

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 534 973**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/4985 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2012 E 12707319 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.01.2015 EP 2683721**

54 Título: **Derivados de 3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-1-ilamina útiles como inhibidores de beta-secretasa (BACE)**

30 Prioridad:

09.03.2011 EP 11157418

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

30.04.2015

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**TRABANCO-SUÁREZ, ANDRÉS, AVELINO y
DELGADO-JIMÉNEZ, FRANCISCA**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 534 973 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 3,4-dihidro-pirrolo[1,2-a]pirazin-1-ilamina útiles como inhibidores de beta-secretasa (BACE)

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos derivados 3,4-dihidro-pirrolo[1,2-a]pirazin-1-ilamina como inhibidores de beta-secretasa, también conocida como enzima de escisión de amiloide de sitio beta, BACE, BACE1, Asp2, o memapsin2. La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos, a procesos para preparar tales compuestos y composiciones, y al uso de tales compuestos y composiciones para la prevención y el tratamiento de trastornos en los que está implicada la beta-secretasa, tales como enfermedad de Alzheimer (AD), deterioro cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con apoplejía, demencia asociada con enfermedad de Parkinson o demencia asociada con beta-amiloide.

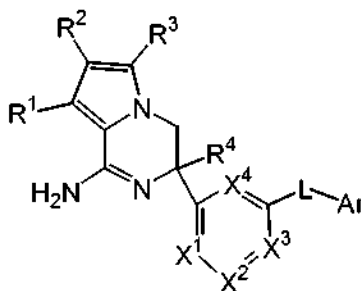
15 Antecedentes de la invención

La enfermedad de Alzheimer (AD) es una enfermedad neurodegenerativa asociada con el envejecimiento. Los pacientes con AD padecen déficits cognitivos y pérdida de memoria así como problemas de comportamiento tales como ansiedad. Más de un 90 % de los afectados con AD tienen una forma esporádica del trastorno mientras que menos de un 10 % de los casos son familiares o hereditarios. En los Estados Unidos, aproximadamente 1 de cada 10 personas de 65 años de edad padece AD mientras que a la edad de 85 años 1 de cada dos individuos está afectado con AD. La esperanza de vida media desde el diagnóstico inicial es 7-10 años, y los pacientes con AD requieren cuidados exhaustivos en un centro de vida asistida que es muy costoso o mediante miembros de la familia. Con el número en aumento de mayores de edad en la población, el AD es una preocupación médica creciente. En la actualidad, las terapias disponibles para el AD tratan solamente 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 de comportamiento asociados con esta dolencia.

Las características patológicas distintivas del cerebro de los pacientes con AD son ovillos neurofibrilares que se generan por hiperfosforilación de la proteína tau y las placas de amiloide que se forman por agregación de péptido beta-amiloide 1-42 (Abeta 1-42). Abeta 1-42 forma oligómeros y a continuación fibrillas, y por último placas de amiloide. Se cree que los oligómeros y las fibrillas son especialmente neurotóxicos y pueden causar la mayoría del daño neurológico asociado con AD. Los agentes que previenen la formación de Abeta 1-42 tienen el potencial de ser agentes modificadores de la enfermedad para el tratamiento de AD. Abeta 1-42 se genera a partir de la proteína precursora de amiloide (APP), que comprende 770 aminoácidos. La beta-secretasa (BACE) escinde el extremo N terminal de Abeta 1-42, y a continuación 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 se pueden agregar para formar oligómeros y fibrillas. De ese modo, se podría esperar que los inhibidores de BACE eviten la formación de Abeta 1-42 así como de Abeta 1-40, Abeta 1-38 y Abeta 1-43 y serían agentes terapéuticos potenciales en el tratamiento de AD. En los documentos de Patente WO 2006/076284 y WO 2009/022961 se desvelan inhibidores de BACE heterocíclicos.

45 Sumario de la invención

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



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

R¹, R², R³ se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halo, ciano, alquilo C₁₋₃, mono y polihalo-alquilo C₁₋₃, y cicloalquilo C₃₋₆;

55 R⁴ se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C₁₋₃, metoximetilo, cicloalquilo C₃₋₆, mono y polihalo-alquilo C₁₋₃, homoarilo, y heteroarilo;

X^1 , X^2 , X^3 , X^4 son independientemente $C(R^5)$ o N, con la condición de que no más de dos de los mismos representan N; R^5 se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, halo, ciano, alquilo C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y cicloalquilo C_{3-6} ;

L es un enlace o -NHCO-;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

en el que homoarilo es fenilo o fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C_{1-3} , alquiloxi C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y mono y polihalo-alquiloxi C_{1-3} ;

heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, oxazolilo, y oxadiazolilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C_{1-3} , alquiloxi C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y mono y polihalo-alquiloxi C_{1-3} ; o una sal de adición o un solvato del mismo.

Es ilustrativo de la invención una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquiera de los compuestos descritos anteriormente. Una ilustración de la invención es una composición farmacéutica preparada por mezcla de cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Es ilustrativo de la invención un proceso para preparar una composición farmacéutica que comprende mezclar cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

Son ejemplos de la invención métodos de tratamiento de un trastorno mediado por la enzima beta-secretasa, que comprenden administrar a un sujeto con necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritos anteriormente.

Además, son ejemplos de la invención métodos de inhibición de la enzima beta-secretasa, que comprenden administrar a un sujeto con necesidad de la misma una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritos anteriormente.

Un ejemplo de la invención es un método de tratamiento de un trastorno seleccionado entre el grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con apoplejía, demencia asociada con enfermedad de Parkinson o demencia asociada con beta-amiloide, preferentemente enfermedad de Alzheimer, que comprende administrar a un sujeto con necesidad del mismo, una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritos anteriormente.

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 apoplejía, (h) demencia asociada con enfermedad de Parkinson e (i) demencia asociada con beta-amiloide, en un sujeto con necesidad del mismo.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) como se han definido 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 de sitio beta, BACE, BACE1, Asp2 o memapsin 2), y son útiles en el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia asociada con apoplejía, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson y demencia asociada con beta-amiloide, preferentemente enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve o demencia, más preferentemente enfermedad de Alzheimer.

En una realización de la invención, R^1 , R^2 , R^3 se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halo, ciano, alquilo C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y cicloalquilo C_{3-6} ;

R^4 se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C_{1-3} , cicloalquilo C_{3-6} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , homoarilo, y heteroarilo;

X^1 , X^2 , X^3 , X^4 son independientemente $C(R^5)$ o N, con la condición de que no más de dos de los mismos representan N; R^5 se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, halo, ciano, alquilo C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y cicloalquilo C_{3-6} ;

L es un enlace o -NHCO-;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

en el que homoarilo es fenilo o fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C_{1-3} , alquiloxi C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y mono y polihalo-alquiloxi C_{1-3} ;

heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, oxazolilo, y oxadiazolilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C_{1-3} , alquiloxi C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y mono y polihalo-alquiloxi C_{1-3} ; o

una sal de adición o un solvato del mismo.

En una realización de la presente invención, R^1 , R^2 y R^3 se seleccionan independientemente entre hidrógeno y alquilo C_{1-3} ;

5 X^1 , X^2 , X^3 , X^4 son independientemente $C(R^5)$ en el que cada R^5 se selecciona entre hidrógeno y halo;

L es un enlace o -NHCO-;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

en el que homoarilo es fenilo o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C_{1-3} , alquilo C_{1-3} , y polihalo-alquilo C_{1-3} ;

10 heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en piridilo, pirimidilo, y pirazinilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C_{1-3} , alquilo C_{1-3} , y polihalo-alquilo C_{1-3} ; o

una sal de adición o un solvato del mismo.

15 En otra realización de la presente invención, R^1 , R^2 y R^3 son hidrógeno;

X^1 es CF;

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

L es un enlace o -NHCO-;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

20 en el que homoarilo es fenilo sustituido con cloro;

heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en piridilo y pirimidilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en cloro, flúor, ciano, metilo, y metoxi; o una sal de adición o un solvato del mismo.

25 En una realización de la invención, R^1 y R^3 son hidrógeno,

R^2 , es hidrógeno, flúor, o trifluorometilo;

R^4 es metilo o difluorometilo;

X^1 es CH o CF;

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

30 L es -NHCO-;

Ar es 5-cloropiridin-2-ilo, 5-cianopiridin-2-ilo, 5-fluoropiridin-2-ilo, 5-ciano-3-fluoropiridin-2-ilo, 5-metoxipirazin-2-ilo o 1-difluorometilpirazol-3-ilo; o una sal de adición o un solvato del mismo.

Definiciones

35 "Halo" indica flúor, cloro y bromo; "alquilo C_{1-3} " indica un grupo alquilo saturado lineal o ramificado que tiene 1, 2 o 3 átomos de carbono, por ejemplo metilo, etilo, 1-propilo y 2-propilo; "alquilo C_{1-3} " indica un radical éter en el que alquilo C_{1-3} es como se ha definido anteriormente; "mono y polihaloalquilo C_{1-3} " indican alquilo C_{1-3} como se ha definido anteriormente, sustituido con 1, 2, 3 o, cuando sea posible, con más átomos de halo como se ha definido anteriormente; "mono y polihaloalquilo C_{1-3} " indica un radical éter en el que mono y polihaloalquilo C_{1-3} es como se han definido anteriormente; "cicloalquilo C_{3-6} " indica ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo; "cicloalcanodiilo C_{3-6} " indica un radical divalente tal como ciclopropanodiilo, ciclobutanodiilo, ciclopentanodiilo y ciclohexanodiilo.

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

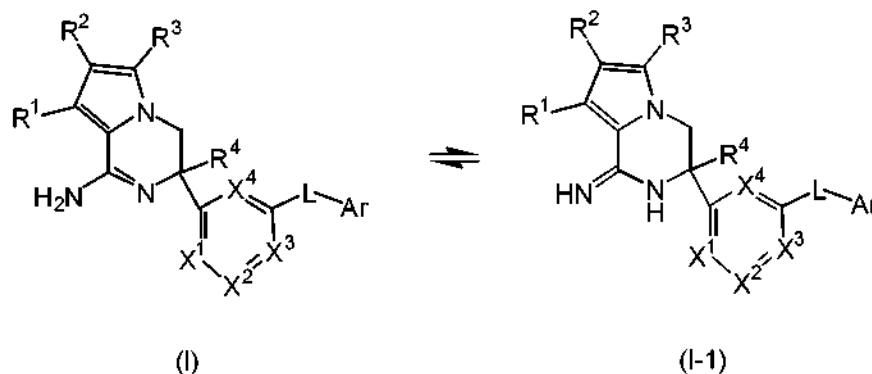
La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, significa la cantidad de compuesto o agente farmacéutico activo que provoca la respuesta biológica o medicinal en un sistema tisular, animal o ser humano que espera un investigador, veterinario, médico u otro clínico, que incluye el alivio de los síntomas de la enfermedad o trastorno que se está tratando.

50 Como se usa en el presente documento, el término "composición" pretende incluir un producto que comprende ingredientes específicos en cantidades específicas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de las combinaciones de los ingredientes específicos en las cantidades específicas.

55 Anteriormente, y en lo sucesivo, en el presente documento, la expresión "compuesto de fórmula (I)" pretende incluir las sales de adición, los solvatos y los estereoisómeros del mismo.

El término "estereoisómeros" o la expresión "formas estereoquímicamente isoméricas" se usan de forma intercambiable anteriormente, y en lo sucesivo, en el presente documento.

60 Los compuestos de Fórmula (I) coexisten en un equilibrio dinámico con los compuestos de Fórmula (I-1).



La invención incluye todos los estereoisómeros del compuesto de Fórmula (I) en forma de un estereoisómero puro o en forma de una mezcla de dos o más estereoisómeros.

Los enantiómeros son estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es un racemato o mezcla racémica. Los diastereómeros (o diastereoisómeros) son estereoisómeros que no son enantiómeros, es decir, no están relacionados como imágenes especulares. Si un compuesto contiene un doble enlace, los sustituyentes pueden estar en la configuración E o Z. Si un compuesto contiene un grupo cicloalquilo disustituído, los sustituyentes pueden estar en la configuración cis o trans. Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diastereómeros, racematos, isómeros E, isómeros Z, isómeros cis, isómeros grandes y las mezclas de los mismos.

La configuración absoluta se especifica de acuerdo con el sistema de Cahn-Ingold-Prelog. La configuración en un carbono asimétrico se especifica mediante R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta no se conoce se pueden denominar mediante (+) o (-) dependiendo de la dirección en la que hacen girar la luz polarizada plana.

Cuando se identifica un estereoisómero específico, esto significa que dicho estereoisómero está básicamente exento, es decir está asociado con menos de un 50 %, preferentemente menos de un 20 %, más preferentemente menos de un 10 %, incluso más preferentemente menos de un 5 %, en particular menos de un 2 % y lo más preferentemente menos de un 1 %, de los demás isómeros. Por lo tanto, cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica por ejemplo como (R), esto significa que el compuesto está básicamente exento del isómero (S); cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica por ejemplo como E, esto significa que el compuesto está básicamente exento del isómero Z; cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica por ejemplo como cis, esto significa que el compuesto está básicamente exento del isómero trans.

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

Para su uso en medicina, las sales de los compuestos de la presente invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas. Sin embargo, otras sales pueden ser útiles en la preparación de compuestos de acuerdo con la presente invención o sus sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos incluyen sales de adición de ácido que se pueden formar, por ejemplo, por mezcla de una solución del compuesto con una solución 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 metal alcalino, por ejemplo, sales de sodio o potasio; sales de metal alcalinotérreo, por ejemplo, sales de calcio o magnesio; y las sales formadas con ligandos orgánicos adecuados, por ejemplo, sales de amonio cuaternario.

Algunos ácidos representativos que se pueden usar 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 alginico, 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-hidroxi-etanosulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido D-glucónico, ácido D-glucurónico, ácido L-glutámico, ácido beta-oxo-glutámico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido (+)-L-láctico, ácido (±)-DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido maleico, ácido (-)-L-

málico, ácido malónico, ácido ($\pm$)-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-amino-salicílico, ácido sebácico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiocianico, ácido p-toluenosulfónico, ácido trifluorometil-sulfónico, y ácido undecilénico. Algunas bases representativas que se pueden usar en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, las siguientes: amoníaco, L-arginina, benetamina, benzatina, hidróxido de calcio, colina, dimetiletanolamina, dietanolamina, dietilamina, 2-(dietilamino)-etanol, etanolamina, etilendiamina, N-metil-glucamina, hidrabamina, 1H-imidazol, L-lisina, hidróxido de magnesio, 4-(2-hidroxietil)-morfolina, piperazina, hidróxido potásico, 1-(2-hidroxietil)-pirrolidina, amina secundaria, hidróxido sódico, trietanolamina, trometamina e hidróxido de cinc.

Los nombres químicos de los compuestos de la presente invención se generaron de acuerdo con las reglas de nomenclatura acordadas por el servicio *Chemical Abstracts Service*.

A. Preparación de los compuestos finales

Procedimiento experimental 1

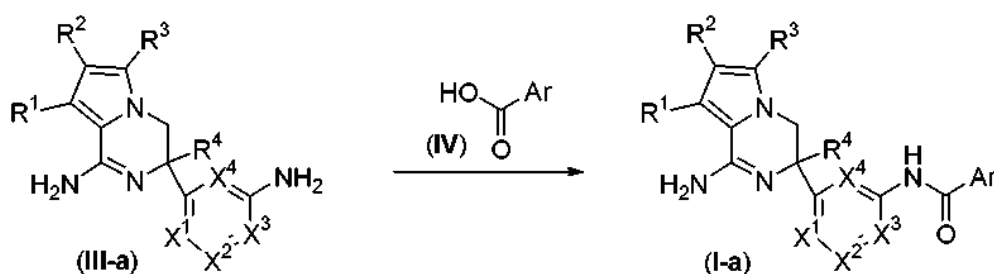
Los compuestos finales de acuerdo con la Fórmula (I), se pueden preparar por reacción de un compuesto intermedio de Fórmula (II) con una fuente de amoníaco apropiada tal como, por ejemplo, cloruro de amonio o amoníaco acuoso, de acuerdo con el Esquema de Reacción (1), reacción que se lleva a cabo en un disolvente adecuado inerte para la reacción, tal como, por ejemplo, agua o metanol, en unas condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción de 60 a 90 °C, por ejemplo durante 4 a 100 horas. En el Esquema de Reacción (1), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de Reacción 1

Procedimiento experimental 2

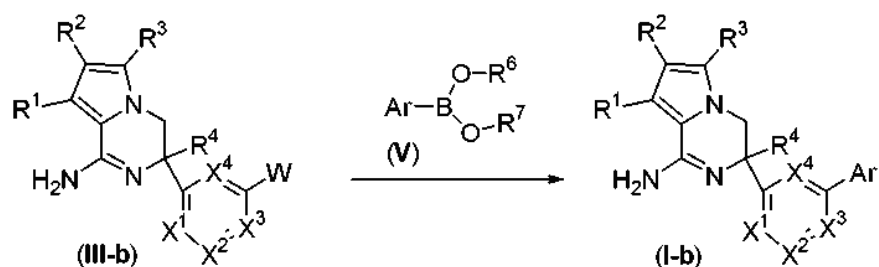
Además, los compuestos finales de acuerdo con la Fórmula (I-a) en la que L es -NHCO-, se pueden preparar por reacción de un compuesto intermedio de Fórmula (III-a) con un compuesto intermedio de Fórmula (IV) de acuerdo con el Esquema de Reacción (2), reacción que se lleva a cabo en un disolvente adecuado inerte para la reacción, tal como, por ejemplo, diclorometano, en presencia de un agente de condensación tal como por ejemplo cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio, en unas condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 25 °C, por ejemplo durante 2 horas. En el Esquema de Reacción (2), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de Reacción 2

Procedimiento experimental 3

Los compuestos finales de acuerdo con la Fórmula (I-b) en la que L es un enlace, se pueden preparar por reacción de un compuesto intermedio de Fórmula (III-b) con un compuesto intermedio de Fórmula (V) de acuerdo con el Esquema de Reacción (3), reacción que se lleva a cabo en un disolvente o una mezcla de disolventes adecuados inertes para la reacción, tales como, por ejemplo, 1,4-dioxano / etanol, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, carbonato potásico, un catalizador de complejo de Pd tal como, por ejemplo, tetraakis(trifenilfosfina)paladio (0) en unas condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 80 °C, por ejemplo durante 20 horas o por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 150 °C, durante 10 min a 30 min con irradiación de microondas. En el Esquema de Reacción (3), todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y W es halo. R⁶ y R⁷ pueden ser hidrógeno o alquilo, o se pueden tomar conjuntamente para formar, por ejemplo, un radical divalente de fórmula -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂- o -C(CH₃)₂C(CH₃)₂-.

