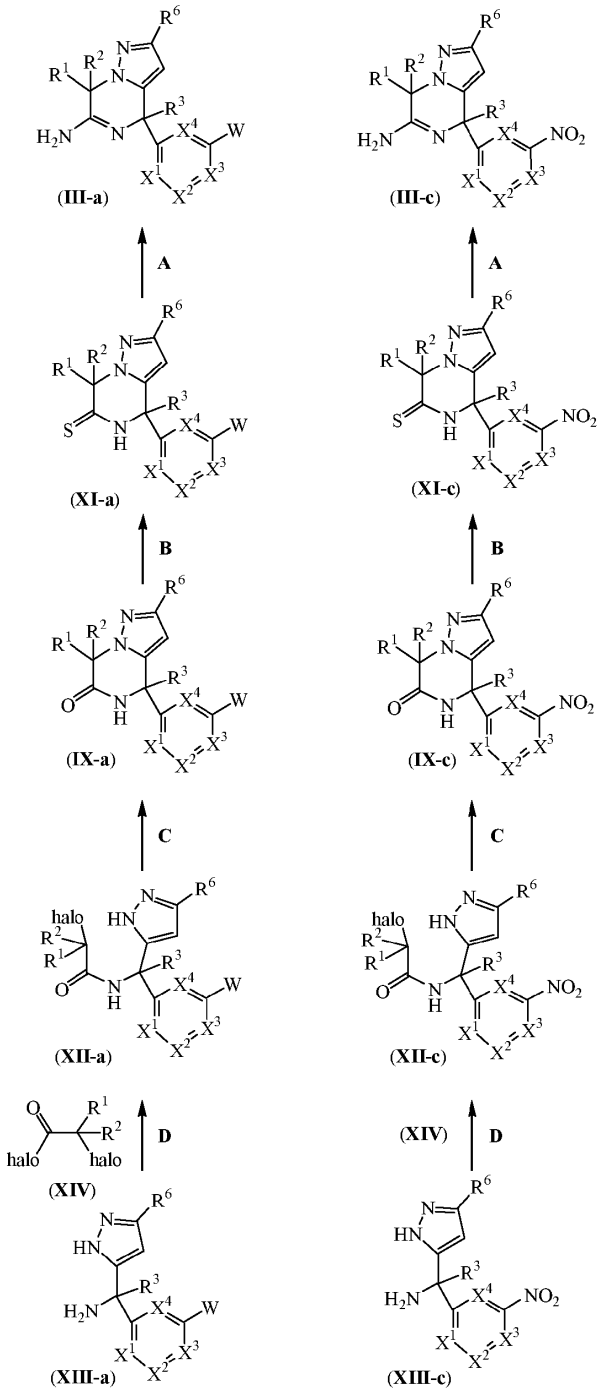
Pueden prepararse en general los compuestos intermedios de fórmulas (III-a) y (III-c) siguiendo las etapas de reacción mostradas en los esquemas de reacción (10), (11), (12) y (13) a continuación.

Pueden prepararse convenientemente los derivados de amidina de fórmulas (III-a) y (III-c) en el esquema de reacción (10) a partir de los derivados de tioamida correspondientes de fórmulas (XI-a) y (XI-c) siguiendo procedimientos de conversión de tioamida en amidina conocidos en la técnica (etapa de reacción A). Dicha conversión puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de fórmula (XI-a) y (XI-c) con una fuente de amoniaco tal como, por ejemplo, cloruro de amonio o amoniaco acuoso, en un

disolvente inerte para la reacción adecuado tal como, por ejemplo, agua o metanol y similares, en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 60ºC, por ejemplo durante 6 horas.

Pueden prepararse los derivados de tioamida de fórmulas (XI-a) y (XI-c) en el esquema de reacción (10) a partir de derivados de amida de fórmulas (IX-a) y (IX-c) siguiendo procedimientos de tionación conocidos en la técnica (etapa de reacción B). Dicha conversión puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de fórmulas (IX-a) y (IX-c) con un agente de tionación tal como, por ejemplo, pentasulfuro de fósforo o 2,4-disulfuro de 2,4-bis-(4-metoxi-fenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano [reactivo de Lawesson, CAS 19172-47-5], en un disolvente inerte para la reacción tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano o 1,4-dioxano y similares, en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 50ºC, por ejemplo durante 50 minutos.

Pueden prepararse los derivados de amida de fórmulas (IX-a) y (IX-c) en el esquema de reacción (10) a partir de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XII-a) y (XII-c) siguiendo procedimientos de ciclación conocidos en la técnica (etapa de reacción C). Dicha ciclación puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de fórmulas (XII-a) y (XII-c) con una base adecuada, tal como hidruro de sodio, en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como por ejemplo tetrahidrofurano y similares, a de -80ºC a 100ºC, preferiblemente a de -15ºC a 25ºC durante de 30 minutos a 100 horas, preferiblemente de 1 hora a 24 horas.



Esquema de reacción 10

A: conversión de tioamida en amidina

B: conversión de amida en tioamida (tionación)

C: ciclación

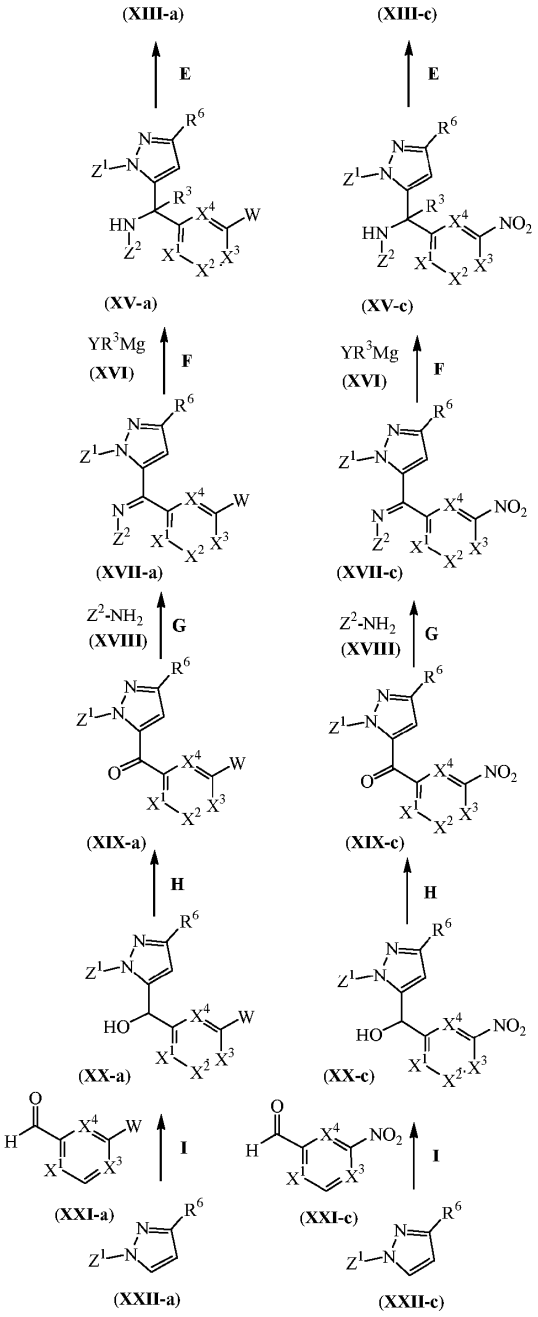
D: N-acilación

Pueden prepararse los compuestos intermedios de fórmulas (XII-a) y (XII-c) en el esquema de reacción (10) anterior a partir de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XIII-a) y (XIII-c) siguiendo procedimientos de *N*-acilación conocidos en la técnica (etapa de reacción D). Dicha *N*-acilación puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los compuestos intermedios de fórmulas (XIII-a) y (XIII-c) con un compuesto intermedio de fórmula (XIV) en presencia de una base, tal como bicarbonato de sodio, o una mezcla de

bases tales como bicarbonato de sodio/*N*,*N*-diisopropiletilamina, en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como por ejemplo etanol o mezclas de disolventes inertes tales como, por ejemplo, etanol/diclorometano, a de -80ºC a 100ºC, preferiblemente a de -15ºC a 25ºC durante de 30 minutos a 100 horas, preferiblemente de 1 hora a 24 horas.

Pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XIII-a) y (XIII-c) en el esquema de reacción (11) a partir de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XV-a) y (XV-c), en los que Z^1 es un grupo protector adecuado del sistema de pirazol, tal como, por ejemplo, el grupo dimetilsulfamoílo, y Z^2 es un grupo protector adecuado de aminas tal como, por ejemplo, el grupo terc-butanosulfinilo, siguiendo procedimientos de *N*-desprotección conocidos en la técnica (etapa de reacción E). Dicha *N*-desprotección puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XV-a) y (XV-c) con un agente ácido adecuado tal como, por ejemplo, ácido clorhídrico, en un disolvente inerte adecuado tal como, por ejemplo, 1,4-dioxano, a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 25ºC, por ejemplo durante 1 hora.

Pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XV-a) y (XV-c) en el esquema de reacción (11) haciendo reaccionar los compuestos intermedios de fórmulas (XVII-a) y (XVII-c) siguiendo procedimientos de conversión de imina en alquilamina conocidos en la técnica (etapa de reacción F). Dicha conversión puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XVII-a) y (XVII-c) con un compuesto intermedio de fórmula (XVI) en el que Y es halógeno, en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano, a baja temperatura tal como, por ejemplo, 0ºC, por ejemplo durante 2 horas.



Esquema de reacción 11

E: N-desprotección

F: conversión de imina en alquilamina

G: conversión de cetona en imina

H: oxidación de alcohol a carbonilo

I: orto-litiación-alquilación

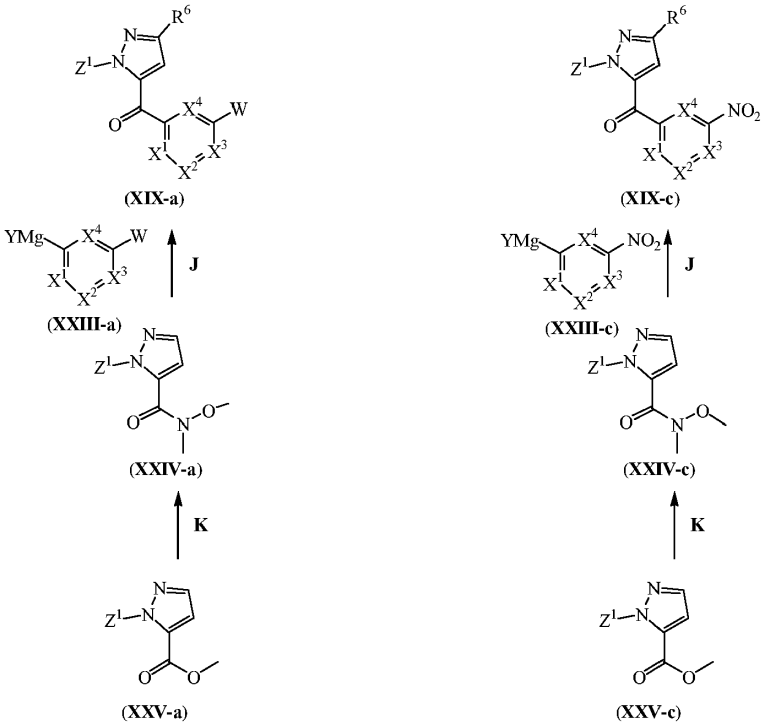
Pueden prepararse los productos intermedios según las fórmula (XVII-a) y (XVII-c) en el esquema de reacción (11) anterior haciendo reaccionar los compuestos intermedios de fórmulas (XIX-a) y (XIX-c) siguiendo procedimientos de conversión de cetona en imina conocidos en la técnica (etapa de reacción G). Dicha conversión puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XIX-a) y (XIX-c) con un compuesto intermedio de fórmula (XVIII), en el que Z^2 es un grupo alquilsulfinilo tal como, por ejemplo, el grupo terc-butanosulfinilo, en presencia de un catalizador de ácido de Lewis adecuado, tal como

isopropóxido de titanio (IV), en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, tolueno, en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 110ºC, por ejemplo durante 24 horas.

Pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XIX-a) y (XIX-c) en el esquema de reacción (11) anterior haciendo reaccionar los compuestos intermedios de fórmulas (XX-a) y (XX-c) siguiendo procedimientos de oxidación de alcohol a carbonilo conocidos en la técnica (etapa de reacción H). Dicha oxidación puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XX-a) y (XX-c) con un agente oxidante tal como, por ejemplo, el peryodinano de Dess-Martin [CAS: 87413-09-0], en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, diclorometano, a baja temperatura tal como, por ejemplo, 0ºC, por ejemplo durante 10 minutos y luego a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 25ºC, por ejemplo durante 1 hora.

Pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XX-a) y (XX-c) en el esquema de reacción (11) anterior haciendo reaccionar los compuestos intermedios de fórmulas (XXII-a) y (XXII-c) siguiendo procedimientos de orto-litiación-alquilación conocidos en la técnica (etapa de reacción I). Dicha conversión puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XXII-a) y (XXII-c) con un reactivo de organolitio adecuado tal como, por ejemplo, n-butil-litio, en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano, a baja temperatura tal como, por ejemplo, -78ºC, por ejemplo durante 45 minutos seguido por tratamiento con compuestos intermedios de fórmulas (XXI-a) y (XXI-c), a baja temperatura tal como por ejemplo, -78ºC, por ejemplo durante 45 minutos.

Pueden prepararse en general los compuestos intermedios de fórmulas (XXII-a) y (XXII-c), en los que Z^1 es un grupo protector adecuado del sistema de pirazol, tal como, por ejemplo, el grupo dimetilsulfamoílo, siguiendo procedimientos del tipo de protección de N conocidos en la técnica descritos en la bibliografía.



Esquema de reacción 12

J: conversión de amida en cetona de Weinreb

K: formación de amida de Weinreb

Adicionalmente, pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XIX-a) y (XIX-c), en los que R^6 es hidrógeno, en el esquema de reacción (12) anterior haciendo reaccionar los compuestos intermedios de fórmulas (XXIV-a) y (XXIV-c) siguiendo procedimientos de conversión de amida en cetona de Weinreb conocidos en la técnica (etapa de reacción J). Dicha conversión puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XXIV-a) y (XXIV-c) con compuestos intermedios de fórmulas (XXIII-a) y (XXIII-c) en los que Y es halógeno, en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano, a baja temperatura tal como, por ejemplo, -78ºC, por ejemplo durante 1 hora y luego a una

temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 25ºC, por ejemplo durante 5 horas.

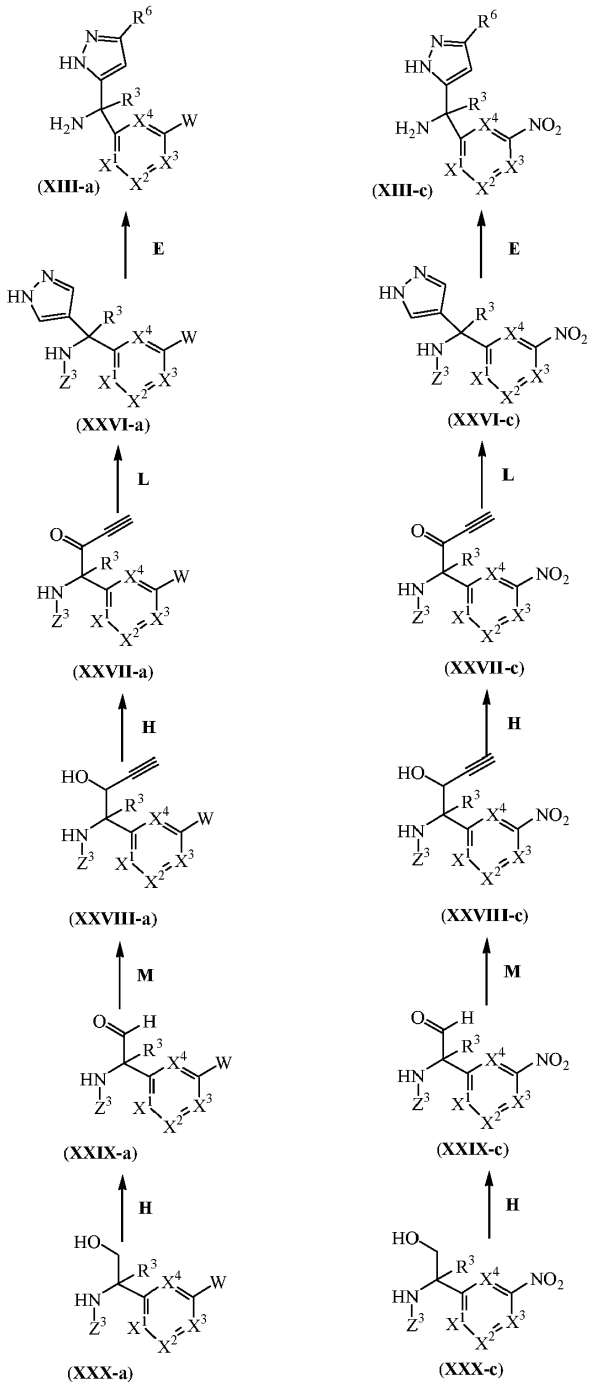
Pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XXIV-a) y (XXIV-c) en el esquema de reacción (12) anterior haciendo reaccionar los compuestos intermedios de fórmulas (XXV-a) y (XXV-c) siguiendo procedimientos de formación de amida de Weinreb conocidos en la técnica (etapa de reacción K). Dicha conversión puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XXV-a) y (XXV-c) con N,O-dimetilhidroxilamina en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, cloruro de isopropilmagnesio, en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, diclorometano, a baja temperatura tal como, por ejemplo, -78ºC, por ejemplo durante 1 hora y luego a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 25ºC, por ejemplo durante 24 horas.

