

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 546 465**

51 Int. Cl.:

C07D 471/20 (2006.01)

C07D 519/00 (2006.01)

A61K 31/435 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.10.2011 E 11784783 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.05.2015 EP 2632925**

54 Título: **Inhibidores de N1/N2-lactama acetil-CoA carboxilasa**

30 Prioridad:

07.09.2011 US 201161531744 P

29.10.2010 US 408127 P

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

23.09.2015

73 Titular/es:

**PFIZER INC (100.0%)
235 East 42nd Street
New York, NY 10017, US**

72 Inventor/es:

**BAGLEY, SCOTT WILLIAM;
DOW, ROBERT LEE;
GRIFFITH, DAVID ANDREW y
SMITH, AARON CHRISTOPHER**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 546 465 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de N1/N2-lactama acetil-CoA carboxilasa

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos pirazoloespirocetona sustituidos que actúan como inhibidores de una acetil-CoA carboxilasa(s) y a su uso en el tratamiento de enfermedades, afecciones o trastornos modulados por la inhibición de la enzima (o enzimas) acetil-CoA carboxilasa(s).

Antecedentes de la invención

10 Las acetil-CoA carboxilasas (ACC) son una familia de enzimas encontradas en la mayoría de las especies y están asociadas con la síntesis y metabolismo de ácidos grasos catalizando la producción de malonil-CoA a partir de acetil-CoA. En mamíferos, se han identificado dos isoformas de las enzimas ACC. La ACC1, que se expresa a altos niveles en tejidos lipogénicos, tales como la grasa y el hígado, controla la primera etapa comprometida en la biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga. Si la acetil-CoA no está carboxilada para formar malonil-CoA, esta se metaboliza mediante el ciclo de Krebs. La ACC2, un componente minoritario de ACC hepática pero la isoforma predominante en el músculo cardíaco y esquelético, cataliza la producción de malonil-CoA en la superficie citosólica de las mitocondrias y regula la cantidad de ácidos grasos que se utiliza en la β -oxidación inhibiendo la carnitina palmitoil transferasa. Por tanto, aumentando la utilización de ácidos grasos e impidiendo aumentos en la síntesis de novo de ácidos grasos, la administración crónica de un inhibidor de ACC (ACC-I) también puede reducir reservas de triglicéridos (TG) en tejido hepático y adiposo en sujetos obesos que consumen una dieta alta o baja en grasas, conduciendo a una pérdida selectiva de grasa corporal.

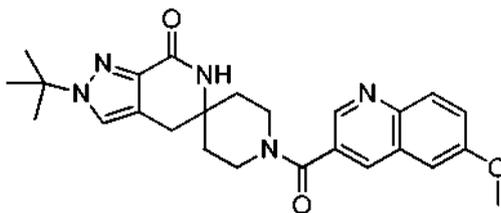
20 Estudios realizados por Abu-Etheiga, y col., sugieren que la ACC2 desempeña una función esencial en el control de la oxidación de ácidos grasos y, como tal, esto proporcionaría una diana en la terapia contra la obesidad y enfermedades relacionadas con la obesidad, tales como diabetes de tipo 2. Véase, Abu-Etheiga, L., y col., "Acetyl-CoA carboxylase 2 mutant mice are protected against obesity and diabetes induced by high-fat/high-carbohydrate diets" *PNAS*, 100(18) 10207-10212 (2003). Véase también, Choi, C.S., y col., "Continuous fat oxidation in acetyl-CoA carboxylase 2 knockout mice increases total energy expenditure, reduces fat mass, and improves insulin sensitivity" *PNAS*, 104(42) 16480-16485 (2007).

30 Cada vez está más claro que la acumulación lipídica hepática causa resistencia a insulina hepática y contribuye a la patogénesis de la diabetes de tipo 2. Salvage, y col., demostraron que la ACC1 y la ACC2 estaban implicadas en la regulación de la oxidación de grasas en hepatocitos mientras que la ACC1, la isoforma dominante en hígado de rata, es la única reguladora de la síntesis de ácidos grasos. Adicionalmente, en su modelo, se requiere la reducción combinada de ambas isoformas para disminuir de manera significativa niveles hepáticos de malonil-CoA, aumentar la oxidación de grasas en el estado de alimentación, reducir la acumulación de lípidos y mejorar la acción de la insulina *in vivo*. Por tanto, se demuestra que los inhibidores hepáticos de ACC1 y ACC2 pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) y resistencia a insulina hepática. Véase, Savage, D.B., y col., "Reversal of diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resistance by antisense oligonucleotide inhibitors of acetyl-CoA carboxylases 1 and 2" *J Clin Invest* doi: 10.1172/JCI27300. Véase también, Oh, W., y col., "Glucose and fat metabolism in adipose tissue of acetyl-CoA carboxylase 2 knockout mice" *PNAS*, 102(5) 1384-1389 (2005).

40 Por consiguiente, existe una necesidad de medicamentos que contengan inhibidores de ACC1 y/o ACC2 para tratar la obesidad y enfermedades relacionadas con la obesidad (tales como, EHGNA y diabetes de tipo 2) inhibiendo la síntesis de ácidos grasos y aumentando la oxidación de ácidos grasos.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere al compuesto que tienen la estructura de Fórmula (I)



Fórmula (I)

45 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende una cantidad de un compuesto de fórmula (I), o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable y un excipiente o diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, la composición comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención. La composición también puede contener al menos un agente farmacéutico adicional. Los agentes preferidos incluyen agentes antidiabéticos y/o agentes antiobesidad.

Otro aspecto más de la presente invención es un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica del mismo para su uso en un procedimiento para tratar una enfermedad, afección o trastorno mediado por la inhibición de la enzima (o enzimas) acetil-CoA carboxilasa(s) en un mamífero.

- Las enfermedades, trastornos o afecciones mediadas por inhibidores de acetil-CoA carboxilasas incluyen diabetes de tipo II y enfermedades relacionadas con diabetes, tales como enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA), resistencia a insulina hepática, hiperglucemia, síndrome metabólico, tolerancia alterada a la glucosa, neuropatía diabética, nefropatía diabética, retinopatía diabética, obesidad, dislipidemia, hipertensión, hiperinsulinemia y síndrome de resistencia a insulina. Las enfermedades, trastornos o afecciones preferidos incluyen diabetes de tipo II, enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA), resistencia a insulina hepática, hiperglucemia, tolerancia alterada a glucosa, obesidad y síndrome de resistencia a insulina. Las más preferidas son diabetes de tipo II, enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA), resistencia a insulina hepática, hiperglucemia y obesidad. La más preferida es la diabetes de tipo II.
- Una realización preferida es un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica del mismo para su uso en un procedimiento para tratar (por ejemplo, retrasar la progresión o aparición de) la diabetes tipo 2 y trastornos relacionados con diabetes en animales.
- Otra realización preferida es un compuesto de Fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica del mismo para su uso en un procedimiento para tratar la obesidad y trastornos relacionados con la obesidad en animales.
- Otra realización preferida más es un compuesto de Fórmula (I), o una al farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica del mismo para su uso en un procedimiento para tratar la enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) o resistencia a insulina hepática en animales.
- Los compuestos de la presente invención pueden administrarse en combinación con otros agentes farmacéuticos (en particular, agentes antiobesidad y antidiabéticos descritos más adelante en el presente documento). La terapia de combinación puede administrarse como (a) una sola composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención, al menos un agente farmacéutico adicional descrito en el presente documento y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable; o (b) dos composiciones farmacéuticas individuales que comprenden (i) la primera composición comprende un compuesto de la presente invención y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable, y (ii) la segunda composición comprende al menos un agente farmacéutico adicional descrito en el presente documento y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse de manera simultánea o secuencial y en cualquier orden.

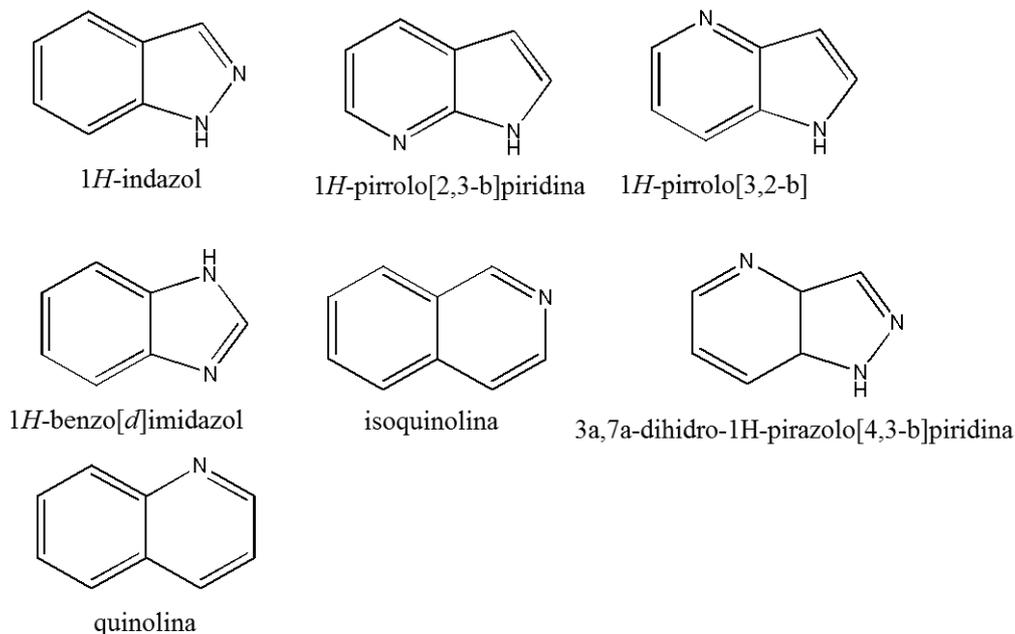
Descripción detallada de la invención

Definiciones

- La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que: (i) trata o previene la enfermedad, afección o trastorno particular, (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular, o (iii) previene o retrasa la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad afección o trastorno particular descrito en el presente documento.
- El término "animal" se refiere a seres humanos (hombres o mujeres), animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos y caballos), animales que son fuente de alimento, animales de zoológico, animales marinos, aves y otras especies animales similares. "Animales comestibles" se refiere a animales que son fuente de alimento, tales como vacas, cerdos, ovejas y aves de corral.
- La frase "farmacéuticamente aceptable" indica que la sustancia o la composición debe ser química y/o toxicológicamente compatible con los otros agentes que comprenden una formulación y/o con el mamífero a tratar con la misma.
- Los términos "tratando", "tratar" o "tratamiento" incluyen tratamiento tanto preventivo, es decir, profiláctico, como paliativo.
- Los términos "modulado" o "modulación" o "modular", como se usa en el presente documento, a menos que se indique de otra manera, se refiere a la inhibición de la enzima (o enzimas) acetil-CoA carboxilasa(s) (ACC) con los compuestos de la presente invención.
- Los términos "mediado" o "mediación" o "mediar", como se usa en el presente documento, a menos que se indique de otra manera, se refiere a (i) el tratamiento o la prevención de la enfermedad afección o trastorno particular, (ii) atenuación, mejoría o eliminación de uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular o (iii) prevención o retraso de la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular descrito en el presente documento, inhibiendo la enzima (o enzimas) acetil-CoA carboxilasa(s) (ACC).
- La expresión "compuestos de la presente invención" (a menos que se identifique específicamente de otra manera) se refiere a un compuesto de fórmula (I) y a cualquiera de las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos, así como a todos los estereoisómeros (incluyendo diastereoisómeros y enantiómeros), tautómeros, isómeros conformacionales y compuestos isotópicamente marcados. Los hidratos y solvatos de los compuestos de la presente invención se consideran composiciones de la presente invención, en la que el compuesto está en asociación con agua o disolvente, respectivamente.
- Las expresiones "alquilo (C₁-C₆)" y "alquilo (C₁-C₃)" son grupos alquilo del número especificado de carbonos, de uno a seis o de uno a tres carbonos, respectivamente, que pueden ser tanto de cadena lineal como ramificada. Por ejemplo, la expresión "alquilo (C₁-C₃)" tiene de uno a tres carbonos y consta de metilo, etilo, n-propilo e isopropilo.
- La expresión "cicloalquilo (C₃-C₇)" se refiere a un grupo cicloalquilo con tres a siete átomos de carbono y consta de ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo. El término "halo" significa flúor, cloro, bromo o yodo. La