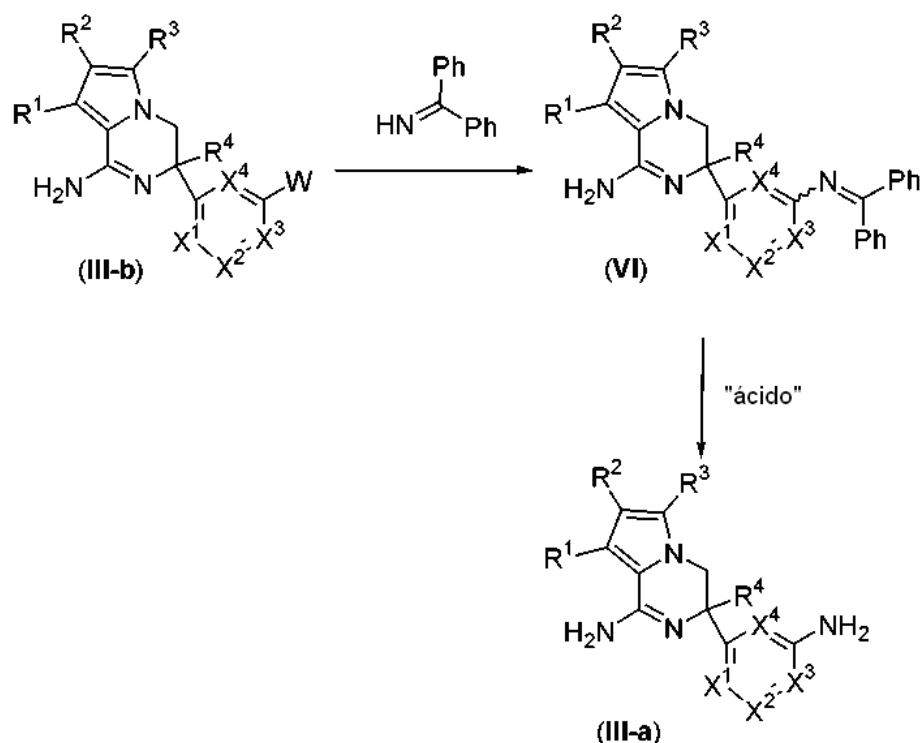
Esquema de Reacción 3

Diversos compuestos intermedios y materiales de partida de las preparaciones anteriores son compuestos conocidos que se pueden preparar de acuerdo con metodologías de preparación de dichos compuestos o compuestos similares conocidas en la técnica y algunos compuestos intermedios son nuevos. Cierta número de tales métodos de preparación se describirá en lo sucesivo en el presente documento con mayor detalle.

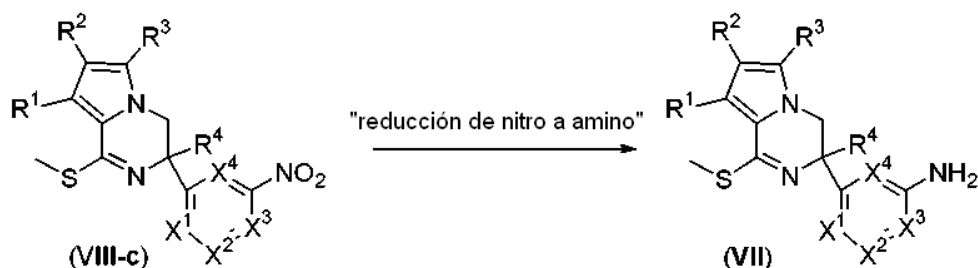
B. Preparación de los compuestos intermedios

Procedimiento experimental 4

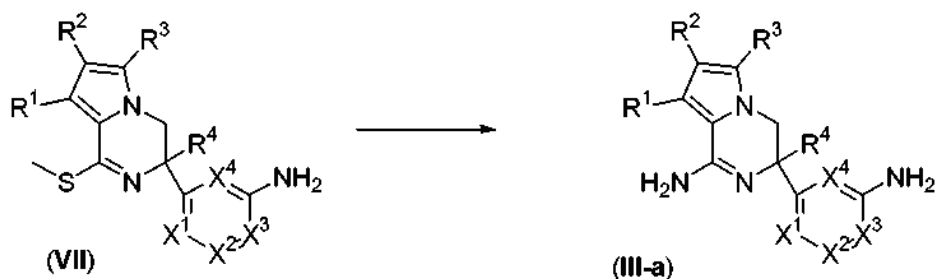
Los compuestos intermedios de acuerdo con la Fórmula (III-a) se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (III-b) siguiendo procedimientos de acoplamiento de tipo Buchwald-Hartwig conocidos en la técnica seguidos de hidrólisis ácida de acuerdo con el Esquema de Reacción (4). Dicho acoplamiento se puede llevar a cabo por tratamiento de los compuestos intermedios de Fórmula (III-b) con benzofenonaimina en un disolvente adecuado inerte para la reacción, tal como, por ejemplo, tolueno, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, *tert*-butóxido sódico, un catalizador de complejo de Pd tal como tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0), en unas condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 100 °C, por ejemplo durante 2 horas. El compuesto intermedio resultante de Fórmula (VI) se transforma a continuación en el compuesto intermedio de Fórmula (III-a) por tratamiento con un ácido fuerte, tal como, por ejemplo, ácido clorhídrico, en un disolvente adecuado inerte para la reacción, tal como por ejemplo, alcohol isopropílico, en unas condiciones térmicas tales como, por ejemplo, a 25 °C, por ejemplo durante 1 hora. Alternativamente, se puede obtener el compuesto intermedio de Fórmula (III-a) en una etapa partiendo de un compuesto intermedio de Fórmula (III-b), por medio de un acoplamiento catalizado con cobre en presencia de azida sódica, un ligando para el cobre, tal como *N,N'*-dimetiletilendiamina, una base adecuada tal como carbonato sódico, en un disolvente inerte para la reacción, tal como DMSO, en unas condiciones térmicas tales como calentamiento de la mezcla de reacción a 110 °C durante 25 horas. En el Esquema de Reacción (4), todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y W es halo.

Esquema de Reacción 4Procedimiento experimental 5

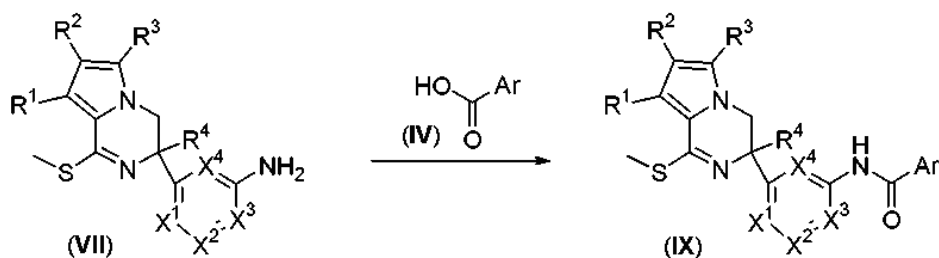
- 5 Los compuestos intermedios de acuerdo con la Fórmula (VII) se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (VIII-c) siguiendo procedimientos de reducción de nitro a amino conocidos en la técnica de acuerdo con el Esquema de Reacción (5). Por ejemplo, dicha reducción se puede llevar a cabo agitando los reactantes o haciéndolos pasar a través de un reactor de flujo en una atmósfera de hidrógeno y en presencia de un catalizador apropiado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón. Algunos disolventes adecuados son, por ejemplo, agua, alcoholes, por ejemplo metanol, etanol y similares, ésteres, por ejemplo acetato de etilo y similares.
- 10 Con el fin de aumentar la velocidad de dicha reacción de reducción puede ser ventajoso elevar la temperatura y/o la presión de la mezcla de reacción. Se puede evitar la hidrogenación adicional no deseada de ciertos grupos funcionales de los reactantes y de los productos de reacción mediante la adición de un veneno catalítico tal como, por ejemplo, tiofeno y similar, a la mezcla de reacción. En el Esquema de Reacción (5), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).
- 15

Esquema de Reacción 5Procedimiento experimental 6

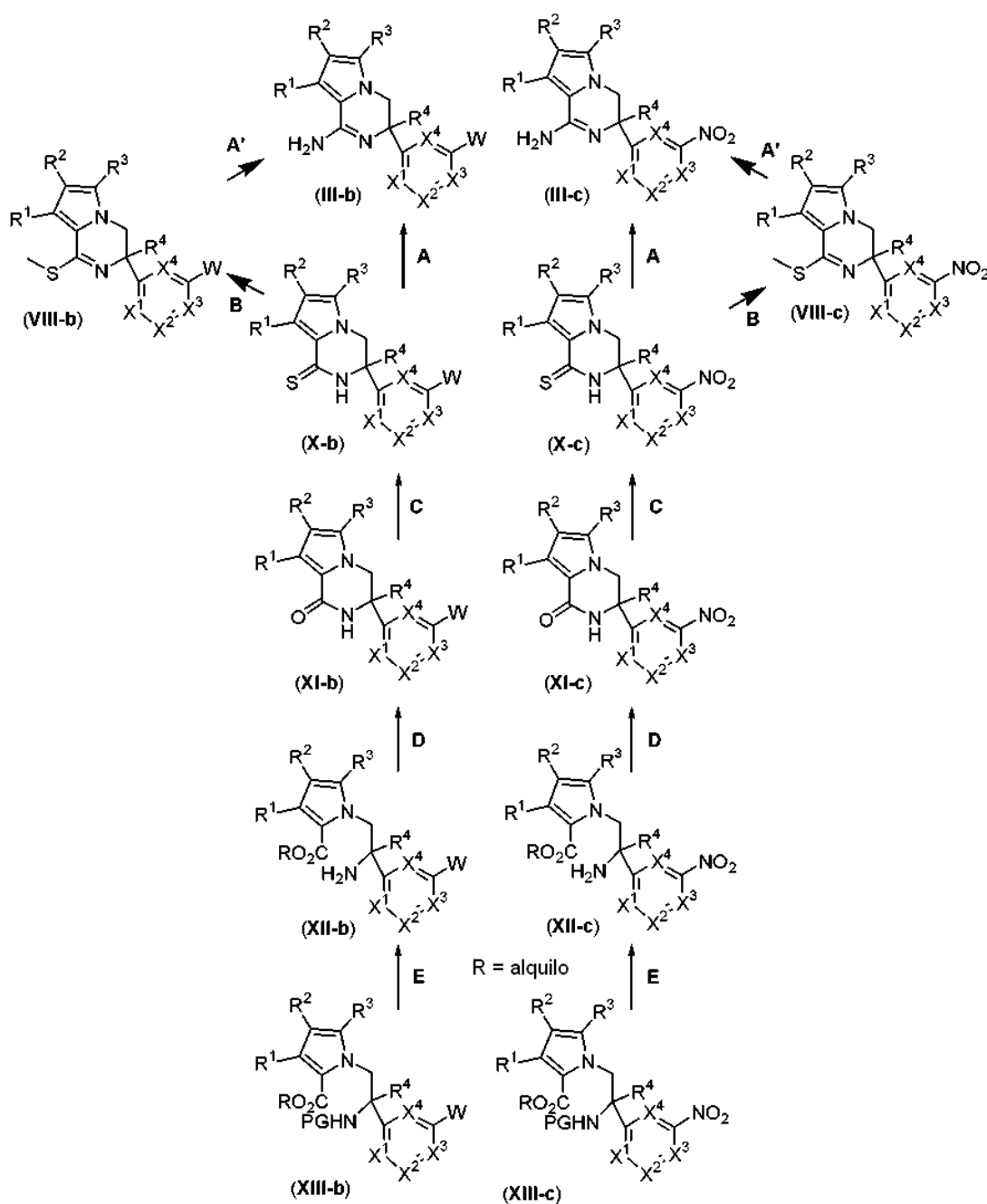
- 20 Los compuestos intermedios de Fórmula (III-a) se pueden preparar a partir de los compuestos intermedios de Fórmula (VII) de acuerdo con el Esquema de Reacción (6). Dicha conversión se puede llevar a cabo convenientemente por tratamiento de dicho compuesto intermedio con una fuente de amoníaco tal como, por ejemplo, cloruro de amonio y amoniaco etanólico, en unas condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 80 °C, por ejemplo durante 72 horas. En el Esquema de Reacción (6) todas las variables se definen como en la Fórmula (I).
- 25

Esquema de Reacción 6Procedimiento experimental 7

El compuesto intermedio de Fórmula (IX) en la que L es -NHCO-, se puede preparar por reacción de un compuesto intermedio de Fórmula (VII) con un compuesto intermedio de Fórmula (IV) de acuerdo con el Esquema de Reacción (7), reacción que se lleva a cabo en un disolvente adecuado inerte para la reacción, tal como, por ejemplo, metanol, en presencia de un agente de condensación tal como, por ejemplo, cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio, en unas condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 25 °C, por ejemplo durante 3 horas. En el Esquema de Reacción (7), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).

Esquema de Reacción 7Procedimiento experimental 8

Los compuestos intermedios de Fórmulas (III-b) y (III-c) se pueden preparar generalmente siguiendo las etapas de reacción mostradas en los siguientes Esquemas de Reacción (8) y (9).



Esquema de Reacción 8

A: conversión de tioamida en amidina

A': conversión de metiltio en amino

B: metilación del azufre

C: conversión de amida en tioamida (tionación)

D: ciclación

E: retirada de cualquier grupo protector de N

Los derivados de amidina en el Esquema de Reacción (8) anterior se pueden preparar convenientemente a partir de los correspondientes derivados de tioamida siguiendo procedimientos de conversión de tioamida en amidina conocidos en la técnica (etapa de reacción A). Dicha conversión se puede llevar a cabo convenientemente por tratamiento de dichas tioamidas con una fuente de amoníaco tal como, por ejemplo, cloruro de amonio o amoniaco acuoso, en un disolvente adecuado inerte para la reacción tal como, por ejemplo, agua o metanol y similar, en unas

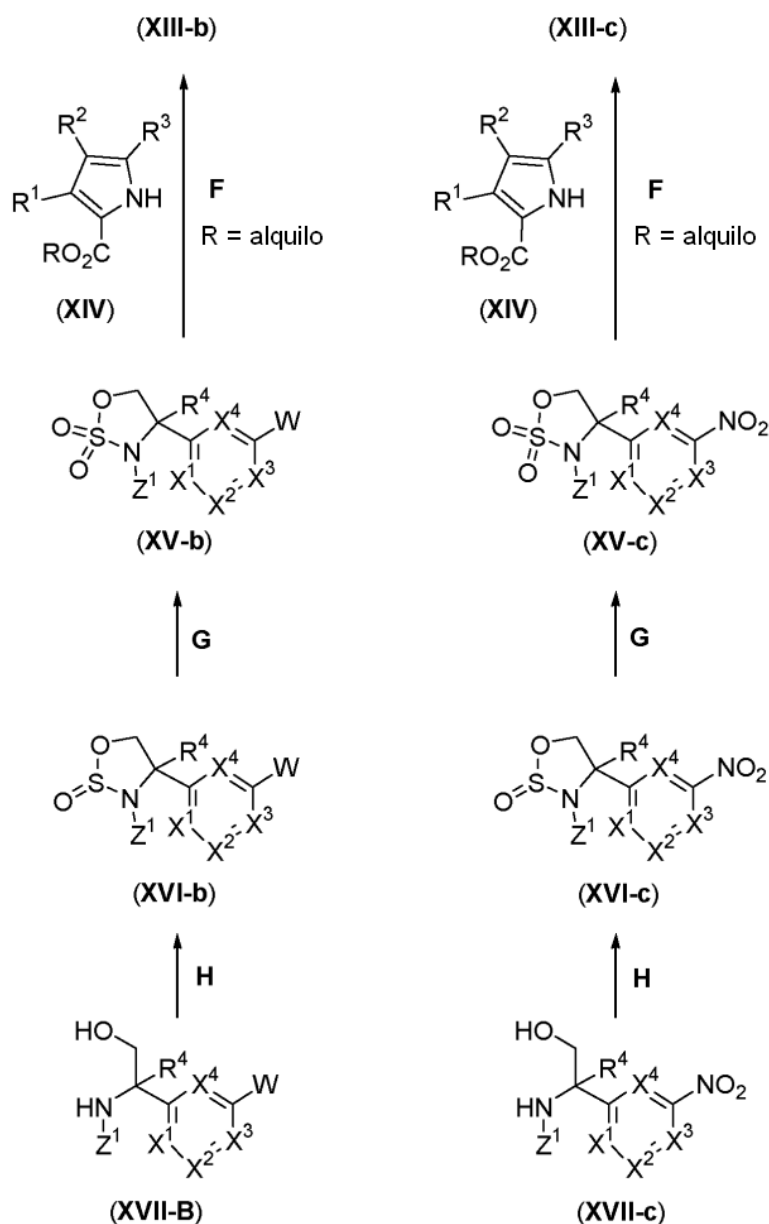
condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción de 60 a 90 °C, por ejemplo durante 6 a 100 horas. En condiciones similares, también se pueden convertir los compuestos intermedios metilados (VIII-b) y (VIII-c) en las amidinas deseadas (etapa de reacción A'). Los compuestos intermedios (VIII-b) y (VIII-c) se pueden preparar convenientemente partiendo de las correspondientes tioamidas, disueltos en un disolvente adecuado, tal como acetona, en presencia de una base, tal como carbonato potásico, y un agente de metilación, tal como yoduro de metilo, en unas condiciones térmicas tales como temperatura ambiente durante 3 horas (etapa de reacción B).

Los derivados de tioamida en el Esquema de Reacción (8) anterior se pueden preparar a partir de derivados de amida siguiendo procedimientos de tionación conocidos en la técnica (etapa de reacción C). Dicha conversión se puede llevar a cabo convenientemente por tratamiento de dichas amidas 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], en un disolvente inerte para la reacción tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano o 1,4-dioxano y similar, en presencia de una base adecuada tal como piridina en unas condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción de 50 a 100 °C, por ejemplo durante 24 horas.

Los derivados de amida de Fórmulas (XI-b) y (XI-c) en el Esquema de Reacción (8) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmulas (XII-b) y (XII-c) siguiendo procedimientos de ciclación conocidos en la técnica (etapa de reacción D). Dicha ciclación se puede llevar a cabo convenientemente por tratamiento de los compuestos intermedios de Fórmulas (XII-b) y (XII-c) con una base adecuada tal como acetato potásico o metóxido sódico, en un disolvente de reacción adecuado, tal como, por ejemplo, etanol y similar, de 55 °C a 100 °C, durante un periodo de tiempo que asegure la finalización de la reacción.

Los compuestos intermedios de Fórmulas (XII-b) y (XII-c) en el Esquema de Reacción (8) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmulas (XIII-b) y (XII-c) por retirada del grupo protector llevándose a cabo de acuerdo con procesos conocidos en la técnica.

Procedimiento experimental 9



Esquema de Reacción 9

F: Alquilación**G:** Oxidación de oxatiazolidina**H:** Formación de oxatiazolidina

- 5 Los compuestos intermedios de acuerdo con las Fórmulas (XIII-b) y (XIII-c) en el Esquema de Reacción (9) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmulas (XV-b) y (XV-c), en las que Z^1 es un grupo protector de amina tal como, por ejemplo, el grupo *tert*-butoxicarbonilo, siguiendo procedimientos de alquilación conocidos en la técnica (etapa de reacción F). Dicha alquilación se puede llevar a cabo convenientemente por tratamiento de (XV-b) y (XV-c) respectivamente con los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XIV) en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, carbonato sódico o carbonato de cesio, en un disolvente inerte adecuado tal como, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida o dimetilsulfóxido, a baja temperatura tal como, por ejemplo, 0 °C durante 30 min y a continuación a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 100 °C durante 24 horas a 100 horas o por ejemplo, calentando la mezcla de reacción a 130 °C, por ejemplo durante 30 min a 45 min con irradiación de microondas.