Los compuestos intermedios de fórmulas (XXV-a) y (XXV-c) en los que Z^1 es un grupo protector adecuado del sistema de pirazol, tal como, por ejemplo, el grupo dimetilsulfamoílo, están disponibles comercialmente.

Adicionalmente, pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XIII-a) y (XIII-c), en los que R^6 es hidrógeno, en el esquema de reacción (13) a partir de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XXVI-a) y (XXVI-c), en los que Z^3 es un grupo protector de aminas tal como, por ejemplo, el grupo terc-butoxicarbonilo (etapa de reacción E), siguiendo procedimientos de *N*-desprotección conocidos en la técnica tales como los descritos en el esquema de reacción (11) (etapa de reacción E).

Pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XXVI-a) y (XXVI-c) en el esquema de reacción (13) haciendo reaccionar los compuestos intermedios de fórmulas (XXVII-a) y (XXVII-c) siguiendo procedimientos de formación de anillo de pirazol conocidos en la técnica (etapa de reacción L). Dicha formación de anillo de pirazol puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XXVII-a) y (XXVII-c) en un disolvente inerte adecuado tal como, por ejemplo, etanol, en presencia de hidrazina, a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 25ºC, por ejemplo durante 1 hora.

Pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XXVII-a) y (XXVII-c) en el esquema de reacción (13) haciendo reaccionar los compuestos intermedios de fórmulas (XXVIII-a) y (XXVIII-c) siguiendo procedimientos de oxidación de alcohol a carbonilo conocidos en la técnica tales como los descritos en el esquema de reacción (11) (etapa de reacción H).



Esquema de reacción 13

E: N-desprotección

L: formación de anillo de pirazol

H: oxidación de alcohol a carbonilo

M: conversión de aldehído en hidroxialquinilo

Pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XXVIII-a) y (XXVIII-c) en el esquema de reacción (13) anterior haciendo reaccionar los compuestos intermedios de fórmulas (XXIX-a) y (XXIX-c) siguiendo procedimientos de conversión de aldehído en hidroxialquinilo conocidos en la técnica (etapa de reacción M). Dicha conversión puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los compuestos intermedios correspondientes de fórmulas (XXIX-a) y (XXIX-c) con un reactivo de magnesio adecuado tal como, por ejemplo,

bromuro de etinilmagnesio, en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano, a baja temperatura tal como, por ejemplo, 0ºC, por ejemplo durante 10 minutos y luego a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 25ºC, por ejemplo durante 30 minutos.

Pueden prepararse los productos intermedios según las fórmulas (XXIX-a) y (XXIX-c) en el esquema de reacción (13) anterior haciendo reaccionar los compuestos intermedios de fórmulas (XXX-a) y (XXX-c) siguiendo procedimientos de oxidación de alcohol a carbonilo conocidos en la técnica tales como los descritos en el esquema de reacción (11) (etapa de reacción H).

Pueden prepararse en general los compuestos intermedios de fórmulas (XXX-a) y (XXX-c), en los que Z^3 es un grupo protector de aminas tal como, por ejemplo, el grupo terc-butoxicarbonilo, siguiendo procedimientos de tipo Strecker conocidos en la técnica descritos en la bibliografía.

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

La presente invención proporciona además composiciones para su uso en el tratamiento de enfermedades en las que es beneficiosa la inhibición de la beta-secretasa, tales como enfermedad de Alzheimer (EA), deterioro cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con accidente cerebrovascular, demencia asociada con enfermedad de Parkinson y demencia asociada con beta-amiloide, comprendiendo dichas composiciones una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la fórmula (I) y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aunque es posible que el principio activo se administre solo, es preferible presentarlo como una composición farmacéutica. Por consiguiente, la presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la presente invención, junto con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El portador o diluyente debe ser “aceptable” en el sentido de ser compatible con los demás componentes de la composición y no ser perjudicial para los receptores del mismo.

Pueden prepararse las composiciones farmacéuticas de esta invención mediante cualquier método bien conocido en la técnica de la farmacia. Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto particular, en forma de base o en forma de sal de adición, como principio activo se combina en mezcla íntima con un portador farmacéuticamente aceptable, que puede adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas son deseables en forma de dosificación unitaria adecuada, preferiblemente, para la administración sistémica tal como administración oral, percutánea o parenteral; o la administración tópica tal como mediante inhalación, un aerosol nasal, colirios o mediante una crema, un gel, un champú o similar. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, pueden emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y disoluciones: o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, pastillas, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad en la administración, los comprimidos y las cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean obviamente portadores farmacéuticos sólidos. Para las composiciones parenterales, el portador comprenderá habitualmente agua estéril, al menos en gran parte, aunque pueden incluirse otros componentes, por ejemplo, para ayudar a la solubilidad. Pueden prepararse disoluciones inyectables, por ejemplo, en las que el portador comprende solución salina, disolución de glucosa o una mezcla de solución salina y disolución de glucosa. También pueden prepararse suspensiones inyectables en cuyo caso pueden emplearse portadores, agentes de suspensión y similares líquidos apropiados. En las composiciones adecuadas para la administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente de potenciación de la penetración y/o un agente humectante adecuado, combinados opcionalmente con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones minoritarias, aditivos que no provocan ningún efecto perjudicial significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones pueden administrarse de diversas maneras, por ejemplo, como un parche transdérmico, como una pipeta para la aplicación en la piel (*spot-on*) o como una pomada.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en forma unitaria de dosificación para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma unitaria de dosificación tal como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones del presente documento se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado junto con el portador farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas unitarias de dosificación son comprimidos (incluyendo comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, pastillas, paquetes de polvo, obleas, disoluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y múltiplos segregados de los mismos.

La dosificación exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto de fórmula (I) particular usado, el estado particular que esté tratándose, la gravedad del estado que esté tratándose, la edad, el peso, el sexo, la extensión del trastorno y el estado físico general del paciente particular así como otra medicación que el individuo

pueda estar tomando, tal como conocen bien los expertos en la técnica. Además, es evidente que dicha cantidad diaria eficaz puede disminuirse o aumentarse dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la presente invención.

Dependiendo del modo de administración, la composición farmacéutica comprenderá desde el 0,05 hasta el 99% en peso, preferiblemente desde el 0,1 hasta el 70% en peso, más preferiblemente desde el 0,1 hasta el 50% en peso del principio activo, y, desde el 1 hasta el 99,95% en peso, preferiblemente desde el 30 hasta el 99,9% en peso, más preferiblemente desde el 50 hasta el 99,9% en peso de un portador farmacéuticamente aceptable, basándose todos los porcentajes en el peso total de la composición.

Los presentes compuestos pueden usarse para la administración sistémica tal como administración oral, percutánea o parenteral; o la administración tópica tal como mediante inhalación, un aerosol nasal, colirios o mediante una crema, un gel, un champú o similar. Los compuestos se administran preferiblemente por vía oral. La dosificación exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto particular según la fórmula (I) usado, el estado particular que esté tratándose, la gravedad del estado que esté tratándose, la edad, el peso, el sexo, la extensión del trastorno y el estado físico general del paciente particular así como otra medicación que el individuo pueda estar tomando, tal como conocen bien los expertos en la técnica. Además, es evidente que dicha cantidad diaria eficaz puede disminuirse o aumentarse dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la presente invención.

La cantidad de un compuesto de fórmula (I) que puede combinarse con un material portador para producir una forma de dosificación individual variará dependiendo de la enfermedad tratada, la especie de mamífero y el modo de administración particular. Sin embargo, como guía general, las dosis unitarias adecuadas para los compuestos de la presente invención pueden contener, por ejemplo, preferiblemente entre 0,1 mg y aproximadamente 1000 mg del compuesto activo. Una dosis unitaria preferida es de entre 1 mg y aproximadamente 500 mg. Una dosis unitaria más preferida es de entre 1 mg y aproximadamente 300 mg. Una dosis unitaria incluso más preferida es de entre 1 mg y aproximadamente 100 mg. Tales dosis unitarias pueden administrarse más de una vez al día, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 ó 6 veces al día, pero preferiblemente 1 ó 2 veces al día, de manera que la dosificación total para un adulto de 70 kg está en el intervalo de 0,001 a aproximadamente 15 mg por kg de peso del sujeto por administración. Una dosificación preferida es de 0,01 a aproximadamente 1,5 mg por kg de peso del sujeto por administración, y tal terapia puede extenderse durante varias semanas o meses, y en algunos casos, años. Se entenderá, sin embargo, que el nivel de dosis específica para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del individuo que esté tratándose; el momento y la vía de administración; la tasa de excreción; otros fármacos que se hayan administrado previamente; y la gravedad de la enfermedad particular que esté sometiéndose a terapia, tal como entienden bien los expertos en el área.

En algunos casos puede ser necesario usar dosificaciones fuera de estos intervalos, tal como resultará evidente para los expertos en la técnica. Además, se observa que el médico clínico o médico que trata sabrá cómo y cuándo empezar, interrumpir, ajustar o terminar la terapia junto con la respuesta del paciente individual.

Los siguientes ejemplos pretenden ilustrar pero no limitar el alcance de la presente invención.

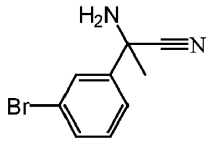
Parte experimental

A continuación en el presente documento, “p.f.” significa punto de fusión, “ac.” significa acuoso, “m.r.” significa mezcla de reacción, “t.a.” significa temperatura ambiente, “DIPEA” significa diisopropiletilamina, “DIPE” significa diisopropil éter, Et_2O significa dietil éter, “THE” significa tetrahidrofurano, “DMF” significa dimetilformamida, “DCM” significa diclorometano, “AcOEt” significa acetato de etilo, “AcOH” significa ácido acético, “MeOH” significa metanol, “EtOH” significa etanol, “rac” significa racémico, “sat.” significa saturado, “CFS” significa cromatografía de fluidos supercríticos, “CFS-EM” significa cromatografía de fluidos supercríticos/espectrometría de masas, “CL-EM” significa cromatografía de líquidos/espectrometría de masas, “HPLC” significa cromatografía de líquidos de alta resolución, “DMTMM” significa cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)4-metilmorfolinio, “HATU” significa hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N*,*N*,*N'*,*N'*-tetrametiluronio.

A. PREPARACIÓN DE LOS PRODUCTOS INTERMEDIOS

Ejemplo A1

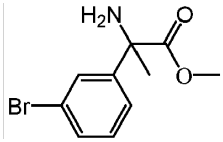
Preparación del producto intermedio 1: rac-2-amino-2-(3-bromofenil)-propanonitrilo



Se añadió cianuro de trimetilsililo (20 g, 200 mmol) a una disolución con agitación de 3-bromoacetofenona (20 g, 100 mmol) y NH_4Cl (11 g, 200 mmol) en NH_3/MeOH (400 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 4 días. Luego se evaporó el disolvente a vacío y se llevó el residuo a AcOEt (100 ml). Se retiró el sólido por filtración y se evaporó el filtrado a vacío proporcionando rac-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propionitrilo (20 g, rendimiento del 86%) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A2

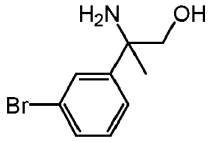
Preparación del producto intermedio 2: rac-2-amino-2-(3-bromofenil)propanoato de metilo



Se disolvió rac-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propionitrilo (20 g, 88,9 mmol) en HCl/MeOH (500 ml) y se sometió la mezcla a reflujo durante 4 días. Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se añadieron AcOEt (100 ml) y agua (100 ml) y se extrajo la mezcla con AcOEt (2 x 100 ml). Se basificaron las fases acuosas combinadas con disolución acuosa de amoniaco hasta pH 8 y se extrajo con AcOEt (5 x 100 ml). Se secaron (Na_2SO_4) las fases orgánicas combinadas, se filtraron y se evaporaron los disolventes a vacío proporcionando éster metílico del ácido rac-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propiónico (10,6 g, rendimiento del 46%) como un aceite.

Ejemplo A3

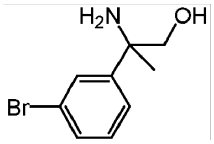
Preparación del producto intermedio 3: rac-2-amino-2-(3-bromofenil)propan-1-ol



Se añadió gota a gota hidruro de litio y aluminio (1 M en THF; 22 ml, 22 mmol) a una disolución con agitación de éster metílico del ácido rac-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propiónico (7,5 g, 29,1 mmol) en THF (200 ml) a -15ºC. Se dejó que la mezcla se calentase lentamente hasta 0ºC durante 1 hora. Luego se añadió más THF (150 ml) y se añadió gota a gota Na_2SO_4 sat. hasta que no se formó más hidrógeno. Luego se añadió Na_2SO_4 anhidro y se dejó agitando durante la noche a temperatura ambiente. Se filtró la mezcla sobre tierra de diatomeas, se enjuagó con THF y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en DCM de 0/100 a 3/97). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propan-1-ol (5,70 g, rendimiento del 85%) como un aceite.

Ejemplo A4

Preparación del producto intermedio 4: (R)-2-amino-2-(3-bromofenil)propan-1-ol

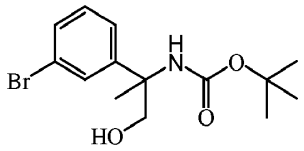


Se separó una muestra de rac-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propan-1-ol (15,4 g) en los enantiómeros correspondientes mediante CFS preparativa en (Chiralpak® Daicel AD x 250 mm). Fase móvil (CO_2, MeOH con el 0,2% de $iPrNH_2$) proporcionando (R)-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propan-1-ol (7,21 g, rendimiento del 40%).

α_D: -14,9º (589 nm, c 0,2946% p/v, MeOH, 20ºC).

Ejemplo A5

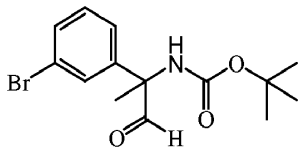
Preparación del producto intermedio 5: rac-*N*-[1-(3-bromofenil)-2-hidroxi-1-metiletil]carbamato de terc-butilo



Se añadió en porciones dicarbonato de di-terc-butilo (4,84 g, 22,16 mmol) a una disolución con agitación de rac-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propan-1-ol (1,7 g, 7,39 mmol) en una mezcla de $NaHCO_3$ sat. (15 ml) y THF (15 ml) a 0ºC. Se agitó la mezcla a 0ºC durante 10 minutos y a temperatura ambiente durante 15 horas. Se enfrió la mezcla en un baño de hielo-agua y se acidificó con agitación hasta pH 1-2 con $KHSO_4$. Se separó la fase orgánica y se extrajo adicionalmente la fase acuosa con AcOEt. Se separaron las fases orgánicas combinadas, se secaron (Mg_2SO_4), se filtraron y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 20/80). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando éster terc-butílico del ácido rac-[1-(3-bromo-fenil)-2-hidroxi-1-metil-etil]-carbámico (2,36 g, rendimiento del 93%) como un aceite incoloro.

Ejemplo A6

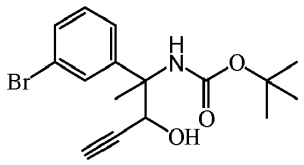
Preparación del producto intermedio 6: rac-*N*-[1-(3-bromofenil)-1-metil-2-oxo-etilcarbamato de terc-butilo



Se añadió en porciones peryodinano de Dess-Martin (3,55 g, 8,36 mmol) a lo largo de 5 minutos a una disolución de éster terc-butílico del ácido rac-[1-(3-bromo-fenil)-2-hidroxi-1-metil-etil]-carbámico (2,3 g, 6,97 mmol) en DCM seco (45 ml) a 0ºC. Se agitó la mezcla a 0ºC durante 10 minutos y a temperatura ambiente durante 1 hora. Se extinguió la mezcla de reacción con $NaHCO_3$ (disolución ac. sat.) seguido por $NaHSO_3$ (disolución ac. sat.). Luego se añadió Et_2O y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se separó la fase orgánica y se extrajo adicionalmente la fase acuosa con Et_2O. Se separaron las fases orgánicas combinadas, se secaron (Mg_2SO_4), se filtraron y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando éster terc-butílico del ácido rac-[1-(3-bromo-fenil)-1-metil-2-oxo-etil]-carbámico (2 g, rendimiento del 88%) como un aceite incoloro.