expresión "arilo (C₆-C₁₀)" se refiere a un grupo carbocíclico aromático que consta de seis a diez átomos de carbono, tales como fenilo o naftilo.

La expresión "heteroarilo de 5 a 12 miembros" se refiere a un grupo aromático de cinco a doce miembros que contiene al menos un heteroátomo seleccionado entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Como se usa en el presente documento el punto de unión del "heteroarilo de 5 a 12 miembros" está en un átomo de carbono de dicho grupo. El grupo "heteroarilo de 5 a 12 miembros" puede ser bicíclico. Las realizaciones preferidas de heteroarilos bicíclicos incluyen, pero sin limitación, radicales de los siguientes sistemas de anillos:



La expresión "arilo heterocíclico de 8 a 12 miembros" se refiere a un sistema de anillos de 8 a 12 miembros en el que un anillo heterocíclico no aromático está condensado con un anillo arilo. Como se usa en el presente documento el punto de unión del grupo "arilo heterocíclico de 8 a 12 miembros" está en un átomo de carbono de dicho grupo. La expresión "heterociclilo de 3 a 7 miembros" se refiere a un anillo saturado de tres a siete miembros, en el que de uno a tres átomos de carbono son heteroátomos seleccionados independientemente entre nitrógeno, oxígeno y azufre. Los ejemplos de grupos "heterociclilo de 3 a 7 miembros" incluyen, pero sin limitación, grupos, tales como aziridinilo, azetidínilo, pirrolidinilo, piperidinilo, oxiranilo, oxetanilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidro-2H-piranilo, tetrahidro-2H-tiopiranilo, piperazinilo, morfolinilo y tiomorfolinilo. El punto de unión para el "heterociclilo de 3 a 7 miembros" puede estar en un átomo de carbono o de nitrógeno, según sea adecuado para cada grupo en particular.

Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse por rutas sintéticas que incluyen procedimientos análogos a los que se conocen bien en las técnicas químicas, particularmente a la luz de la descripción contenida en el presente documento. Los materiales de partida están generalmente disponibles de fuentes comerciales, tal como Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) o se preparan fácilmente usando procedimientos conocidos para los expertos en la materia (por ejemplo, prepararse por procedimientos descritos de forma general en Louis F. Fieser y Mary Fieser, *Reagents for Organic Synthesis*, v. 1-19, Wiley, Nueva York (ed. 1967-1999), o *Beilsteins Handbuch der organischen Chemie*, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlín, incluyendo suplementos (también disponibles mediante la base de datos en línea *Beilstein*)).

Con propósitos ilustrativos, los esquemas de reacción ilustrados a continuación proporcionan rutas potenciales para sintetizar los compuestos de la presente invención, así como intermedios clave. Para una descripción más detallada de etapas de reacción individuales, véase la sección de Ejemplos a continuación. Los expertos en la materia apreciarán que pueden usarse otras rutas sintéticas para sintetizar los compuestos de la invención. Aunque se representan materiales de partida y reactivos específicos en los esquemas y se describen a continuación, otros materiales de partida y reactivos pueden sustituirse fácilmente para proporcionar una diversidad de derivados y/o condiciones de reacción. Además, muchos de los compuestos preparados por los procedimientos descritos a continuación pueden modificarse adicionalmente a la luz de la divulgación usando procedimientos químicos convencionales bien conocidos para los expertos en la materia.

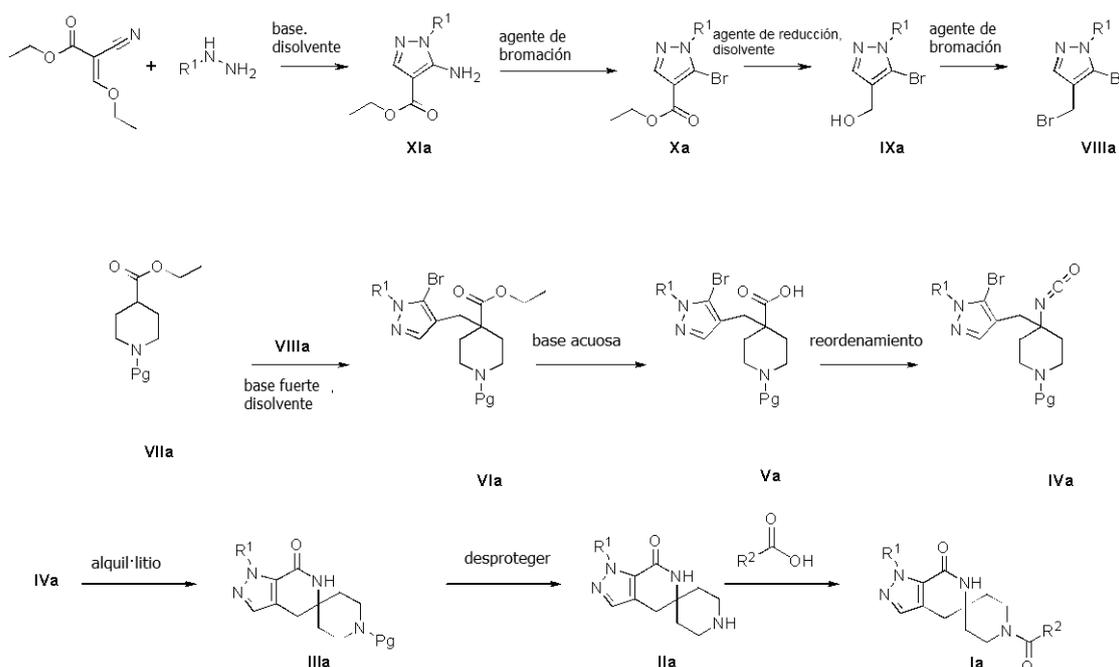
En la preparación de los compuestos de la presente invención, puede necesitarse la protección de funcionalidades aisladas (por ejemplo, amina primaria o secundaria) de intermedios. La necesidad para dicha protección variará dependiendo de la naturaleza de la funcionalidad a distancia y de las condiciones de los procedimientos de preparación. Los grupos protectores de amino (NH-Pg) incluyen acetilo, trifluoroacetilo, *t*-butoxicarbonilo (BOC), benciloxycarbonilo (Cbz) y 9-fluorenilmetileno-xycarbonilo (Fmoc). De forma análoga, un "grupo protector de hidroxilo" se refiere a un sustituyente de un grupo hidroxilo que bloquea o protege la funcionalidad hidroxilo. Los grupos protectores de hidroxilo adecuados (O-Pg) incluyen por ejemplo, alilo, acetilo, sililo, bencilo, *para*-metoxibencilo, tritilo y similares. La necesidad de dicha protección se determina fácilmente por un experto en la materia. Para una descripción general de grupos protectores y su uso, véase T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*,

John Wiley & Sons, Nueva York, 1991.

Los siguientes esquemas de reacción, del Esquema de Reacción I al Esquema de Reacción V, proporcionan procedimientos representativos que se usan para preparar los compuestos de Fórmula (I). Debe apreciarse que estos esquemas de reacción deben interpretarse de una forma no limitante y que pueden usarse variaciones racionales de los procedimientos ilustrados para preparar los compuestos de Fórmula (I).

El Esquema de reacción I resume los procedimientos generales que podrían usarse para proporcionar compuestos inhibidores de N1 lactama ACC que tienen la Fórmula Ia en la que R¹ es un alquilo (C₁-C₆) o cicloalquilo (C₃-C₅) y R² es fenilo, naftilo, un heteroarilo de 5 a 12 miembros o un arilo heterocíclico condensado de 8 a 12 miembros; estando cada grupo R² opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo (C₁-C₃), alcoxi (C₁-C₃), halo y CONH₂.

Esquema de reacción I



De acuerdo con el Esquema I, el compuesto de fórmula XIa puede formarse haciendo reaccionar 2-ciano-3-etoxiacrilato de metilo con una alquilhidrazina adecuada (R₁NHNH₂), en presencia de una base, tal como carbonato potásico y un disolvente. Por ejemplo, el compuesto de fórmula XIa puede formarse haciendo reaccionar 2-ciano-3-etoxiacrilato de metilo con una alquilhidrazina adecuada (R₁NHNH₂) en presencia de una base tal, como carbonato potásico ("K₂CO₃") en etanol a reflujo para proporcionar el compuesto ciclado deseado, a una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 80 °C durante aproximadamente 2 a 24 horas.

El compuesto de fórmula Xa puede formarse convirtiendo la arilamina de fórmula XIa en un bromuro de arilo usando un nitrito, tal como isoamilnitrito, nitrito sódico o terc-butil nitrito y una fuente de bromuro, tal como cloruro de cobre (II) en acetonitrilo, para proporcionar el compuesto de fórmula Xa, a una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 80 °C, durante aproximadamente 2 a aproximadamente 18 horas.

Después, el compuesto de fórmula IXa puede prepararse tratando el éster de fórmula Xa con un agente reductor, tal como hidruro de diisobutilaluminio ("DIBAL") o hidruro de litio y aluminio ("LAH"), en un disolvente aprótico, tal como tetrahidrofurano ("THF"), tolueno o éter dietílico a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 80 °C durante aproximadamente 1 a aproximadamente 12 horas.