15

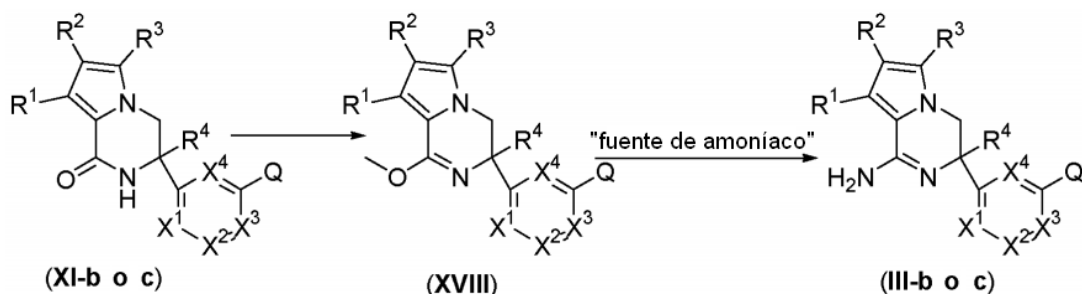
Los compuestos intermedios de acuerdo con las Fórmulas (XV-b) y (XV-c) en el Esquema de Reacción (9) anterior se pueden preparar por reacción de los compuestos intermedios de Fórmulas (XVI-b) y (XVI-c) siguiendo procedimientos de oxidación conocidos en la técnica (etapa de reacción G). Dicha oxidación se puede llevar a cabo convenientemente por tratamiento de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmulas (XVI-b) y (XVI-c) con un agente oxidante tal como, por ejemplo, peryodato sódico en un disolvente inerte adecuado tal como, por ejemplo, acetonitrilo/agua, en presencia de cloruro de rutenio (III) a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 25 °C, por ejemplo durante 2 horas.

Los compuestos intermedios de acuerdo con las Fórmulas (XVI-b) y (XVI-c) en el Esquema de Reacción (9) anterior se pueden preparar por reacción de los compuestos intermedios de Fórmulas (XVII-b) y (XVII-c) siguiendo procedimientos de formación de sulfamidato conocidos en la técnica (etapa de reacción H). Dicha transformación se puede llevar a cabo convenientemente por tratamiento de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XVII-b) y (XVII-c) con cloruro de tionilo, en presencia de una base tal como, por ejemplo, piridina, en un disolvente adecuado inerte para la reacción, tal como, por ejemplo, acetonitrilo, a baja temperatura tal como, por ejemplo, -40 °C, por ejemplo durante 30 min y a continuación a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 25 °C, por ejemplo durante 24 a 72 horas.

Los compuestos intermedios compuestos de Fórmulas (XVII-b) y (XVII-c), en las que Z¹ es un grupo protector de amina tal como, por ejemplo, el grupo *terc*-butoxicarbonilo, se pueden preparar generalmente siguiendo procedimientos de tipo Strecker conocidos en la técnica descritos en la literatura.

Procedimiento experimental 10

Los compuestos intermedios de Fórmula (XVIII) en la que Q es halo o nitro, se pueden preparar a partir de los compuestos intermedios de Fórmula (XI-b) o (XI-c) de acuerdo con el Esquema de Reacción (14), reacción que se lleva a cabo en un disolvente adecuado inerte para la reacción, tal como, por ejemplo, diclorometano, en presencia de un agente de metilación, tal como, por ejemplo, tetrafluoroborato de trimetiloxonio, en unas condiciones térmicas tales como, por ejemplo, a 25 °C, por ejemplo durante 4 días. A continuación, el compuesto intermedio (XVIII) se puede convertir además en las amidinas (III-b) y (III-c) por reacción con una fuente de amoníaco tal como, por ejemplo, cloruro de amonio y amoníaco etanólico, en unas condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 80 °C, por ejemplo durante 36 horas. En el Esquema de Reacción (10) todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y Q es halo o nitro.



Esquema de Reacción 10

Farmacología

Los compuestos de la presente invención y las composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos inhiben BACE y por lo tanto pueden ser útiles en el tratamiento o la prevención de enfermedad de Alzheimer (AD), deterioro cognitivo leve (MCI), senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia multiinfarto, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson y demencia asociada con beta-amiloide.

La invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula general (I), una forma estereoisomérica del mismo o una sal de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, para su uso como un medicamento.

La invención también se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula general (I), una forma estereoisomérica del mismo o una sal de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades o afecciones seleccionadas entre el grupo que consiste en AD, MCI, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia multiinfarto, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson y demencia asociada con beta-amiloide.

La invención también se refiere al uso de un compuesto de acuerdo con la Fórmula general (I), una forma estereoisomérica del mismo o una sal de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, para la preparación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una cualquiera de las patologías mencionadas anteriormente en el presente documento.

A la vista de la utilidad del compuesto de Fórmula (I), se proporciona un método de tratamiento de animales de sangre caliente, incluyendo seres humanos, que padecen, o un método de prevención en animales de sangre caliente, incluyendo seres humanos, que padecen una cualquiera de las enfermedades mencionadas anteriormente en el presente documento.

Dichos métodos comprenden la administración, es decir la administración sistémica o tópica, preferentemente en la administración oral, de una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I), una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo, a un animal de sangre caliente, incluyendo un ser humano.

Un método de tratamiento también puede incluir el ingrediente activo en un régimen de una a cuatro tomas por día. En estos métodos de tratamiento los compuestos de acuerdo con la invención se formulan preferentemente antes de la administración. Como se describe posteriormente en el presente documento, las formulaciones farmacéuticas adecuadas se preparan mediante procedimientos conocidos usando ingredientes bien conocidos y fácilmente disponibles.

Los compuestos de la presente invención, que pueden ser adecuados para tratar o prevenir enfermedad de Alzheimer o los síntomas de la misma, se pueden administrar solos o en combinación con uno o más agentes terapéuticos. La terapia de combinación incluye la administración de una formulación de dosificación farmacéutica individual que contiene un compuesto de Fórmula (I) y uno o más agentes terapéuticos adicionales, así como la administración del compuesto de Fórmula (I) y cada agente terapéutico adicional en su propia formulación de dosificación farmacéutica distinta. Por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I) y un agente terapéutico se pueden administrar al paciente conjuntamente en una composición de dosificación oral individual tal como un comprimido o cápsula, o cada agente se puede administrar en formulaciones de dosificación orales distintas.

Composiciones farmacéuticas

La presente invención también proporciona composiciones para la prevención o el tratamiento de enfermedades en las que la inhibición de la beta-secretasa es beneficiosa, tales como enfermedad de Alzheimer (AD), deterioro cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con apoplejía, demencia asociada con enfermedad de Parkinson y demencia asociada con beta-amiloide. Dichas composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aunque es posible que el ingrediente activo se administre solo, es preferente presentarlo en forma de una composición farmacéutica. Por lo tanto, la presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la presente invención, en combinación con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable. El vehículo o diluyente debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de la composición y no perjudicial para los receptores de la misma.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden preparar mediante cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia. Se combina una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto en particular, en forma de base o en forma de sal de adición, como ingrediente activo, en una mezcla íntima con un vehículo farmacéuticamente aceptable, que puede tomar una gran diversidad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas están deseablemente en una forma de dosificación unitaria adecuada, preferentemente para administración sistémica tal como administración oral, percutánea o parenteral; o administración tópica tal como mediante inhalación, pulverización nasal, gotas oculares o mediante una crema, gel, champú o similar. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, se puede emplear 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 soluciones; o vehículos sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean obviamente vehículos farmacéuticos sólidos. Para las composiciones parenterales, el vehículo comprenderá habitualmente agua estéril, al menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo, para ayudar a la solubilidad. Se pueden preparar soluciones inyectables, por ejemplo, en las que el vehículo comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y de glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables en cuyo caso se pueden emplear vehículos líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el vehículo comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, combinados opcionalmente con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones minoritarias, no

causando los aditivos ningún efecto perjudicial en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de diversas formas, por ejemplo, en forma de un parche transdérmico, en forma de una aplicación en una zona limitada o en forma de una pomada.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en una forma unitaria de dosificación por su facilidad de administración y uniformidad de dosificación. Forma unitaria de dosificación, como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada del ingrediente activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado junto con el vehículo farmacéutico requerido. Algunos ejemplos de tales formas unitarias de dosificación son comprimidos (incluyendo comprimidos con incisiones o revestidos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y múltiples divididos de las mismas.

La dosificación exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto de Fórmula (I) usado en particular, la afección en particular que se está tratando, la gravedad de la afección que se está tratando, la edad, peso, sexo, grado de trastorno y condición física general del paciente en particular así como de las demás medicaciones que esté tomando el individuo, como conocen bien los expertos en la materia. Además, es evidente que dicha cantidad diaria eficaz se puede disminuir o aumentar dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la presente invención.

Dependiendo de la vía de administración, la composición farmacéutica comprenderá de un 0,05 a un 99 % en peso, preferentemente de un 0,1 a un 70 % en peso, más preferentemente de un 0,1 a un 50 % en peso del ingrediente activo, y de un 1 a un 99,95 % en peso, preferentemente de un 30 a un 99,9 % en peso, más preferentemente de un 50 a un 99,9 % en peso de un vehículo farmacéuticamente aceptable, basándose todos los porcentajes en el peso total de la composición.

Los presentes compuestos se pueden usar para administración sistémica tal como administración oral, percutánea o parenteral; o administración tópica tal como mediante inhalación, pulverización nasal, gotas oculares o mediante una crema, gel, champú o similar. Los compuestos se administran preferentemente por vía oral. La dosificación exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) usado en particular, la afección en particular que se está tratando, la gravedad de la afección que se está tratando, la edad, peso, sexo, grado de trastorno y condición física general del paciente en particular así como de las demás medicaciones que esté tomando el individuo, como conocen bien los expertos en la materia. Además, es evidente que dicha cantidad diaria eficaz se puede disminuir o aumentar 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 se puede combinar con un material de vehículo para producir una forma de dosificación individual variará dependiendo de la enfermedad tratada, la especie de mamífero, y la vía de administración en particular. Sin embargo, como guía general, las dosificaciones unitarias adecuadas para los compuestos de la presente invención puede contener preferentemente, por ejemplo, de 0,1 mg a aproximadamente 1000 mg del compuesto activo. Una dosis unitaria preferente es de 1 mg a aproximadamente 500 mg. Una dosis unitaria más preferente es de 1 mg a aproximadamente 300 mg. Una dosis unitaria incluso más preferente es de 1 mg a aproximadamente 100 mg. Tales dosis unitarias se pueden administrar más de una vez al día, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6 veces al día, pero preferentemente 1 o 2 veces por día, de modo que la dosificación total para un adulto de 70 kg esté en el intervalo de 0,001 a aproximadamente 15 mg por kg de sujeto por administración. Una dosificación preferente es de 0,01 a aproximadamente 1,5 mg por kg de sujeto por administración, y tal terapia se puede prolongar durante diversas semanas o meses y, en algunos casos, años. Sin embargo, se entenderá que el nivel de dosificación específico para cualquier paciente en particular dependerá de una diversidad de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado; la edad, peso corporal, estado general de salud, sexo y dieta del individuo que se está tratando; el tiempo y la vía de administración; la velocidad de excreción; otros fármacos que se hayan administrado previamente; y la gravedad de la enfermedad en particular sujeta a terapia, como entienden bien los expertos en la materia.

En algunos casos, puede ser necesario usar dosificaciones fuera de estos intervalos como será evidente para los expertos en la materia. Además, se ha de observar que el clínico o médico responsable del tratamiento sabrá cuándo y cómo comenzar, interrumpir, ajustar, o terminar la terapia junto con la respuesta del paciente.

Se pretende que los siguientes ejemplos ilustren pero no limiten el alcance de la presente invención.

Parte experimental

En lo sucesivo en el presente documento, el término "AcOH" significa ácido acético, "AcOEt" significa acetato de etilo, "DCM" significa diclorometano, "DIPE" significa diisopropiléter, "DMF" significa *N,N*-dimetilformamida, "DMSO" significa dimetilsulfóxido, "Et₂O" significa éter dietílico, "Et₃N" significa trietilamina, "EtOH" significa etanol, "MeCN" significa acetonitrilo, "DCE" significa 1,2-dicloroetano, "MeOH" significa metanol, "p.f." significa punto de fusión, "rac"

significa racémico, "R_t" significa tiempo de retención, "THF" significa tetrahidrofurano, "K₂CO₃" significa carbonato potásico, "NH₃" significa amoníaco, "NH₄Cl" significa cloruro de amonio, "HCl" significa ácido clorhídrico, "Na₂SO₄" significa sulfato sódico, "NaHCO₃" significa bicarbonato sódico, "KHSO₄" significa hidrogenosulfato potásico, "MgSO₄" significa sulfato de magnesio, "H₂O" significa agua, "TFA" significa ácido trifluoroacético, "sat." significa saturado, "ac." significa acuoso, "min" significa minuto, "Pd₂(dba)₃" significa tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0), "Pd(PPh₃)₄" significa tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) "BINAP" significa 2,2'-bis(difenilfosfina)-1,1'-binaftilo, "TBAF" significa fluoruro de tetrabutilamonio, "NaH" significa hidruro sódico, "DDQ" significa 2,3-dicloro-5,6-diciano-1,4-benzoquinona, "DBU" significa 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno.

Las reacciones asistidas por microondas se llevaron a cabo en un reactor de modo individual: reactor de microondas Emrys™ Optimizer (Personal Chemistry A.B., actualmente Biotage).

Las reacciones de hidrogenación se llevaron a cabo en un hidrogenador de flujo continuo H-CUBE® de ThalesNano Nanotechnology Inc.

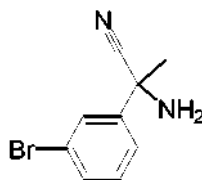
La cromatografía en capa fina (TLC) se llevó a cabo sobre placas de gel de sílice 60 F254 (Merck) usando disolventes de calidad de reactivo. La cromatografía en columna abierta se llevó a cabo sobre gel de sílice, tamaño de partícula de 60 Å, malla = 230-400 (Merck) usando técnicas convencionales. La cromatografía en columna ultrarrápida se llevó a cabo usando cartuchos listos para conectar de Merck, sobre gel de sílice irregular, tamaño de partícula de 15-40 µm (columnas ultrarrápidas desechables de capa normal) en un sistema SPOT o LAFLASH de Armen Instrument.

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 341 con una lámpara de sodio y se informaron como sigue a continuación: $[\alpha]^{\circ}(\lambda, c \text{ g/100 ml, disolvente, } T^{\circ}\text{C})$.

A. Preparación de los compuestos intermedios

Ejemplo A1

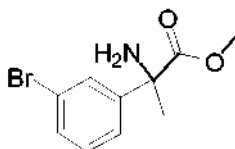
Preparación del compuesto intermedio A1:



Se añadió cianuro de trimetilsililo (20 g, 200 mmol) a una solución agitada de 3-bromo-acetofenona (20 g, 100 mmol) y NH₄Cl (11 g, 200 mmol) en NH₃/MeOH (400 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. A continuación el disolvente se evaporó al vacío y el residuo se recogió en AcOEt (100 ml). El sólido se retiró por filtración y el filtrado se evaporó al vacío para producir el compuesto intermedio A1 (20 g, 86 % de rendimiento), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A2

Preparación del compuesto intermedio A2:



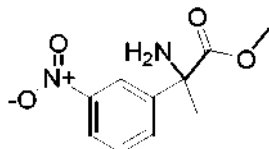
El compuesto intermedio A1 (20 g, 88,9 mmol) se disolvió en HCl/MeOH (500 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 4 días. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron AcOEt (100 ml) y H₂O (100 ml) y la mezcla se extrajo con AcOEt (2 x 100 ml). Las fases ac. combinadas se basificaron con una solución ac. de NH₃ a pH = 8 y se extrajeron con AcOEt (5 x 100 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A2 (10,6 g, 46 % de rendimiento) en forma de un aceite.

El siguiente compuesto intermedio se preparó de acuerdo con los procedimientos sintéticos que se han descrito en los ejemplos A1-A2:

Ejemplo A3

5

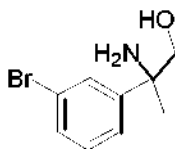
Preparación del compuesto intermedio A3:



- 10 A partir de rac-2-amino-2-(3-nitro-fenil)-propionitrilo. Cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en éter de petróleo de 1/10 a 1/4) para producir el compuesto intermedio 3 (63 % de rendimiento).

Ejemplo A4

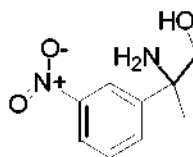
- 15 Preparación del compuesto intermedio A4:



- 20 Se añadió gota a gota hidruro de litio y aluminio (1 M en THF; 22 ml, 22 mmol) a una solución agitada del compuesto intermedio A2 (7,5 g, 29,1 mmol) en THF (200 ml) a -15 °C. La mezcla se dejó calentar lentamente a 0 °C durante 1 hora. Se añadió más THF (150 ml) y se añadió gota a gota una solución sat. de Na₂SO₄ hasta que no se formó más hidrógeno. Se añadió Na₂SO₄ anhidro y la reacción se mantuvo en agitación durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla se filtró sobre tierra de diatomeas, se lavó con THF y el disolvente se evaporó al vacío.
- 25 El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; solución 7 M de NH₃ en MeOH en DCM de 0/100 a 3/97). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A4 (5,70 g, 85 % de rendimiento) en forma de un aceite.

Ejemplo A5

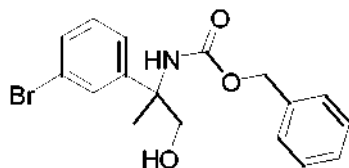
- 30 Preparación del compuesto intermedio A5:



- 35 Se añadió en porciones borohidruro sódico (16,3 g, 429,4 mmol) a una solución agitada del compuesto intermedio A3 (48,3 g, 214,7 mmol) en MeOH (500 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 horas. El disolvente se evaporó al vacío. El residuo se basificó con una solución sat. ac. de NaHCO₃ hasta pH = 9 y se extrajo con AcOEt (3 x 200 ml). Las fases orgánicas se secaron (Na₂SO₄), se filtraron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A5 (30,26 g, 72 % de rendimiento).

Ejemplo A6

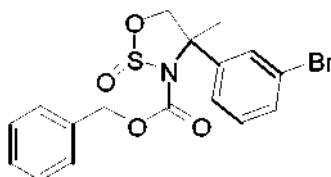
Preparación del compuesto intermedio A6:



Se añadió en porciones cloruro de benzoílo (4,66 ml, 32,6 mmol) a una solución agitada del compuesto intermedio A4 (5 g, 21,73 mmol) en una mezcla de NaHCO_3 sat. (10 ml) y THF (10 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 10 min y a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla se enfrió en un baño de hielo/ H_2O y se acidificó con agitación a pH = 1-2 con KHSO_4 . La fase orgánica se separó y la fase ac. se extrajo además con AcOEt. Las fases orgánicas combinadas se separaron, se secaron (MgSO_4), se filtraron y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 20/80). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A6 (7,8 g, 98 % de rendimiento) en forma de un aceite incoloro.