Ejemplo A7

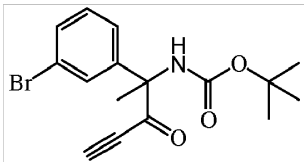
Preparación del producto intermedio 7: rac-*N*-[1-(3-bromofenil)-2-hidroxi-1-metil-but-3-inil]carbamato de terc-butilo



Se añadió gota a gota bromuro de etinilmagnesio 0,5 M en THF (23,89 ml, 11,94 mmol) a una disolución de éster terc-butílico del ácido rac-[1-(3-bromo-fenil)-1-metil-2-oxo-etil]-carbámico (1,96 g, 5,97 mmol) en THF (60 ml) a 0ºC bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 0ºC durante 15 minutos y a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la mezcla con NH_4Cl (disolución ac. sat.) y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío proporcionando éster terc-butílico del ácido rac-[1-(3-bromo-fenil)-2-hidroxi-1-metil-but-3-inil]-carbámico (2,11 g, rendimiento del 99%) como un aceite, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A8

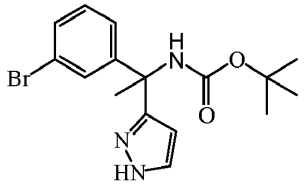
Preparación del producto intermedio 8: rac-*N*-[1-(3-bromofenil)-1-metil-2-oxo-but-3-inil]carbamato de terc-butilo



Se añadió en porciones peryodinano de Dess-Martin (3,04 g, 7,16 mmol) a lo largo de 5 minutos a una disolución de éster terc-butílico del ácido rac-[1-(3-bromo-fenil)-2-hidroxi-1-metil-but-3-inil]-carbámico (2,12 g, 5,97 mmol) en DCM seco (20 ml) a 0ºC. Se agitó la mezcla a 0ºC durante 10 minutos y a temperatura ambiente durante 1 hora. Se extinguió la mezcla de reacción con $NaHCO_3$ (disolución ac. sat.) seguido por $NaHSO_3$ (disol. acuosa sat.). Luego se añadió Et_2O y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se separó la fase orgánica y se extrajo adicionalmente la fase acuosa con Et_2O. Se separaron las fases orgánicas combinadas, se secaron (Mg_2SO_4), se filtraron y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando éster terc-butílico del ácido rac-[1-(3-bromo-fenil)-1-metil-2-oxo-but-3-inil]-carbámico (1,89 g, rendimiento del 90%) como un aceite.

Ejemplo A9

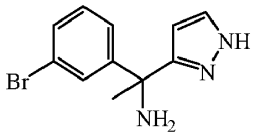
Preparación del producto intermedio 9: rac-*N*-[1-(3-bromofenil)-1-(1H-pirazol-3-il)etil] carbamato de terc-butilo



Se añadió hidrato de hidrazina (2,48 ml, 51,10 mmol) a una disolución de éster terc-butílico del ácido rac-[1-(3-bromo-fenil)-1-metil-2-oxo-but-3-inil]-carbámico (1,8 g, 5,11 mmol) en EtOH (30 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se eliminó el disolvente a vacío y se disolvió el residuo en DCM y se lavó con agua. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 50/50). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando éster terc-butílico del ácido rac-[1-(3-bromo-fenil)-1-(1H-pirazol-3-il)-etil]-carbámico (1,62 g, rendimiento del 87%) como un sólido blanco.

Ejemplo A10

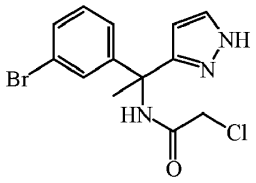
Preparación del producto intermedio 10: rac-1-(3-bromofenil)-1-(1H-pirazol-3-il)etanamina



Se añadió ácido clorhídrico 4 M en dioxano (7,88 ml, 31,54 mmol) a éster terc-butílico del ácido rac-[1-(3-bromo-fenil)-1-(1H-pirazol-3-il)-etil]-carbámico (1,65 g, 4,51 mmol) a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 hora. Se evaporó el disolvente a vacío. Se suspendió el residuo en DCM y se lavó con $NaHCO_3$ (disolución ac. sat.). Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío proporcionando rac-1-(3-bromo-fenil)-1-(1H-pirazol-3-il)-etilamina (1,2 g, rendimiento del 100%) como un sólido blanco, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A11

Preparación del producto intermedio 11: rac-*N*-[1-(3-bromofenil)-1-(1H-pirazol-3-il)etil]-2-cloro-acetamida

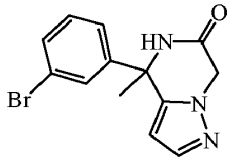


Se añadió DIPEA (1,18 ml, 6,77 mmol) a una disolución de rac-1-(3-bromo-fenil)-1-(1H-pirazol-3-il)-etilamina (1,2 g, 4,51 mmol) en DCM (20 ml) y se enfrió la mezcla en un baño de hielo. Luego se añadió cloruro de cloroacetilo (0,40 ml, 4,96 mmol) y se agitó la mezcla a 0ºC durante 3 horas. Se diluyó la mezcla con NH_4Cl (disolución ac. sat.) y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 20/80). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío. Se disolvió el residuo en EtOH

(10 ml) y $NaHCO_3$ (disolución ac. sat.) (1 ml) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se diluyó la mezcla con agua y se extrajo el producto con DCM. Se concentraron las fases orgánicas combinadas a vacío proporcionando rac-*N*-[1-(3-bromo-fenil)-1-(1H-pirazol-3-il)-etil]-2-cloro-acetamida (1,22 g, rendimiento del 79%) como un aceite incoloro, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A12

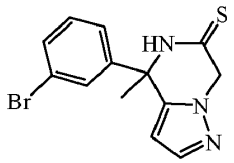
Preparación del producto intermedio 12: rac-4-(3-bromofenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona



Se añadió gota a gota una disolución de rac-*N*-[1-(3-bromo-fenil)-1-(1H-pirazol-3-il)-etil]-2-cloroacetamida (1,22 g, 3,56 mmol) en THF (40 ml) a una suspensión de hidruro de sodio (0,28 g, 7,12 mmol) en THF (40 ml) a 0ºC bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 0ºC durante 1 hora. Se diluyó la mezcla con agua y se extrajo el producto con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 50/50 a 100/0). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-4-(3-bromo-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona (0,7 g, rendimiento del 64%) como un sólido blanco.

Ejemplo A13

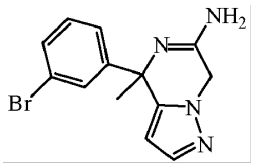
Preparación del producto intermedio 13: rac-4-(3-bromofenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona



Se añadió pentasulfuro de fósforo (1,02 g, 4,57 mmol) a una disolución de rac-4-(3-bromofenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona (0,7 g, 2,29 mmol) en piridina (10 ml) y se calentó la mezcla a 95ºC durante 18 horas. Luego se evaporó el disolvente a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 100/0). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-4-(3-bromo-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona (0,45 g, rendimiento del 61%) como un sólido blanco.

Ejemplo A14

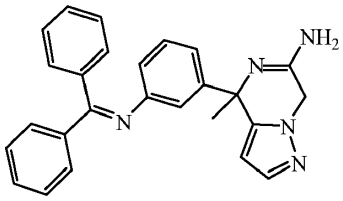
Preparación del producto intermedio 14: rac-4-(3-bromofenil)-4-metil-4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se añadió NH_4Cl (0,15 g, 2,79 mmol) a una disolución con agitación de rac-4-(3-bromo-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona (0,45 g, 1,40 mmol) en EtOH (50 ml) y se calentó la mezcla a 80ºC durante 28 horas. Se eliminó el disolvente a vacío y se disolvió el residuo en DCM y se lavó con agua. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en AcOEt de 0/100 a 20/80). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-4-(3-bromo-fenil)-4-metil-4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ilamina (0,42 g, rendimiento del 99%) como un sólido amarillo.

Ejemplo A15

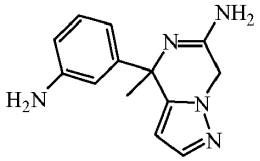
Preparación del producto intermedio 15: rac-4-[3-(benzhidrilidenamino)-fenil]-4-metil-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se añadió tolueno (10 ml) a una mezcla de rac-4-(3-bromo-fenil)-4-metil-4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ilamina (0,39 g, 1,28 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (0,12 g, 0,13 mmol), rac-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (0,24 g, 0,38 mmol) y terc-butóxido de sodio (0,22 g, 2,3 mmol) en un tubo sellado y bajo nitrógeno a temperatura ambiente. Se purgó la mezcla con nitrógeno durante unos pocos minutos y luego se añadió imina de benzofenona (0,43 ml, 2,56 mmol) y se agitó la mezcla a 100ºC durante 2 horas. Tras enfriar se diluyó la mezcla con agua y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en DCM de 0/100 a 3/97). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-4-[3-(benzhidriliden-amino)-fenil]-4-metil-4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ilamina (0,37 g, rendimiento del 70%) como una espuma amarilla.

Ejemplo A16

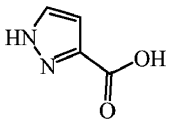
Preparación del producto intermedio 16: rac-4-(3-aminofenil)-4-metil-4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se añadió ácido clorhídrico al 37% en H_2O (0,14 ml) a una disolución de rac-4-[3-(benzhidriliden-amino)-fenil]-4-metil-4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ilamina (0,37 g, 0,9 mmol) en isopropanol (10 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 3 horas. Se añadió Et_2O y se agitó la mezcla durante 15 minutos. Se filtró el precipitado sólido, se lavó con Et_2O y se secó a vacío. Se suspendió el residuo en DCM y se lavó con $NaHCO_3$ (disolución ac. sat.). Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío proporcionando (0,21 g, rendimiento del 97%) como un sólido blanco que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A17

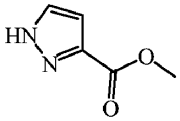
Preparación del producto intermedio 17: ácido 1H-pirazol-3-carboxílico



Se añadió una disolución de permanganato de potasio (16,17 g, 102,31 mmol) en agua (150 ml) a una disolución de 3-metilpirazol (4,2 g, 51,15 mmol) en agua (100 ml) y se sometió la mezcla a reflujo durante la noche. Tras enfriar hasta temperatura ambiente, se retiró el material insoluble mediante filtración. Se concentró el filtrado hasta 30 ml y se añadió HCl 2 N hasta que precipitó un sólido. Se filtró el sólido, se lavó con agua fría y se secó a vacío proporcionando ácido 1H-pirazol-3-carboxílico (3,1 g, rendimiento del 54%) como un sólido blanco que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A18

Preparación del producto intermedio 18: 1H-pirazol-3-carboxilato de metilo

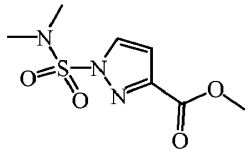


Se añadió gota a gota ácido sulfúrico (5,8 ml) a una disolución con agitación de ácido 1H-pirazol-3-carboxílico (1 g, 8,92 mmol) en MeOH (65 ml) a 0ºC. Tras completarse la adición, se permitió que se calentase la mezcla hasta temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. Se concentró la mezcla a vacío y se disolvió el residuo en agua y

se basificó con $NaHCO_3$ (disolución ac. sat.). Se extrajo la mezcla con AcOEt. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío proporcionando éster metílico del ácido 1H-pirazol-3-carboxílico (0,7 g, rendimiento del 62%) como un sólido blanco que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A19

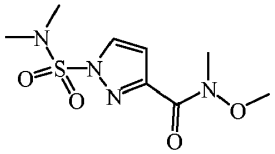
Preparación del producto intermedio 19: 1-(dimetilsulfamoil)-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo



Se añadió hidruro de sodio (1,57 g, 41,03 mmol) a una disolución de éster metílico del ácido 1H-pirazol-3-carboxílico (3,45 g, 27,36 mmol) en THF (20 ml) a 0ºC. Se agitó la mezcla a 0ºC durante 30 minutos. Luego se añadió cloruro de dimetilsulfamoílo (4,41 ml, 41,03 mmol) y se permitió que se calentase la mezcla hasta temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. Se diluyó la mezcla con agua y se extrajo el producto con AcOEt. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 10/90). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando éster metílico del ácido 1-dimetilsulfamoil-1H-pirazol-3-carboxílico (4,8 g, rendimiento del 75%) como un aceite incoloro.

Ejemplo A20

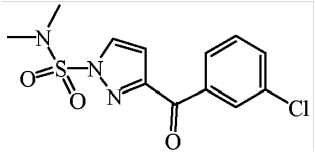
Preparación del producto intermedio 20: *N*-metoxi-*N*-metil-1H-pirazol-3-carboxilato de 1-(dimetilsulfamoílo)



Se preparó una suspensión espesa de éster metílico del ácido 1-dimetilsulfamoil-1H-pirazol-3-carboxílico (4 g, 17,15 mmol) y clorhidrato de N,O-dimetilhidroxilamina (2,18 g, 22,29 mmol) en DCM (20 ml). Se purgó la mezcla con nitrógeno y se enfrió hasta -78ºC. Luego se añadió gota una gota una disolución de cloruro de isopropilmagnesio (2 M en THF) (24,01 ml, 48,02 mmol). Cuando se completó la adición, se permitió que se calentase la mezcla hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Se extinguió la mezcla con NH_4Cl (disolución ac. sat.) y se extrajo el producto con AcOEt. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 100/0). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando metoxi-metil-amida del ácido 1-dimetilsulfamoil-1H-pirazol-3-carboxílico (3,2 g, rendimiento del 71%) como un aceite de color amarillo pálido.

Ejemplo A21

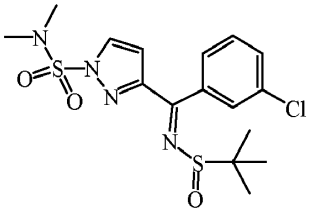
Preparación del producto intermedio 21: 3-(3-clorofenil)carbonil]-*N,N*-dimetil-1H-pirazol-1-sulfonamida



Se añadió una disolución de bromuro de 3-clorofenilmagnesio (0,5 M en THF) (15,89 ml, 7,95 mmol) a una disolución de metoxi-metil-amida del ácido 1-dimetilsulfamoil-1H-pirazol-3-carboxílico (1,60 g, 6,11 mmol) en THF (20 ml) a -78ºC y bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a -78ºC durante 1 hora y luego se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante 5 horas. Se extinguió la mezcla con NH_4Cl (disolución ac. sat.) y se extrajo el producto con AcOEt. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 10/90). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando dimetilamida del ácido 3-(3-clorobenzoil)-1H-pirazol-1-sulfónico (1,68 g, rendimiento del 88%) como un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A22

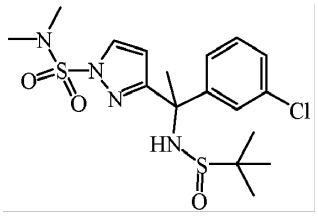
Preparación del producto intermedio 22: 3-{[(terc-butilsulfinil)imino](3-clorofenil)metil}-*N,N*-dimetil-1H-pirazol-1-sulfonamida



Se añadió isopropóxido de titanio (IV) (3,22 ml, 10,71 mmol) a una mezcla de dimetilamida del ácido 3-(3-cloro-benzoil)-1H-pirazol-1-sulfónico (1,68 g, 5,35 mmol) y 2-metil-2-propanosulfinamida (0,71 g, 5,89 mmol) en tolueno (32 ml) bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 110ºC durante 24 horas. Se enfrió la mezcla y se vertió en salmuera mientras se agitaba rápidamente. Se filtró la mezcla a través de tierra de diatomeas y se lavó la torta de filtración con AcOEt. Se transfirió el filtrado a un embudo de decantación en el que se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 10/90). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando dimetilamida del ácido 3-[(3-cloro-fenil)-(2-metil-propano-2-sulfinilimino)-metil]-pirazol-1-sulfónico (2,17 g, rendimiento del 97%) como un aceite amarillo.

Ejemplo A23

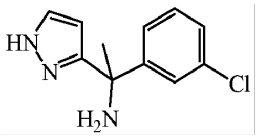
Preparación del producto intermedio 23: 3-[1-(terc-butilsulfinilamino)-1-(3-clorofenil)etil]-*N,N*-dimetil-1H-pirazol-1-sulfonamida



Se añadió bromuro de metilmagnesio (15,08 ml, 21,11 mmol) a una disolución de dimetilamida del ácido 3-[(3-cloro-fenil)-(2-metil-propano-2-sulfinilimino)-metil]-pirazol-1-sulfónico (2,2 g, 5,28 mmol) en THF (25 ml) a 0ºC bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 0ºC durante 2 horas, se extinguió con NH_4Cl (disolución ac. sat.) y se extrajo el producto con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 100/0). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando dimetilamida del ácido 3-[1-(3-cloro-fenil)-1-(2-metil-propano-2-sulfinilamino)-etil]-pirazol-1-sulfónico (2,28 g, rendimiento del 99%) como un aceite incoloro que solidificó en reposo.

Ejemplo A24

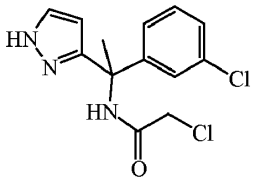
Preparación del producto intermedio 24: rac-1-(3-clorofenil)-1-(1H-pirazol-3-il)etanamina



Se añadió ácido clorhídrico 4 M en dioxano (19,79 ml, 79,15 mmol) a una disolución de dimetilamida del ácido 3-[1-(3-cloro-fenil)-1-(2-metil-propano-2-sulfinilamino)-etil]-pirazol-1-sulfónico (2,29 g, 5,28 mmol) en MeOH (5 ml) y se agitó la mezcla a 80ºC en un tubo sellado durante 18 horas. Se evaporó el disolvente a vacío. Se vertió el residuo en $NaHCO_3$ (disolución ac. sat.) y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío proporcionando rac-1-(3-cloro-fenil)-1-(1H-pirazol-3-il)-etilamina (1 g, rendimiento del 86%) como un sólido de color amarillo pálido que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A25

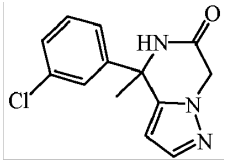
Preparación del producto intermedio 25: rac-2-cloro-*N*-[1-(3-clorofenil)-1-(1H-pirazol-3-il)etil]-acetamida



Se sintetizó el producto intermedio 25 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A11. Partiendo del producto intermedio 24 (1 g, 4,51 mmol) se obtuvo el producto intermedio 25 (0,73 g, rendimiento del 54%) como un sólido blanco.