El compuesto de fórmula VIa puede formarse haciendo reaccionar en primer lugar el compuesto de fórmula IXa con un agente de bromación, tal como tribromuro de fósforo ("PBr₃") o una mezcla de tetrabromuro de carbono y trifenilfosfina, a una temperatura de aproximadamente -20 °C a aproximadamente 60 °C, durante aproximadamente 30 a aproximadamente 120 minutos, formando el compuesto de fórmula VIIIa. Después, el compuesto de fórmula VIIIa se hace reaccionar con un compuesto derivado de piperidina protegido de fórmula VIIa en presencia de una base fuerte, tal como bis(trimetilsilil)amida de litio ("LiHMDS") o diisopropilamina de litio ("LDA") en un disolvente aprótico, tal como THF, tolueno o éter dietílico, a una temperatura de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 20 °C durante aproximadamente 1 a aproximadamente 18 horas. El grupo Pg representa un grupo protector de amina adecuado y es preferentemente N-terc-butoxicarbonilo ("BOC") o carbobenciloxi ("Cbz").

Después, el compuesto de fórmula VIa se desprotege hidrolizando el grupo éster con una base acuosa fuerte, tal como hidróxido de litio o hidróxido sódico, a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 100 °C, durante aproximadamente 1 a aproximadamente 18 horas, formando un ácido carboxílico que contiene el compuesto de fórmula Va.

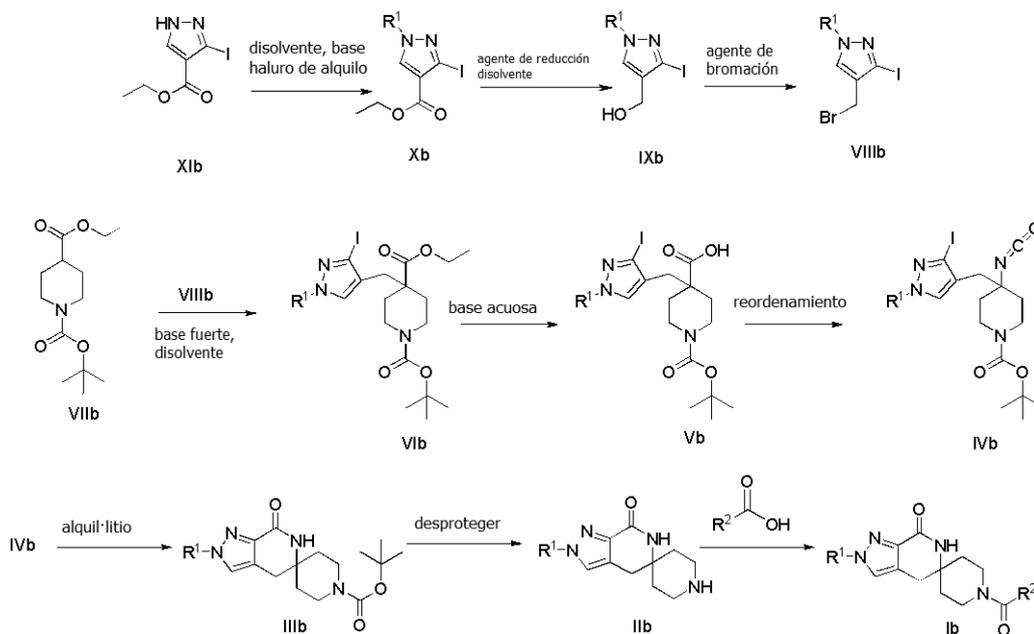
Después, el compuesto isocianato de fórmula IVa puede formarse haciendo reaccionar el ácido carboxílico de fórmula Va con difenilfosforil azida ("DPPA") en presencia de una base, tal como trietilamina ("Et₃N") o diisopropiltilamina, a una temperatura de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 120 °C durante aproximadamente 1 a aproximadamente 12 horas. Después, el compuesto de lactama de fórmula IIIa puede formarse por ciclación del isocianato (fórmula IVa) usando un alquil-litio, tal como n-butil-litio ("n-BuLi") o t-butil-litio ("t-BuLi") a una temperatura de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 0 °C, durante aproximadamente 5 a aproximadamente 120 minutos.

Después, el compuesto de lactama de fórmula (IIIa) puede desprotegerse para proporcionar el derivado libre de espiropiperidina de fórmula (IIa), usando procedimientos convencionales que dependen de qué grupo protector Pg se halla empleado. Por ejemplo, cuando Pg representa BOC, condiciones de desprotección de ácidos fuertes convencionales, tales como ácido clorhídrico 4 N en dioxano o ácido trifluoroacético en un disolvente apropiado, tal como diclorometano, puede usarse para retirar el grupo BOC. Cuando Pg representa Cbz, puede emplearse hidrogenación en paladio sobre carbón en etanol o tratamiento con una fuente de hidrógeno, tal como formiato amónico o 1-metil-1,4-ciclohexadieno en presencia de paladio sobre carbón en etanol o acetato de etilo para realizar la desprotección.

Después, el derivado de espiropiperidina de Fórmula (IIa) puede acilarse empleando procedimientos convencionales para proporcionar el compuesto de Fórmula (Ia). Por ejemplo, después, el compuesto (Ia) puede formarse usando una reacción de acoplamiento de péptidos convencional con el ácido carboxílico deseado (R²-CO₂H). Por ejemplo, el intermedio de espiropiperidina (IIa) y ácido carboxílico (R²-CO₂H) pueden acoplarse formando un éster de ácido carboxílico activado, tal como poniendo en contacto el ácido carboxílico (R²-CO₂H) con un reactivo de acoplamiento de péptido, tal como hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio ("HATU") o clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida ("EDC·HCl"), en presencia o ausencia de un agente de activación, tal como hidroxibenzotriazol ("HOBT") y en presencia de una base adecuada, tal como N,N-diisopropiltilamina ("DIEA"), trietilamina o N-metilmorfolina ("NMM"), en un disolvente adecuado, tal como THF y/o DMF, dimetilacetamida ("DMA") o diclorometano y después poniendo en contacto el éster de ácido carboxílico activado con el derivado de espiropiperidina (IIa) para formar un compuesto de Fórmula (Ia).

El Esquema de Reacción II resume los procedimientos generales que podrían usarse para proporcionar compuestos inhibidores de N2 lactama ACC que tienen la Fórmula Ib en la que R¹ es un alquilo (C₁-C₆) o cicloalquilo (C₃-C₅) y R² es fenilo, naftilo, un heteroarilo de 5 a 12 miembros o un arilo heterocíclico condensado de 8 a 12 miembros; estando cada grupo R² opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo (C₁-C₃), alcoxi (C₁-C₃), halo y CONH₂.

Esquema de reacción II



De acuerdo con el Esquema II, la alquilación del compuesto de pirazol de fórmula XIb para dar el compuesto de fórmula X usando un haluro de alquilo primario o secundario, tal como yoduro de metilo, yoduro de etilo, 1-bromopropano, 1-yodopropano, 2-bromopropano, 2-yodopropano, 1-yodobutano, 2-yodobutano, 1-yodo-2-metilpropano o 1-(bromometil)ciclopropano, puede realizarse en presencia de una base, tal como carbonato de cesio ("Cs₂CO₃") o carbonato potásico ("K₂CO₃") y un disolvente, tal como dimetilformamida ("DMF"), a una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 100 °C durante aproximadamente 1 a aproximadamente 12 horas.

Después, el compuesto de fórmula IXb puede prepararse tratando el compuesto de fórmula Xb con un agente reductor, tal como DIBAL o LAH en un disolvente aprótico, tal como THF, tolueno o éter dietílico, a una temperatura de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 60 °C durante aproximadamente 1 a aproximadamente 12 horas.

El compuesto de fórmula VIb puede formarse haciendo reaccionar en primer lugar el compuesto de fórmula IXb con un agente de bromación, tal como PBr₃ o una mezcla de tetrabromuro de carbono y trifenilfosfina, a una temperatura de aproximadamente -20 °C a aproximadamente 60 °C durante aproximadamente 30 a aproximadamente 120 minutos, formando el compuesto de fórmula VIIIb. Después, el compuesto de fórmula VIIIb se hace reaccionar con un compuesto derivado de piperidina protegido de fórmula VIIb, usando una base fuerte, tal como bis(trimetilsilil)amida de litio ("LiHMDS") o diisopropilamina de litio ("LDA"), en un disolvente aprótico, tal como THF, tolueno o éter dietílico, a una temperatura de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 20 °C, durante aproximadamente 1 a aproximadamente 18 horas. El grupo Pg representa un grupo protector de amina adecuado y es preferentemente BOC o Cbz.

Después, el compuesto de fórmula VIb se desprotege hidrolizando el grupo éster con una base acuosa fuerte, tal como hidróxido de litio o hidróxido sódico a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 100 °C, durante aproximadamente 1 a aproximadamente 18 horas, formando un ácido carboxílico que contiene el compuesto de fórmula Vb. El compuesto isocianato de fórmula IVb puede formarse haciendo reaccionar el ácido carboxílico de fórmula Vb con DPPA, en presencia de una base, tal como Et₃N o diisopropiletilamina, a una temperatura de aproximadamente 60 °C a aproximadamente 120 °C, durante aproximadamente 1 a aproximadamente 12 horas.

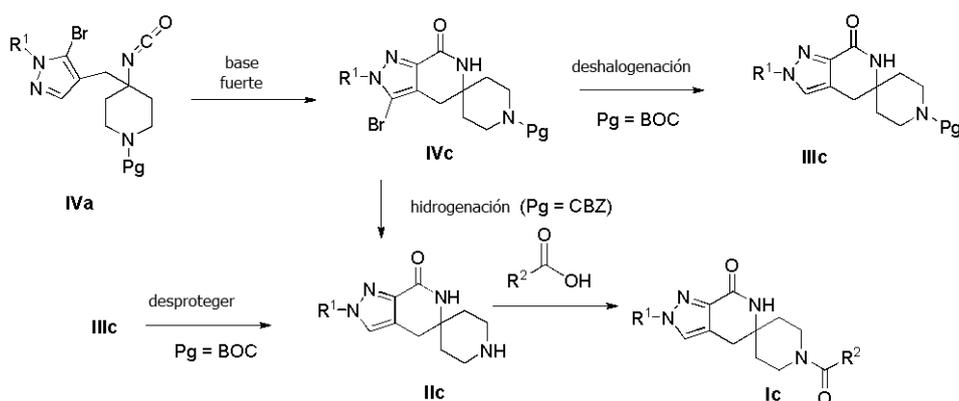
Después, el compuesto de lactama de fórmula IIIb puede formarse por ciclación del isocianato (fórmula IVb) usando un alquil-litio, tal como n-BuLi o t-BuLi, a una temperatura de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 0 °C durante aproximadamente 5 a aproximadamente 120 minutos.