Ejemplo A7

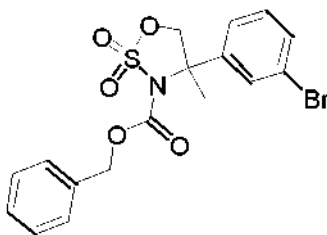
Preparación del compuesto intermedio A7:



Una solución del compuesto intermedio A6 (8 g, 21,9 mmol) en MeCN seco (20 ml) se añadió gota a gota a una solución agitada de cloruro de tionilo (4,01 ml, 54,9 mmol) en MeCN seco (100 ml) enfriada a -40 °C y en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 60 min a -40 °C antes de añadir piridina (8,84 ml, 109,8 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 14 horas. El disolvente se evaporó al vacío. El residuo se trató con Et_2O y los sólidos se retiraron por filtración y el filtrado se concentró al vacío para producir el compuesto intermedio A7 (8 g, 89 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo pálido. El producto se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Ejemplo A8

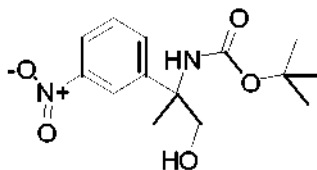
Preparación del compuesto intermedio A8:



Se añadió cloruro de rutenio (III) (41 mg, 0,195 mmol) a una mezcla del compuesto intermedio A7 (8 g, 19,5 mmol) en MeCN/ H_2O (1:1) (210 ml) a 0 °C, seguido de la adición de peryodato sódico (6,26 g, 29,25 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La mezcla se diluyó con AcOEt, se filtró a través de tierra de diatomeas y se lavó con AcOEt. Se añadieron H_2O y AcOEt al filtrado. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A8 (8 g, 96 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo pálido.

Ejemplo A9

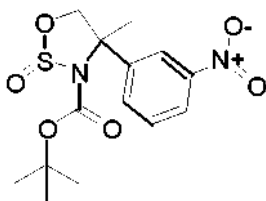
Preparación del compuesto intermedio A9:



Se añadió en porciones dicarbonato de di-*tert*-butilo (10 g, 45,87 mmol) a una solución agitada del compuesto intermedio A5 (3 g, 15,29 mmol) en una mezcla de NaHCO₃ sat. (50 ml) y THF (50 ml) a 0 °C. La mezcla se agitó a 0 °C durante 10 min y a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla se enfrió en un baño de hielo/H₂O y se acidificó con agitación a pH = 1-2 con KHSO₄. La fase orgánica se separó y la fase ac. se extrajo además con AcOEt. Las fases orgánicas combinadas se separaron, se secaron (MgSO₄), se filtraron y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 100/0). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A6 (4,5 g, 99 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo pálido, que solidificó después de un periodo de reposo.

Ejemplo A10

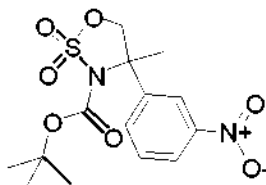
Preparación del compuesto intermedio A10:



Una solución del compuesto intermedio A9 (4,5 g, 15,18 mmol) en MeCN seco (20 ml) se añadió gota a gota a una solución agitada de cloruro de tionilo (2,771 ml, 37,96 mmol) en MeCN seco (80 ml) enfriada a -40 °C y en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min a -40 °C antes de añadir piridina (6,12 ml, 75,93 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. El disolvente se evaporó al vacío. El residuo se trató con Et₂O. Los sólidos se retiraron por filtración y el filtrado se concentró al vacío para producir el compuesto intermedio A10 (4,8 g, 92 % de rendimiento) en forma de un aceite. El producto se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Ejemplo A11

Preparación del compuesto intermedio A11

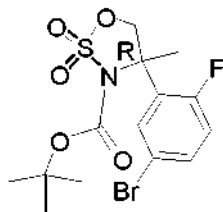


Se añadió cloruro de rutenio (III) (29,5 mg, 0,14 mmol) a una mezcla del compuesto intermedio A10 (4,8 g, 14,02 mmol) en MeCN/H₂O (1:1) (100 ml) a 0 °C, seguido de la adición de peryodato sódico (4,5 g, 21,03 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La mezcla se diluyó con AcOEt, se filtró a través de tierra de diatomeas y se lavó con AcOEt. Se añadieron H₂O y salmuera al filtrado. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A11 (4,9 g, 97 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo pálido.

El compuesto intermedio A12 se preparó de acuerdo con los procedimientos sintéticos que se han descrito en los ejemplos A9-A11:

Ejemplo A12

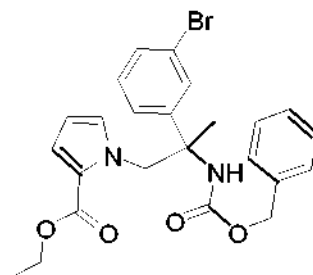
Preparación del compuesto intermedio A12: (*R*)-[3-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-metil-[1,1,3]oxatiazolidina-2,2-dióxido



Preparado a partir de (*R*)-[3-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-metil-[1,1,3]oxatiazolidina-2-óxido (14,5 g, 36,79 mmol). Cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM) para producir el compuesto intermedio A12 en forma de un sólido de color blanco (11,6 g, 77 % de rendimiento).

Ejemplo A13

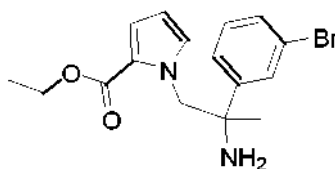
Preparación del compuesto intermedio A13:



Se añadió carbonato de cesio (3,06 g, 9,83 mmol) a una mezcla del compuesto intermedio A8 (2 g, 4,69 mmol) y éster de etilo del ácido 1H-pirrol-2-carboxílico (763 mg, 6,1 mmol) en MeCN (16 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 130 °C durante 30 min con irradiación de microondas. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con H₂O. La fase orgánica se separó y se trató con H₂O (10 ml) y se extrajo con DCM (2 x 10 ml). La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A13 (1,7 g, 77 % de rendimiento) en forma de un aceite incoloro.

Ejemplo A14

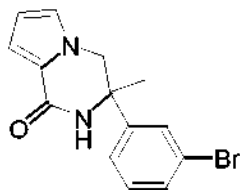
Preparación del compuesto intermedio A14:



Se añadió trifluoruro de boro-eterato de dietilo (4,53 ml, 36,1 mmol) al compuesto intermedio A13 (1,7 g, 3,61 mmol) seguido de etanotiol (8,01 ml, 108,2 mmol) a 0 °C en un tubo cerrado herméticamente. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó a 60 °C durante 3 horas. Los disolventes se evaporaron al vacío y el residuo se disolvió en DCM y se lavó con NaHCO₃ sat. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM, 0/100 a 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A14 (950 mg, 78 % de rendimiento) en forma de un aceite incoloro.

Ejemplo A15

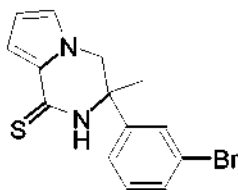
Preparación del compuesto intermedio A15:



- 5 Se añadió metóxido sódico al 25 % en peso en MeOH (1,284 ml, 5,36 mmol) a una solución del compuesto intermedio A14 (950 mg, 2,82 mmol) en MeOH (8 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 55 °C durante 18 horas. El disolvente se evaporó al vacío. El residuo se trató con una solución ac. sat. de NH₄Cl y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A15 (850 mg, 99 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A16

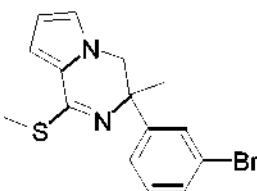
Preparación del compuesto intermedio A16:



- 20 Se añadió pentasulfuro de fósforo (940 mg, 4,23 mmol) a una solución del compuesto intermedio A15 (860 mg, 2,82 mmol) en piridina (7 ml) y la mezcla se calentó a 110 °C durante 38 horas. El disolvente se evaporó al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna corta (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 100/0). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A16 (830 mg, 92 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo.

Ejemplo A17

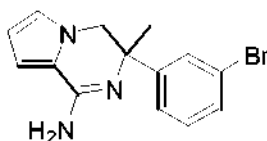
Preparación del compuesto intermedio A17:



- 30 Se añadieron yoduro de metilo (0,267 ml, 4,296 mmol) y K₂CO₃ (0,59 g, 4,296 mmol) a una solución del compuesto intermedio A16 (690 mg, 2,15 mmol) en acetona (10 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente se evaporó al vacío y el producto en bruto se recogió en DCM (25 ml) y H₂O (25 ml). La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM, 0/100 a 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A17 (700 mg, 97 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A18

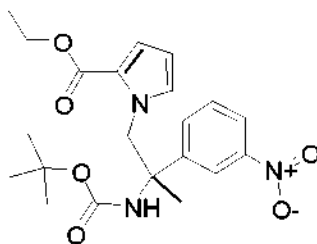
Preparación del compuesto intermedio A18:



Se añadió NH_4Cl (447 mg, 8,35 mmol) a una suspensión del compuesto intermedio A17 (700 mg, 2,09 mmol) en una solución 2 M de NH_3 en EtOH (39,67 ml, 79,34 mmol) y la mezcla se calentó a 90 °C durante 24 horas. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se suspendió en una solución 2 M de NH_3 en EtOH (20 ml, 40 mmol). Se añadió NH_4Cl (447 mg, 8,35 mmol) y la mezcla se calentó a 90 °C durante 2 días. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se suspendió en DCM y se lavó con H_2O . La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; solución 7 M de NH_3 en MeOH/DCM de 0/100 a 20/80). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A18 (550 mg, 86 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A19

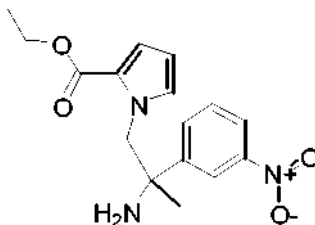
Preparación del compuesto intermedio A19:



Se añadió carbonato de cesio (2,73 g, 8,37 mmol) a una mezcla del compuesto intermedio A11 (1,5 g, 4,186 mmol) y éster de etilo del ácido 1H-pirrol-2-carboxílico (681 mg, 5,441 mmol) en MeCN (16 ml). La mezcla se agitó a 130 °C durante 30 min con irradiación de microondas. La mezcla de reacción se diluyó con DCM y se lavó con HCl ac. (1 N). La fase orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A19 (1,5 g, 89 % de rendimiento) en forma de un aceite incoloro.

Ejemplo A20

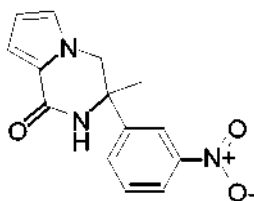
Preparación del compuesto intermedio A20:



Se añadió HCl (9,295 ml, 37,181 mmol, 4 M en 1,4-dioxano) al compuesto intermedio A19 (1,5 g, 3,718 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se suspendió en DCM y se lavó con una solución ac. sat. de NaHCO_3 . La fase orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A20 (1,1 g, 97 % de rendimiento) que se usó en la siguiente de reacción sin purificación adicional.

Ejemplo A21

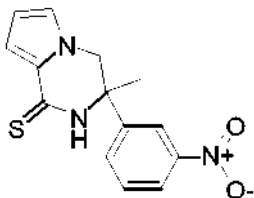
Preparación del compuesto intermedio A21:



Se añadió metóxido sódico al 25 % en peso en MeOH (0,909 ml, 3,99 mmol) a una solución del compuesto intermedio A20 (1,1 g, 3,63 mmol) en MeOH (10 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 65 °C durante 18 horas. El disolvente se evaporó al vacío. El residuo se trató con una solución ac. sat. de NH₄Cl y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt). Las fracciones deseadas se recogieron, los disolventes se evaporaron al vacío y el residuo resultante se trituroó con DIPE para producir el compuesto intermedio A21 (650 g, 66 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo A22

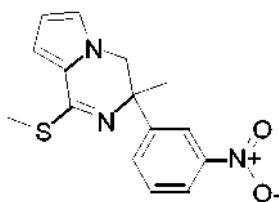
Preparación del compuesto intermedio A22:



Se añadió pentasulfuro de fósforo (799 mg, 3,59 mmol) a una solución del compuesto intermedio A21 (650 mg, 2,4 mmol) en piridina (10 ml) y la mezcla se calentó a 100 °C durante 18 horas. El disolvente se evaporó al vacío y el producto en bruto se purificó por cromatografía en columna corta (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 100/0). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A22 (535 mg, 78 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo.

Ejemplo A23

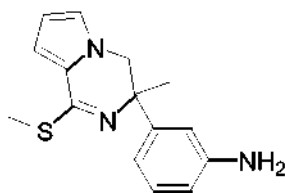
Preparación del compuesto intermedio A23:



Se añadieron yoduro de metilo (0,232 ml, 3,724 mmol) y K₂CO₃ (0,515 g, 3,724 mmol) a una solución del compuesto intermedio A22 (535 mg, 1,86 mmol) en acetona (10 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente se evaporó al vacío y el producto en bruto se recogió en DCM (25 ml) y H₂O (25 ml). La fase orgánica se separó, y la fase ac. se extrajo con DCM (3 x 25 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄), se filtraron y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM, 0/100 a 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A23 (490 mg, 87 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A24

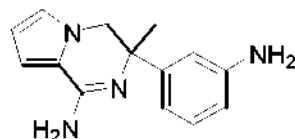
Preparación del compuesto intermedio A24:



Una solución del compuesto intermedio A23 (490 mg, 1,626 mmol) en EtOH (28 ml) se hidrogenó en un reactor de cuba en H (1 ml/min, cartucho de 30 mm de Pd/C al 5 %, modo H₂ completo, temperatura ambiente, 2 ciclos). A continuación, los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; NH₃ 7 M en MeOH en DCM, 0/100 a 10/90). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A24 (100 mg, 23 % de rendimiento) en forma de un aceite incoloro.

Ejemplo A25

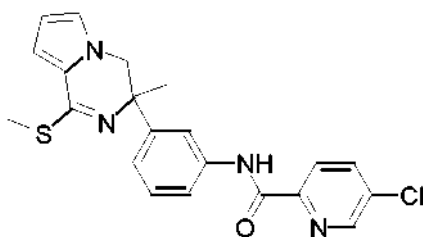
Preparación del compuesto intermedio A25:



Se añadió NH₄Cl (78,8 mg, 1,474 mmol) a una solución del compuesto intermedio A24 (100 mg, 0,368 mmol) en una solución 2 M de NH₃ en EtOH (7 ml, 14 mmol) y la mezcla se calentó a 80 °C durante 3 días. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se suspendió en DCM y se lavó con H₂O. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; solución 7 M de NH₃ en MeOH/DCM de 0/100 a 20/80). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A25 (80 mg, 90 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A26

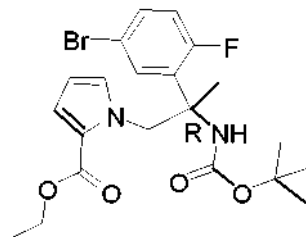
Preparación del compuesto intermedio A26:



Se añadió ácido 5-cloro-piridina-2-carboxílico (172 mg, 1,09 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (330 mg, 1,19 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió una solución del compuesto intermedio A24 (270 mg, 0,995 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La mezcla se trató con una solución sat. de Na₂CO₃ y H₂O y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en heptano 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A26 (200 mg, 49 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo A27

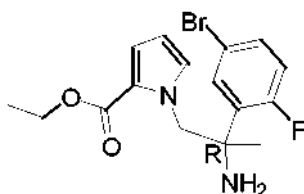
Preparación del compuesto intermedio A27:



Se añadió carbonato de cesio (18,27 g, 56,06 mmol) a una mezcla del compuesto intermedio A12 (11,5 g, 28,01 mmol) y éster de etilo del ácido 1H-pirrol-2-carboxílico (4,56 g, 36,44 mmol) en MeCN (40 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 min y a continuación se calentó a 130 °C durante 30 min con irradiación de microondas. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con H₂O. La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM/heptano, 90/10). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A27 (10,7 g, 83 % de rendimiento) en forma de un sólido pegajoso.

Ejemplo A28

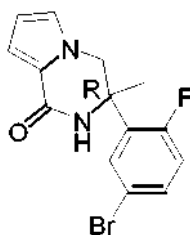
Preparación del compuesto intermedio A28:



Se añadió HCl (15 ml, 60 mmol, 4 M en 1,4-dioxano) al compuesto intermedio A27 (9,5 g, 20,864 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 90 min. El disolvente se evaporó al vacío para producir el compuesto intermedio A28 (10 g, impuro, 122 % de rendimiento), que se usó en la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional.

Ejemplo A29

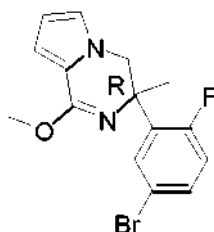
Preparación del compuesto intermedio A29:



Se añadió metóxido sódico al 25 % en peso en MeOH (15,714 ml, 68,93 mmol) a una solución del compuesto intermedio A28 (950 mg, 2,82 mmol) en MeOH (30 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 60 °C durante 18 horas. El disolvente se evaporó al vacío. El residuo se trató con una solución ac. sat. de NH₄Cl y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en DCM de 0/100 a 20/80). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A29 (1,5 g, 18 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo A30

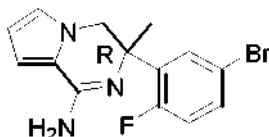
Preparación del compuesto intermedio A30:



Se añadió tetrafluoroborato de trimetiloxonio (2,56 g, 17,33 mmol) a una solución del compuesto intermedio A29 (1,4 g, 4,33 mmol) en DCM (5 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. La mezcla de reacción se diluyó y después se trató con una solución fría ac. sat. de NaHCO₃. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A30 (910 mg, 62 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanquecino que se usó en la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional.

Ejemplo A31

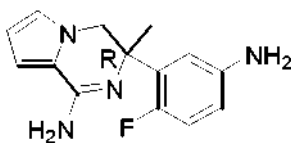
Preparación del compuesto intermedio A31:



Se añadió NH₄Cl (577 mg, 10,79 mmol) a una solución del compuesto intermedio A30 (910 mg, 2,7 mmol) en una solución 2 M de NH₃ en EtOH (5 ml, 10 mmol) y la mezcla se calentó a 80 °C durante 36 horas en un tubo cerrado herméticamente. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadieron NH₄Cl (432 mg, 8,1 mmol) y una solución 2 M de NH₃ en EtOH (5 ml, 10 mmol) y la mezcla se calentó a 80 °C durante 36 horas en un tubo cerrado herméticamente. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadieron NH₄Cl (432 mg, 8,1 mmol) y una solución 2 M de NH₃ en EtOH (5 ml, 10 mmol) y la mezcla se calentó a 80 °C durante 48 horas en un tubo cerrado herméticamente. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se suspendió en DCM y se lavó con H₂O (4-5 ml). La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto resultante se recogió en DCM y el sólido precipitado se retiró por filtración para producir el compuesto intermedio A31 (458 mg, 53 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo A32

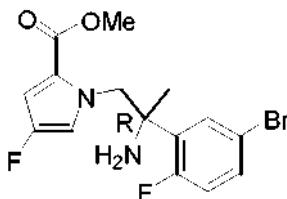
Preparación del compuesto intermedio A32:



Se añadió *tert*-butoxido sódico (0,329 g, 3,43 mmol) a una mezcla del compuesto intermedio A31 (0,41 g, 1,143 mmol) en tolueno (8,7 ml). La mezcla se agitó durante 5 min y a continuación se añadieron rac-BINAP (0,213 g, 0,343 mmol) y Pd₂(dba)₃ (105 mg, 0,114 mmol) en una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La mezcla se lavó abundantemente con nitrógeno durante unos pocos min y a continuación se añadió benzofenonaimina (0,383 ml, 2,286 mmol) y la mezcla se agitó a 100 °C durante 2 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con H₂O y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; solución 7 M de NH₃ en MeOH en DCM de 0/100 a 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir un producto en bruto que se disolvió en HCl (6 ml, 36 mmol, 6 M en alcohol isopropílico) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Los disolventes se evaporaron al vacío. A continuación el residuo se recogió en DCM y alcohol isopropílico y se añadió NaHCO₃ sólido y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Los sólidos se retiraron por filtración y el filtrado se evaporó al vacío para producir el compuesto intermedio A32 (400 mg, 136 % de rendimiento) en forma de un aceite pegajoso que se usó en la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional.