Ejemplo A26

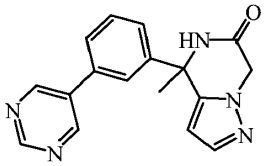
Preparación del producto intermedio 26: rac-4-(3-clorofenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona



Se sintetizó el producto intermedio 26 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A12. Partiendo del producto intermedio 25 (0,73 g, 2,43 mmol) se obtuvo el producto intermedio 26 (0,45 g, rendimiento del 71%) como un sólido blanco.

Ejemplo A27

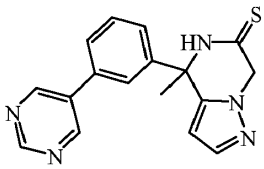
Preparación del producto intermedio 27: rac-4-metil-4-(3-pirimidin-5-ilfenil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona



Se añadió acetato de paladio (II) (0,017 g, 0,075 mmol) a una suspensión con agitación de rac-4-(3-cloro-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona (0,13 g, 0,50 mmol), ácido pirimidin-5-borónico (0,19 g, 1,49 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenilo (0,061 g, 0,149 mmol) y fosfato de potasio (0,21 g, 0,99 mmol) en tolueno (5 ml) y EtOH (0,5 ml) a temperatura ambiente y bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 150ºC durante 30 minutos con irradiación de microondas. Luego se filtró la mezcla a través de tierra de diatomeas y se lavó con AcOEt. Se evaporó el filtrado a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-4-metil-4-(3-pirimidin-5-il-fenil)-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona (0,09 g, rendimiento del 59%) como un sólido blanco.

Ejemplo A28

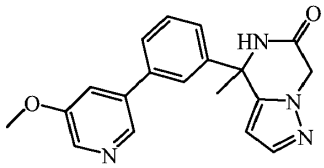
Preparación del producto intermedio 28: rac-4-metil-4-(3-pirimidin-5-ilfenil)-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona



Se añadió reactivo de Lawesson (0,14 g, 0,35 mmol) a una disolución con agitación de rac-4-metil-4-(3-pirimidin-5-il-fenil)-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona (0,09 g, 0,30 mmol) en piridina (2 ml) a temperatura ambiente. Se calentó la mezcla a 95ºC durante 18 horas. Se evaporó el disolvente a vacío y se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 20/80). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-4-metil-4-(3-pirimidin-5-il-fenil)-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona (0,02 g, rendimiento del 21%) como un sólido blanco.

Ejemplo A29

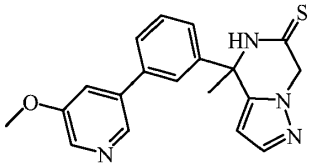
Preparación del producto intermedio 29: rac-4-[3-(5-metoxipiridin-3-il)fenil]-4-metil-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona



Se añadió acetato de paladio (II) (0,022 g, 0,097 mmol) a una suspensión con agitación de rac-4-(3-cloro-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona (0,17 g, 0,65 mmol), ácido 5-metoxipiridin-3-borónico (0,15 g, 0,97 mmol), 2-diciclohexil-fosfino-2',6'-dimetoxibifenilo (0,080 g, 0,195 mmol) y fosfato de potasio (0,28 g, 1,30 mmol) en tolueno (2 ml) y EtOH (0,2 ml) a temperatura ambiente y bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 150ºC durante 30 minutos con irradiación de microondas. Luego se filtró la mezcla a través de tierra de diatomeas y se lavó con AcOEt. Se evaporó el filtrado a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-4-[3-(5-metoxi-piridin-3-il)-fenil]-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona (0,11 g, rendimiento del 51%) como un sólido blanco.

Ejemplo A30

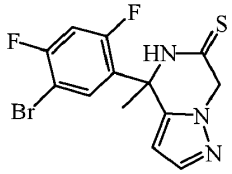
Preparación del producto intermedio 30: rac-4-[3-(5-metoxipiridin-3-il)fenil]-4-metil-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona



Se añadió piridina (3 ml) a una mezcla de rac-4-[3-(5-metoxi-piridin-3-il)-fenil]-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona (0,11 g, 0,31 mmol) y pentasulfuro de fósforo (0,07 g, 0,31 mmol) se calentó la mezcla a 80ºC durante 5 horas. Luego se añadió más pentasulfuro de fósforo (0,07 g, 0,31 mmol) y se calentó la mezcla a 100ºC durante 18 horas. Luego se evaporó el disolvente a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 3/97). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-4-[3-(5-metoxi-piridin-3-il)-fenil]-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]-pirazin-6-tiona (0,1 g, rendimiento del 93%) como un sólido blanco.

Ejemplo A31

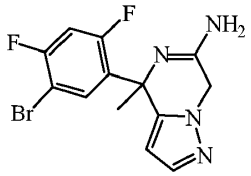
Preparación del producto intermedio 31: rac-4-(5-bromo-2,4-difluorofenil)-4-metil-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona



Se añadió pentasulfuro de fósforo (2,53 g, 11,40 mmol) a una disolución de rac-4-(5-bromo-2,4-difluoro-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona (3 g, 8,77 mmol), preparada siguiendo el mismo procedimiento descrito previamente para el producto intermedio rac-4-(3-bromo-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona, en piridina (30 ml) y se calentó la mezcla a 95ºC durante 18 horas. Luego se evaporó el disolvente a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 40/60). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-4-(5-bromo-2,4-difluoro-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona (2,4 g, rendimiento del 76%) como un sólido blanco.

Ejemplo A32

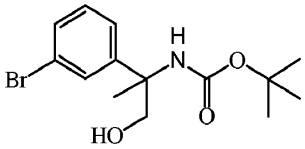
Preparación del producto intermedio 32: rac-4-(5-bromo-2,4-difluorofenil)-4-metil-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se añadió NH_4Cl (0,72 g, 13,4 mmol) a una suspensión con agitación de rac-4-(5-bromo-2,4-difluoro-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona (2,4 g, 6,7 mmol) en amoniaco 2 M en EtOH (67 ml) y se calentó la mezcla a 85ºC durante 18 horas. Se eliminó el disolvente a vacío y se suspendió el residuo en DCM y se lavó con agua. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en AcOEt de 0/100 a 20/80). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando rac-4-(5-bromo-2,4-difluoro-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ilamina (1,8 g, rendimiento del 78%) como un sólido amarillo.

Ejemplo A33

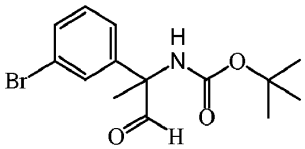
Preparación del producto intermedio 33: (*R*)-*N*-[1-(3-bromofenil)-2-hidroxi-1-metiletil]carbamato de terc-butilo



Se sintetizó el producto intermedio 33 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A5. Partiendo de (*R*)-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propan-1-ol (4,7 g, 20,43 mmol) se obtuvo el producto intermedio 33 (6,4 g, rendimiento del 95%) como un aceite incoloro que solidificó en reposo.

Ejemplo A34

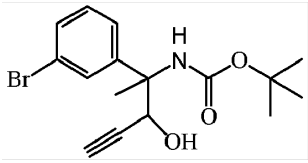
Preparación del producto intermedio 34: (*R*)-*N*-[1-(3-bromofenil)-1-metil-2-oxoetil]carbamato de terc-butilo



Se sintetizó el producto intermedio 34 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A6. Partiendo del producto intermedio 33 (6,4 g, 19,38 mmol) se obtuvo el producto intermedio 34 (5,7 g, rendimiento del 90%) como un aceite incoloro que solidificó en reposo.

Ejemplo A35

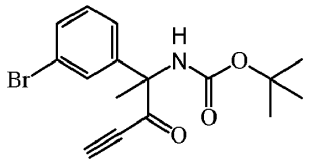
Preparación del producto intermedio 35: mezcla diastereoisomérica de (*1R*, *2R*) y (*1R*, *2S*)-*N*-[1-(3-bromofenil)-2-hidroxi-1-metil-but-3-inil]carbamato de terc-butilo



Se sintetizó el producto intermedio 35 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A7. Partiendo del producto intermedio 34 (5,7 g, 17,38 mmol) se obtuvo el producto intermedio 35 (5,4 g, rendimiento del 88%) como una mezcla diastereoisomérica, como un aceite que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A36

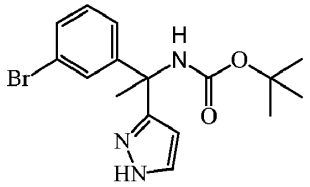
Preparación del producto intermedio 36: (*R*)-*N*-[1-(3-bromofenil)-1-metil-2-oxo-but-3-inil]carbamato de terc-butilo



Se sintetizó el producto intermedio 36 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A8. Partiendo del producto intermedio 35 (5,4 g, 15,24 mmol) se obtuvo el producto intermedio 36 (5,3 g, rendimiento del 99%) como un aceite de color amarillo pálido.

Ejemplo A37

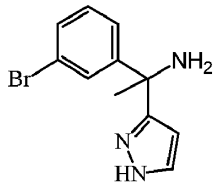
Preparación del producto intermedio 37: (*R*)-*N*-[1-(3-bromofenil)-1-(1H-pirazol-3-il)etil]carbamato de terc-butilo



Se sintetizó el producto intermedio 37 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A9. Partiendo del producto intermedio 36 (5,3 g, 15,05 mmol) se obtuvo el producto intermedio 37 (5 g, rendimiento del 91%) como una espuma.

Ejemplo A38

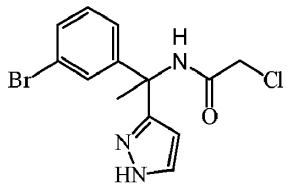
Preparación del producto intermedio 38: (*R*)-1-(3-bromofenil)-1-(1H-pirazol-3-il)etanamina



Se sintetizó el producto intermedio 38 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A10. Partiendo del producto intermedio 37 (5 g, 13,65 mmol) se obtuvo el producto intermedio 38 (3,5 g, rendimiento del 96%) como un sólido blanco que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A39

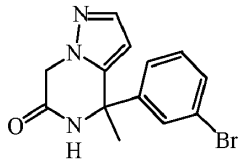
Preparación del producto intermedio 39: (R)-*N*-[1-(3-bromofenil)-1-(1H-pirazol-3-il)-etil]-2-cloro-acetamida



Se sintetizó el producto intermedio 39 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A11. Partiendo del producto intermedio 38 (3,5 g, 13,15 mmol) se obtuvo el producto intermedio 39 (3,5 g, rendimiento del 78%) como un aceite incoloro.

Ejemplo A40

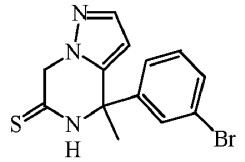
Preparación del producto intermedio 40: (*R*)-4-(3-bromofenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona



Se sintetizó el producto intermedio 40 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A12. Partiendo del producto intermedio 39 (3,5 g, 10,22 mmol) se obtuvo el producto intermedio 40 (2,15 g, rendimiento del 69%) como un sólido blanco.

Ejemplo A41

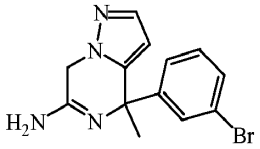
Preparación del producto intermedio 41: (*R*)-4-(3-bromofenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona



Se sintetizó el producto intermedio 41 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A13. Partiendo del producto intermedio 40 (2,1 g, 6,86 mmol) se obtuvo el producto intermedio 41 (1,8 g, rendimiento del 81%) como una espuma.

Ejemplo A42

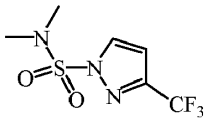
Preparación del producto intermedio 42: (*R*)-4-(3-bromofenil)-4-metil-4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se añadió una disolución acuosa de amoniaco al 32% (11,9 ml, 201,1 mmol) a una mezcla con agitación de (*R*)-4-(3-bromo-fenil)-4-metil-4,5-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona (1,8 g, 5,59 mmol) en disolución 7 N de amoniaco en metanol (11,97 ml, 83,79 mmol) en un tubo sellado. Se agitó la mezcla a 60ºC durante 90 minutos. Tras enfriar hasta temperatura ambiente se diluyó la mezcla con agua y Na_2CO_3 (disolución ac. sat.) y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó (Na_2SO_4), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en DCM de 0/100 a 2/98 a 3/97 a 10/90). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando (*R*)-4-(3-bromo-fenil)-4-metil-4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-6-ilamina (1,4 g, rendimiento del 82%) como un sólido amarillo.

Ejemplo A43

Preparación del producto intermedio 43: *N*,*N*-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-sulfonamida

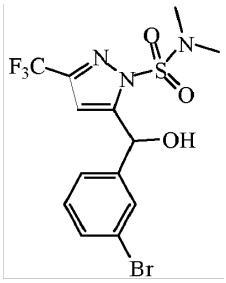


Se añadieron 1,4-diazabiciclo[2.2.2]octano (5,44 g, 48,5 mmol) y cloruro de dimetilsulfamoílo (4,76 ml, 44,46 mmol) a una disolución de 3-(trifluorometil)pirazol (5,5 g, 40,42 mmol) en acetonitrilo (50 ml) a 0ºC. Se permitió que se calentase la mezcla hasta temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. Se concentró la mezcla a vacío y se diluyó el residuo con agua. Se extrajo el producto con AcOEt. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 43 (9,4 g, rendimiento del 95%) como un aceite incoloro.

Ejemplo A44

Preparación del producto intermedio 44: 5-[(3-bromofenil)(hidroxil)metil]-*N*,*N*-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-

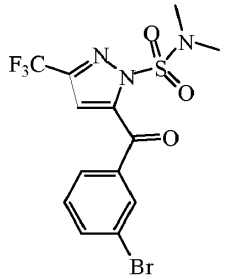
sulfonamida



Se añadió una disolución de butil-litio (2,5 M en hexanos) (15,2 ml, 37,9 mmol) a una disolución del producto intermedio 43 (8,4 g, 34,54 mmol) en THF (125 ml) a -78ºC bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a -78ºC durante 45 minutos y luego se añadió gota a gota 2-bromobenzaldehído (6 ml, 51,8 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a -78ºC durante 30 minutos y se permitió que se calentase hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. Se extinguió la mezcla con NH_4Cl (disolución ac. sat.) y se extrajo el producto con AcOEt. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM en heptanos de 0/100 a 10/90). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 44 (13,2 g, rendimiento del 89%) como un aceite incoloro.

Ejemplo A45

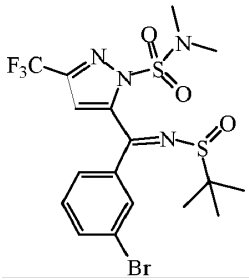
Preparación del producto intermedio 45: 5-[(3-bromofenil)carbonil]-*N,N*-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-sulfonamida



Se añadió dióxido de manganeso (15,4 g, 169,3 mmol) a una disolución del producto intermedio 44 (14,5 g, 33,86 mmol) en 1,4-dioxano (150 ml). Se agitó la mezcla a 120ºC durante 3 horas. Se enfrió la mezcla de reacción hasta 40ºC y se filtró a través de tierra de diatomeas. Se evaporó el disolvente a vacío proporcionando el producto intermedio 45 (25,6 g, rendimiento del 97%) como un sólido blanco, que se usó tal cual en la siguiente etapa.

Ejemplo A46

Preparación del producto intermedio 46: 5-[(3-bromofenil)[(terc-butilsulfinil)imino]metil]-*N,N*-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-sulfonamida

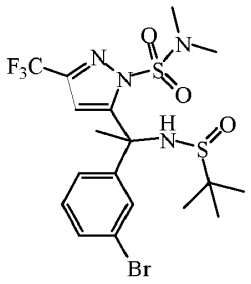


Se añadió isopropóxido de titanio (IV) (11,35 ml, 46,9 mmol) a una mezcla del producto intermedio 45 (10 g, 23,46 mmol) y 2-metil-2-propanosulfinamida (3,128 g, 25,81 mmol) en tolueno (140 ml) bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 110ºC durante 8 horas. Se enfrió la mezcla y se vertió en salmuera mientras se agitaba rápidamente. Se filtró la mezcla a través de tierra de diatomeas y se lavó la torta de filtración con AcOEt. Se transfirió el filtrado a un embudo de decantación y se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM

de 0/100 a 10/90). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 46 (4 g, rendimiento del 32%) como un aceite amarillo.

Ejemplo A47

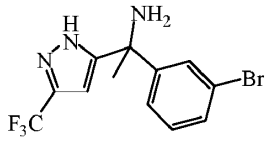
Preparación del producto intermedio 47: rac-5-[1-(3-bromofenil)-1-[(terc-butilsulfinil)amino]etil-*N,N*-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-sulfonamida



Se añadió bromuro de metilmagnesio (3 M en dietil éter, 6,3 ml, 18,89 mmol) a una disolución del producto intermedio 46 (4 g, 7,56 mmol) en THF (56 ml) a -78ºC bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a -78ºC durante 30 minutos y luego se permitió que se calentase hasta temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. Se extinguió la mezcla de reacción con NH_4Cl (disolución ac. sat.) y se extrajo el producto con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 100/0). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío dando el producto intermedio 47 (3,6 g, rendimiento del 87%) como un aceite incoloro que solidificó en reposo.