Después, el compuesto de lactama de fórmula IIIb puede desprotegerse para proporcionar el derivado libre de espiropiperidina de fórmula IIb, usando procedimientos convencionales que dependen de qué grupo protector Pg se halla empleado. Por ejemplo, cuando Pg representa BOC, condiciones de desprotección de ácidos fuertes convencionales, tales como ácido clorhídrico 4 N en dioxano o ácido trifluoroacético en un disolvente apropiado tal como diclorometano, pueden usarse para retirar el grupo BOC. Cuando Pg representa Cbz, la hidrogenación en paladio sobre carbón en etanol o tratamiento con una fuente de hidrógeno, tal como formiato amónico o 1-metil-1,4-ciclohexadieno en presencia de paladio sobre carbón en etanol o acetato de etilo puede emplearse para realizar la desprotección.

Después, el derivado de espiropiperidina de Fórmula IIb puede acilarse empleando procedimientos convencionales para proporcionar el compuesto de Fórmula Ib). Por ejemplo, después, el compuesto (Ib) puede formarse usando una reacción de acoplamiento de péptidos convencional con el ácido carboxílico deseado (R²CO₂H). Por ejemplo, el intermedio de espiropiperidina (IIb) y ácido carboxílico (R²CO₂H) pueden acoplarse formando un éster de ácido carboxílico activado, tal como poniendo en contacto ácido carboxílico (R²CO₂H) con un reactivo de acoplamiento de péptidos, tal como HATU o EDC·HCl, en presencia o ausencia de un agente de activación, tal como HOBT y en presencia de una base adecuada, tal como DIEA, NMM, en un disolvente adecuado, tal como THF y/o DMF, DMA o diclorometano y después poniendo en contacto el éster de ácido carboxílico activado con el derivado de espiropiperidina (IIb) para formar un compuesto de la Fórmula (Ib).

El Esquema de Reacción III resume los procedimientos generales que podrían usarse para proporcionar compuestos inhibidores de N2 lactama ACC que tienen la Fórmula Ic en la que R¹ es un alquilo (C₁-C₆) o cicloalquilo (C₃-C₅) y R² es fenilo, naftilo, un heteroarilo de 5 a 12 miembros o un arilo heterocíclico condensado de 8 a 12 miembros; estando cada grupo R² opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo (C₁-C₃), alcoxi (C₁-C₃), halo y CONH₂.

Esquema de reacción III



El compuesto de lactama de fórmula IVc puede formarse por ciclación del isocianato (fórmula IVa) usando una base fuerte, tal como 2,2,6,6-tetrametilpiperiduro de litio ("LTMP") o 2,2,6,6-tetrametilpiperiduro de magnesio, a una temperatura de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 0 °C durante aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 6 horas.

El compuesto de lactama de fórmula (IVc), cuando Pg representa BOC, puede después deshalogenarse para proporcionar el compuesto de lactama de fórmula (IIIc) por hidrogenación en presencia de una base, tal como Et₃N en paladio sobre carbón en etanol o tratamiento con una fuente de hidrógeno, tal como formiato amónico o 1-metil-1,4-ciclohexadieno, en presencia de una base, tal como Et₃N y paladio sobre carbón en etanol o acetato de etilo, a una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 100 °C durante aproximadamente 30 minutos a

aproximadamente 6 horas.

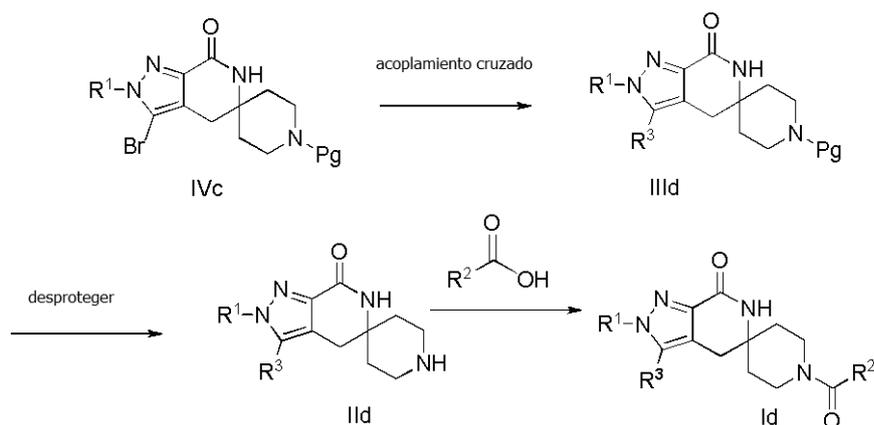
El compuesto de lactama de fórmula (IIIc), cuando Pg representa BOC, puede después desprotegerse para proporcionar el derivado de espiropiperidina libre de fórmula (IIc) usando condiciones de desprotección de ácido fuerte convencionales, tal como ácido clorhídrico 4 N en dioxano o ácido trifluoroacético en un disolvente apropiado, tal como diclorometano, para retirar el grupo BOC.

El compuesto de lactama de fórmula (IVc), cuando Pg representa Cbz, puede deshalogenarse y desprotegerse de forma simultánea por hidrogenación en paladio sobre carbón en etanol o tratamiento con una fuente de hidrógeno, tal como formiato amónico o 1-metil-1,4-ciclohexadieno, en presencia de paladio sobre carbón en etanol o acetato de etilo.

Después, el derivado de espiropiperidina de Fórmula (IIc) puede acilarse empleando procedimientos convencionales para proporcionar el compuesto de Fórmula (Ic). Por ejemplo, el compuesto (Ic) puede después formarse usando una reacción de acoplamiento de péptidos convencional con el ácido carboxílico deseado (R^2CO_2H). Por ejemplo, el intermedio de espiropiperidina (IIc) y ácido carboxílico (R^2CO_2H) pueden acoplarse formando un éster de ácido carboxílico activado, tal como poniendo en contacto ácido carboxílico (R^2CO_2H) con un reactivo de acoplamiento de péptidos, tal como HATU o EDC·HCl, en presencia o ausencia de un agente de activación, tal como HOBT y en presencia de una base adecuada, tal como DIEA, trietilamina o NMM, en un disolvente adecuado tal como THF y/o DMF, DMA o diclorometano y después poniendo en contacto el éster de ácido carboxílico activado con el derivado de espiropiperidina (IIc) para formar un compuesto de la Fórmula (Ic).

El Esquema de Reacción IV resume los procedimientos generales que podrían usarse para proporcionar compuestos inhibidores de N2 lactama ACC tienen la Fórmula Id en la que R^1 es un alquilo (C_1-C_6) o cicloalquilo (C_3-C_5) y R^2 es fenilo, naftilo, un heteroarilo de 5 a 12 miembros o un arilo heterocíclico condensado de 8 a 12 miembros; estando cada grupo R^2 opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo (C_1-C_3), alcoxi (C_1-C_3), halo y $CONH_2$.

Esquema de reacción IV



El compuesto de lactama de fórmula IIIId puede formarse por acoplamiento cruzado catalizado por paladio del bromuro de fórmula IVc con un tributilestannano de alquilo o alqueniilo, tal como tri-nbutilestannano de metilo, tri-nbutilestannano de vinilo, tri-nbutilestannano de alilo o una trialquil boroxina, tal como trimetil boroxina o trivinil boroxina, en presencia de un catalizador de paladio, tal como tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) o una combinación de precatalizador y ligando, tal como acetato de paladio (II) y 2-diciclohexilfosfina-2',6'-dimetoxibifenilo ("SPhos") y en presencia o ausencia de una base, tal como carbonato potásico, en un disolvente prótico, tal como etanol o alcohol t-amílico o un disolvente aprótico, tal como tetrahidrofurano o dimetilformamida, a una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 100 °C durante aproximadamente 2 horas a aproximadamente 18 horas, o a una temperatura de aproximadamente 100 °C a aproximadamente 150 °C durante aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 60 minutos, en calentamiento por microondas. Si un trialquilestannano de alqueniilo o alqueniil boroxina se utiliza para instalar el grupo R^3 , la reducción de la olefina resultante puede realizarse por hidrogenación en paladio sobre carbón en etanol o tratamiento con una fuente de hidrógeno, tal como formiato amónico o 1-metil-1,4-ciclohexadieno en presencia de paladio sobre carbón en etanol o acetato de etilo.

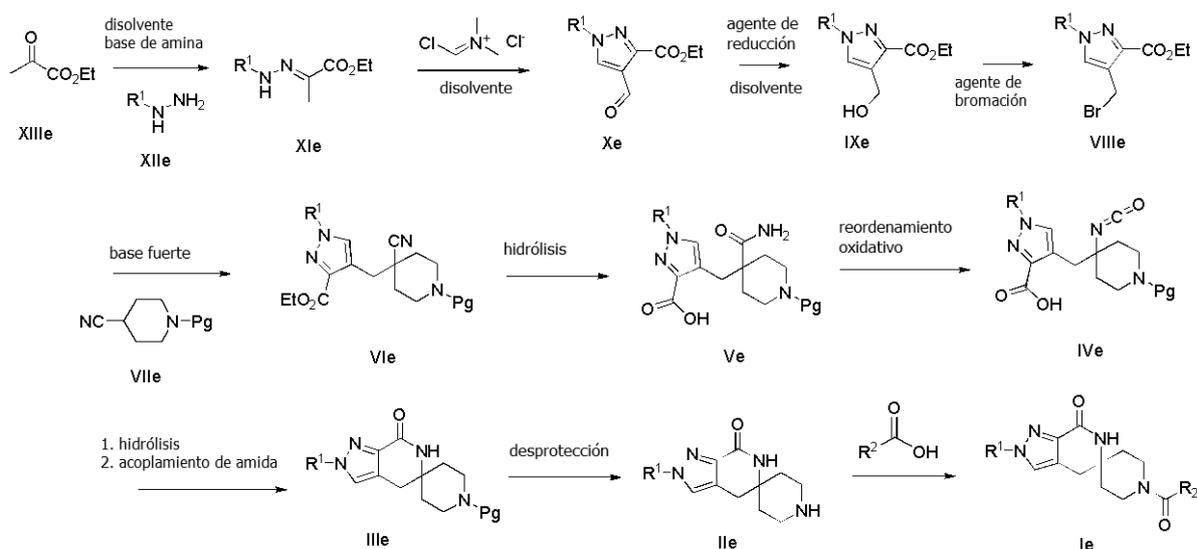
Después, el compuesto de lactama de fórmula (IIIId) puede desprotegerse para proporcionar el derivado de espiropiperidina libre de fórmula (IIId), usando procedimientos convencionales que dependen de qué grupo protector Pg se halla empleado. Por ejemplo, cuando Pg representa BOC, condiciones de desprotección de ácido fuerte convencionales, tal como ácido clorhídrico 4 N en dioxano o ácido trifluoroacético, en un disolvente apropiado, tal como diclorometano, pueden usarse para retirar el grupo BOC. Cuando Pg representa Cbz, la hidrogenación en paladio sobre carbón en etanol o tratamiento con una fuente de hidrógeno, tal como formiato amónico o 1-metil-1,4-ciclohexadieno, en presencia de paladio sobre carbón en etanol o acetato de etilo, puede utilizarse para realizar la desprotección.