Ejemplo A33

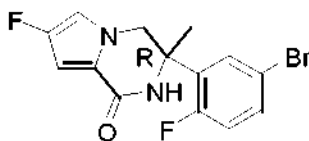
Preparación del compuesto intermedio A33:



A una mezcla del compuesto intermedio A12 (7,5 g, 18,281 mmol) y 4-fluoro-1H-pirrol-2-carboxilato de metilo (2,9 g, 20,263 mmol) en MeCN (150 ml) se añadió DBU (5,5 ml, 36,814 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 90 °C durante 16 horas. Después de un periodo de refrigeración, el disolvente se evaporó en su mayor parte y el residuo se disolvió en DCM y se lavó con HCl 0,5 M. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en DCM (100 ml) y se añadió TFA (15 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Los disolventes se evaporaron al vacío. La mezcla se basificó con Na₂CO₃ sat. y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y el disolvente se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 1/99). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A33 (4,78 g, 70 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanquecino.

Ejemplo A34

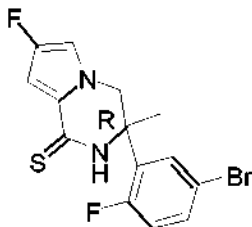
Preparación del compuesto intermedio A34:



El compuesto intermedio 34 se preparó a partir del compuesto intermedio A33 en consonancia con el procedimiento sintético que se ha descrito en el ejemplo A15. Cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; MeOH en DCM, 0/100 a 1/99) para producir el compuesto intermedio A34 en forma de un sólido de color blanquecino (4,3 g, 98 % de rendimiento).

Ejemplo A35

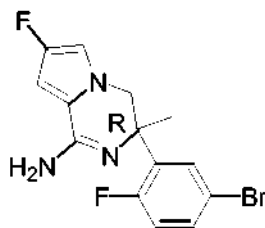
Preparación del compuesto intermedio A35:



Se añadió pentasulfuro de fósforo (14 g, 63,021 mmol) a una solución del compuesto intermedio A34 (4,3 g, 12,604 mmol) en THF (150 ml) y la mezcla se calentó a 70 °C durante 24 horas. La reacción se filtró a través de Celite y se lavó con THF. El filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A35 (3,65 g, 81 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A36

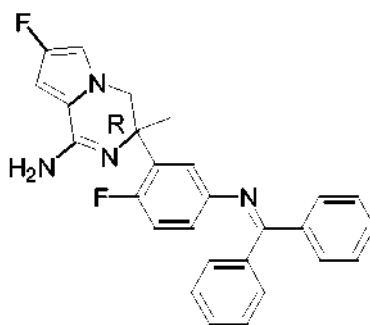
Preparación del compuesto intermedio A36:



Se añadió hidropéroxido *terc*-butilo (70 %, 5,406 ml, 38 mmol) a una solución del compuesto intermedio 35 (1,350 g, 3,779 mmol) en NH_3 7 N en MeOH (40 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 40 horas. El disolvente se evaporó parcialmente al vacío y el residuo se trató con DCM y se lavó con una solución diluida de Na_2CO_3 . La fase orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; solución 7 M de NH_3 en MeOH en DCM de 0/100 a 2/98). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para proporcionar el compuesto intermedio A36 (990 mg, 77 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo.

Ejemplo A37

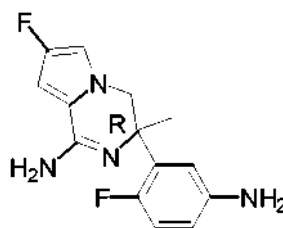
Preparación del compuesto intermedio A37:



Se añadió tolueno (20 ml) a una mezcla del compuesto intermedio A36 (400 mg, 1,176 mmol), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (0,108 g, 0,118 mmol), BINAP (0,22 g, 0,353 mmol) y *terc*-butoxido sódico (0,203 g, 2,177 mmol) en una atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La mezcla se lavó abundantemente con nitrógeno durante unos pocos min, a continuación se añadió benzofenonaimina (0,359 ml, 2,352 mmol) y la mezcla se agitó a 90 °C durante 16 horas. Después de un periodo de refrigeración, la mezcla se diluyó con H_2O y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y los disolventes se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; NH_3 7 N en MeOH en DCM de 0/100 a 1/99 a 5/95). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A37 (440 mg, 85 % de rendimiento) en forma de una espuma de color amarillo.

Ejemplo A38

Preparación del compuesto intermedio A38:



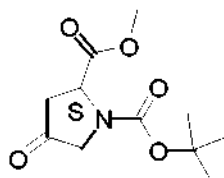
Se añadió HCl (37 % en H_2O ; 500 μl , 16,182 mmol) a una solución del compuesto intermedio A37 (920 mg, 2,089 mmol) en isopropanol (20 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 min, a continuación se concentró al vacío y se redisolvió en 25 ml de isopropanol. A continuación se añadió NaHCO_3 y la mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; NH_3 7 N en MeOH en DCM de 1/99 a 10/90). Las fracciones

deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A38 (470 mg, 81 % de rendimiento) en forma de una espuma de color blanquecino.

Ejemplo A39

5

Preparación del compuesto intermedio A39:

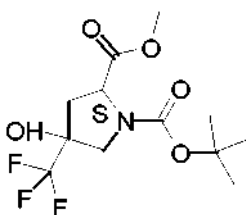


- 10 Se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (5,175 ml, 61,16 mmol) a una solución de DMSO (4,668 ml, 65,2 mmol) en DCM (103 ml) a -78 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó durante 15 min a -78 °C. A continuación se añadió éster de metilo de N-boc-*trans*-4-hidroxi-1-prolina (10 g, 40,77 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas a -40 °C. A continuación se añadió Et₃N (17 ml, 122 mmol) y la mezcla se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. A continuación, la mezcla se diluyó con solución al 10 % de ácido cítrico y se extrajo con DCM. La fase orgánica se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío para producir el compuesto intermedio A39 (10 g) en forma de un aceite de color pardo. El producto en bruto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A40

20

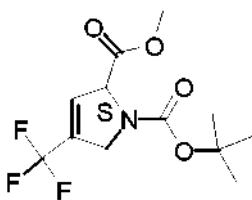
Preparación del compuesto intermedio A40:



- 25 Se añadió (trifluorometil)trimetilsilano (8,768 g, 61,663 mmol) a una solución del compuesto intermedio A39 (10 g) en THF (114 ml) a 0 °C, seguido de la adición de TBAF (1 M en THF, 2,47 ml, 247 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La mezcla se inactivó con NH₄Cl sat. ac. La mezcla se agitó durante 15 min, a continuación se añadió TBAF (1 M en THF, 5 ml, 5 mmol) y la mezcla se agitó durante 30 min. La fase orgánica se separó y la fase ac. se extrajo con Et₂O. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con H₂O y solución de salmuera, a continuación se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; heptano en AcOEt de 0/100 a 90/10). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A40 (7,8 g, 61 % de rendimiento).

Ejemplo A41

Preparación del compuesto intermedio A41:



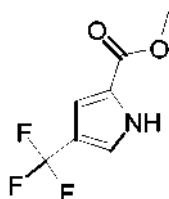
40

Se añadió cloruro de tionilo (14,352 ml, 196,633 mmol) al compuesto intermedio A40 (7,7 g, 24,579 mmol) en piridina (188 ml). La mezcla se agitó a 80 °C en una atmósfera de nitrógeno durante 1 hora. La mezcla se inactivó con H₂O, y a continuación se extrajo con Et₂O. La fase orgánica se lavó con HCl 1 M, solución sat. de NaHCO₃, se secó sobre

Na₂SO₄, se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; heptano en AcOEt de 0/100 a 80/20). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A41 (4,6 g, 63 % de rendimiento) en forma de un aceite de color amarillo.

Ejemplo A42

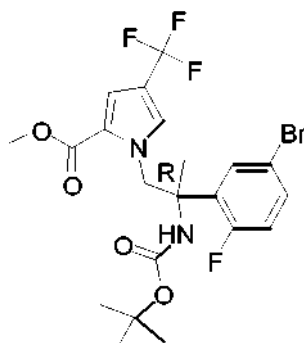
Preparación del compuesto intermedio A42:



Se añadió DDQ (16,607 g, 73,16 mmol) al compuesto intermedio A41 (7,2 g, 24,385 mmol) en dioxano (45 ml). La mezcla se agitó a 85 °C durante 104 horas. La mezcla se retiró por filtración y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM en heptano 40/60). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A42 (4 g, 85 % de rendimiento) en forma de una pasta de color pardusco.

Ejemplo A43

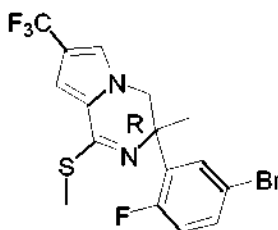
Preparación del compuesto intermedio A43:



Se añadió DBU (2,85 ml, 19 mmol) a una mezcla del compuesto intermedio A12 (6,07 g, 14,84 mmol) y el compuesto intermedio A42 (2 g, 10,356 mmol) en MeCN (40 ml). A continuación, la mezcla se calentó a 90 °C durante 18 horas. La reacción se diluyó con DCM y se lavó con una solución 1 N de HCl. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y el disolvente se evaporó al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A43 en forma de un sólido pegajoso (4,6 g, 59 % de rendimiento).

Ejemplo A44

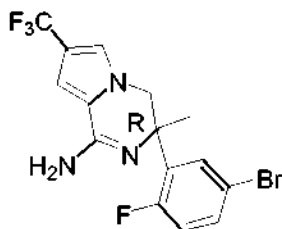
Preparación del compuesto intermedio A44:



El compuesto intermedio A44 se preparó a partir del compuesto intermedio A43 de acuerdo con los procedimientos sintéticos que se han descrito en los ejemplos A20-A23. El compuesto se usó en bruto para la reacción posterior y se supone que el rendimiento es cuantitativo.

5 Ejemplo A45

Preparación del compuesto intermedio A45:



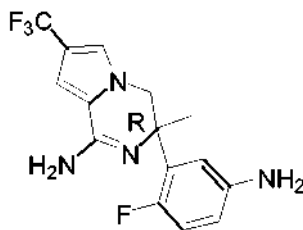
La reacción se preparó en tres lotes. Se informa la cantidad total de material.

Se añadió NH_3 (2 M en EtOH, 47 ml, 94 mmol) al compuesto intermedio A44 (2,3 g, 5,46 mmol) y NH_4Cl (2,315 g, 43,7 mmol). La mezcla se calentó con irradiación de microondas a 170 °C durante 45 min, a continuación se concentró al vacío. Se añadieron otros 45 ml de NH_3 (2 M en EtOH) y la mezcla se calentó con irradiación de microondas a 170 °C durante 45 min. La mezcla se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 3/97). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A45 (2,1 g, 99 % de rendimiento).

El compuesto intermedio A46 se preparó de acuerdo con los procedimientos sintéticos que se han descrito en los ejemplos A37-A38:

Ejemplo A46

Preparación del compuesto intermedio A46:

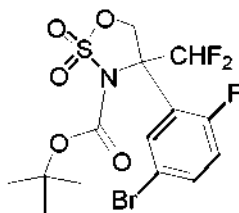


Preparado a partir del compuesto intermedio A45. El compuesto precipitó de la mezcla de reacción en bruto usando DCM (89 % de rendimiento).

El compuesto intermedio A47 se preparó de acuerdo con el procedimiento sintético que se ha descrito en los ejemplos A9-A11:

Ejemplo A47

Preparación del compuesto intermedio A47:



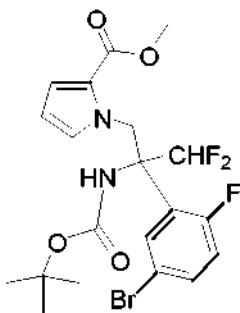
Preparado a partir de ácido carbámico, N-[1-(5-bromo-2-fluorofenil)-2,2-difluoro-1-(hidroximetil)etil]-, 1,1-dimetiletil éster. El producto en bruto se trituró con heptano y se filtró. El sólido de color gris se disolvió en DCM y se purificó

por cromatografía en columna (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A47 (78 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco.

Ejemplo A48

5

Preparación del compuesto intermedio A48:



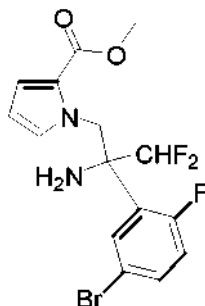
- 10 Se añadió NaH (dispersión al 60 % en aceite mineral, 269 mg, 6,723 mmol) a una mezcla de 2-pirrolcarboxilato de metilo (841 mg, 6,723 mmol) en DMF (20 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. A continuación, la mezcla se agitó durante 10 min a 0 °C y a continuación se añadió una solución del compuesto intermedio A47 (2 g, 4,482 mmol) en DMF (10 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. La reacción se interrumpió con NH₄Cl sat. y se extrajo con AcOEt. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y el
- 15 disolvente se evaporó al vacío para producir el compuesto intermedio A48 (2,2 g, 100 % de rendimiento) en forma de un aceite, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El compuesto intermedio A49 se preparó de acuerdo con el procedimiento sintético que se ha descrito en el ejemplo A20:

20

Ejemplo A49

Preparación del compuesto intermedio A49:

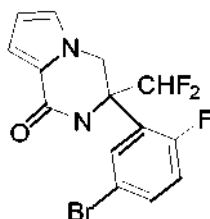


25

Preparado a partir del compuesto intermedio A48. Cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en heptano de 0/100 a 15/85) para producir el compuesto intermedio A49 (100 % de rendimiento).

Ejemplo A50

Preparación del compuesto intermedio A50:



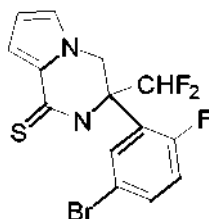
35

Se añadió trimetilaluminio (2 M en tolueno; 4,47 ml, 8,9 mmol) a una mezcla agitada del compuesto intermedio A49 (1,75 g, 4,47 mmol) en THF (20 ml) a 0 °C en un tubo cerrado herméticamente. La mezcla se agitó a 100 °C durante 2 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en un matraz, se enfrió a 0 °C y se inactivó con decahidrato de sulfato sódico. La mezcla se agitó durante 15 min, a continuación se filtró y los filtrados se evaporaron al vacío para producir el compuesto intermedio A49 (1,657 g, 103 % de rendimiento) en forma de un sólido, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El compuesto intermedio A51 se preparó de acuerdo con el procedimiento sintético que se ha descrito en el ejemplo A16:

Ejemplo A51

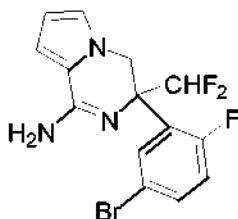
Preparación del compuesto intermedio A51:



Preparado a partir del compuesto intermedio 50. Cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 05/95) para producir el compuesto intermedio A51 (52 % de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo pálido.

Ejemplo A52

Preparación del compuesto intermedio A52:

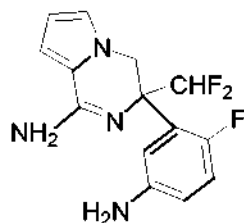


Se añadió solución ac. de NH₃ (7 ml) a una solución del compuesto intermedio A51 (700 mg, 1,866 mmol) en NH₃ 7 N en MeOH (7 ml) y la mezcla se calentó a 90 °C en un tubo cerrado herméticamente durante 21 horas. A continuación el disolvente se evaporó y se añadieron más NH₃ ac. y NH₃ 7 N en MeOH. La mezcla se agitó a 90 °C durante 24 horas. El disolvente se evaporó al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 03/97). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A52 (464 mg, 69 % de rendimiento).

El compuesto intermedio A53 se preparó de acuerdo con el procedimiento sintético que se ha descrito en los ejemplos A37-A38:

Ejemplo A53

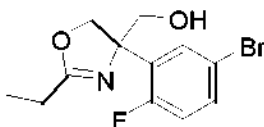
Preparación del compuesto intermedio A53:



Preparado a partir del compuesto intermedio A52. Cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; NH_3 7 N en MeOH en DCM de 0/100 a 10/90). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A53 (69 % de rendimiento).

Ejemplo A54

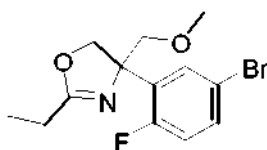
Preparación del compuesto intermedio A54:



Se añadió una gota de AcOH a una solución agitada de 2-amino-2-(5-bromo-2-fluorofenil)-1,3-propanodiol (4,2 g, 15,9 mmol) y ortopropionato de trietilo (3,52 ml, 17,5 mmol) en DCE (80 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 80 °C durante 90 min, y a continuación se trató con Na_2CO_3 ac. sat. y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró y el disolvente se evaporó al vacío para proporcionar un aceite (4,63 g), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A55

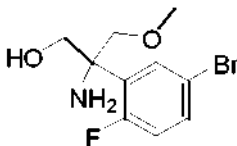
Preparación del compuesto intermedio A55:



Se añadió NaH (dispersión al 60 % en aceite mineral, 735 mg, 18,4 mmol) a una solución del compuesto intermedio A54 (4,63 g, 15,3 mmol) en DMF (40 ml) a 0 °C en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó durante 10 min a 0 °C, y a continuación se añadió yoduro de metilo (1,91 ml, 30,65 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 90 min, a continuación se inactivó con NH_4Cl ac. sat. y se extrajo con heptano. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró y el disolvente se evaporó al vacío para producir el compuesto intermedio A55 en forma de un aceite (4,73 g), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Ejemplo A56

Preparación del compuesto intermedio A56:

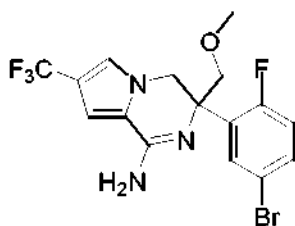


Una solución del compuesto intermedio A55 (4,95 g, 15,7 mmol) en HCl (6 M en H_2O , 40 ml) se calentó a 100 °C durante 1 hora. El disolvente se evaporó a continuación para obtener el compuesto intermedio A56 en forma de un aceite (4,3 g), que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

El compuesto intermedio A57 se preparó de acuerdo con los procedimientos sintéticos que se han descrito en los ejemplos A9-A11, A43, A20, A50, A35, A36:

Ejemplo A57

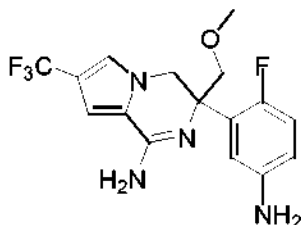
Preparación del compuesto intermedio A57:



Preparado a partir del compuesto intermedio A56. Cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; NH₃ 7 N en MeOH en DCM de 0/100 a 5/95) para producir el compuesto intermedio A57 (68 % de rendimiento).