Ejemplo A48

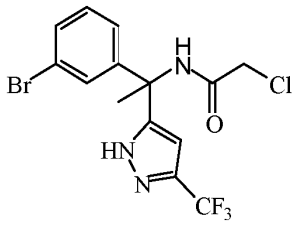
Preparación del producto intermedio 48: rac-5-[1-amino-1-(3-bromofenil)etil]-*N,N*-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-sulfonamida



Se añadió ácido clorhídrico 4 M en dioxano (24,7 ml, 99 mmol) a una disolución del producto intermedio 47 (3,6 g, 6,6 mmol) en MeOH (5 ml) y se agitó la mezcla a 80ºC en un tubo sellado durante 18 horas. Se evaporó el disolvente a vacío. Se vertió el residuo en $NaHCO_3$ (disolución ac. sat.) y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; metanol en DCM de 0/100 a 2/98). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 48 (1,5 g, rendimiento del 54%) como un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A49

Preparación del producto intermedio 49: rac-*N*-{1-(3-bromofenil)-1-[3-(trifluorometil)-1H-pirazol-5-il]etil}-2-cloroacetamida

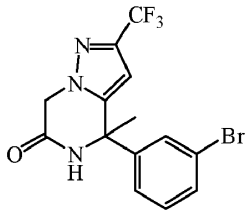


Se añadió DIPEA (1,9 ml, 11,2 mmol) a una disolución del producto intermedio 48 (1,5 g, 4,49 mmol) en DCM (20 ml) y se enfrió la mezcla en un baño de hielo. Luego se añadió cloruro de cloroacetilo (0,429 ml, 5,3 mmol) y se agitó la mezcla a 0ºC durante 3 horas. Se diluyó la mezcla con NH_4Cl (disolución ac. sat.) y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 30/70). Se

recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 49 (1,1 g, rendimiento del 60%) como un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A50

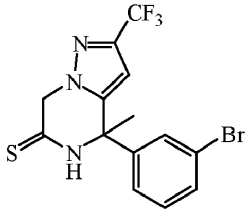
Preparación del producto intermedio 50: rac-4-(3-bromofenil)-4-metil-2-(trifluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona



Se añadió gota a gota una disolución del producto intermedio 49 (1,1 g, 2,68 mmol) en THF (40 ml) a una suspensión de hidruro de sodio (0,214 g, 5,36 mmol) en THF (40 ml) a 0ºC bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 0ºC durante 1 hora. Se diluyó la mezcla con agua y se extrajo el producto con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 20/80). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 50 (0,92 g, rendimiento del 92%) como un sólido blanco.

Ejemplo A51

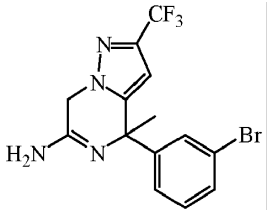
Preparación del producto intermedio 51: rac-4-(3-bromofenil)-4-metil-2-(trifluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona



Se añadió pentasulfuro de fósforo (0,82 g, 3,69 mmol) a una disolución del producto intermedio 50 (0,92 g, 2,46 mmol) en piridina (10 ml) y se calentó la mezcla a 90ºC durante 18 horas. Se concentró la mezcla de reacción a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 100/0). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 51 (0,27 g, rendimiento del 28%) como un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A52

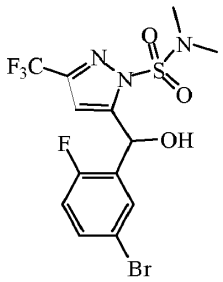
Preparación del producto intermedio 52: rac-4-(3-bromofenil)-4-metil-2-(trifluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se añadió NH_4Cl (0,148 g, 2,77 mmol) a una suspensión con agitación del producto intermedio 51 (0,27 g, 0,69 mmol) en amoniaco 2 M en EtOH (6 ml) y se calentó la mezcla a 80ºC durante 18 horas. Se eliminó el disolvente a vacío y se suspendió el residuo en DCM y se lavó con agua. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en DCM de 0/100 a 2/98). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 52 (0,195 g, rendimiento del 75%) como un sólido beis.

Ejemplo A53

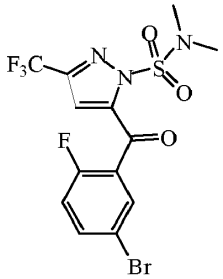
Preparación del producto intermedio 53: rac-5-[(5-bromo-2-fluorofenil)(hidroxi)metil]-*N,N*-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-sulfonamida



Se sintetizó el producto intermedio 53 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A44. Partiendo del producto intermedio 43 (17 g, 69,9 mmol) se obtuvo el producto intermedio 53 (28 g, rendimiento del 76%) como un aceite incoloro.

Ejemplo A54

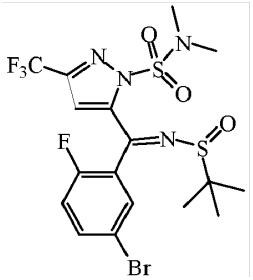
Preparación del producto intermedio 54: rac-5-[(5-bromo-2-fluorofenil)carbonil]-N,N-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-sulfonamida



Se sintetizó el producto intermedio 54 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A45. Partiendo del producto intermedio 53 (28 g, 53,3 mmol) se obtuvo el producto intermedio 54 (25,6 g, rendimiento del 97%) como un sólido blanco, que se usó tal cual en la siguiente etapa.

Ejemplo A55

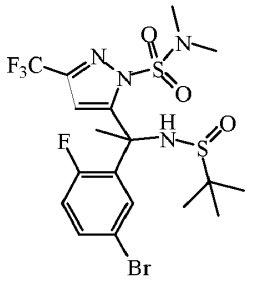
Preparación del producto intermedio 55: rac-5-[(5-bromo-2-fluorofenil)[(terc-butilsulfinil)imino]metil]-*N,N*-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-sulfonamida



Se sintetizó el producto intermedio 55 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A46. Partiendo del producto intermedio 54 (25,6 g, 57,6 mmol) se obtuvo el producto intermedio 55 (21 g, rendimiento del 67%) como un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A56

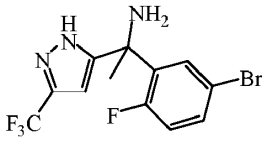
Preparación del producto intermedio 56: rac-5-[1-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-[(terc-butilsulfinil)amino]etil]-*N,N*-dimetil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-sulfonamida



Se sintetizó el producto intermedio 56 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A47. Partiendo del producto intermedio 55 (21 g, 38,36 mmol) se obtuvo el producto intermedio 56 (19 g, rendimiento del 88%) como un aceite incoloro que solidificó en reposo.

Ejemplo A57

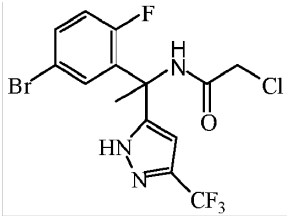
Preparación del producto intermedio 57: rac-1-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-[3-(trifluorometil)-1H-pirazol-5-il]etanamina



Se añadió ácido clorhídrico 1,25 M en metanol (159 ml, 199 mmol) al producto intermedio 56 (18,7 g, 33,2 mmol) y se agitó la mezcla a 60ºC en un tubo sellado durante 3 horas. Se evaporó el disolvente a vacío. Se vertió el residuo en $NaHCO_3$ (disolución ac. sat.) y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío proporcionando el producto intermedio 57 (11,5 g, rendimiento del 98%) como un sólido de color amarillo pálido que se usó tal cual en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A58

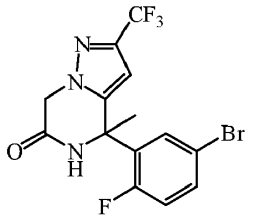
Preparación del producto intermedio 58: rac-*N*-{1-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-[3-(trifluorometil)-1H-pirazol-5-il]etil}-2-cloroacetamida



Se sintetizó el producto intermedio 58 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A49. Partiendo del producto intermedio 57 (11,5 g, 32,66 mmol) se obtuvo el producto intermedio 58 (6,6 g, rendimiento del 47%) como un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A59

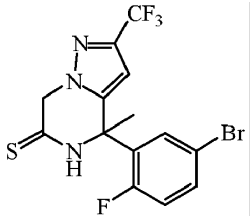
Preparación del producto intermedio 59: rac-4-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-metil-2-(trifluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona



Se sintetizó el producto intermedio 59 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A50. Partiendo del producto intermedio 58 (6,6 g, 15,4 mmol) se obtuvo el producto intermedio 59 (6 g, rendimiento del 99%) como un sólido blanco.

Ejemplo A60

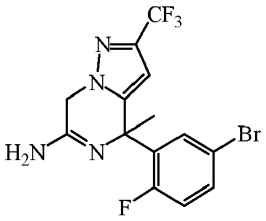
Preparación del producto intermedio 60: rac-4-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-metil-2-(trifluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona



Se añadió pentasulfuro de fósforo (2,27 g, 10,2 mmol) a una disolución del producto intermedio 59 (4 g, 10,2 mmol) en dioxano (80 ml) y se calentó la mezcla a 80ºC durante 18 horas. Se filtró la mezcla de reacción a través de tierra de diatomeas. Luego se evaporó el filtrado a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 60 (2,3 g, rendimiento del 55%) como un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A61

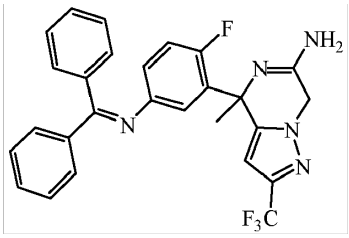
Preparación del producto intermedio 61: rac-4-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-metil-2-(trifluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se sintetizó el producto intermedio 61 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A52. Partiendo del producto intermedio 60 (2 g, 4,9 mmol) se obtuvo el producto intermedio 61 (1,5 g, rendimiento del 78%) como un sólido blanco.

Ejemplo A62

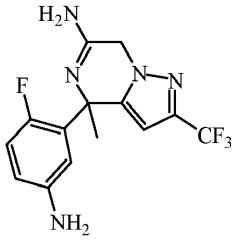
Preparación del producto intermedio 62: rac-4-[5-(benzhilidenamino)-2-fluorofenil]-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se sintetizó el producto intermedio 62 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A15. Partiendo del producto intermedio 61 (0,67 g, 1,59 mmol) se obtuvo el producto intermedio 62 (0,53 g, rendimiento del 67%) como un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A63

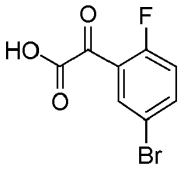
Preparación del producto intermedio 63: rac-4-(5-amino-2-fluorofenil)-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se sintetizó el producto intermedio 63 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A16. Partiendo del producto intermedio 62 (0,525 g, 1,07 mmol) se obtuvo el producto intermedio 63 (0,225 g, rendimiento del 64%) como un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A64

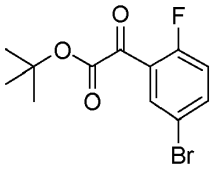
Preparación del producto intermedio 64: ácido (5-bromo-2-fluorofenil)(oxo)acético



Se disolvieron 5'-bromo-2'-fluoroacetofenona [(CAS 198477-89-3), 70 g, 322 mmol) y dióxido de selenio (71,6 g, 645 mmol) en piridina (520 ml). Se agitó la mezcla de reacción a 100ºC durante 2 horas. Se evaporó el disolvente y se añadió disolución acuosa de HCl 1 N. Se extrajo la fase acuosa con EtOAc. Se secaron (Mg_2SO_4) las fases orgánicas combinadas, se filtraron y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 64 (62 g, rendimiento del 78%), que se usó tal cual en la siguiente reacción.

Ejemplo A65

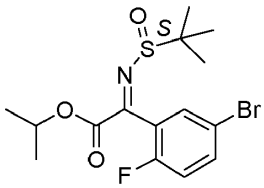
Preparación del producto intermedio 65: (5-bromo-2-fluorofenil)(oxo)acetato de terc-butilo



Se añadió gota a gota cloruro de tionilo (72 g, 607 mmol) a una disolución con agitación del producto intermedio 64 (50 g, 202 mmol) en tolueno (500 ml) a 0ºC. Se agitó la mezcla a 60ºC durante 1,5 horas. Se evaporaron los disolventes a vacío. Se añadió DCM y luego se concentró la mezcla de nuevo a vacío. Se disolvió el producto en bruto en DCM (100 ml). Se añadieron cuidadosamente terc-butanol (30 g, 404 mmol), piridina (16 ml, 202 mmol) y DCM anhidro (100 ml). Se agitó la mezcla a t.a. durante 1,5 horas. Se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 65 (45,5 g, rendimiento del 74%).

Ejemplo A66

Preparación del producto intermedio 66: (*S*)-(5-bromo-2-fluorofenil)[(terc-butilsulfinil)imino]acetato de 1-metiletilo

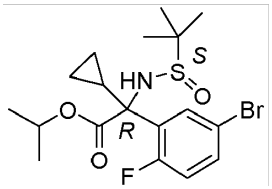


Se añadió isopropóxido de titanio (IV) (85 ml, 283 mmol) a una mezcla con agitación del producto intermedio 65 (43 g, 142 mmol) y (*S*)-2-metil-2-propanosulfinamida (25,8 g, 212 mmol) en n-heptano (1000 ml). Se agitó la mezcla a 80ºC durante 18 horas. Se concentró parcialmente la mezcla a vacío, luego se diluyó con EtOAc. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente, y se añadió agua. Se filtró la mezcla resultante sobre un lecho de tierra de

diatomeas y se enjuagó con EtOAc y agua. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; eluyentes n-heptano/EtOAc de 90/10 a 80/20). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 66 (44 g, rendimiento del 79%).

Ejemplo A67

Preparación del producto intermedio 67: (2*R*)-2-(5-bromo-2-fluorofenil)-2-[[(*S*)-terc-butilsulfinil]amino]-2-ciclopropilacetato de isopropilo



Se añadió gota a gota bromuro de ciclopropilmagnesio (0,5 M, 174 ml, 87 mmol) a una disolución con agitación del producto intermedio 66 en DCM (388 ml) a -78ºC. Se agitó la mezcla a esta temperatura durante 30 minutos, y luego se extinguió la reacción mediante la adición de una disolución ac. sat. de NH_4Cl, seguido por agua. Se extrajo la mezcla con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío proporcionando el producto intermedio 67 (26,4, rendimiento del 98%), como un aceite amarillento que se usó tal cual en la siguiente etapa.

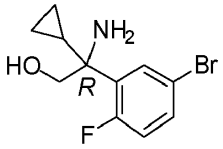
Ejemplo A68

Preparación del producto intermedio 68: (2*R*)-2-amino-2-(5-bromo-2-fluorofenil)-2-ciclopropilacetato de isopropilo

Se agitó una disolución del producto intermedio 67 (23,9 g, 55 mmol) en una disolución de HCl 4 M en dioxano (27 ml) a t.a. durante 15 min. Se concentró el disolvente a vacío. Se disolvió el producto en bruto en EtOAc y se añadió $NaHCO_3$ sat. Se agitó la mezcla durante 1 hora. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se concentró a vacío proporcionando el producto intermedio 68 (16,6, rendimiento del 91%), como un aceite amarillento que se usó tal cual en la siguiente etapa.

Ejemplo A69

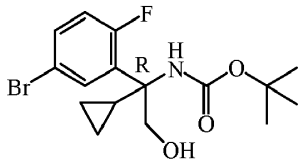
Preparación del producto intermedio 69: (2*R*)-2-amino-2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2-ciclopropil-etanol



Se añadió gota a gota hidruro de litio y aluminio (1 M en THF, 38 ml, 38 mmol) a una disolución con agitación del producto intermedio 68 (16,6 g, 50,2 mmol) en THF (346 ml) a -15ºC. Se agitó la mezcla durante 1 hora mientras se calentaba lentamente hasta 0ºC. Se añadió Na_2SO_4 decahidratado sólido a la mezcla hasta que no se observó más desprendimiento de gas. Se agitó la mezcla durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se filtró la mezcla sobre un lecho de tierra de diatomeas y se enjuagó con THF. Se evaporó la fase orgánica recogida hasta sequedad a vacío y se purificó el producto en bruto resultante mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; NH_3 7 N en MeOH/DCM de 0/100 a 3/97). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 69 como un aceite amarillo (13,8 g, rendimiento cuant.).

Ejemplo A70

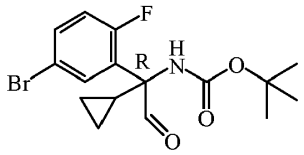
Preparación del producto intermedio 70: [(1*R*)-1-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-ciclopropil-2-hidroxietil]carbamato de terc-butilo



Se sintetizó el producto intermedio 70 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A5. Partiendo del producto intermedio 69 (4,35 g, 6,03 mmol) se obtuvo el producto intermedio 70 (3,29 g) como un aceite amarillo que solidificó en reposo.

Ejemplo A71

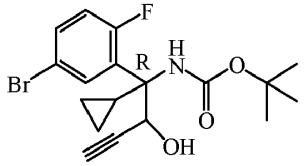
Preparación del producto intermedio 71: [(1*R*)-1-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-ciclopropil-2-oxoetil]carbamato de terc-butilo



Se sintetizó el producto intermedio 71 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A6. Partiendo del producto intermedio 70 (4,52 g, 12,08 mmol) se obtuvo el producto intermedio 71 (4 g, rendimiento del 89%) como un aceite de color amarillo pálido.