Después, el derivado de espiropiperidina de Fórmula (IIId) puede acilarse empleando procedimientos convencionales para proporcionar el compuesto de Fórmula (Id). Por ejemplo, el compuesto (Id) puede después formarse usando una reacción de acoplamiento de péptidos convencional con el ácido carboxílico deseado (R^2CO_2H). Por ejemplo, el

intermedio de espiropiperidina (IIId) y ácido carboxílico (R^2CO_2H) pueden acoplarse formando un éster de ácido carboxílico activado, tal como poniendo en contacto el ácido carboxílico (R^2CO_2H) con un reactivo de acoplamiento de péptidos, tal como HATU o EDC·HCl, en presencia o ausencia de un agente de activación, tal como HOBt y en presencia de una base adecuada, tal como DIEA, trietilamina o NMM, en un disolvente adecuado tal como THF y/o DMF, DMA o diclorometano y después poniendo en contacto el éster de ácido carboxílico activado con el derivado de espiropiperidina (IIId) para formar un compuesto de la Fórmula (Id).

El Esquema de Reacción V resume los procedimientos generales que podrían usarse para proporcionar compuestos inhibidores de N2 lactama ACC que tienen la Fórmula Id en la que R^1 es un alquilo (C_1-C_6) o cicloalquilo (C_3-C_5) y R^2 es fenilo, naftilo, un heteroarilo de 5 a 12 miembros o un arilo heterocíclico condensado de 8 a 12 miembros; estando cada grupo R^2 opcionalmente sustituido con uno a tres sustituyentes seleccionados independientemente entre alquilo (C_1-C_3), alcoxi (C_1-C_3), halo y $CONH_2$.

Esquema de reacción V



De acuerdo con el Esquema V, el compuesto de fórmula XIe puede prepararse por condensación un compuesto ceto éster de fórmula XIIIe con clorhidrato de alquil hidrazina adecuado de fórmula XIIe, tal como clorhidrato de *t*-butilhidrazina, en presencia de una base de amina terciaria, tal como trietilamina o *N,N*-diisopropiletilamina en un disolvente aprótico polar, tal como etanol a una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 100 °C, durante aproximadamente 1 a aproximadamente 12 horas.

El compuesto de fórmula Xe puede prepararse tratando el compuesto de fórmula XIe con cloruro de (clorometileno)dimetilamonio (Vilsmeier Salt, Sigma-Aldrich, N° cat. 280909) en un disolvente aprótico, tal como dimetilformamida, tolueno o 1,2-dicloroetano, a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 120 °C durante aproximadamente 1 a 12 horas.

El compuesto de fórmula IXe puede prepararse tratando el aldehído de fórmula Xe con un agente reductor, tal como borohidruro sódico, en un disolvente prótico, tal como metanol o etanol a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 60 °C, durante aproximadamente 1 a aproximadamente 6 horas.

El compuesto de fórmula VIe puede formarse haciendo reaccionar en primer lugar el compuesto de fórmula IXe con un agente de bromación, tal como tribromuro de fósforo ("PBr₃") o una mezcla de tetrabromuro de carbono y trifenilfosfina, a una temperatura de aproximadamente -20 °C a aproximadamente 60 °C durante aproximadamente 30 a aproximadamente 120 minutos, formando el compuesto de fórmula VIIIe. Después, el compuesto de fórmula VIIIe se hace reaccionar con un compuesto protegido de derivado de 4-cianopiperidina de fórmula VIIa en presencia de una base fuerte, tal como litio bis(trimetilsilil)amida ("LiHMDS") o diisopropilamina de litio ("LDA"), en un disolvente aprótico, tal como tetrahidrofurano ("THF"), tolueno o éter dietílico a una temperatura de aproximadamente -78 °C a aproximadamente 20 °C durante aproximadamente 1 a aproximadamente 18 horas. El grupo Pg representa un grupo protector de amina adecuado y es preferentemente *N*-terc-butoxicarbonilo ("BOC") o carbobenciloxi ("Cbz").

El compuesto de amida de fórmula Ve puede prepararse sometiendo el compuesto de nitrilo de fórmula VIe a condiciones de hidrólisis, tales como una base de hidróxido acuoso, tal como hidróxido de litio o hidróxido sódico y un disolvente, tal como metanol, etanol o tetrahidrofurano a una temperatura de aproximadamente 20 °C a aproximadamente 100 °C durante aproximadamente 1 a 12 horas. Como alternativa puede usarse un complejo de peróxido, tal como urea-peróxido de hidrógeno junto con una base de hidróxido acuoso, tal como hidróxido sódico en un disolvente, tal como metanol o etanol a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 60 °C durante aproximadamente 1 a 12 horas.

El reordenamiento del compuesto de amida de fórmula Ve para dar el compuesto isocianato de fórmula IVe puede realizarse por tratamiento con un reactivo, tal como (bis(trifluoroacetoxi)iodo)benzeno en presencia de una base inorgánica, tal como bicarbonato, sódico en un disolvente, tal como acetonitrilo a una temperatura de

aproximadamente 20 °C a aproximadamente 60 °C durante aproximadamente 1 a 6 horas.

La conversión del compuesto isocianato de fórmula IVe para dar el compuesto de lactama de fórmula IIIe puede realizarse hidrolizando en primer lugar el isocianato en una base de hidróxido acuoso, tal como hidróxido sódico o hidróxido de litio, en un disolvente, tal como metanol o tetrahidrofurano. Después, la amina resultante puede tratarse con un reactivo de acoplamiento de amida, tal como 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida o hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio, con una base de alquilamina, tal como trietilamina o *N,N*-diisopropiletilamina, en un disolvente, tal como diclorometano o dimetilformamida a una temperatura de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 60 °C, durante aproximadamente 1 a 24 horas para dar el compuesto de lactama de fórmula IIIe.

Después, el compuesto de lactama de fórmula (IIIe) puede desprotegerse para proporcionar el derivado de espiropiperidina libre de fórmula (IIe) usando procedimientos convencionales que dependen de qué grupo protector Pg se halla empleado. Por ejemplo, cuando Pg representa *tert*-butiloxicarbonilo ("BOC"), condiciones de desprotección de ácido fuerte convencionales, tales como ácido clorhídrico 4 N en dioxano o ácido trifluoroacético, en un disolvente apropiado, tal como diclorometano pueden usarse para retirar el grupo BOC. Cuando Pg representa carbobenciloxi ("Cbz"), hidrogenación en paladio sobre carbón en etanol o tratamiento con una fuente de hidrógeno, tal como formiato amónico o 1-metil-1,4-ciclohexadieno, en presencia de paladio sobre carbón en etanol o acetato de etilo, puede realizarse para realizar la desprotección.

Después, el derivado de espiropiperidina de Fórmula (IIe) puede acilarse empleando procedimientos convencionales para proporcionar el compuesto de Fórmula (Ie). Por ejemplo, el compuesto (Ie) puede formarse después usando una reacción de acoplamiento de péptidos convencional con el ácido carboxílico deseado (R^2CO_2H). Por ejemplo, el intermedio de espiropiperidina (IIe) y ácido carboxílico (R^2CO_2H) pueden acoplarse formando un éster de ácido carboxílico activado, tal como poniendo en contacto el ácido carboxílico (R^2CO_2H) con un reactivo de acoplamiento de péptidos, tal como HATU o EDC·HCl, en presencia o ausencia de un agente de activación, tal como hidroxibenzotriazol ("HOBT") y en presencia de una base adecuada tal como DIEA, NMM, en un disolvente adecuado tal como THF y/o DMF, DMA o diclorometano y después poniendo en contacto el éster de ácido carboxílico activado con el derivado de espiropiperidina (IIe) para formar un compuesto de la Fórmula (Ie).

El compuesto de Fórmula (I) puede aislarse o usarse *per se* o en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables. De acuerdo con la presente invención, compuestos con átomos de nitrógeno básicos múltiples pueden formar sales con un número diverso de equivalentes ("equiv.") de ácido. Los profesionales entenderán que todas esas sales están dentro del alcance de la presente invención.

Sales farmacéuticamente aceptables, como se usa en el presente documento en relación al compuesto de Fórmula (I), incluye sales orgánicas e inorgánicas farmacéuticamente aceptables del compuesto. Estas sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y purificación finales de un compuesto, o haciendo reaccionar por separado el compuesto del mismo con un ácido orgánico o inorgánico adecuado y aislando la sal formada de esta manera. Las sales representativas incluyen, pero sin limitación, las sales bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, sulfato, bisulfato, nitrato, acetato, trifluoroacetato, oxalato, besilato, palmitato, pamoato, malonato, estearato, laurato, malato, borato, benzoato, lactato, fosfato, hexafluorofosfato, benceno sulfonato, tosilato, formiato, citrato, maleato, fumarato, succinato, tartrato, naftilato, mesilato, glucoheptonato, lactobionato y laurilsulfonato, y similares. Estas también pueden incluir cationes basados en metales alcalinos y alcalinotérreos, tal como sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares, así como cationes de amonio no tóxico, amonio cuaternario y amina incluyendo, pero sin limitación, amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamonio, dimetilamonio, trimetilamonio, trietilamonio, etilamonio y similares. Para ejemplos adicionales véase, por ejemplo, Berge, y col., J. Pharm. Sci., 66, 1-19 (1977).

Los compuestos de la presente invención pueden existir en más de una forma cristalina. Los polimorfos del compuesto de Fórmula (I) y sales de los mismos (incluyendo solvatos e hidratos) forman parte de la presente invención y pueden prepararse por cristalización de un compuesto de la presente invención en condiciones diferentes. Por ejemplo, usando disolventes diferentes o mezclas de disolventes diferentes para la recristalización; cristalización a temperaturas diferentes; diversos modos de enfriamiento que varían, que varían de enfriamiento muy rápido a enfriamiento muy lento durante la cristalización. También pueden obtenerse polimorfos calentando o fundiendo un compuesto de la presente invención seguido enfriamiento gradual o rápido. La presencia de polimorfos puede determinarse por espectroscopía de sonda de sólidos de resonancia magnética nuclear (RMN), espectroscopía infrarroja (IR), calorimetría de exploración diferencial, difracción de rayos X en polvo u otras de dichas técnicas.