Ejemplo A58

Preparación del compuesto intermedio A58:

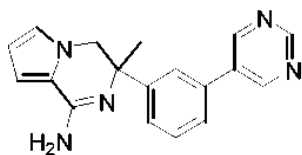


Se añadió yoduro de cobre (84 mg, 0,41 mmol) a una suspensión del compuesto intermedio A57 (617 mg, 1,47 mmol), azida sódica (242 mg, 3,67 mmol), *N,N'*-dimetiletilendiamina (142 μ l, 1,32 mmol) y Na₂CO₃ (447 mg, 4,41 mmol) en DMSO (13 ml) y la reacción se desgasificó. La mezcla se calentó a 110 °C durante 25 horas, a continuación se inactivó con HCl 1 M y la fase acuosa se basificó con NH₄OH y se extrajo con AcOEt (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO₄), se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (sílice; solución 7 N de NH₃ en MeOH en DCM de 0/100 a 5/95). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para producir el compuesto intermedio A58 (480 mg, 92 % de rendimiento).

Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B1

Preparación del compuesto 1: rac-3-metil-3-(3-pirimidin-5-il-fenil)-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-1-ilamina

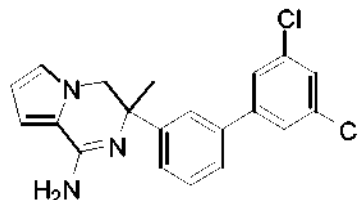


. sal de trifluoroacetato

Se añadió Pd(PPh₃)₄ (57 mg, 0,049 mmol) a una suspensión agitada del compuesto intermedio A18 (300 mg, 0,99 mmol), ácido pirimidina-5-borónico (367 mg, 2,96 mmol) y K₂CO₃ (409 mg, 2,96 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano (4 ml) y EtOH (0,4 ml) en un tubo cerrado herméticamente. La mezcla se calentó a 150 °C durante 30 min con irradiación de microondas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con H₂O y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna corta (gel de sílice; solución 7 M de NH₃ en MeOH/DCM de 0/100 a 3/97). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para obtener un sólido que se trituró con Et₂O, se sonicó, se filtró y se secó al vacío a 50 °C para producir un sólido que se purificó adicionalmente por HPLC de fase inversa (gradiente de 80 % de una solución de TFA al 0,1 % en H₂O, 20 % de MeCN a 0 % de una solución de TFA al 0,1 % en H₂O, 100 % de MeCN) para producir el compuesto 1 (90,3 mg, 22 % de rendimiento) en forma de un sólido. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,74 (s, 3 H), 4,40 (d, *J* = 13,6 Hz, 1 H), 5,03 (d, *J* = 13,4 Hz, 1 H), 6,26 (dd, *J* = 4,2, 2,5 Hz, 1 H), 7,19 (dd, *J* = 4,2, 1,4 Hz, 1 H), 7,31 (t, *J* = 1,6 Hz, 1 H), 7,45 (d a, *J* = 8,1 Hz, 1 H), 7,54 (t, *J* = 7,9 Hz, 1 H), 7,75 (d a, *J* = 7,9 Hz, 1 H), 7,91 (s a, 1 H), 8,38 (s a, 1 H), 9,16 (s, 2 H), 9,21 (s a, 1 H), 9,22 (s, 1 H), 10,23 (s a, 1 H).

Ejemplo B2

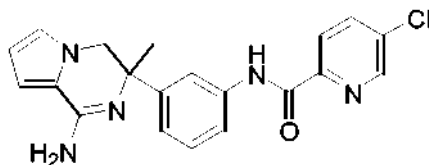
Preparación del compuesto 2: rac-3-(3',5'-dicloro-bifenil-3-il)-3-metil-3,4-dihidro-pirrolo[1,2-a]pirazin-1-ilamina



Se añadió $\text{Pd(PPh}_3)_4$ (30,4 mg, 0,026 mmol) a una suspensión agitada del compuesto intermedio A18 (160 mg, 0,526 mmol), ácido 2,3-diclorofenil-borónico (120,4 mg, 0,631 mmol) y K_2CO_3 (218 mg, 1,58 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano (4 ml) y EtOH (0,4 ml) en un tubo cerrado herméticamente. La mezcla se calentó a 60 °C durante 18 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con H_2O y NH_4Cl (solución ac. sat.) y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna corta (MeOH en DCM de 0/100 a 3/97). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron al vacío para obtener un sólido que se trituró con DIPE, se filtró y se secó al vacío a 50 °C para producir el compuesto 2 (136 mg, 70 % de rendimiento) en forma de un sólido. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,56 (s, 3 H), 4,11 (s a, 2 H), 4,05 (d, J = 12,4 Hz, 1 H), 4,10 (d, J = 12,7 Hz, 1 H), 6,18 (dd, J = 3,8, 2,6 Hz, 1 H), 6,43 (dd, J = 3,8, 1,4 Hz, 1 H), 6,75 (dd, J = 2,3, 1,4 Hz, 1 H), 7,32 (t, J = 1,7 Hz, 1 H), 7,36 - 7,42 (m, 2 H), 7,43 (d, J = 1,7 Hz, 2 H), 7,53 (dt, J = 6,9, 1,9 Hz, 1 H), 7,65 - 7,71 (m, 1 H).

Ejemplo B3

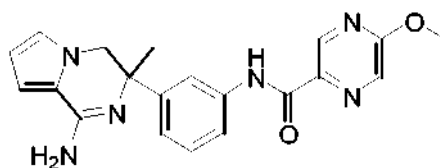
Preparación del compuesto 3: [3-(1-amino-3-metil-3,4-dihidro-pirrolo[1,2-a]pirazin-3-il)-fenil]-amida del ácido rac-5-cloro-piridina-2-carboxílico



Se añadió NH_4Cl (94 mg, 1,75 mmol) a una suspensión del compuesto intermedio A26 (180 mg, 0,44 mmol) en una solución 2 M de NH_3 en EtOH (8,23 ml) y la mezcla se calentó a 80 °C durante 6 días. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se suspendió en DCM y se lavó con H_2O . La fase orgánica se separó, se secó (MgSO_4), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; solución 7 M de NH_3 en MeOH/DCM de 0/100 a 10/90). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto 3 (28 mg, 17 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) δ ppm 1,56 (s, 3 H), 2,96 (s a, 2 H), 4,06 (d, J = 12,7 Hz, 1 H), 4,14 (d, J = 13,3 Hz, 1 H), 6,17 (dd, J = 3,8, 2,6 Hz, 1 H), 6,46 (dd, J = 3,8, 1,2 Hz, 1 H), 6,75 (dd, J = 2,3, 1,4 Hz, 1 H), 7,30 (d a, J = 7,8 Hz, 1 H), 7,35 (t, J = 8,1 Hz, 1 H), 7,68 - 7,73 (m, 1 H), 7,88 (dd, J = 8,4, 2,3 Hz, 1 H), 7,91 (t, J = 1,7 Hz, 1 H), 8,25 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 8,57 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 9,86 (s a, 1 H).

Ejemplo B4

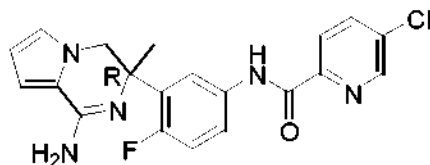
Preparación del compuesto 4: [3-(1-amino-3-metil-3,4-dihidro-pirrolo[1,2-a]pirazin-3-il)-fenil]-amida del ácido rac-5-metoxi-pirazina-2-carboxílico



Se añadió ácido 5-metoxi-pirazina-2-carboxílico (56,4 mg, 0,36 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (111 mg, 0,4 mmol) en MeOH (4 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió una solución del compuesto intermedio A25 (80 mg, 0,33 mmol) en MeOH (2 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La mezcla se trató con una solución sat. de Na₂CO₃ y H₂O y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se trituró con Et₂O y a continuación se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; AcOEt en heptano 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir el compuesto 4 (65 mg, 52 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,36 (s, 3 H), 4,03 (s, 3 H), 3,99 - 4,11 (m, 2 H), 6,06 (s a, 2 H), 6,02 (dd, *J* = 3,5, 2,6 Hz, 1 H), 6,52 (dd, *J* = 3,5, 1,2 Hz, 1 H), 6,87 (t, *J* = 1,7 Hz, 1 H), 7,26 (t, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 7,28 - 7,33 (m, 1 H), 7,72 (dt, *J* = 7,5, 1,7 Hz, 1 H), 8,02 (s a, 1 H), 8,43 (d, *J* = 1,2 Hz, 1 H), 8,90 (d, *J* = 1,2 Hz, 1 H), 10,33 (s a, 1 H).

Ejemplo B5

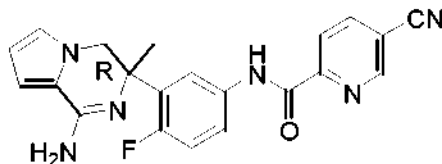
Preparación del compuesto 5: [3-(1-amino-3-metil-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida del ácido (R)-5-cloro-piridina-2-carboxílico



Se añadió ácido 5-cloro-piridina-2-carboxílico (122 mg, 0,774 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (214 mg, 0,774 mmol) en MeOH (4 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió una solución del compuesto intermedio A32 (200 mg, 0,774 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 90 min. La mezcla se concentró al vacío en un baño frío, y a continuación se trató con una solución sat. de Na₂CO₃ y H₂O y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; NH₃ 7 N en MeOH en DCM de 0/100 a 2/98). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir un residuo que se trituró con Et₂O para producir el compuesto 5 (65 mg, 21 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,56 (s, 3 H), 4,20 (d a, *J* = 12,7 Hz, 1 H), 4,28 (d a, *J* = 12,4 Hz, 1 H), 4,59 (s a, 2 H), 6,16 (dd, *J* = 3,5, 2,6 Hz, 1 H), 6,43 (d a, *J* = 2,6 Hz, 1 H), 6,74 - 6,78 (m, 1 H), 7,06 (dd, *J* = 11,7, 8,8 Hz, 1 H), 7,79 (dd, *J* = 6,9, 2,6 Hz, 1 H), 7,87 (dd, *J* = 8,4, 2,3 Hz, 1 H), 8,02 (ddd, *J* = 9,0, 4,0, 3,2 Hz, 1 H), 8,23 (d, *J* = 8,4 Hz, 1 H), 8,56 (d, *J* = 2,0 Hz, 1 H), 9,82 (s a, 1 H).

Ejemplo B6

Preparación del compuesto 6: [3-(1-amino-3-metil-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida del ácido (R)-5-ciano-piridina-2-carboxílico

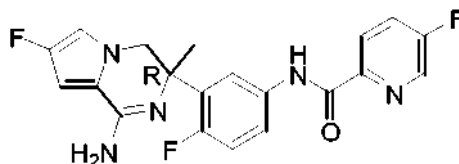


Se añadió ácido 5-ciano-piridina-2-carboxílico (115 mg, 0,774 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (214 mg, 0,774 mmol) en MeOH. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió una solución del compuesto intermedio A32 (200 mg, 0,774 mmol) en MeOH (cantidad total de 4 ml de MeOH). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La mezcla se concentró al vacío en un baño frío, y a continuación se trató con una solución sat. de Na₂CO₃ y H₂O y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; NH₃ 7 N en MeOH en DCM de 0/100 a 2/98). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir un residuo que se trituró con Et₂O para producir el compuesto 7 (110 mg, 37 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) δ ppm 1,57 (s, 3 H), 4,21 (d a, *J* = 12,1 Hz, 1 H), 4,28 (d a, *J* = 12,7 Hz, 1 H), 4,37 (s a, 1 H), 6,16 (dd, *J* = 3,8, 2,6 Hz, 1 H), 6,43 (dd, *J* = 3,8, 1,2 Hz, 1 H), 6,77 (dd, *J*

= 2,5, 1,3 Hz, 1 H), 7,08 (dd, $J = 11,7, 8,8$ Hz, 1 H), 7,83 (dd, $J = 6,9, 2,9$ Hz, 1H), 8,01 (ddd, $J = 8,7, 4,0, 2,9$ Hz, 1 H), 8,18 (dd, $J = 8,1, 2,0$ Hz, 1 H), 8,40 (dd, $J = 8,1, 0,6$ Hz, 1 H), 8,85 (d a, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 9,85 (s a, 1 H).

Ejemplo B7

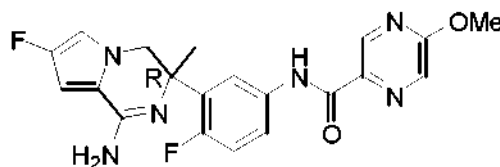
Preparación del compuesto 7: [3-(1-amino-7-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida del ácido (R)-5-fluoro-piridina-2-carboxílico



Se añadió ácido 5-fluoro-piridina-2-carboxílico (123 mg, 0,869 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (240 mg, 0,869 mmol) en MeOH (4 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió una solución del compuesto intermedio A38 (200 mg, 0,724 mmol) en MeOH (2 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La mezcla se trató con una solución sat. de Na_2CO_3 y H_2O y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; NH_3 7 N en MeOH en DCM de 0/100 a 4/96). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir un residuo que se trituró con heptano para producir el compuesto 8 (196 mg, 68 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,41 (s, 3 H), 3,98 (d a, $J = 12,7$ Hz, 1 H), 4,10 (d a, $J = 12,5$ Hz, 1 H), 6,16 (s a, 2 H), 6,41 (d, $J = 1,6$ Hz, 1 H), 6,94 (dd, $J = 3,4, 2,0$ Hz, 1 H), 7,16 (dd, $J = 12,0, 8,8$ Hz, 1 H), 7,75 (ddd, $J = 8,8, 4,2, 2,8$ Hz, 1 H), 7,97 (td, $J = 8,7, 2,8$ Hz, 1 H), 8,11 (dd, $J = 7,5, 2,7$ Hz, 1 H), 8,21 (dd, $J = 8,8, 4,6$ Hz, 1 H), 8,73 (d, $J = 2,8$ Hz, 1 H), 10,51 (s a, 1 H).

Ejemplo B8

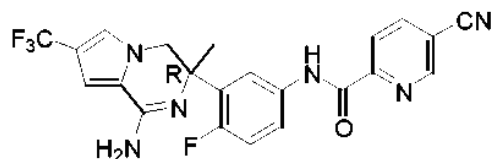
Preparación del compuesto 8: [3-(1-amino-7-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida del ácido (R)-5-metoxi-pirazina-2-carboxílico



Se añadió ácido 5-metoxi-pirazina-2-carboxílico (134 mg, 0,869 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (240 mg, 0,869 mmol) en MeOH (4 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió una solución del compuesto intermedio A38 (200 mg, 0,724 mmol) en MeOH (2 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La mezcla se trató con una solución sat. de Na_2CO_3 y H_2O y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; NH_3 7 N en MeOH en DCM de 0/100 a 4/96). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir un residuo que se trituró con heptano para producir el compuesto 8 (213 mg, 71 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 1,41 (s, 3 H), 3,97 (d a, $J = 12,9$ Hz, 1 H), 4,02 (s, 3 H), 4,09 (d a, $J = 12,5$ Hz, 1 H), 6,12 (s a, 2 H), 6,40 (d, $J = 1,8$ Hz, 1 H), 6,93 (dd, $J = 3,2, 1,8$ Hz, 1 H), 7,15 (dd, $J = 12,0, 8,8$ Hz, 1 H), 7,72 (ddd, $J = 8,8, 4,2, 3,0$ Hz, 1 H), 8,12 (dd, $J = 7,4, 2,8$ Hz, 1H), 8,41 (d, $J = 1,4$ Hz, 1 H), 8,87 (d, $J = 1,2$ Hz, 1 H), 10,40 (s a, 1H).

Ejemplo B9

Preparación del compuesto 9: [3-(1-amino-3-metil-7-trifluorometil-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida del ácido (R)-5-ciano-piridina-2-carboxílico



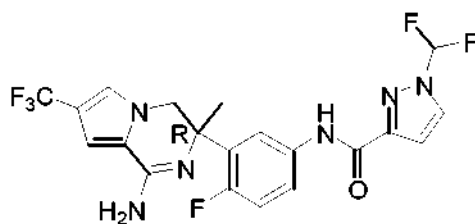
. sal de trifluoroacetato

Se añadió ácido 5-ciano-piridina-2-carboxílico (82 mg, 0,551 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (168 mg, 0,606 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió una solución del compuesto intermedio A46 (200 mg, 0,551 mmol) en MeOH (2 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La mezcla se concentró al vacío en un baño frío, y a continuación se trató con solución sat. de Na₂CO₃ y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío.

El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 4/96). Las fracciones deseadas se recogieron y el disolvente se evaporó al vacío. El compuesto se trituro con Et₂O para producir una mezcla que se purificó nuevamente por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 4/96). Las fracciones deseadas se recogieron y el disolvente se evaporó al vacío para producir una fracción impura, que se purificó por HPLC RP en (C18 Sunfire 30 x 100 5µm). Fase móvil (gradiente de 80 % de una solución de TFA al 0,1 % en H₂O, 20 % de MeCN a 0 % de una solución de TFA al 0,1 % en H₂O, 100 % de MeCN), para producir el compuesto 9 (121,3 mg, 39 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,79 (s, 3 H), 4,50 (d a, J = 13,6 Hz, 1 H), 4,92 (d a, J = 13,3 Hz, 1 H), 7,31 (dd, J = 11,8, 8,7 Hz, 1 H), 7,51 (s a, 1 H), 7,86 - 7,93 (m, 2 H), 7,95 (s a, 1 H), 8,25 (d, J = 8,1 Hz, 1 H), 8,58 (dd, J = 8,4, 2,0 Hz, 1 H), 8,87 (s a, 1 H), 9,20 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 9,55 (s a, 1 H), 10,67 (s a, 1 H), 10,99 (s a, 1 H).

Ejemplo B10

Preparación del compuesto 10: [3-(1-amino-3-metil-7-trifluorometil-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-3-il)-4-fluorofenil]-amida del ácido (R)-1-difluorometil-1H-pirazol-3-carboxílico

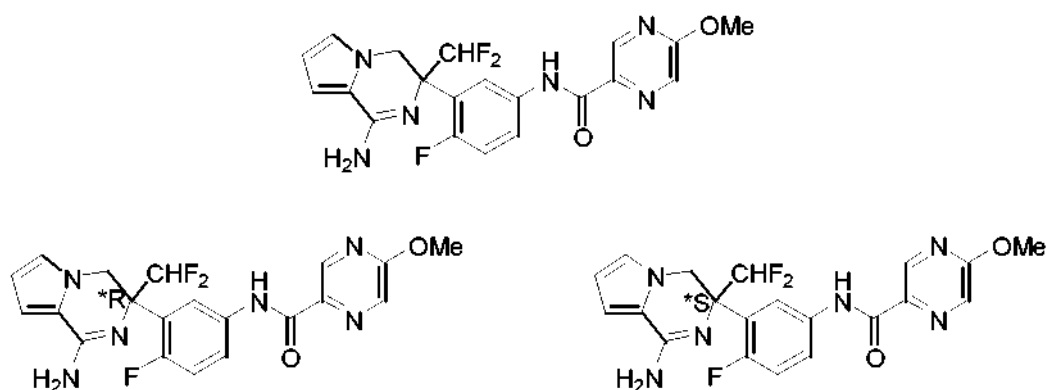


Se añadió ácido 1-difluorometil-1H-pirazol-3-carboxílico (31 mg, 0,193 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (59 mg, 0,212 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se agitó durante 5 min a temperatura ambiente. La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió el compuesto intermedio A46 (70 mg, 0,193 mmol, tratado previamente con NH₃ en MeOH para generar la base libre) en MeOH (2 ml). A continuación, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas.