Ejemplo A72

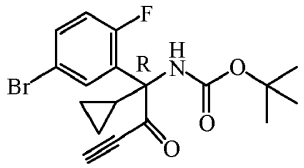
Preparación del producto intermedio 72: [(1*R*)-1-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-ciclopropil-2-hidroxibut-3-in-1-il]carbamato de terc-butilo



Se sintetizó el producto intermedio 72 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A7. Partiendo del producto intermedio 71 (4 g, 10,75 mmol) se obtuvo el producto intermedio 72 (3,9 g, rendimiento del 91%) como una mezcla diastereoisomérica, como un aceite que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A73

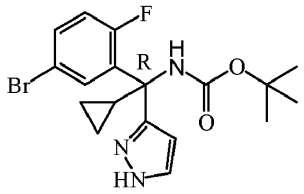
Preparación del producto intermedio 73: [(1*R*)-1-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-ciclopropil-2-oxobut-3-in-1-il]carbamato de terc-butilo



Se sintetizó el producto intermedio 73 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A8. Partiendo del producto intermedio 72 (3,9 g, 9,8 mmol) se obtuvo el producto intermedio 73 (3,4 g, rendimiento del 88%) como un aceite amarillo.

Ejemplo A74

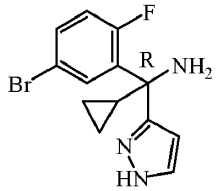
Preparación del producto intermedio 74: *N*-[(*R*)-(5-bromo-2-fluorofenil)-ciclopropil-(1H-pirazol-3-il)metil]carbamato de terc-butilo



Se sintetizó el producto intermedio 74 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A9. Partiendo del producto intermedio 73 (3,4 g, 8,58 mmol) se obtuvo el producto intermedio 74 (3,45 g, rendimiento del 98%) como una espuma.

Ejemplo A75

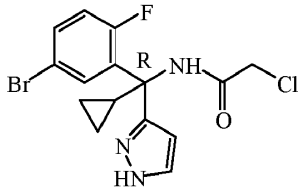
Preparación del producto intermedio 75: (*R*)-(5-bromo-2-fluorofenil)-ciclopropil-(1H-pirazol-3-il)metanamina



Se sintetizó el producto intermedio 75 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A10. Partiendo del producto intermedio 74 (3,45 g, 8,41 mmol) se obtuvo el producto intermedio 75 (2,85 g) como una espuma amarilla que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A76

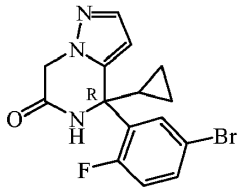
Preparación del producto intermedio 76: *N*-[(*R*)-(5-bromo-2-fluorofenil)-ciclopropil-(1H-pirazol-3-il)metil]-2-cloro-acetamida



Se sintetizó el producto intermedio 76 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A11. Partiendo del producto intermedio 75 (2,8 g, 9,03 mmol) se obtuvo el producto intermedio 76 (1,03 g, rendimiento del 30%) como un sólido.

Ejemplo A77

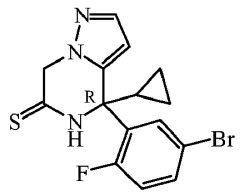
Preparación del producto intermedio 77: (*R*)-4-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-ciclopropil-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-ona



Se sintetizó el producto intermedio 77 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A12. Partiendo del producto intermedio 76 (0,765 g, 1,98 mmol) se obtuvo el producto intermedio 77 (0,52 g, rendimiento del 75%) como un sólido blanco.

Ejemplo A78

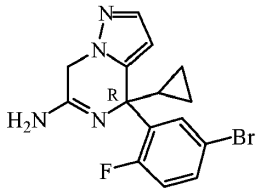
Preparación del producto intermedio 78: (*R*)-4-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-ciclopropil-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-tiona



Se sintetizó el producto intermedio 78 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A13. Partiendo del producto intermedio 77 (0,62 g, 1,77 mmol) se obtuvo el producto intermedio 78 (0,46 g, rendimiento del 70%) como un sólido de color rojo pálido.

Ejemplo A79

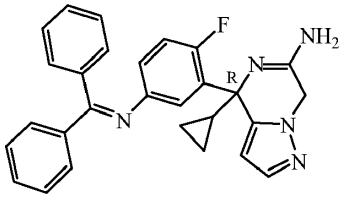
Preparación del producto intermedio 79: (*R*)-4-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-ciclopropil-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se añadió una disolución acuosa de amoniaco al 32% (3 ml, 50,7 mmol) a una mezcla con agitación del producto intermedio 78 (0,46 g, 1,26 mmol) en disolución 7 N de amoniaco en metanol (7 ml, 49 mmol) en un tubo sellado. Se agitó la mezcla a 70ºC durante 8 horas. Tras enfriar hasta temperatura ambiente se diluyó la mezcla con agua y Na_2CO_3 (disolución ac. sat.) y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó (Na_2SO_4), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en DCM de 0/100 a 2/98 a 3/97 a 10/90). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el producto intermedio 79 (0,34 g, rendimiento del 78%) como una espuma amarilla.

Ejemplo A80

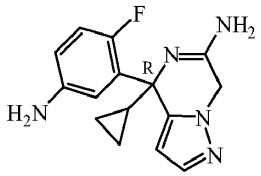
Preparación del producto intermedio 80: (*R*)-4-[5-(benzhidrilidenamino)-2-fluorofenil]-4-ciclopropil-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se sintetizó el producto intermedio 80 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A15. Partiendo del producto intermedio 79 (0,34 g, 0,974 mmol) se obtuvo el producto intermedio 80 (0,38 g, rendimiento del 61%) como un sólido amarillo.

Ejemplo A81

Preparación del producto intermedio 81: (*R*)-4-(5-amino-2-fluorofenil)-4-ciclopropil-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina

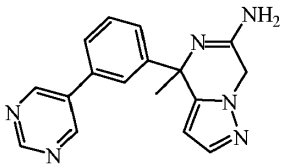


Se sintetizó el producto intermedio 81 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo A16. Partiendo del producto intermedio 80 (0,38 g, 0,845 mmol) se obtuvo el producto intermedio 81 (0,16 g, rendimiento del 66%) como un sólido de color amarillo pálido.

PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS FINALES

Ejemplo B1

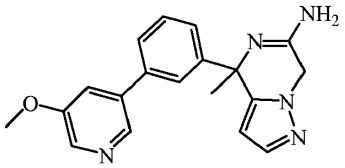
Preparación del compuesto 1: rac-4-metil-4-(3-pirimidin-5-ilfenil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se añadió NH_4Cl (0,007 g, 0,121 mmol) a una disolución con agitación del producto intermedio 28 (0,026 g, 0,081 mmol) en EtOH (3 ml) y se calentó la mezcla a 75ºC durante 18 horas. Se eliminó el disolvente a vacío y se disolvió el residuo en DCM y se lavó con agua. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en AcOEt de 0/100 a 20/80). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el compuesto 1 (0,02 g, rendimiento del 81%) como un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo B2

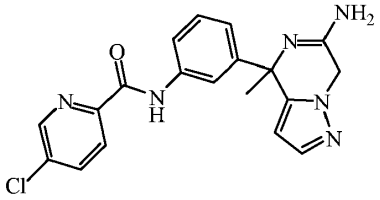
Preparación del compuesto 2: rac-4-[3-(5-metoxipiridin-3-il)-fenil]-4-metil-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se sintetizó el compuesto 2 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo B1. Partiendo del producto intermedio 30 (0,1 g, 0,285 mmol), se obtuvo el compuesto 2 (0,06 g, rendimiento del 63%) como un sólido blanco.

Ejemplo B3

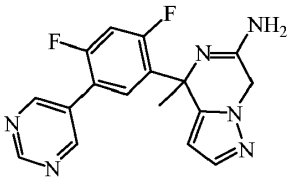
Preparación del compuesto 3: rac-N-[3-(6-amino-4-metil-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-fenil]-5-cloropiridin-2-carboxamida



Se añadió *N,N*-dimetilanilina (0,24 ml, 1,92 mmol) a una suspensión de ácido 5-cloro-2-piridincarboxílico (0,15 g, 0,96 mmol) y HATU (0,40 g, 1,04 mmol) en DCM (15 ml). Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 10 minutos. Luego se añadió el producto intermedio 16 (0,21 g, 0,87 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 18 horas. Se diluyó la mezcla con NH_4Cl (disolución ac. sat.) y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en DCM de 0/100 a 5/95). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el compuesto 3 (0,070 g, rendimiento del 21%) como un sólido blanco.

Ejemplo B4

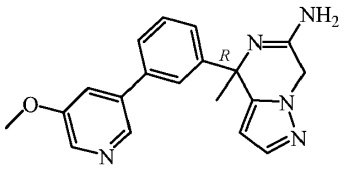
Preparación del compuesto 4: rac-4-(2,4-difluoro-5-pirimidin-5-il-fenil)-4-metil-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



Se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (0,025 g, 0,02 mmol) a una suspensión con agitación del producto intermedio 32 (0,15 g, 0,44 mmol), ácido pirimidin-5-borónico (0,16 g, 1,32 mmol) y carbonato de potasio (0,18 g, 1,32 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml) y etanol (0,4 ml) a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 150ºC durante 30 minutos con irradiación de microondas. Luego se diluyó la mezcla con agua y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en DCM de 0/100 a 3/97). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el compuesto 4 (0,081 g, rendimiento del 54%) como un sólido blanco.

Ejemplo B5

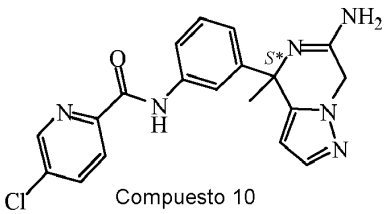
Preparación del compuesto 7: (*R*)-4-(3'-metoxibifenil-3-il)-4-metil-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina



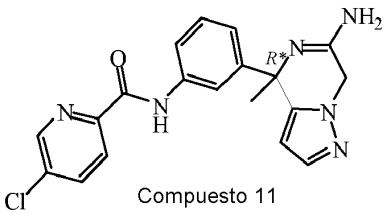
Se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (0,028 g, 0,025 mmol) a una suspensión con agitación del producto intermedio 42 (0,15 g, 0,49 mmol), ácido 5-metoxipiridin-3-borónico (0,23 g, 1,48 mmol) y carbonato de potasio (0,20 g, 1,48 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml) y etanol (0,4 ml) a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 150ºC durante 30 minutos con irradiación de microondas. Luego se diluyó la mezcla con agua y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en DCM de 0/100 a 3/97). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío proporcionando el compuesto 7 (0,12 g, rendimiento del 73%) como un sólido blanco.

Ejemplo B6

Preparación del compuesto 10: (*S**)-N-[3-(6-amino-4-metil-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-4-fluorofenil]-5-cloropiridin-2-carboxamida y el compuesto 11: (*R**)-N-[3-(6-amino-4-metil-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-4-fluorofenil]-5-cloropiridin-2-carboxamida



Compuesto 10

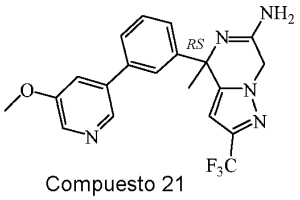


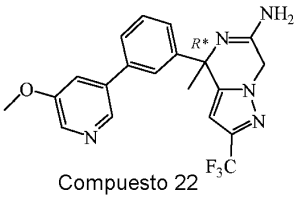
Compuesto 11

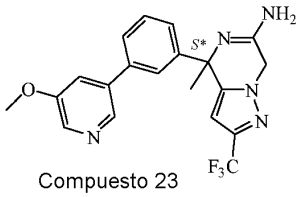
Se separó una muestra de [3-(6-amino-4-metil-4,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]pirazin-4-il)-4-fluoro-fenil]-amida del ácido rac-5-cloro-piridin-2-carboxílico (0,182 g) en los enantiómeros correspondientes mediante CFS preparativa en una columna Chiralpak® AD Daicel (10 µm, 4,6 x 250 mm) a 35ºC con una velocidad de flujo de 3,0 ml/min. La fase móvil era CO_2, el 50% de etanol, el 50% de EtOH (que contenía el 0,3% de $iPrNH_2$), se mantuvo 7 min proporcionando el compuesto 11 (0,07 g; rendimiento del 38%) y el compuesto 10 (0,06 g, rendimiento del 33%).

Ejemplo B7

Preparación del compuesto 21: rac-4-[3-(5-metoxipiridin-3-il)-fenil-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina y el compuesto 22: (*R**)-4-[3-(5-metoxipiridin-3-il)-fenil]-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina y el compuesto 23: (*S**)-4-[3-(5-metoxipiridin-3-il)-fenil]-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina


Compuesto 21

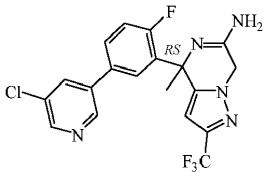

Compuesto 22

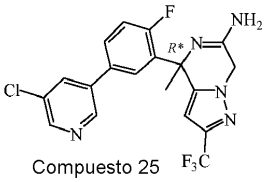

Compuesto 23

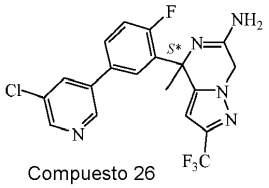
Se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (0,031 g, 0,027 mmol) a una suspensión con agitación del producto intermedio 52 (0,2 g, 0,54 mmol), ácido 5-metoxipiridin-3-borónico (0,163 g, 1,07 mmol) y carbonato de potasio (0,222 g, 1,61 mmol) en 1,4-dioxano (6 ml) y etanol (0,6 ml) a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla a 80ºC durante 24 horas. Luego se diluyó la mezcla con agua y se extrajo con DCM. Se separó la fase orgánica, se secó ($MgSO_4$), se filtró y se evaporaron los disolventes a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M de amoniaco en metanol en DCM de 0/100 a 3/97). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío. Se trituró el residuo con dietil éter, se sonicó, se filtró y se secó a vacío a 50ºC proporcionando el compuesto 21 (0,13 g, rendimiento del 60%) como un sólido blanco. Luego se purificó este compuesto racémico mediante CFS preparativa en columna Chiralpak® AD-H (20 x 250 mm), fase móvil (CO_2, iPrOH con el 0,3% de $iPrNH_2$), proporcionando el compuesto 22 (0,047 g, rendimiento del 22%) y el compuesto 23 (0,051 g, rendimiento del 24%) como enantiómeros puros (ambos como compuestos sólidos).

Ejemplo B8

Preparación del compuesto 24: rac-4-[5-(5-cloropiridin-3-il)-2-fluorofenil]-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina y el compuesto 25: (*R**)-4-[5-(5-cloropiridin-3-il)-2-fluorofenil]-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina y el compuesto 26: (*S**)-4-[5-(5-cloropiridin-3-il)-2-fluorofenil]-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-6-amina


Compuesto 24

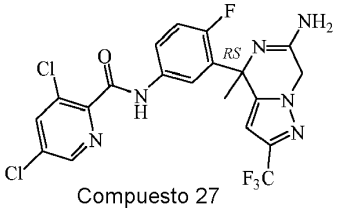

Compuesto 25

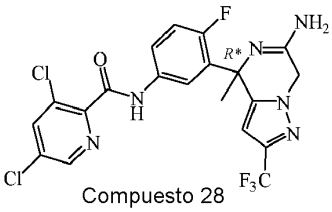

Compuesto 26

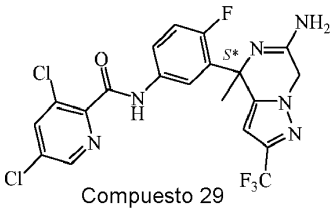
Se sintetizó el compuesto 24 siguiendo el mismo enfoque descrito en el ejemplo B7. Partiendo del producto intermedio 61 (0,3 g, 0,77 mmol), se obtuvo el compuesto 24 (0,21 g, rendimiento del 64%) como un sólido blanco. Luego se purificó este compuesto racémico mediante CFS preparativa en columna Chiralpak® AD-H (20 x 250 mm), fase móvil (CO_2, iPrOH con el 0,3% de $iPrNH_2$), proporcionando el compuesto 25 (0,089 g, rendimiento del 27%) y el compuesto 26 (0,092 g, rendimiento del 28%) como enantiómeros puros (ambos como compuestos sólidos).

Ejemplo B9

Preparación del compuesto 27: rac-N-{3-[6-amino-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il]-4-fluorofenil}-3,5-dicloropiridin-2-carboxamida y el compuesto 28: (*R**)-N-{3-[6-amino-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il]-4-fluorofenil}-3,5-dicloropiridin-2-carboxamida y el compuesto 29: (*S**)-N-{3-[6-amino-4-metil-2-(trifluorometil)-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il]-4-fluorofenil}-3,5-dicloropiridin-2-carboxamida


Compuesto 27


Compuesto 28

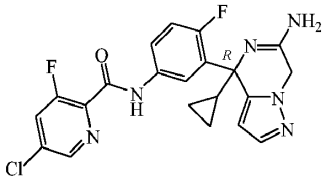

Compuesto 29

Se disolvió ácido 3,5-dicloro-2-piridincarboxílico (0,54 g, 0,81 mmol) en MeOH (4 ml) y se añadió DMTMM (0,223 g, 0,81 mmol). Tras agitar la mezcla durante 5 minutos, se añadió una disolución del producto intermedio 63 (0,22 g, 0,67 mmol) en MeOH (4 ml) a 0ºC, y se agitó la mezcla durante unas 4 h más. Se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M para amoniaco en metanol/DCM de 0/100 a 5/95). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío. Se recristalizó el residuo en DIPE proporcionando el compuesto 27 (0,124 g, rendimiento del 37%) como un sólido blanco. Luego se purificó este compuesto racémico mediante CFS preparativa en columna Chiralpak® AD-H (20 x

250 mm), fase móvil (CO_2, EtOH con el 0,3% de $iPrNH_2$), proporcionando el compuesto 28 (0,038 g, rendimiento del 11%) y el compuesto 29 (0,036 g, rendimiento del 11%) como enantiómeros puros (ambos como compuestos sólidos).