La presente invención también incluye compuestos marcados isotópicamente, que son idénticos al compuesto de Fórmula (I), pero en los que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra normalmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, azufre y flúor, tales como 2H , 3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{35}S , ^{36}Cl , ^{125}I , ^{129}I y ^{18}F , respectivamente. Ciertos compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, por ejemplo aquellos en los que están incorporados isótopos radiactivos, tales como 3H y ^{14}C , son útiles en los ensayos de distribución de fármacos y/o sustratos en tejidos. Isótopos tritados (es decir, 3H) y carbono-14 (es decir, ^{14}C), se prefieren particularmente por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados, tales como deuterio (es decir, 2H), puede producir ciertas ventajas terapéuticas producidas por una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo incremento *in vivo* de la semivida o requerimientos de dosificación reducidos, y por lo tanto pueden preferirse en algunas circunstancias. Generalmente, pueden prepararse compuestos marcados isotópicamente de la presente invención, realizando los procedimientos descritos en los esquemas y/o en los Ejemplos a continuación, sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente fácilmente disponible por un reactivo no marcado isotópicamente.

Los compuestos de la presente invención pueden contener centros estereogénicos. Estos compuestos pueden existir en forma de mezclas de enantiómeros o como enantiómeros puros. Cuando un compuesto incluye un centro estereogénico, los compuestos pueden resolverse en los enantiómeros puros por procedimientos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo por formación de sales diastereoméricas que pueden separarse, por ejemplo, por cristalización; formación de derivados estereoisoméricos o complejos que pueden separarse, por ejemplo, por cristalización, cromatografía líquida o de gas-líquido; reacción selectiva de un enantiómero con un reactivo enantioméricamente específico, por ejemplo esterificación enzimática; o cromatografía líquida o de gas-líquido en un ambiente quiral, por ejemplo en un soporte quiral, por ejemplo silicio con un ligando quiral unido o en presencia de un disolvente quiral. Se apreciará que cuando los estereoisómeros deseados se convierten en otras entidades químicas por uno de los procedimientos de separación descritos anteriormente, se necesita una etapa adicional para liberar la forma enantiomérica deseada. Como alternativa, los estereoisómeros específicos pueden sintetizarse usando un material de partida ópticamente activo, por síntesis asimétrica usando reactivos, sustratos, catalizadores o disolventes ópticamente activos o convirtiendo un estereoisómero en otro por transformación asimétrica.

Los compuestos de la presente invención pueden existir en formas conformacionales estables diferentes que pueden separarse. La asimetría torsional debida a la rotación restringida en torno a un solo enlace asimétrico, por ejemplo debida a impedimentos estéricos o tensión del anillo, puede permitir la separación de conformeros diferentes. Los compuestos de la presente invención incluyen además cada uno de los isómeros conformacionales de los compuestos de Fórmula (I) y mezclas de los mismos.

Los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de enfermedades, afecciones y/o trastornos modulados por la inhibición de la enzima (o enzimas) acetil-CoA carboxilasa(s) (en particular, ACC1 y ACC2). Otra realización de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Los compuestos de la presente invención (incluyendo las composiciones y procesos usados en su interior) también pueden usarse en la fabricación de un medicamento para las aplicaciones terapéuticas descritas en el presente documento.

Una formulación típica se prepara mezclando un compuesto de la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente. Los vehículos, diluyentes y excipientes adecuados se conocen bien por los expertos en la materia e incluyen materiales tales como hidratos de carbono, ceras y ceras, polímeros hidrosolubles y/o que pueden expandirse, materiales hidrófilos o hidrófobos, gelatina, aceites, disolventes, agua y similares. El vehículo diluyente o excipiente particular usado dependerá de los medios y propósitos para los cuales se aplicará el compuesto de la presente invención. Se seleccionan los disolventes generalmente basándose en disolventes reconocidos como seguros por los expertos en la materia (GRAS, de las siglas en inglés Generally Recognized As Safe) para administrar a un mamífero. Los disolventes seguros generalmente son disolventes acuosos no tóxicos, tales como, agua y otros disolventes no tóxicos que son solubles o miscibles en agua. Los disolventes acuosos adecuados incluyen agua, etanol, propilenglicol, polietilenglicoles (por ejemplo, PEG400, PEG300), etc. y mezclas de los mismos. Las formulaciones también pueden incluir uno o más tampones, agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, agentes opacificantes, emolientes, ayudantes del procesamiento, colorantes, edulcorantes, agentes perfumantes, agentes saporíferos y otros aditivos conocidos para proporcionar una presentación estética del fármaco (es decir, un compuesto de la presente invención o composición farmacéutica del mismo) o para ayudar en la fabricación del producto farmacéutico (es decir, para su uso en la preparación de un medicamento).

Las formulaciones pueden prepararse usando procedimientos de disolución y mezcla convencionales. Por ejemplo, la sustancia farmacológica a granel (es decir, el compuesto de la presente invención o forma estabilizada del compuesto (por ejemplo, complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente formador de complejos conocidos)) se disuelve en un disolvente adecuado en presencia de uno o más de los excipientes descritos anteriormente. La velocidad de disolución de compuestos poco solubles en agua puede potenciarse usando una dispersión secada por pulverización, tal como se describe en Takeuchi, H., y col. en "Enhancement of the dissolution rate of a poorly water-soluble drug (tolbutamide) by a spray-drying solvent deposition method and disintegrants" J. Pharm. Pharmacol, 39, 769-773 (1987); y en el documento EP0901786 B1 (US2002/009494), incorporado en el presente documento por referencia. El compuesto de la presente invención se formula típicamente en formas farmacéuticas para proporcionar una dosificación fácilmente controlable del fármaco y para proporcionar al paciente un producto estético y fácilmente manejable.

Las composiciones farmacéuticas también incluyen solvatos e hidratos de los compuestos de la presente invención. El término "solvato" se refiere a un complejo molecular de un compuesto representado por la Fórmula (I) (incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables del mismo) con una o dos moléculas disolventes. Dichas moléculas disolventes son las normalmente usadas en la técnica farmacéutica, que se sabe que son inocuas para el receptor, por ejemplo, agua, etanol, etilenglicol y similares. El término "hidrato" se refiere al complejo en el que la molécula disolvente es agua. Los solvatos y/o hidratos existen preferentemente en forma cristalina. Como solvatos intermedios en la preparación de solvatos más deseables pueden usarse otros solvatos, tales como metanol, metil-t-butil éter, acetato de etilo, acetato de metilo, (S)-propilenglicol, (R)-propilenglicol, 1,4-butano-diol y similares.

Para su aplicación, la composición (o formulación) farmacéutica puede envasarse de diversas maneras dependiendo del procedimiento usado para administrar el fármaco. Generalmente, para la distribución, un artículo incluye un envase en cuyo interior se ha depositado la formulación farmacéutica en una forma apropiada. Los expertos en la materia conocen bien envases adecuados e incluyen materiales tales como frascos (de plástico y vidrio), sobres, ampollas, bolsas de plástico, cilindros metálicos y similares. El envase también puede incluir un ensamblaje a prueba de manipulación para impedir el acceso inoportuno al contenido del envase. Además, sobre el envase existe una etiqueta que describe el contenido del envase. La etiqueta también puede incluir advertencias apropiadas.

Adicionalmente, la presente invención proporciona una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la

presente invención y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable para su uso en un procedimiento de tratamiento de enfermedades, afecciones y/o trastornos modulados por la inhibición de una o más enzimas de acetil-CoA carboxilasas en un animal, en particular, enfermedades, afecciones y/o trastornos que se benefician de la inhibición de una o más enzimas acetil-CoA carboxilasas.

- 5 Un aspecto de la presente invención es el tratamiento de la obesidad, y trastornos relacionados con la obesidad (por ejemplo, sobrepeso, aumento de peso o mantenimiento de peso).

10 La obesidad y el sobrepeso se definen generalmente por el índice de masa corporal (IMC), que se correlaciona con la grasa corporal total y calcula el riesgo relativo de enfermedad. El IMC se calcula por peso en kilogramos dividido por altura en metros cuadrados (kg/m^2). El sobrepeso se define típicamente como un IMC de 25-29,9 kg/m^2 y la obesidad se define típicamente como un IMC de 30 kg/m^2 . Véase, por ejemplo, National Heart, Lung, and Blood Institute, Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults, The Evidence Report, Washington, DC: Estados Unidos. Department of Health and Human Services, publicación NIH n°. 98-4083 (1998).

15 Otro aspecto de la presente invención es para el tratamiento (es decir, retraso de la progresión o aparición) de la diabetes o trastornos relacionados con la diabetes, que incluyen diabetes de tipo 1 (diabetes mellitus dependiente de insulina, denominada también "DM1") y de tipo 2 (diabetes mellitus no dependiente de insulina, denominada también "DM2"), tolerancia alterada a glucosa, resistencia a insulina, hiperglucemia y complicaciones diabéticas (tales como aterosclerosis, enfermedad cardíaca coronaria, ictus, enfermedad vascular periférica, nefropatía, hipertensión, neuropatía y retinopatía).

20 Otro aspecto más de la presente invención es el tratamiento de co- morbididades asociadas con obesidad, tales como el síndrome metabólico. El síndrome metabólico incluye enfermedades, afecciones o trastornos tales como dislipidemia, hipertensión, resistencia a insulina, diabetes (por ejemplo, diabetes de tipo 2), arteriopatía coronaria e insuficiencia cardíaca. Para una información más detallada sobre el síndrome metabólico, véase, por ejemplo, Zimmet, P. Z, y col, "The Metabolic Syndrome: Perhaps an Etiologic Mystery but Far From a Myth – Where Does the International Diabetes Federation Stand?," Diabetes & Endocrinology, 7(2), (2005); y Alberti, K.G., y col, "The Metabolic Syndrome – A New Worldwide Definition," Lancet, 366, 1059-62 (2005). Preferentemente, la administración de los compuestos de la presente invención proporciona una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en al menos un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular, tal como disminución de leptina en plasma, proteína C reactiva (CRP) y/o colesterol, en comparación con un control vehículo que no contiene fármaco.

30 La administración de los compuestos de la presente invención también puede proporcionar una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en los niveles de glucosa en suero.

Otro aspecto más de la presente invención es el tratamiento de enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) y resistencia a insulina hepática.

35 Para un ser humano adulto normal que tiene un peso corporal de aproximadamente 100 kg, una dosificación en el intervalo de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal es típicamente suficiente, preferentemente de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 5,0 mg/kg, más preferentemente de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 1 mg/kg. Sin embargo, puede necesitarse alguna variabilidad en el intervalo de dosificación general dependiendo de la edad y del peso del sujeto a tratar, de la vía de administración deseada, del compuesto particular a administrar y similar. La determinación de los intervalos de dosificación y dosificaciones óptimas para un paciente particular se encuentra dentro de la habilidad de un experto habitual en la materia que tiene el beneficio de la presente descripción. También debe observarse que los compuestos de la presente invención pueden usarse en formulaciones de liberación sostenida, liberación controlada y liberación retardada, cuyas formas conoce bien un experto habitual en la materia.