La mezcla se concentró al vacío en un baño frío, y a continuación se trató con solución sat. de Na₂CO₃ y se extrajo con DCM. La fase orgánica se separó, se secó (Na₂SO₄), se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 4/96). Las fracciones deseadas se recogieron y el disolvente se evaporó al vacío. El compuesto se trituro con Et₂O, para producir el compuesto 10 (56 mg, 62 % de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,40 (s, 3 H), 4,13 (d a, J = 13,0 Hz, 1 H), 4,29 (d a, J = 12,7 Hz, 1 H), 6,25 (s a, 2 H), 6,87 (s a, 1 H), 7,01 (d, J = 2,3 Hz, 1 H), 7,16 (dd, J = 11,8, 9,0 Hz, 1 H), 7,59 (s a, 1 H), 7,63 - 7,69 (m, 1 H), 7,92 (t, J = 58,7 Hz, 1 H), 8,05 - 8,10 (m, 1 H), 8,41 (d, J = 2,3 Hz, 1 H), 10,34 (s, 1 H).

Ejemplo B11

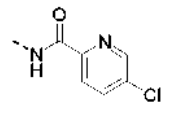
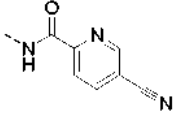
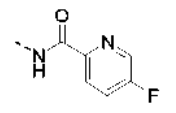
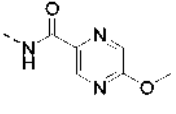
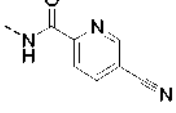
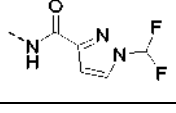
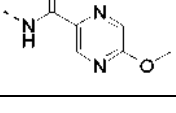
Preparación del compuesto 11: [3-(1-amino-3-difluorometil-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida del ácido rac-5-metoxi-piridina-2-carboxílico, el compuesto 12: [3-(1-amino-3-difluorometil-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida del ácido (R*)-5-metoxi-piridina-2-carboxílico y el compuesto 13: [3-(1-amino-3-difluorometil-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida del ácido (S*)-5-metoxi-piridina-2-carboxílico

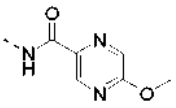
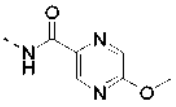
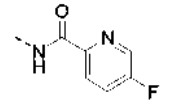
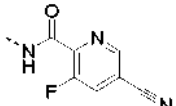
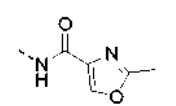
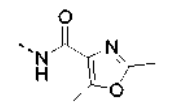
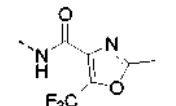
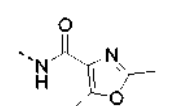
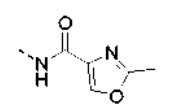
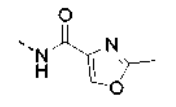
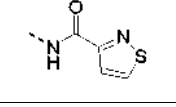
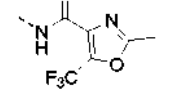


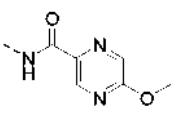
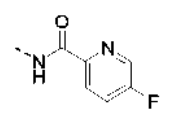
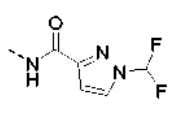
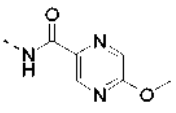
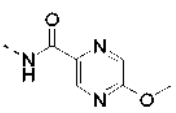
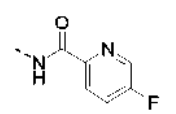
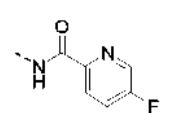
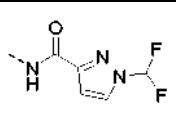
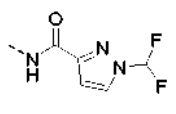
Se añadió ácido 5-metoxi-pirazina-2-carboxílico (130 mg, 0,841 mmol) a una mezcla de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (233 mg, 0,841 mmol) en MeOH (4 ml). La mezcla se agitó durante 5 min a temperatura ambiente, a continuación se enfrió a 0 °C y se añadió el compuesto intermedio A53 (225 mg, 0,765 mmol) en MeOH (4 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas, a continuación se trató con Na₂CO₃ sat. y se agitó durante unos pocos min. El disolvente se concentró, se añadió H₂O y se extrajo con una mezcla de DCM/MeOH (9:1). La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró al vacío. El producto en bruto se trituró con DCM y se filtró para obtener un primer lote del compuesto 11. Los filtrados se evaporaron y se purificaron por cromatografía en columna ultrarrápida (gel de sílice; MeOH en DCM de 0/100 a 7/93). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron al vacío para producir un segundo lote del compuesto 11, que se combinó con el previo. El compuesto racémico se purificó por SFC quiral en CHIRALCEL (OD-H 5 µm, 250 x 20 mm). Fase móvil (60 % de CO₂, 40 % de EtOH), para producir el compuesto 12 (57 mg, 17 % de rendimiento). RMN ¹H (500 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 4,02 (s, 3 H) 4,28 (d a, *J* = 13,0 Hz, 1 H) 4,61 (d a, *J* = 13,0 Hz, 1 H) 6,01 (dd, *J* = 3,3, 2,7 Hz, 1 H) 6,16 (t, *J* = 55,5 Hz, 1 H) 6,40 (s a, 2 H) 6,53 (d, *J* = 2,6 Hz, 1 H) 6,98 (s a, 1 H) 7,11 - 7,19 (m, 1 H) 7,73 - 7,78 (m, 1 H) 8,11 (dd, *J* = 7,1, 2,7 Hz, 1 H) 8,41 (d, *J* = 1,2 Hz, 1 H) 8,87 (d, *J* = 1,2 Hz, 1 H) 10,42 (s a, 1 H) y el compuesto 13 (72 mg, 21 % de rendimiento), para el que el espectro de RMN ¹H estaba en acuerdo con el compuesto 12.

Tabla 1

Comp. N°	Método	R ²	R ⁴	X ¹	---L-Ar	Estereoquímica de C ₃ /sal
1	B1	H	CH ₃	CH		RS / CF ₃ COOH
2	B2	H	CH ₃	CH		RS
3	B3	H	CH ₃	CH		RS
4	B4	H	CH ₃	CH		RS

5	B5	H	CH ₃	CF		R
6	B6	H	CH ₃	CF		R
7	B7	F	CH ₃	CF		R
8	B8	F	CH ₃	CF		R
9	B9	CF ₃	CH ₃	CF		R
10	B10	CF ₃	CH ₃	CF		R
11	B11	CF ₃	CHF ₂	CF		RS

Comp. N°	Método	R ²	R ⁴	X ¹	---L-Ar	Estereoquímica de C ₃ /sal
12	B11	H	CHF ₂	CF		*R
13	B11	H	CHF ₂	CF		*S
14	B9	H	CHF ₂	CF		RS
15	B9	CF ₃	CH ₃	CF		R/CF ₃ COOH
16	B4	F	CH ₃	CF		R
17	B4	F	CH ₃	CF		R
18	B4	F	CH ₃	CF		R
19	B4	CF ₃	CH ₃	CF		R
20	B9	CF ₃	CH ₃	CF		R/CF ₃ COOH
21	B9	CF ₃	CH ₃	CF		R
22	B4	CF ₃	CH ₃	CF		R
23	B9	CF ₃	CH ₃	CF		R/CF ₃ COOH

Comp. N°	Método	R ²	R ⁴	X ¹	---L-Ar	Estereoquímica de C ₃ /sal
24	B11	CF ₃	CH ₃ OCH ₂	CF		RS
25	B11	CF ₃	CH ₃ OCH ₂	CF		RS
26	B11	CF ₃	CH ₃ OCH ₂	CF		RS
27	B11	CF ₃	CH ₃ OCH ₂	CF		*S
28	B11	CF ₃	CH ₃ OCH ₂	CF		*R
29	B11	CF ₃	CH ₃ OCH ₂	CF		*S
30	B11	CF ₃	CH ₃ OCH ₂	CF		*R
31	B11	CF ₃	CH ₃ OCH ₂	CF		*S
32	B11	CF ₃	CH ₃ OCH ₂	CF		*R

Los compuestos N° 1, 9, 15 y 20 se obtuvieron en forma de una sal de trifluoroacetato (*CF₃COOH).

C. Parte analítica

5 LCMS

Para la caracterización por (LC)MS de los compuestos de la presente invención, se usaron los siguientes métodos.

Procedimiento general A

10 La medición por UPLC (Cromatografía Líquida de Ultra Alto Rendimiento) se llevó a cabo usando un sistema de UPLC Acquity (Waters) que comprende un organizador muestreador, una bomba binaria con desgasificador, un horno de cuatro columnas, un detector de conjunto de diodos (DAD) y una columna como se especifica en los respectivos métodos. El detector de MS se configuró con una fuente de ionización por electronebulización. Los espectros de masas se adquirieron en un detector SQD de cuadrupolo individual (Waters) realizando un barrido de 15 100 a 1000 en 0,1 segundos usando un retraso entre canales de 0,08 segundos. La tensión de la aguja de capilaridad fue 3,0 kV. La tensión de cono fue 25 V para el modo de ionización positiva y 30 V para el modo de ionización negativa. La temperatura de la fuente se mantuvo a 140 °C. Se usó nitrógeno como gas nebulizador. La adquisición de datos se llevó a cabo con el software MassLynx-Openlynx.

Método 1:

Además del procedimiento general A: se llevó a cabo UPLC de fase inversa en RRHD Eclipse Plus-C18 (1,8 µm, 2,1 x 50 mm) de Agilent, con un caudal de 1,0 ml/min, a 50 °C sin separación en el detector de MS. Las condiciones de gradiente que se usaron son: de 95 % de A (NH₄AcO 6,5 mM en H₂O/MeCN 95/5), 5 % de B (MeCN), a 40 % de A, 60 % de B en 3,8 min, a 5 % de A, 95 % de B en 4,6 min, manteniendo hasta 5,0 min. Volumen de inyección de 2 µl.

Procedimiento general B

La medición por HPLC se llevó a cabo usando un sistema HP 1100 (Agilent Technologies) que comprende una bomba (cuaternaria o binaria) con desgasificador, un automuestreador, un horno de columnas, un detector de conjunto de diodos (DAD) y una columna como se especifica en los respectivos métodos. El detector de MS (SQD, TOF) se configuró con una fuente de ionización por electronebulización. Se usó nitrógeno como gas nebulizador. La temperatura de la fuente se mantuvo a 140 °C. La adquisición de datos se llevó a cabo con el software MassLynx-Openlynx.

B1: los espectros de masas se adquirieron en un detector SQD de cuadrupolo individual realizando un barrido de 100 a 1000 en 0,1 segundos usando un retraso entre canales de 0,08 segundos. La tensión de la aguja de capilaridad fue 3,0 kV. La tensión de cono fue 20 V para el modo de ionización positiva y 30 V para el modo de ionización negativa.

B2: los espectros de masas se adquirieron en un detector de tiempo de vuelo (TOF) realizando un barrido de 100 a 750 en 0,5 segundos usando un tiempo de permanencia de 0,3 segundos. La tensión de la aguja de capilaridad fue 2,5 kV para el modo de ionización positiva y 2,9 kV para el modo de ionización negativa. La tensión de cono fue 20 V para el modo de ionización tanto positiva como negativa. La sustancia patrón que se usó para la calibración de masa fija fue leucina-enkefalina.

Método 2:

Además del procedimiento general B1: 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 un caudal de 1,0 ml/min, a 60 °C. Las condiciones de gradiente que se usaron son: de 95 % de A (NH₄AcO 6,5 mM en H₂O/MeCN 95/5), 5 % de B (MeCN/ MeOH 1/1), a 100 % de B en 5,0 min, mantenido hasta 5,15 min y equilibrado a condiciones iniciales de 5,30 min hasta 7,0 min. Volumen de inyección de 2 µl.

Método 3:

Además del procedimiento general B2: 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 un caudal de 1,0 ml/min, a 60 °C. Las condiciones de gradiente que se usaron son: de 95 % de A (NH₄AcO 6,5 mM en H₂O/MeCN 95/5), 5 % de B (MeCN/MeOH, 1/1) a 100 % de B en 5,0 min, mantenido hasta 5,15 min y equilibrado a condiciones iniciales de 5,3 min hasta 7,0 min. Volumen de inyección de 2 µl.

Método 4:

Además del procedimiento general B2: 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 un caudal de 1,0 ml/min, a 60 °C. Las condiciones de gradiente que se usaron son: de 95 % de A (NH₄AcO 6,5 mM en H₂O/MeCN 95/5), 5 % de B (MeCN), mantenido 0,2 min, a 100 % de B en 3,0 min, mantenido hasta 3,15 min y equilibrado a condiciones iniciales de 3,3 min hasta 5,0 min. Volumen de inyección de 2 µl.

Procedimiento general C:

La medición de LC se llevó a cabo usando un sistema de UPLC (Cromatografía Líquida de Ultra Alto Rendimiento) Acquity (Waters) que comprende una bomba binaria con desgasificador, un automuestreador, un detector de conjunto de diodos (DAD) y una columna como se especifica en los respectivos modos posteriores, y la columna se mantiene a una temperatura de 40 °C. El detector de MS se configuró con una fuente de ionización por electronebulización. Los espectros de masas se adquirieron en un detector Quattro de cuadrupolo triple (Waters) realizando un barrido de 100 a 1000 en 0,2 segundos usando un retraso entre canales de 0,1 segundos. La tensión de la aguja de capilaridad fue 3 kV y la temperatura de la fuente se mantuvo a 130 °C. La tensión de cono fue 20V para el modo de ionización positiva y negativa. Se usó nitrógeno como gas nebulizador. La adquisición de datos se llevó a cabo con el software MassLynx-Openlynx (Waters).

Método 5:

Además del procedimiento general se llevó a cabo UPLC de fase inversa en una columna de Fenil-Hexilo (1,7 µm, 2,1 x 100 mm) de Waters Acquity BEH (híbrida de etilsiloxano con puente/sílice) con un caudal de 0,343 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: 95 % de NH₄AcO 7 mM / 5 % de MeCN; fase móvil B: 100 % de MeCN) para procesar unas condiciones de gradiente de 84,2 % de A y 15,8 % de B (mantenido durante 0,49 min) a 10,5 %

de A y 89,5 % de B en 2,18 min, mantenido durante 1,94 min y vuelta a las condiciones iniciales en 0,73 min, mantenidas durante 0,73 min. Se usó un volumen de inyección de 2 ml.

Puntos de fusión

- 5 Los valores son valores de pico o intervalos de fusión, y se obtienen con incertidumbres experimentales que se asocian habitualmente con este método analítico.

Aparato Mettler FP81HT/FP90 o FP62

- 10 Para una diversidad de compuestos, se determinaron los puntos de fusión en tubos capilares abiertos en un aparato Mettler FP62 o en un aparato Mettler FP81HT/FP90. Los puntos de fusión se midieron con un gradiente de temperatura de 1, 3, 5 o 10 °C/minuto. La temperatura máxima fue 300 °C. El punto de fusión se leyó en un visualizador digital.
- 15 Para una diversidad de compuestos, se determinaron los puntos de fusión (p.f.) con un aparato de medición de puntos de fusión WRS-2A que se adquirió en Shanghai Precision y Scientific Instrument Co. Ltd. Los puntos de fusión se midieron con un calentamiento lineal a una velocidad de 0,2-5,0 °C/minuto. Los valores informados son intervalos de fusión. La temperatura máxima fue 300 °C.

- 20 Tabla 2: datos analíticos - R_t significa tiempo de retención (en min), $[M+H]^+$ significa la masa del compuesto protonado, y método se refiere al método usado para (LC)MS.

Comp. N°	R_t	$[M+H]^+$	Método	Punto de fusión
1	0,83	304	1	87,2 °C (FP81HT/FP90)
2	2,62	370	1	162,6 °C (FP81HT/FP90)
3	1,83	380	1	n.d.
4	1,57	377	1	221 °C (FP81HT/FP90)
5	2,81	398	3	197,3 °C (FP62)
6	2,27	389	4	180 °C (FP81HT/FP90)
7	1,68	400	1	197 °C (FP81HT/FP90)
8	1,64	413	1	211 °C (FP81HT/FP90)
9	2,09	457	1	150,2 °C (FP62)
10	2,23	471	1	204,1 °C (FP62)
11	2,51	431	5	252,7 °C (FP81HT/FP90)
12	2,50	431	5	n.d.
13	2,50	431	5	n.d.
14	1,97	418	1	224,9 °C (FP81HT/FP90)
15	1,98	475	1	242,4 °C (FP62)
16	1,38	386	1	n.d.
17	1,78	400	1	174 °C (FP81HT/FP90)
18	2,08	454	1	n.d.
19	2,91	450	2	>300 °C (FP62)
20	1,84	436	1	n.d.
21	1,81	436	1	n.d.
22	2,15	438	1	160,6 °C (FP62)
23	2,37	504	1	227 °C (FP62)
24	2,26	493	1	n.d.
25	2,28	480	1	n.d.
26	2,09	501	1	n.d.

Comp. N°	R _t	[M+H] ⁺	Método	Punto de fusión
27	2,22	493	1	126,1 °C (FP81HT/FP90)
28	2,21	493	1	121,8 °C (FP81HT/FP90)
29	2,21	480	1	134,7 °C (FP81HT/FP90)
30	2,22	480	1	137,6 °C (FP81HT/FP90)
31	2,52	501	5	253,5 °C (FP81HT/FP90)
32	2,54	501	5	250 °C (FP81HT/FP90)

n.d. significa no determinado

Métodos de SFC-MS:

Procedimiento general para los métodos de SF-MS:

5

La medición por SFC se llevó a cabo usando un sistema de SFC Analytical de Berger. El instrumento comprende un módulo de control de fluidos de bomba doble FCM-1200 para suministrar dióxido de carbono (CO₂) y modificador, un muestreador de líquidos automático CTC Analytics, y un módulo de control térmico TCM-20000 para el calentamiento de la columna de la temperatura ambiente a 80 °C. Se usó un detector de conjunto de fotodiodos Agilent 1100 UV equipado con una célula de flujo de alta presión que soporta hasta 400 bar. El flujo desde la columna se dividió a un espectrómetro MS. El detector de MS se configuró con una fuente de ionización a presión atmosférica. Los siguientes parámetros de ionización para el espectrofotómetro de masas Waters ZQ son: corona: 9 µa, temperatura de la fuente: 140 °C, cono: 30 V, temperatura de la sonda: 450 °C, extractor: 3 V, gas de desolvatación: 400 l/h, gas de cono 70 l/h. Se usó nitrógeno como gas nebulizador. La adquisición de datos se llevó a cabo con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

10

15

Método 1:

Además del procedimiento general: la separación quiral por SFC se llevó a cabo en una columna CHIRALCEL OD-H DAICEL (5 µm, 4,6 x 250 mm) a 35 °C con un caudal de 3,0 ml/min. La fase móvil es CO₂, 40 % de EtOH (+ 0,3 % de iPrNH₂) mantenida 7 min en modo isocrático.