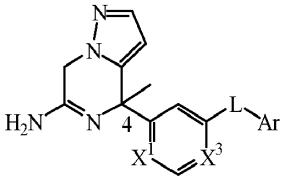
Ejemplo B10

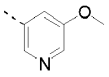
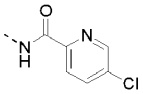
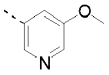
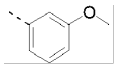
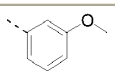
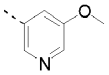
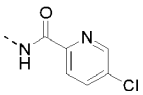
Preparación del compuesto 33: (*R*)-N-{3-[6-amino-4-ciclopropil-4,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazin-4-il]-4-fluorofenil}-5-cloro-3-fluoropiridin-2-carboxamida



Se disolvió ácido 5-cloro-3-fluoropiridin-2-carboxílico (0,052 g, 0,26 mmol) en MeOH (1,5 ml) y se añadió DMTMM (0,086 g, 0,31 mmol). Tras agitar la mezcla durante 5 minutos, se añadió una disolución del producto intermedio 81 (0,074 g, 0,26 mmol) en MeOH (1,5 ml) a 0ºC, y se agitó la mezcla durante unas 24 h más. Se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el producto en bruto mediante cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; disolución 7 M para amoniaco en metanol/DCM de 0/100 a 5/95). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron a vacío. Se secó el residuo a vacío proporcionando el compuesto 33 (0,084 g, rendimiento del 73%) como un sólido blanco.

Tabla 1



N.º comp.	N.º ej.	X^1	X^3	---L-Ar	Estereoquímica de C_4
1	B1	CH	CH		RS
2	B2	CH	CH		RS
3	B3	CH	CH		RS
4	B4	CF	CF		RS
5	B4	CF	CF		RS
6	B4	CF	CF		RS
7	B5	CH	CH		R
8	B5	CH	CH		R
9	B5	CH	CH		R
10	B6	CF	CH		S*

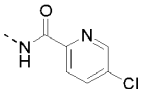
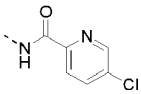
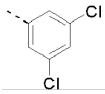
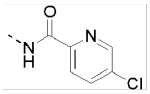
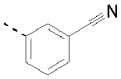
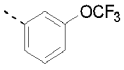
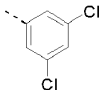
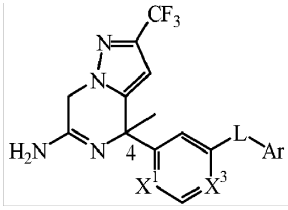
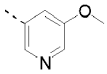
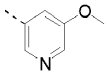
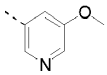
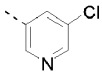
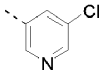
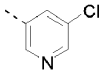
11	B6	CF	CH		R*
12	B5	CF	CF		RS
13	B3	CF	CH		RS
14	B4	CH	CH		R
15	B4	CF	CH		RS
16	B4	CF	CH		RS
17	B3	CH	CH		R
18	B4	CF	CF		RS
19	B5	CH	CH	 sal de HCl	R
20	B5	CH	CH		R

Tabla 2



N.º comp.	N.º ej.	X^1	X^3	---L-Ar	Estereoquímica de C_4
21	B7	CH	CH		RS
22	B7	CH	CH		R*
23	B7	CH	CH		S*
24	B8	CF	CH		RS
25	B8	CF	CH		R*
26	B8	CF	CH		S*

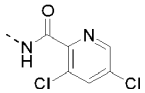
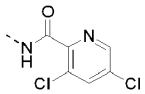
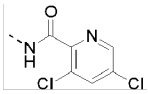
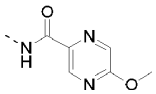
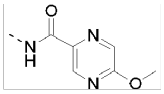
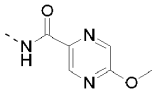
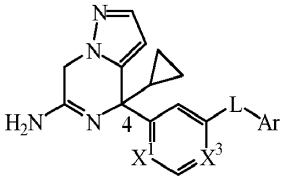
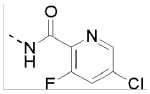
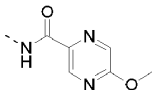
27	B9	CF	CH		RS
28	B9	CF	CH		R*
29	B9	CF	CH		S*
30	B9	CF	CH		RS
31	B9	CF	CH		R*
32	B9	CF	CH		S*

Tabla 3

					
N.º comp.	N.º ej.	X^1	X^3	---L-Ar	Estereoquímica de C_4
33	B10	CF	CH		R
34	B10	CF	CH		R

C. PARTE ANALÍTICA

CL-EM

Para la caracterización (CL)EM de los compuestos de la presente invención, se usaron los siguientes métodos.

Procedimiento general A:

Se realizó la medición de HPLC usando un sistema HP 1100 (Agilent Technologies) que comprende una bomba (cuaternaria o binaria) con desgasificador, un inyector automático, un horno de columna, un detector por red de diodos (DAD) y una columna tal como se especifica en los métodos respectivos. Se configuró el detector de EM con una fuente de ionización por electropulverización. Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. Se mantuvo la temperatura de la fuente o bien a 140ºC o bien a 100ºC. Se realizó la adquisición de datos con el software MassLynx-Openlynx (Waters).

Procedimiento general B

Se realizó la medición de UPLC (cromatografía de líquidos de resolución ultra-alta) usando un sistema Acquity UPLC (Waters) que comprende un organizador de muestras, una bomba binaria con desgasificador, un horno de cuatro columnas, un detector por red de diodos (DAD) y una columna tal como se especifica en los métodos respectivos. Se configuró el detector de EM con una fuente de ionización dual ESCI (electropulverización combinada con ionización química a presión atmosférica). Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. Se mantuvo la temperatura de la fuente a 140ºC. Se realizó la adquisición de datos con el software MassLynx-Openlynx.

Procedimiento general C

Se realizó la medición de CL usando un sistema Acquity UPLC (cromatografía de líquidos de resolución ultra-alta) (Waters) que comprende una bomba binaria con degasificador, un inyector automático, un detector por red de diodos (DAD) y una columna tal como se especifica en los métodos respectivos a continuación, se mantiene la columna a una temperatura de 40ºC. Se llevó el flujo de la columna hasta un detector de EM. Se configuró el detector de EM con una fuente de ionización por electropulverización. El voltaje de la aguja capilar era de 3 kV y la temperatura de la fuente se mantuvo a 130ºC en el instrumento Quattro (espectrómetro de masas de triple cuadrupolo de Waters). Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. Se realizó la adquisición de datos con el software MassLynx-Openlynx (Waters).

Método 1:

Además del procedimiento general A: se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna Eclipse Plus-C18 (3,5 µm, 2,1 x 30 mm) de Agilent, con una velocidad de flujo de 1,0 ml/min, a 60ºC. Las condiciones de gradiente usadas son: el 95% de A (disolución de acetato de amonio 0,5 g/l + el 5% de acetonitrilo), el 5% de B (acetonitrilo), hasta el 100% de B en 5,0 minutos, se mantiene hasta 5,15 minutos y se equilibra hasta las condiciones iniciales en 5,3 minutos hasta 7,0 minutos. Volumen de inyección de 2 µl. Se adquirieron los espectros de masa de alta resolución (detector TOF, tiempo de vuelo) mediante barrido desde 100 hasta 750 en 0,5 segundos usando un tiempo de permanencia de 0,3 segundos. El voltaje de la aguja capilar era de 2,5 kV para el modo de ionización positiva y de 2,9 kV para el modo de ionización negativa. El voltaje de cono era de 20 V para ambos modos de ionización positiva y negativa. Leucina-encefalina fue la sustancia patrón usada para la calibración de masas con patrón interno.

Método 2: mismo gradiente de HPLC que en el método 1

Se adquirieron los espectros de masas de alta resolución (detector TOF, tiempo de vuelo) sólo en modo de ionización positiva mediante barrido desde 100 hasta 750 en 0,5 segundos usando un tiempo de permanencia de 0,1 segundos. El voltaje de la aguja capilar era de 2,5 kV para el modo de ionización positiva y el voltaje de cono era de 20 V. Leucina-encefalina fue la sustancia patrón usada para la calibración de masas con patrón interno.

Método 3:

Además del procedimiento general A: se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna Eclipse Plus-C18 (3,5 µm, 2,1 x 30 mm) de Agilent, con una velocidad de flujo de 1,0 ml/min, a 60ºC sin fraccionamiento al detector de EM. Las condiciones de gradiente usadas son: el 95% de A (disolución de acetato de amonio 0,5 g/l + el 5% de acetonitrilo), el 5% de B (mezcla de acetonitrilo/metanol, 1/1), se mantiene 0,2 minutos, hasta el 100% de B en 3,0 minutos, se mantiene hasta 3,15 minutos y se equilibra hasta las condiciones iniciales en 3,30 minutos hasta 5,0 minutos. Volumen de inyección de 2 µl. Se adquirieron los espectros de masa de baja resolución (detector SQD, un solo cuadrupolo) mediante barrido desde 100 hasta 1000 en 0,1 segundos usando un retardo entre canales de 0,08 segundos. El voltaje de la aguja capilar era de 3 kV. El voltaje del cono era de 20 V y 50 V para el modo de ionización positiva y de 30 V para el modo de ionización negativa.

Método 4:

Además del procedimiento general B: se llevó a cabo UPLC de fase inversa en una columna RRHD Eclipse Plus-C18 (1,8 µm, 2,1 x 50 mm) de Agilent, con una velocidad de flujo de 1,0 ml/min, a 50ºC sin fraccionamiento al detector de EM. Las condiciones de gradiente usadas son: el 95% de A (disolución de acetato de amonio 0,5 g/l + el 5% de acetonitrilo), el 5% de B (acetonitrilo), hasta el 40% de A, el 60% de B en 3,8 minutos, hasta el 5% de A, el 95% de B en 4,6 minutos, se mantiene hasta 5,0 minutos. Volumen de inyección de 2 µl. Se adquirieron los espectros de masa de baja resolución (detector SQD, un solo cuadrupolo) mediante barrido desde 100 hasta 1000 en 0,1 segundos usando un retardo entre canales de 0,08 segundos. El voltaje de la aguja capilar era de 3 kV. El voltaje del cono era de 25 V para el modo de ionización positiva y de 30 V para el modo de ionización negativa.

Método 5: mismo gradiente que en el método 4; columna usada: RRHD Eclipse Plus-C18 (1,8 µm, 2,1 x 50 mm) de Agilent.

Método 6:

Además del procedimiento general C: se llevó a cabo UPLC de fase inversa en una columna Acquity BEH (híbrido de etilsiloxano/sílice unidos por puentes) Phenyl-Hexyl de Waters (1,7 µm, 2,1 x 100 mm) con una velocidad de flujo de 0,343 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: el 95% de acetato de amonio 7 mM/el 5% de acetonitrilo; fase móvil B: el 100% de acetonitrilo) para ejecutar una condición de gradiente de desde el 84,2% de A y el 15,8% de B (mantenido durante 0,49 minutos) hasta el 10,5% de A y el 89,5% de B en 2,18 minutos, mantenido durante 1,94 min y de vuelta a las condiciones iniciales en 0,73 min, mantenido durante 0,73 minutos. Se usó un

volumen de inyección de 2 ml. El voltaje del cono era de 20 V para el modo de ionización positiva y negativa. Se adquirieron los espectros de masa mediante barrido desde 100 hasta 1000 en 0,2 segundos usando un retardo entre barridos de 0,1 segundos.

Método 7:

Además del procedimiento general A: se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna Eclipse Plus-C18 (3,5 µm, 2,1 x 30 mm) de Agilent, con una velocidad de flujo de 1,0 ml/min, a 60ºC sin fraccionamiento al detector de EM. Las condiciones de gradiente usadas son: el 95% de A (disolución de acetato de amonio 0,5 g/l + el 5% de acetonitrilo), el 5% de B (mezcla de acetonitrilo/metanol, 1/1), hasta el 100% de B en 5,0 minutos, se mantiene hasta 5,15 minutos y se equilibra hasta las condiciones iniciales en 5,30 minutos hasta 7,0 minutos. Volumen de inyección de 2 µl. Se adquirieron los espectros de masa de baja resolución (detector SQD, un solo cuadrupolo) mediante barrido desde 100 hasta 1000 en 0,1 segundos usando un retardo entre canales de 0,08 segundos. El voltaje de la aguja capilar era de 3 kV. El voltaje del cono era de 20 V para el modo de ionización positiva y de 30 V para el modo de ionización negativa.

PUNTOS DE FUSIÓN

Los valores son o bien valores pico o bien intervalos de fusión, y se obtienen con las incertidumbres experimentales que se asocian comúnmente con este método analítico.

Aparato Mettler FP81HT/FP90 (indicado mediante FP90 en la tabla 3)

Para varios compuestos, se determinaron los puntos de fusión en tubos capilares abiertos en un aparato FP81HT/FP90 de Mettler. Se midieron los puntos de fusión con un gradiente de temperatura de 1, 3, 5 ó 10ºC/minuto. La temperatura máxima fue de 300ºC. Se leyó el punto de fusión de una pantalla digital.

Tabla 2: Datos analíticos - R_t significa tiempo de retención (en minutos), $[M+H]^+$ significa la masa protonada del compuesto, el método se refiere al método usado para (CL)EM.

N.º comp.	R_t	$[M+H]^+$	Método	Punto de fusión
1	1,77	305	3	n.d.
2	2,49	334	2	191,8ºC (FP90)
3	1,79	381	4	194,9ºC (FP90)
4	2,14	341	1	207ºC (FP90)
5	2,76	370	1	161,6ºC (FP90)
6	2,26	369	4	171,1ºC (FP90)
7	2,7	333	3	153,8ºC (FP90)
8	0,86	305	4	n.d.
9	1,35	334	4	100,5ºC (FP90)
10	2,43	399	6	199ºC (FP90)
11	2,43	399	6	n.d.
12	2,31	339	4	105,3ºC (FP90)
13	3,01	399	7	202,3ºC (FP90)
14	2,41	339	5	55,5ºC (FP90)
15	3,07	389	5	198,6ºC (FP90)
16	1,02	323	5	se descompuso
17	1,8	381	4	n.d.
18	2,11	364	4	202,9ºC (FP90)
19	2,75	387	4	96,5ºC (FP90)
20	2,88	371	4	112ºC (FP90)
21	3,47	402	7	89,3ºC (FP90)
22	2,67	402	6	n.d.

23	2,66	402	6	n.d.
24	3,84	424	7	175,2ºC (FP90)
25	2,96	424	6	n.d.
26	2,96	424	6	n.d.
27	2,94	501	5	198ºC (FP90)
28	3,01	501	6	n.d.
29	3,01	501	6	n.d.
30	2,62	464	5	218,1ºC (FP90)
31	2,82	464	6	n.d.
32	2,82	464	6	n.d.
33	2,12	443	5	272,6ºC (FP90)
34	1,95	422	5	227,8ºC (FP90)
n.d. significa no determinado				

Rotaciones ópticas

Se midieron las rotaciones ópticas en un polarímetro 341 de Perkin-Elmer con una lámpara de sodio.

Tabla 3: Datos analíticos - valores de rotación óptica para compuestos enantioméricamente puros

N.º comp.	α_D (º)	Longitud de onda (nm)	Concentración % p/v	Disolvente	Temp. (ºC)
7	-42,6	589	0,54	DMF	20
8	-48,4	589	0,5	MeOH	20
9	-26,2	589	0,62	MeOH	20
10	-27,7	589	0,52	DMF	20
11	27,3	589	0,52	DMF	20
17	-64,2	589	0,52	DMF	20
19	-33,6	589	0,56	DMF	20
20	-56,7	589	0,53	DMF	20
22	-29,2	589	0,5	DMF	20
23	41,3	589	0,5	DMF	20
25	14,6	589	0,55	DMF	20
26	-14,9	589	0,52	DMF	20
33	45,3	589	0,59	DMF	20
34	46,6	589	0,59	DMF	20

Métodos de CFS-EM:

Procedimiento general para los métodos de CFS-EM

Se realizó la medición de CFS usando un sistema de CFS analítico de Berger instruments (Newark, DE, EE.UU.) que comprende un módulo de control de fluido de bomba dual FCM-1200 para suministrar dióxido de carbono (CO_2) y modificador, un inyector automático de muestras líquidas CTC Analytics, un módulo de control térmico TCM-20000 para el calentamiento de columnas desde la temperatura ambiente hasta 80ºC. Se usó un detector por red de fotodiodos 1100 UV de Agilent equipado con una celda de flujo de alta presión que resiste hasta 400 bares. Se fraccionó el flujo procedente de la columna a un espectrómetro de EM. Se configuró el detector de EM con una fuente de ionización a presión atmosférica. Los siguientes parámetros de ionización para el espectrofotómetro de masas ZQ de Waters son: descarga corona: 9 µa, temp. de fuente: 140ºC, cono: 30 V, temp. de sonda de 450ºC, extractor 3 V, gas de desolvatación 400 l/h, gas del cono 70 l/h. Se usó nitrógeno como gas nebulizador. Se realizó la adquisición de datos con un sistema de datos MassLynx-Openlynx de Waters-Micromass.

Método 1:

Además del procedimiento general: Se llevó a cabo la separación quiral en CFS en una columna CHIRALPAK AD DAICEL (10 µm, 4,6 x 250 mm) a 35ºC con una velocidad de flujo de 3,0 ml/min. La fase móvil es CO_2, el 50% de etanol, el 50% de EtOH (que contenía el 0,3% de $iPrNH_2$) se mantuvo 7 min.