45 Los compuestos de la presente invención también pueden usarse junto con otros agentes farmacéuticos para el tratamiento de enfermedades, afecciones y/o trastornos descritos en el presente documento. Por lo tanto, también se proporcionan procedimientos del tratamiento que incluyen la administración de los compuestos de la presente invención en combinación con otros agentes farmacéuticos. Los agentes farmacéuticos adecuados que pueden usarse en combinación con los compuestos de la presente invención incluyen agentes antiobesidad (incluyendo supresores del apetito), agentes antidiabéticos, agentes antihiperglucémicos, agentes hipolipemiantes, agentes antihipertensivos.

50 Los agentes hipolipemiantes adecuados que pueden combinarse con los compuestos de la presente invención incluyen, por ejemplo, los descritos en la página 30, desde la línea 20 hasta la página 31, línea 30 del documento WO 2011005611. Los agentes hipolipemiantes incluyen secuestrantes de ácidos biliares, inhibidores de la HMG-CoA reductasa, inhibidores de la HMG-CoA sintasa, inhibidores de la absorción del colesterol, inhibidores de la acil coenzima A - colesterol aciltransferasa (ACAT), inhibidores de CETP, inhibidores de la escualeno sintetasa, agonistas de PPAR α , moduladores de receptores FXR, moduladores de receptores LXR, inhibidores de la síntesis de lipoproteínas, inhibidores del sistema renina angiotensina, inhibidores de la reabsorción de ácidos biliares, agonistas de PPAR γ , inhibidores de la síntesis de triglicéridos, inhibidores del transporte de triglicéridos microsomales, moduladores de la transcripción, inhibidores de la escualeno epoxidasa, inductores de los receptores de lipoproteínas de baja densidad, inhibidores de agregación plaquetaria, inhibidores de 5-LO o FLAP, niacina unida a cromo y otros agentes que influyen en la composición lipídica.

60 Los agentes antihipertensivos adecuados que pueden combinarse con los compuestos de la presente invención incluyen, por ejemplo, los descritos en la página 31, desde la línea 31 hasta la página 32, línea 18 del documento WO 2011005611. Los agentes antihipertensivos incluyen diuréticos, bloqueadores beta-adrenérgicos, bloqueadores del canal de calcio, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), inhibidores neutros de endopeptidasa, antagonistas de endotelina, vasodilatadores, antagonistas de receptores de angiotensina II, bloqueadores α/β adrenérgicos, bloqueadores alfa 1, agonistas alfa 2, inhibidores de aldosterona, inhibidores de

receptores de mineralocorticoides, inhibidores de renina y agentes de unión a angiopoyetina 2.

Los agentes antidiabéticos adecuados incluyen inhibidores de la acetil-CoA carboxilasa (ACC), tales como los descritos en los documentos WO2009144554, WO2003072197, WO2009144555 y WO2008065508, inhibidores de diacilglicerol O-aciltransferasa 1 (DGAT-1), tales como los descritos en los documentos WO09016462 o WO2010086820, AZD7687 o LCQ908, inhibidores de diacilglicerol O-aciltransferasa 2 (DGAT-2), inhibidores de monoacilglicerol O-aciltransferasa, un inhibidor de fosfodiesterasa (PDE)-10, un activador de AMPK, una sulfonilurea (por ejemplo, acetohexamida, clorpropamida, diabinesa, glibenclamida, glipizida, gliburida, glimepirida, gliclazida, glipentida, gliquidona, glisolamida, tolazamida y tolbutamida), una meglitinida, un inhibidor de α -amilasa (por ejemplo, tendamistat, trestatina y AL-3688), un inhibidor de α -glucósido hidrolasa (por ejemplo, acarbosa), un inhibidor de α -glucosidasa (por ejemplo, adiposina, camiglibosa, emiglitato, miglitol, voglibosa, pradimicin-Q y salbostatina), un agonista de PPAR γ (por ejemplo, balaglitazona, ciglitazona, darglitazona, englitazona, isaglitazona, pioglitazona, rosiglitazona y troglitazona), un agonista de PPAR α/γ (por ejemplo, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297, L-796449, LR-90, MK-0767 y SB-219994) una biguanida (por ejemplo, metformina), un modulador del péptido 1 similar a glucagón (GLP-1) tal como un agonista (por ejemplo, exendina-3 y exendina-4), liraglutida, albiglutida, exenatida (Byetta®), albiglutida, tasopglutida, lixisenatida, dulaglutida, semaglutida, NN-9924, TTP-054, un inhibidor de la proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B) (por ejemplo, trodusquemina, extracto de hirtiosal y los compuestos descritos por Zhang, S., y col. *Drug Discovery Today*, 12 (9/10), 373-381 (2007)), inhibidor de SIRT-1 (por ejemplo, resveratrol, GSK2245840 o GSK184072), un inhibidor de dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) (por ejemplo, los descritos en el documento WO2005116014, sitagliptina, vildagliptina, alogliptina, dutogliptina, linagliptina y saxagliptina), un secretagogo de insulina, un inhibidor de la oxidación de ácidos grasos, un antagonista de A2, un inhibidor de quinasa c-jun amino-terminal (JNK), activadores de glucoquinasa (GKa), tales como los descritos en los documentos WO2010103437, WO2010103438, WO2010013161, WO2007122482, TTP-399, TTP-355, TTP-547, AZD1656, ARRY403, MK-0599, TAK-329, AZD5658 o GKM-001, insulina, un mimético de insulina, un inhibidor de glucógeno fosforilasa (por ejemplo, GSK1362885), un agonista del receptor VPAC2, inhibidores de SGLT2, tales como los descritos en E.C. Chao y col. *Nature Reviews Drug Discovery* 9, 551-559 (julio del 2010), incluyendo dapagliflozina, canagliflozina, BI-10733, tofogliflozina (CSG452), ASP-1941, THR1474, TS-071, ISIS388626 y LX4211 así como los descritos en el documento WO2010023594, un modulador de receptores de glucagón, tales como los descritos en Demong, D.E. y col. *Annual Reports in Medicinal Chemistry* 2008, 43, 119-137, moduladores de GPR119, particularmente agonistas, tales como los descritos en los documentos WO2010140092, WO2010128425, WO2010128414, WO2010106457, Jones, R.M. y col en *Medicinal Chemistry* 2009, 44, 149-170 (por ejemplo, MBX-2982, GSK1292263, APD597 y PSN821), derivados o análogos de FGF21 tales como los descritos en Kharitononkov, A. y col. *Current Opinion in Investigational Drugs* 2009, 10 (4) 359-364, moduladores del receptor TGR5 (denominado también GPBAR1), particularmente agonistas, tales como los descritos en Zhong, M., *Current Topics in Medicinal Chemistry* 2010, 10 (4), 386-396 e INT777, agonistas de GPR40, tales como los descritos en Medina, J.C., *Annual Reports in Medicinal Chemistry*, 2008, 43, 75-85, incluyendo pero sin limitación TAK-875, moduladores de GPR120, particularmente agonistas, activadores de receptores del ácido nicotínico de alta afinidad (HM74A) e inhibidores de SGLT1, tales como GSK1614235. Otro listado representativo de agentes antidiabéticos que pueden combinarse con los compuestos de la presente invención pueden encontrarse, por ejemplo, en la página 28, línea 35 hasta la página 30, línea 19 del documento WO2011005611. Los agentes antidiabéticos preferidos son inhibidores de metformina y DPP-IV (por ejemplo, sitagliptina, vildagliptina, alogliptina, dutogliptina, linagliptina y saxagliptina). Otros agentes antidiabéticos podrían incluir inhibidores o moduladores de enzimas carnitina palmitoil transferasa, inhibidores de fructosa 1,6-difosfatasa, inhibidores de aldosa reductasa, inhibidores de receptores de mineralocorticoides, inhibidores de TORC2, inhibidores de CCR2 y/o CCR5, inhibidores de isoformas de PKC (por ejemplo PKC α , PKC β , PKC δ), inhibidores de sintetasa de ácidos grasos, inhibidores de serina palmitoil transferasa, moduladores de GPR81, GPR39, GPR43, GPR41, GPR105, Kv1,3, proteína 4 de unión a retinol, receptores de glucocorticoides, receptores de somatostatina (por ejemplo SSTR1, SSTR2, SSTR3 y SSTR5), inhibidores o moduladores de PDHK2 o PDHK4, inhibidores de MAP4K4, moduladores de la familia de IL1 incluyendo IL1beta, moduladores de RXR α . Además de agentes antidiabéticos adecuados se incluyen mecanismos enumerados por Carpino, P.A., Goodwin, B. *Expert Opin. Ther. Pat.*, 2010, 20(12), 1627-51.

Los agentes antiobesidad adecuados (algunos de los cuales también pueden actuar como agentes antidiabéticos) incluyen inhibidores de la 11 β -hidroxi esteroide deshidrogenasa-1 (11 β -SHD de tipo 1), inhibidores de estearoil-CoA desaturasa-1 (SCD-1), agonistas de MCR-4, agonistas de colecistocinina-A (CCK-A), inhibidores de la recaptación de monoaminas (tales como sibutramina), agentes simpatomiméticos, agonistas β_3 adrenérgicos, agonistas de dopamina (tales como bromocriptina), análogos de la hormona estimuladora de melanocitos, agonistas de 5HT2C, agonistas de la hormona concentradora de melanina, leptina (la proteína OB), análogos de leptina, agonistas de leptina, antagonistas de galanina, inhibidores de lipasa (tales como tetrahidrolipstatina, es decir orlistat), agentes anoréxicos, (tales como agonistas de bombesina), agonistas del neuropéptido Y (por ejemplo, antagonistas de NPY Y5 tales como velneperit), PYY $_{3-36}$ (incluyendo análogos de los mismos), modulador de BRS3, agonistas mixtos de subtipos de receptores opioides, agentes tiromiméticos, dehidroepiandrosterona o un análogo de la misma, agonistas o antagonistas de glucocorticoides, antagonistas de orexina, agonistas del péptido-1 similar a glucagón, factores neurotróficos ciliares (tales como Axokine™ disponible de Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, NY and Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH), inhibidores de la proteína humana relacionada con agouti (AGRP), antagonistas o agonistas inversos de histamina 3, antagonistas de neuromedina U, inhibidores de MTP/ApoB (por ejemplo, inhibidores selectivos de MTP intestinal, tales como dirlotapida, JTT130, Usistapida, SLx4090), antagonistas de opioides, moduladores de receptores mo opioides, incluyendo pero sin limitación, GSK1521498, inhibidores de MetAp2, incluyendo pero sin limitación, ZGN-433, agentes con actividad moduladora mixta en 2 o más de receptores de glucagón, GIP y GLP1, tales como MAR-701 o ZP2929, inhibidores de transportadores de norepinefrina, antagonistas/agonistas inversos de receptores cannabinoides-1, antagonistas/agonistas de ghrelina, oxintomodulina y análogos, inhibidores de la captación de monoamina, tales como, pero sin limitación, tesofensina, un antagonista de orexina, agentes de combinación (tales como bupropión más zonisamida, pramlintida más metreleptina, bupropión más naltrexona, fentermina más topiramato) y similares.