20

Método 2:

Además del procedimiento general: la separación quiral por SFC se llevó a cabo en una columna CHIRALPAK AD-H DAICEL (10 µm, 4,6 x 250 mm) a 35 °C con un caudal de 3,0 ml/min. La fase móvil es CO₂, 15 % de EtOH, 15 % de isopropanol (+ 0,3 % de iPrNH₂) mantenida 7 min en modo isocrático.

25

Tabla 3: datos de SFC analítica - R_t significa tiempo de retención (en min), [M+H]⁺ significa la masa del compuesto protonado, método se refiere al método usado para el análisis por SFC/MS de compuestos enantioméricamente puros.

30

Comp. N°	R _t	[M+H] ⁺	% de área UV	Método	Orden de elución del isómero*
12	2,34	431	100	1	A
13	3,18	431	100	1	B
31	1,80	501	100	2	A
32	2,64	501	100	2	B

*A significa el primer isómero que eluye. B significa el segundo isómero que eluye.

Rotaciones ópticas:

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 341 con una lámpara de sodio y se informaron como sigue a continuación: $[\alpha]_D^{25}$ (c g/100 ml, disolvente).

35

Tabla 4: datos analíticos - valores de rotación óptica para compuestos enantioméricamente puros.

Comp. N°	α_D (°)	Longitud de onda (nm)	Concentración % p/v	Disolvente	Temp. (°C)
5	103,6	589	0,45	DMF	20

Comp. N°	α_D (°)	Longitud de onda (nm)	Concentración % p/v	Disolvente	Temp. (°C)
6	91,4	589	0,47	DMF	20
7	84,7	589	0,63	DMF	20
8	104,0	589	0,53	DMF	20
9	111,7	589	0,53	DMF	20
12	198,0	589	0,26	DMF	20
13	-207,5	589	0,86	DMF	20
15	108,7	589	0,55	DMF	20
16	-24,4	589	0,54	DMF	20
17	-28,3	589	0,53	DMF	20
18	-45,4	589	0,56	DMF	20
27	-142	589	0,5	DMF	20
28	134,2	589	0,48	DMF	20
29	130,1	589	0,49	DMF	20
30	-110,7	589	0,5	EtOH	20
31	-109,8	589	0,48	DMF	20
32	107,9	589	0,47	DMF	20

Ejemplos farmacológicos

Los compuestos proporcionados en la presente invención son inhibidores de la enzima de escisión de APP de sitio β (BACE1). Se cree que la inhibición de la BACE1, una proteasa aspártica, es pertinente para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (AD). Se cree que la producción y acumulación de péptidos de β -amiloide ($A\beta$) a partir de la proteína precursora de β -amiloide (APP) desempeña un papel principal en la aparición y el desarrollo de AD. $A\beta$ se produce a partir de la proteína precursora de amiloide (APP) por escisión secuencial en los extremos N y C terminales del dominio de $A\beta$ mediante la β -secretasa y la γ -secretasa, respectivamente. Se espera que los compuestos de Fórmula (I) produzcan su efecto básicamente en la BACE1 en virtud de su capacidad para inhibir la actividad enzimática. El comportamiento de tales inhibidores sometidos a ensayo usando un ensayo bioquímico basado en Transferencia de Energía por Resonancia de Fluorescencia (FRET) y un ensayo celular alisa en células SKNBE2 que se describe posteriormente y que son adecuados para la identificación de tales compuestos, y más particularmente de los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I), se muestra en la Tabla 1.

Ensayo bioquímico basado en FRET

Este ensayo es un ensayo basado en 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 "Sueca" Lys-Met/Asn-Leu del sitio de escisión de β -secretasa de la proteína precursora de amiloide (APP). Este sustrato también contiene dos fluoróforos: el ácido (7-metoxi-cumarin-4-il)acético (Mca) es un donador fluorescente con longitud de onda de excitación a 320 nm y de emisión a 405 nm y el 2,4-dinitrofenilo (Dnp) es un aceptor inactivador patentado. La distancia entre estos dos grupos se ha seleccionado de modo que tras la excitación, la energía de fluorescencia del donador se inactive considerablemente por el aceptor, a través de transferencia de energía por resonancia. Tras la escisión por parte de la BACE1, el fluoróforo Mca se separa del grupo inactivador Dnp, restaurando el rendimiento de fluorescencia completo del donador. El aumento de fluorescencia es lineal con respecto a la tasa de proteólisis (Koike H et al. J. Biochem. 1999, 126, 235-242).

En resumen, se incubó proteína BACE1 recombinante en un formato de 384 pocillos con una concentración final de 1 μ g/ml durante 120 min a temperatura ambiente con sustrato 10 μ M en tampón de incubación (tampón citrato 40 mM a pH 5,0, 0,04 % de PEG, 4 % de DMSO) en ausencia o presencia de compuesto. A continuación se mide directamente la cantidad de proteólisis mediante una medición de fluorescencia a $T = 0$ y $T = 120$ (excitación a 320 nm y emisión a 405 nm). Los resultados se expresan en RFU, como la diferencia entre T120 y T0.

La curva de mejor ajuste se obtiene mediante el método de mínimos cuadrados en la gráfica de % de Controlmin frente a la concentración de compuesto. A partir de esto se puede obtener el valor de CI_{50} (concentración inhibitoria que causa un 50 % de inhibición de la actividad).

LC = mediana de los valores de control bajo
 = control bajo: reacción sin enzima
 HC = mediana de los valores de control alto
 = control alto: reacción con enzima

5

$$\% \text{ de Efecto} = 100 - [(muestra - LC) / (HC - LC) * 100]$$

$$\% \text{ de Control} = (muestra / HC) * 100$$

10

$$\% \text{ de Controlmin} = (muestra - LC) / (HC - LC) * 100$$

Los siguientes compuestos ejemplares se sometieron ensayo básicamente como se ha descrito anteriormente y exhibieron la siguiente actividad:

15

Tabla 5

Comp. N°	pCl ₅₀ del ensayo bioquímico basado en FRET
1	4,92
2	5,43
3	6,87
4	6,63
5	7,43
6	7,71
7	7,38
8	7,48
9	7,47
10	7,32
11	6,97
12	7,43
13	4,74
14	6,76
15	7,44
16	7,31
17	7,17
18	7,08
19	6,75
20	6,99
21	7,02
22	6,65
23	6,74
24	5,50
25	5,30
26	5,54
27	<4,3
28	5,72
29	5,69
30	4,46

Comp. N°	pCl ₅₀ del ensayo bioquímico basado en FRET
31	<4,3
32	5,76

Ensayo celular alisa en células SKNBE2

Se cuantificaron en dos ensayos alisa los niveles de Aβtotal y Aβ42 producidas y secretadas en el medio de células SKNBE2 de neuroblastoma humano. El ensayo se basa en el neuroblastoma humano SKNBE2 que expresa la Proteína Precursora de Amiloide de tipo silvestre (hAPP695). Los compuestos se diluyen y se añaden a estas células, se incuban durante 18 horas y a continuación se toman las medidas de Aβtotal y Aβ42. Aβtotal y Aβ42 se miden mediante alisa sándwich. alisa es un ensayo sándwich que usa un anticuerpo biotinilado AbN/25 unido a perlas revestidas de estreptavidina y anticuerpo Ab4G8 o cAb42/26 conjugado con perlas de aceptor para la detección de Aβtotal y Aβ42, respectivamente. En presencia de Aβtotal o Aβ42, las perlas se acercan mucho. La excitación de las perlas del donador provoca la liberación de moléculas de oxígeno singlete que desencadena una cascada de transferencia de energía en las perlas de aceptor, dando como resultado la emisión de luz. La emisión de luz se mide después de una incubación de 1 hora (excitación a 650 nm y emisión para 615 nm).

La curva de mejor ajuste se obtiene mediante el método de mínimos cuadrados en la gráfica de % de Controlmin frente a la concentración de compuesto. A partir de esto se puede obtener el valor de Cl₅₀ (concentración inhibitoria que causa un 50 % de inhibición de la actividad).

LC = mediana de los valores de control bajo

= control bajo: células preincubadas sin compuesto, sin Ab biotinilado en el alisa

HC = mediana de los valores de control alto

= control alto: células preincubadas sin compuesto

$$\% \text{ de Efecto} = 100 - [(muestra - LC) / (HC - LC) * 100]$$

$$\% \text{ de Control} = (muestra / HC) * 100$$

$$\% \text{ de Controlmin} = (muestra - LC) / (HC - LC) * 100$$

Los siguientes compuestos ejemplares se sometieron ensayo básicamente como se ha descrito anteriormente y exhibieron la siguiente actividad:

Tabla 6

Comp. N°	pCl ₅₀ de Aβ42 en el ensayo celular alisa en células SKNBE2	pCl ₅₀ de Aβtotal en el ensayo celular alisa en células SKNBE2
1	5,4	5,41
2	5,35	5,37
3	7	7 .02
4	6,96	7,03
5	8,53	8,55
6	8,8	8,85
7	8,18	8,25
8	8,66	8,69
9	7,92	7,97
10	7,87	7,9
11	7,96	8,02
12	7,85	7,9
13	5,63	5,62
14	7,43	7,45

Comp. Nº	pCl ₅₀ de A β 42 en el ensayo celular dilisa en células SKNBE2	pCl ₅₀ de A β total en el ensayo celular dilisa en células SKNBE2
15	8,03	8,05
16	7,69	7,71
17	7,49	7,47
18	7,50	7,51
19	7,18	7,20
20	7,62	7,63
21	7,83	7,79
22	7,31	7,32
23	7,12	7,11
24	6,30	6,35
25	6,04	6,07
26	6,30	6,27
27	<5	<5
28	6,53	6,52
29	6,32	6,33
30	<5	<5
31	<5	<5
32	6,54	6,53

Demostración de la eficacia in vivo

- 5 Los agentes de disminución del péptido A β de la invención se pueden usar para tratar AD en mamíferos tales como seres humanos o alternatively demostrar su eficacia en modelos animales tales como, pero no limitados a, ratón, rata, o cobaya. El mamífero puede no estar diagnosticado con AD, o puede no tener una predisposición genética a AD, pero puede ser transgénico de modo que sobreproduzca y finalmente deposite A β de una forma similar a la observada en los seres humanos afectados con AD.
- 10 Los agentes de disminución del péptido A β se pueden administrar mediante cualquier forma convencional usando cualquier método convencional. Por ejemplo, pero sin limitación, los agentes de disminución del péptido A β pueden estar en forma de líquidos, comprimidos o cápsulas que se administran por vía oral o mediante inyección. Los agentes de disminución del péptido A β se pueden administrar en cualquier dosis que sea suficiente para reducir considerablemente los niveles de los péptidos A β en la sangre, plasma sanguíneo, suero, líquido cefalorraquídeo (CSF), o cerebro.
- 15
- 20 Para determinar si la administración aguda de un agente de disminución del péptido A β 42 reduce los niveles del péptido A β *in vivo*, se usaron roedores no transgénicos, por ejemplo ratones o ratas. Los animales tratados con el agente de disminución del péptido A β se examinaron y se compararon con los animales sin tratar o tratados con vehículo y se cuantificaron los niveles en el cerebro de A β 42 soluble y A β total mediante técnicas convencionales, por ejemplo, usando ELISA. Los períodos de tratamiento variaron de horas (h) a días y se ajustaron basándose en los resultados de la disminución de A β 42 una vez se pudo establecer el curso de tiempo del comienzo del efecto.
- 25 Se muestra un protocolo habitual para la medida de la disminución de A β 42 *in vivo* pero es solo una de las muchas variaciones que se podrían usar para optimizar los niveles de A β detectable. Por ejemplo, se formularon los compuestos de disminución del péptido A β en hidroxipropil β ciclodextrina al 20 %. Los agentes de disminución del péptido A β se administraron en forma de una dosis oral individual (p.o.) o una dosis subcutánea individual (s.c.) a animales que ayunaron durante una noche. Después de un cierto tiempo, habitualmente 2 o 4 h (como se indica en la Tabla 7), los animales se sacrificaron y se analizaron los niveles de A β 42.
- 30 La sangre se recogió por decapitación y desangrado completo en tubos de recolección tratados con AEDT. La sangre se centrifugó a 1900 g durante 10 min (min) a 4 °C y en plasma se recuperó y se liofilizó para análisis posterior. El cerebro se retiró del cráneo y el romboencéfalo. Se retiró el cerebelo y se separaron los hemisferios

izquierdo y derecho. El hemisferio izquierdo se almacenó a -18 °C para análisis cuantitativo de los niveles del compuesto de ensayo. El hemisferio derecho se aclaró con tampón fosfato salino (PBS) y se congeló inmediatamente en hielo seco y se almacenó a -80 °C hasta homogeneización para los ensayos bioquímicos.

Los cerebros de los ratones de animales no transgénicos se resuspendieron en 8 volúmenes de DEA al 0,4 % (dietilamina) / NaCl 50 mM que contenía inhibidores de proteasa (Roche-11873580001 o 04693159001) por gramo de tejido, por ejemplo para 0,158 g de cerebro, se añadieron 1,264 ml de DEA al 0,4 %. Todas las muestras se homogeneizaron en el sistema FastPrep-24 (MP Biomedicals) usando una matriz de lisado D (MPBio N° 6913-100) a 6 m/s durante 20 segundos. Los homogenatos se centrifugaron a 221300 x g durante 50 min. Los sobrenadantes de alta velocidad resultantes se transfirieron a continuación a tubos Eppendorf nuevos. Se neutralizaron nueve partes de sobrenadante con 1 parte de Tris-HCl 0,5 M a pH 6,8 y se usaron para cuantificar A β total y A β 42.

Para cuantificar la cantidad de A β total y A β 42 en la fracción soluble de los homogeneatos de cerebro, se usaron Ensayos por Inmunoabsorción Ligados a Enzimas. En resumen, se prepararon los patrones (dilución de A β 1-40 y A β 1-42 sintéticos, Bachem) en un tubo Eppendorf de 1,5 ml en Ultraculture, con concentraciones finales que variaron de 10000 a 0,3 pg/ml. Las muestras y los patrones se incubaron conjuntamente con anticuerpo marcado en N terminal con HRPO para la detección de A β 42 y con el anticuerpo 4G8 de dominio medio biotinilado para la detección de A β total. A continuación se añadieron 50 μ l de mezclas conjugado/muestra o conjugado/patrones a la placa revestida con anticuerpo (los anticuerpos de captura reconocen selectivamente el extremo C terminal de A β 42, anticuerpo JRF/cA β 42/26, para la detección de A β 42 y el extremo N terminal de A β , anticuerpo JRF/rA β /2, para la detección de A β total). Se dejó incubar la placa durante una noche a 4 °C con el fin de permitir la formación del complejo anticuerpo-amiloide. Después de esta incubación y de las posteriores etapas de lavado se finalizó el ELISA para la cuantificación de A β 42 mediante la adición de sustrato de peroxidasa fluorogénico Quanta Blu de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Pierce Corp., Rockford, IL). La lectura se llevó a cabo después de 10 a 15 min (excitación 320 nm /emisión 420 nm).

Para la detección de A β 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 de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Pierce Corp., Rockford, IL). La lectura se llevó a cabo después de 10 a 15 min (excitación 320 nm /emisión 420 nm).

En este modelo, sería ventajoso al menos un 20 % de disminución de A β 42 en comparación con los animales sin tratar.

Los siguientes compuestos ejemplares se sometieron ensayo básicamente como se ha descrito anteriormente y exhibieron la siguiente actividad:

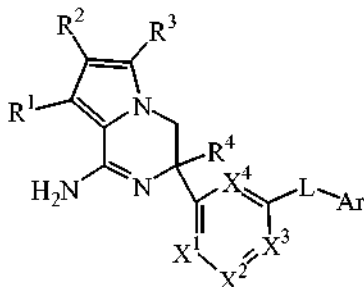
Tabla 7:

Comp. N°	A β 42 (% Ctrl), promedio	A β total (% Ctrl), promedio	Dosis	Vía de administración	Tiempo después de la administración
7	73	99	30 mg/kg	p.o.	4 h.

p.o. significa oral

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I)



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

R^1 , R^2 , R^3 se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, halo, ciano, alquilo C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y cicloalquilo C_{3-6} ;

R^4 se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C_{1-3} , metoximetilo, cicloalquilo C_{3-6} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , homoarilo, y heteroarilo;

X^1 , X^2 , X^3 , X^4 son independientemente $C(R^5)$ o N, con la condición de que no más de dos de los mismos representan N; R^5 se selecciona entre el grupo que consiste en hidrógeno, halo, ciano, alquilo C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y cicloalquilo C_{3-6} ;

L es un enlace o -NHCO-;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

en el que homoarilo es fenilo o fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C_{1-3} , alquilo C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y mono y polihalo-alquilo C_{1-3} ;

heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en piridilo, pirimidilo, pirazinilo, piridazilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, oxazolilo, y oxadiazolilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C_{1-3} , alquilo C_{1-3} , mono y polihalo-alquilo C_{1-3} , y mono y polihalo-alquilo C_{1-3} ; o una sal de adición o un solvato del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1 en el que,

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

X^1 , X^2 , X^3 , X^4 son independientemente $C(R^5)$ en el que cada R^5 se selecciona entre hidrógeno y halo;

L es un enlace o -NHCO-;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

en el que homoarilo es fenilo o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C_{1-3} , alquilo C_{1-3} , y polihalo-alquilo C_{1-3} ;

heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en piridilo, pirimidilo, y pirazinilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C_{1-3} , alquilo C_{1-3} , y polihalo-alquilo C_{1-3} ; o

una sal de adición o un solvato del mismo.

3. El compuesto de la reivindicación 1 en el que,

R^1 , R^2 y R^3 son hidrógeno;

X^1 es CF;

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

L es un enlace o -NHCO-;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

en el que homoarilo es fenilo sustituido con cloro;

heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en piridilo y pirimidilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados entre el grupo que consiste en cloro, flúor, ciano, metilo, y metoxi; o una sal de adición o un solvato del mismo.

4. El compuesto de la reivindicación 1 en el que el compuesto es [3-(1-amino-7-fluoro-3-metil-3,4-dihidro-pirrol[1,2-a]pirazin-3-il)-4-fluoro-fenil]-amida del ácido (R)-5-fluoro-piridina-2-carboxílico.

5. El compuesto de la reivindicación 1 en el que R^1 y R^3 son hidrógeno, R^2 es hidrógeno, flúor, o trifluorometilo;

R^4 es metilo o difluorometilo;

X^1 es CH o CF;

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

L es $-NHCO-$;

Ar es 5-cloropiridin-2-ilo, 5-cianopiridin-2-ilo, 5-fluoropiridin-2-ilo, 5-ciano-3-fluoropiridin-2-ilo, 5-metoxipirazin-2-ilo o 1-difluorometilpirazol-3-ilo; o una sal de adición o un solvato del mismo.

5

6. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10

7. Un proceso para preparar una composición farmacéutica como se define en la reivindicación 6, caracterizado por que se mezcla íntimamente un vehículo farmacéuticamente aceptable con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

15

8. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedad de Alzheimer, deterioro cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con apoplejía, demencia asociada con enfermedad de Parkinson o demencia asociada con beta-amiloide.