Método 2:

Además del procedimiento general A: Se llevó a cabo la separación quiral en CFS en una columna CHIRALPAK AD DAICEL (10 µm, 4,6 x 250 mm) a 35ºC con una velocidad de flujo de 3,0 ml/min. La fase móvil es CO_2, el 20% de metanol (que contenía el 0,3% de $iPrNH_2$) se mantuvo 7 min.

Método 3:

Además del procedimiento general A: Se llevó a cabo la separación quiral en CFS en una columna CHIRALPAK AD DAICEL (10 µm, 4,6 x 250 mm) a 35ºC con una velocidad de flujo de 3,0 ml/min. La fase móvil es CO_2, el 25% de isopropanol (que contenía el 0,3% de $iPrNH_2$) se mantuvo 7 min.

Método 4:

Además del procedimiento general A: Se llevó a cabo la separación quiral en CFS en una columna CHIRALPAK AD DAICEL (10 µm, 4,6 x 250 mm) a 35ºC con una velocidad de flujo de 3,0 ml/min. La fase móvil es CO_2, el 30% de etanol (que contenía el 0,3% de $iPrNH_2$) se mantuvo 7 min.

Tabla 4: Datos analíticos de CFS - R_t significa tiempo de retención (en minutos), $[M+H]^+$ significa la masa protonada del compuesto, método se refiere al método usado para el análisis de CFS/EM de compuestos enantioméricamente puros.

N.º comp.	R_t	$[M+H]^+$	% de área UV	Método	Orden de elución de isómeros
10	2,50	399	100	1	A
11	4,27	399	100	1	B
22	2,91	402	100	2	A
23	4,81	402	100	2	B
25	2,73	424	100	3	A
26	3,67	424	100	3	B
28	2,83	501	100	4	A
29	3,83	501	100	4	B
31	2,21	464	100	4	A
32	3,49	464	100	4	B

D. EJEMPLOS FARMACOLÓGICOS

Los compuestos proporcionados en la presente invención son inhibidores de la enzima de escisión de APP en el sitio β 1 (BACE1). Se cree que la inhibición de BACE1, una proteasa aspártica, es relevante para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (EA). Se cree que la producción y acumulación de péptidos β-amiloides (Aβ) de la proteína precursora de β-amiloide (APP) desempeña un papel clave en la aparición y progresión de EA. Aβ se produce a partir de la proteína precursora amiloide (APP) mediante escisión secuencial en los extremos N- y C-terminal del dominio Aβ por la β-secretasa y la γ-secretasa, respectivamente.

Se espera que los compuestos de fórmula (I) tengan su efecto sustancialmente en BACE1 en virtud de su capacidad para inhibir la actividad enzimática. En la tabla 1 se muestran el comportamiento de tales inhibidores sometidos a prueba usando un ensayo basado en transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) bioquímico y un ensayo αLisa celular en células SKNBE2 tal como se describe a continuación y que son adecuados para la identificación de tales compuestos, y más particularmente los compuestos según la fórmula (I).

Ensayo basado en FRET bioquímico

Este ensayo es un ensayo basado en el ensayo basado en el ensayo de transferencia de energía por resonancia de

fluorescencia (FRET). El sustrato para este ensayo es un péptido de 13 aminoácidos derivado de APP que contiene la mutación "Swedish" Lys-Met/Asn-Leu del sitio de escisión por β-secretasa de la proteína precursora amiloide (APP). Este sustrato también contiene dos fluoróforos: el ácido (7-metoxicumarin-4-il)acético (Mca) es un donador fluorescente con longitud de onda de excitación a 320 nm y de emisión a 405 nm y 2,4-dinitrofenilo (Dnp) es un aceptor de extinción patentado. La distancia entre esos dos grupos se ha seleccionado de manera que tras excitación con luz, la energía de fluorescencia del donador se extingue significativamente por el aceptor, a través de la transferencia de energía por resonancia. Con la escisión por BACE1, el fluoróforo Mca se separa del grupo de extinción Dnp, restableciendo la producción de fluorescencia total del donador. El aumento en la fluorescencia está relacionado linealmente con la tasa de proteólisis (Koike H et al. J Biochem. 1999, 126, 235-42).

Brevemente, en un formato de 384 pocillos se incuba proteína BACE1 recombinante en una concentración final de 1 μg/ml durante 120 minutos a temperatura ambiente con sustrato 10 μM en tampón de incubación (tampón citrato 40 mM, pH 5,0, PEG al 0,04%, DMSO al 4%) en ausencia o presencia del compuesto. A continuación se mide directamente la cantidad de proteólisis mediante la medición de fluorescencia a T=0 y T=120 (excitación a 320 nm y emisión a 405 nm). Se expresan los resultados en UFR, como la diferencia entre T120 y T0.

Se ajusta una curva de ajuste óptimo mediante un método de suma mínima de cuadrados al gráfico de % de controlmin frente a la concentración del compuesto. A partir de esto, puede obtenerse un valor de CI50 (concentración inhibitoria que provoca el 50% de inhibición de la actividad).

LC = mediana de los valores de control bajos = control bajo: reacción sin enzima

HC = mediana de los valores de control altos = control alto: reacción con enzima

% de efecto = 100-[(muestra-LC)/(HC-LC)*100]

% de control = (muestra/HC)*100

% de controlmin = (muestra-LC)/(HC-LC)*100

Se sometieron a prueba los siguientes compuestos ejemplificados esencialmente tal como se describió anteriormente y presentaron la siguiente actividad:

Tabla 5

N.º comp.	pCI_{50} del ensayo basado en FRET bioquímico
1	5,48
2	5,78
3	6,87
4	5,06
5	5,49
6	5,53
7	6,12
8	5,65
9	6,05
10	< 4,52
11	7,37
12	4,88
13	6,84
14	6,11
15	5,68
16	4,98
17	7,31
18	4,75
19	5,77

20	6,76
21	5,97
22	6,22
23	<4,52
24	5,14
25	5,44
26	<4,52
27	6,84
28	7,04
29	4,81
30	6,68
31	6,73
32	<4,52
33	6,51
34	6,51

Ensayo αLisa celular en células SKNBE2

En dos ensayos αLisa, se cuantifican los niveles de Aβ total y Aβ42 producidos y secretados en el medio de células SKNBE2 de neuroblastoma humano. El ensayo se basa en el neuroblastoma humano SKNBE2 que expresa la proteína precursora amiloide de tipo natural (hAPP695). Se diluyen los compuestos y se añaden a estas células, se incuban durante 18 horas y luego se toman las mediciones de Aβ42 y Aβ total. Se miden Aβ total y Aβ42 mediante αLisa de tipo sándwich. αLisa es un ensayo de tipo sándwich que usa anticuerpo biotinilado AbN/25 unido a perlas recubiertas con estreptavidina y anticuerpo Ab4G8 o perlas aceptoras conjugadas con cAb42/26 para la detección de Aβ total y Aβ42, respectivamente. En presencia de Aβ total o Aβ42, las perlas entran en estrecha proximidad. La excitación de las perlas donadoras provoca la liberación de moléculas de oxígeno singlete que desencadenan una cascada de transferencia de energía en las perlas aceptoras, que da como resultado emisión de luz. Se mide la emisión de luz tras incubación durante 1 hora (excitación a 650 nm y emisión a 615 nm).

Se ajusta una curva de ajuste óptimo mediante un método de suma mínima de cuadrados al gráfico de % de controlmin frente a la concentración del compuesto. A partir de esto, puede obtenerse un valor de CI50 (concentración inhibitoria que provoca el 50% de inhibición de la actividad).

LC = mediana de los valores de control bajos = control bajo: células preincubadas sin compuesto, sin Ac biotinilado en αlisa

HC = mediana de los valores de control altos = control alto: células preincubadas sin compuesto

% de efecto = 100-[(muestra-LC)/(HC-LC)*100]

% de control = (muestra/HC)*100

% de controlmin = (muestra-LC)/(HC-LC)*100

Se sometieron a prueba los siguientes compuestos ejemplificados esencialmente tal como se describió anteriormente y presentaron siguiente la actividad:

Tabla 6

N.º comp.	pCI_{50} de Aβ42 del ensayo αlisa celular en células SKNBE2 Aβ42 pIC_{50}	pCI_{50} de Aβtotal del ensayo αlisa celular en células SKNBE2 Aβtotal pIC_{50}
1	6,34	6,45

2	6,95	6,98
3	7,97	7,93
4	5,97	5,98
5	6,4	6,41
6	6,06	6,13
7	6,56	6,58
8	6,61	6,54
9	6,93	6,94
10	5,41	5,44
11	8,36	8,37
12	5,58	5,67
13	7,72	7,73
14	6,09	6,11
15	5,48	5,52
16	5,53	5,48
17	8,09	8,08
18	5,76	5,67
19	5,81	5,91
20	6,33	6,37
21	6,39	6,4
22	6,13	6,18
23	<5	<5
24	5,23	5,27
25	5,5	5,64
26	<5	<5
27	6,77	6,77
28	6,99	7,1
29	<5	<5
30	6,8	6,78
31	6,92	6,99
32	6,56	6,54
33	7,59	7,68
34	7,11	7,19
n.t. significa no sometido a prueba		

Demostración de la eficacia in vivo

Pueden usarse agentes que reducen Aβ de la invención para tratar EA en mamíferos tales como seres humanos o alternativamente que demuestran eficacia en modelos animales tales como, pero sin limitarse a, el ratón, la rata o la cobaya. Al mamífero puede no habérsele diagnosticado EA, o puede no tener una predisposición genética para EA, pero puede ser transgénico de manera que sobreproduce y finalmente deposita Aβ de una manera similar a la observada en seres humanos aquejados de EA.

Pueden administrarse agentes que reducen Aβ de cualquier forma convencional usando cualquier método convencional. Por ejemplo, pero sin limitarse a, agentes que reducen Aβ pueden estar en forma de líquido, comprimidos o cápsulas que se toman por vía oral o mediante inyección. Pueden administrarse agentes que

reducen Aβ a cualquier dosis que sea suficiente para reducir significativamente los niveles de Aβ en la sangre, el plasma sanguíneo, el suero, el líquido cefalorraquídeo (LCR) o el cerebro.

Para determinar si la administración aguda de un agente que reduce Aβ reduciría los niveles de Aβ *in vivo*, se usaron roedores no transgénicos, por ejemplo ratones o ratas. Se examinaron los animales tratados con el agente que reduce Aβ y se compararon los no tratados o tratados con vehículo y se cuantificaron los niveles cerebrales de Aβ42 soluble y Aβ total mediante técnicas convencionales, por ejemplo, usando ELISA. Los periodos de tratamiento variaron desde horas (h) hasta días y se ajustaron basándose en los resultados de la reducción de Aβ42 una vez que pudo establecerse un transcurso de tiempo del comienzo del efecto.

Se muestra un protocolo típico para medir la reducción de Aβ42 *in vivo* pero es sólo una de las muchas variaciones que podrían usarse para optimizar los niveles de Aβ detectable. Por ejemplo, se formularon compuestos que reducen Aβ en hidroxipropil-β-ciclodextrina al 20%. Se administraron los agentes que reducen Aβ como una única dosis oral (v.o.) o una única dosis subcutánea (s.c.) a animales en ayuno durante la noche. Tras un cierto tiempo, habitualmente 2 ó 4 h (tal como se indica en la tabla 19), se sacrificaron los animales y se analizaron los niveles de Aβ42.

Se recogió sangre mediante decapitación y desangrado en tubos de recogida tratados con EDTA. Se centrifugó la sangre a 1900 g durante 10 minutos (min) a 4ºC y se recuperó el plasma y se congeló instantáneamente para su análisis posterior. Se extirpó el cerebro del cráneo y el rombencéfalo. Se extirpó el cerebelo y se separaron el hemisferio izquierdo y derecho. Se almacenó el hemisferio izquierdo a -18ºC para el análisis cuantitativo de los niveles de compuesto de prueba. Se enjuagó el hemisferio derecho con tampón de solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se congeló inmediatamente en nieve carbónica y se almacenó a -80ºC hasta su homogeneización para los ensayos bioquímicos.

Se resuspendieron los cerebros de ratón de animales no transgénicos en 8 volúmenes de DEA (dietilamina) al 0,4%/NaCl 50 mM que contenía inhibidores de proteasas (Roche-11873580001 o 04693159001) por gramo de tejido, por ejemplo para 0,158 g de cerebro, se añaden 1,264 ml de DEA al 0,4%. Se homogeneizaron todas las muestras en el sistema FastPrep-24 (MP Biomedicals) usando matriz de lisis D (MPBio n.º 6913-100) a 6 m/s durante 20 segundos. Se centrifugaron los homogeneizados a 221.300 x g durante 50 min. Entonces se transfirieron los sobrenadantes de alta velocidad resultantes a tubos Eppendorf nuevos. Se neutralizaron nueve partes del sobrenadante con 1 parte de Tris-HCl 0,5 M pH 6,8 y se usó para cuantificar Aβ total y Aβ42.

Para cuantificar la cantidad de Aβ total y Aβ42en la fracción soluble de los homogeneizados cerebrales, se usaron kits de ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas. En resumen, se prepararon los patrones (una dilución de Aβ1-40 y Aβ1-42 sintéticos) en un tubo Eppendorf de 1,5 ml en Ultraculture, oscilando las concentraciones finales entre 10000 y 0,3 pg/ml. Se incubaron conjuntamente las muestras y los patrones con anticuerpo N-terminal marcado con HRPO para la detección de Aβ42 y con el anticuerpo 4G8 de dominio central biotinilado para la detección de Aβ total. Entonces se añadieron 50 µl de mezclas de conjugado/muestra o conjugado/patrones a la placa recubierta con anticuerpo (los anticuerpos de captura reconocen selectivamente el extremo C-terminal de Aβ42, el anticuerpo JRF/cAβ42/26, para la detección de Aβ42 y el extremo N-terminal de Aβ, anticuerpo JRF/rAβ/2, para la detección de Aβ total). Se dejó incubar la placa durante la noche a 4ºC con el fin de permitir la formación del complejo anticuerpo-amiloide. Tras esta incubación y etapas de lavado posteriores, se terminó el ELISA para la cuantificación de Aβ42 mediante la adición de sustrato de peroxidasa fluorogénico Quanta Blu según las instrucciones del fabricante (Pierce Corp., Rockford, Il). Se realizó una lectura después de 10 a 15 min (excitación a 320 nm / emisión a 420 nm).

Para la detección de Aβ total, se añadió un conjugado de estreptavidina-peroxidasa, seguido 60 min después por una etapa de lavado adicional y la adición de sustrato de peroxidasa fluorogénico Quanta Blu según las instrucciones del fabricante (Pierce Corp., Rockford, Il). Se realizó una lectura después de 10 a 15 min (excitación a 320 nm / emisión a 420 nm).

En este modelo, sería ventajoso al menos un 20% de reducción de Aβ42 en comparación con animales no tratados.

Se sometieron a prueba los siguientes compuestos ejemplificados esencialmente tal como se describió anteriormente y presentaron siguiente la actividad:

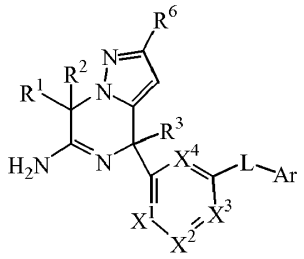
Tabla 20:

N.º comp.	Aβ42 (% del control)_medio	Aβ total (% del control)_medio	Dosis	Vía de administración	Tiempo tras la administración
2	109	116	30 mpk	s.c.	4 h
11	71	80	30 mpk	s.c.	4 h
20	86	80	30 mpk	s.c.	2 h

s.c. significa subcutánea ; v.o. significa oral

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



(I)

o un tautómero o una forma estereoisomérica del mismo, en la que

R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de hidrógeno y alquilo C_{1-3};

R^3 se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C_{1-3}, cicloalquilo C_{3-6}, mono y polihaloalquilo C_{1-3}, homoarilo y heteroarilo;

X^1, X^2, X^3, X^4 son independientemente $C(R^4)$ en el que cada R^4 se selecciona de hidrógeno y halógeno;

L es un enlace o $-N(R^5)CO-$, en el que R^5 es hidrógeno;

R^6 es hidrógeno o trifluorometilo;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

homoarilo es fenilo o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C_{1-3} y alquiloxilo C_{1-3};

heteroarilo se selecciona del grupo que consiste en piridilo, pirimidilo y pirazilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halógeno, ciano, alquilo C_{1-3} y alquiloxilo C_{1-3}; o

una sal de adición o un solvato del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que,

R^1 y R^2 son hidrógeno;

X^1, X^2, X^3, X^4 son CH;

L es un enlace o $-N(R^5)CO-$, en el que R^5 es hidrógeno;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

homoarilo es fenilo sustituido con cloro;

heteroarilo se selecciona del grupo que consiste en piridilo y pirimidilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en cloro, fluoro, ciano, metilo y metoxilo; o

una sal de adición o un solvato del mismo.

3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el átomo de carbono sustituido con R^3 tiene la configuración R.

4. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y un portador farmacéuticamente aceptable.

5. Procedimiento para preparar una composición farmacéutica según la reivindicación 4, caracterizado porque un portador farmacéuticamente aceptable se mezcla de manera íntima con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

6. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso en el tratamiento o la profilaxis de enfermedad de Alzheimer (EA), deterioro cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con accidente cerebrovascular, demencia asociada con enfermedad de Parkinson o demencia asociada con beta-amiloide.