Los agentes antiobesidad preferidos para su uso en los aspectos de combinación de la presente invención incluyen inhibidores selectivos de MTP intestinal (por ejemplo, dirlotapida, mitratapida e implitapida, R56918 (Nº CAS 403987)

y N° CAS 913541-47-6), agonistas de CCKa (por ejemplo, N-bencil-2-[4-(1H-indol-3-ilmetil)-5-oxo-1-fenil-4,5-dihidro-2,3,6,10b-tetraaza-benzo[e]azulen-6-il]-N-isopropil-acetamida descrita en la Publicación PCT N° WO 2005/116034 o en la Publicación de Estados Unidos N° 2005-0267100 A1), agonistas de 5HT2c (por ejemplo, lorcaserina), agonistas de MCR4 (por ejemplo, los compuestos descritos en el documento US 6.818.658), inhibidores de lipasa (por ejemplo, Cetilistat), PYY₃₋₃₆ (como se usa en el presente documento "PYY₃₋₃₆" incluyendo análogos tales como PYY₃₋₃₆ pegilados por ejemplo los descritos en la Publicación de Estados Unidos 2006/0178501), antagonistas de opioides (por ejemplo, naltrexona), oleoil-estrona (N° CAS 180003-17-2), obinipitida (TM30338), pramlintida (Symlin®), tesofensina (NS2330), leptina, bromocriptina, orlistat, AOD-9604 (N° CAS 221231-10-3) y sibutramina. Preferentemente, los compuestos y terapias de combinación de la presente invención se administran junto con dieta blanda y ejercicio.

El Ejemplo expuesto a continuación en el presente documento es únicamente con fines ilustrativos. Las composiciones, procedimientos y diversos parámetros reflejados en el presente documento pretenden únicamente ilustrar diversos aspectos y realizaciones de la invención y no pretenden, de ninguna manera, limitar el alcance de la invención que se reivindica.

Las preparaciones descritas a continuación se usaron en la síntesis de los compuestos ilustrados mediante los siguientes Ejemplos y Ejemplos de referencia y análogos de los mismos.

Los siguientes materiales de partida disponibles en el mercado se usaron para preparar compuestos descritos a continuación en los Ejemplos y Ejemplos de referencia y análogos de los mismos: 3-yodo-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (Anichem LLC, North Brunswick, NJ), ácido (1R,5S)-8-(terc-butoxicarbonil)-8-azabicyclo[3,2,1]octano-3-carboxílico (AstaTech, Inc., Bristol, PA), 6-bromoisoquinolin-3-amina (Ark Pharm, Inc., Libertyville, IL), ácido 3-hidroxi-1H-indazol-5-carboxílico (Aces Pharma, Inc., Branford, CT), quinolin-7-carboxilato de etilo (ASW MedChem, Inc., New Brunswick, NJ), 7-bromoisoquinolin-1(2H)-ona (Alfa Aesar, Ward Hill, MA), ácido 3-oxo-2,3-dihidro-1H-indazol-6-carboxílico (ASW MedChem, Inc., New Brunswick, NJ), 5-bromo-3-(trifluorometil)-1H-indazol (J&W Pharmed LLC, Levittown, PA), 6-bromoisoquinolin-1(2H)-ona (Anichem LLC, North Brunswick, NJ), 1H-pirrol[3,2-b]piridin-6-carboxilato de metilo (ACS Scientific Inc., Metuchen, NJ), 4-bromo-2-fluoro-N-metilbenzamida (Oakwood Products, Inc., West Columbia, SC), 7-bromo-3-cloroisoquinolina (Allichem LLC, Baltimore, MD), 7-bromoisoquinolin-3-amina (Allichem LLC, Baltimore, MD), 6-bromoisoquinolin-3-ol (Ark Pharm, Inc., Libertyville, IL), ácido 1H-pirrol[2,3-b]piridin-5-carboxílico (ASDI Inc., Newark, DE), ácido 1-cloroisoquinolin-7-carboxílico (American Custom Chemicals Corp., San Diego, CA), ácido 3,7-dimetil-1H-indazol-5-carboxílico (Anker Organics Co. Ltd., Wuhan, China), ácido 7-metil-1H-indazol-5-carboxílico (J & W Pharmed LLC, Levittown, PA), ácido 2-metil-2H-indazol-5-carboxílico (Bepham Ltd., Shanghai, China), ácido 1H-pirrol[3,2-b]piridin-6-carboxílico (Sinova Inc., Bethesda, MD), ácido 7-cloro-1H-indazol-5-carboxílico (Anker Organics Co. Ltd., Wuhan, China), ácido 4-metoxi-1H-indazol-6-carboxílico (ASW MedChem Inc., New Brunswick, NJ), ácido 1-metil-1H-indazol-5-carboxílico (J & W Pharmed LLC, Levittown, PA), ácido 7-etil-1H-indazol-5-carboxílico (Anker Organics Co. Ltd., Wuhan, China), ácido 3-etil-1H-indazol-5-carboxílico (Allichem LLC, Baltimore, MD), ácido 3-metil-1H-indazol-5-carboxílico (Ark Pharm Inc., Libertyville, IL), ácido 1H-pirrol[3,2-b]piridin-2-carboxílico (Aces Pharma Inc., Branford, CT), ácido quinolin-6-carboxílico (Beta Pharma Inc., Branford, CT), ácido quinolin-7-carboxílico (Ark Pharm Inc., Libertyville, IL), ácido isoquinolin-6-carboxílico (Ark Pharm Inc., Libertyville, IL), ácido isoquinolin-7-carboxílico (Indofine Chemical Company Inc., Hillsborough, NJ), ácido 6-metoxiquinolin-3-carboxílico (Princeton Biomolecular Research Inc., Monmouth Junction, NJ), ácido 4-metoxi-7-metil-1H-indolo-2-carboxílico (Aurora Fine Chemicals LLC, San Diego, CA), ácido 2-aminoquinolin-6-carboxílico (Princeton Biomolecular Research Inc., Monmouth Junction, NJ), ácido 8-metoxiquinolin-3-carboxílico (BioBlocks Inc., San Diego, CA), ácido 2-aminoquinolin-7-carboxílico (Princeton Biomolecular Research Inc., Monmouth Junction, NJ), ácido 2-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico (Acros Organics, Geel, Bélgica), ácido 1H-indazol-5-carboxílico (Sigma Aldrich, St. Louis, MO), ácido quinolin-6-carboxílico (Acros Organics, Geel, Bélgica), ácido 6-metoxi-2-naftoico (Sigma Aldrich, St. Louis, MO), ácido 1H-indazol-6-carboxílico (Sigma Aldrich, St. Louis, MO), ácido 1H-benzo[d][1,2,3]triazol-5-carboxílico (Sigma Aldrich, St. Louis, MO), ácido 3,4-diamino-5-clorobenzoico (Princeton BioMolecular Research, Inc., Monmouth Junction, NJ), 7-bromo-1-cloroisoquinolina (Alfa Aesar, Ward Hill, MA) 7-bromoquinolina (Anichem LLC, North Brunswick, NJ).

Los siguientes ácidos carboxílicos (que se usaron para preparar los compuestos descritos a continuación en el Ejemplo y Ejemplos de referencia y análogos de los mismos) se prepararon por medios publicados anteriormente: ácido 3,7-dimetil-1H-indazol-5-carboxílico (Publicación PCT N° WO2009144554), ácido 7-metil-1H-indazol-5-carboxílico (Publicación PCT N° WO2009144554), ácido 7-metoxi-2-naftoico (Publicación PCT N° WO2003018586), ácido 5-metoxi-2-naftoico (Publicación PCT N° WO2003072578), ácido 4,8-dimetoxiquinolin-2-carboxílico (Publicación PCT N° WO2007011809), ácido 3-cloro-7-metil-1H-indazol-5-carboxílico (Publicación PCT N° WO2009144554), ácido 3-cloro-1H-indazol-5-carboxílico (Publicación PCT N° WO2009144554), ácido 8-metoxi-2-naftoico (Publicación PCT N° WO2003072578), ácido 3-cloro-1H-indolo-5-carboxílico (Publicación PCT N° WO2008065508), ácido 3-cloro-1H-indolo-6-carboxílico (Publicación PCT N° WO2008065508), ácido 7-metoxi-3-metil-1H-indazol-5-carboxílico (WO2009144554), ácido 4,8-dimetoxiquinolin-2-carboxílico (Publicación PCT N° WO2007011809).

Ejemplos

Los compuestos e intermedios descritos a continuación se nombraron usando el convenio de nomenclatura proporcionado por Chemdraw Ultra, Versión 11.0.1 (CambridgeSoft Corp., Cambridge Massachusetts). El convenio de nomenclatura proporcionado por Chemdraw Ultra, Versión 11.0.1 lo conocen bien los expertos en la materia y se cree que el convenio de nomenclatura proporcionado por Chemdraw Ultra, Versión 11.0.1 generalmente concuerda con las recomendaciones de la IUPAC (Unión Internacional para Química Pura y Aplicada) en Nomenclatura de Química Orgánica y las reglas del Índice CAS. A menos que se indique de otra manera, todos los reactantes se obtuvieron en el mercado. Todas las referencias citadas en el presente documento a continuación se incorporan por referencia.

La cromatografía ultrarrápida se realizó de acuerdo con el procedimiento descrito por Still y col., J. Org. Chem., 1978, 43, 2923.

Todas las purificaciones con Biotage®, analizadas en el presente documento, se realizaron usando columnas Biotage® SNAP, que contenían sílice KP-SIL (40-63 µm, 60 Ångströms) (Biotage AB; Uppsala, Suecia).

- 5 Todas las purificaciones con CombiFlash®, analizadas en el presente documento, se realizaron usando un sistema CombiFlash® Companion (Teledyne Isco; Lincoln, Nebraska) utilizando columnas rellenas de sílice RediSep®

Los espectros de masas se registraron en un espectrómetro Waters (Waters Corp.; Milford, MA) Micromass Platform II. A menos que se especifique otra cosa, los espectros de masas se registraron en un espectrómetro Waters (Milford, MA) Micromass Platform II.

- 10 Los desplazamientos químicos de RMN de protones se dan en partes por millón campo abajo de tetrametilsilano y se registraron en un espectrómetro Varian Unity 300, 400 o 500 MHz (megaHertzios) (Varian Inc.; Palo Alto, CA). Los desplazamientos químicos de RMN se dan en partes por millón campo abajo de tetrametilsilano (para protones) o fluorotriclorometano (para flúor).

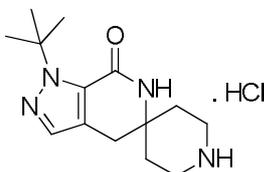
- 15 Los tiempos de retención de HPLC se midieron usando los siguientes procedimientos: Procedimiento A: columna: Waters Atlantis dC18 4,6x50 mm, 5 µm; fase móvil A: TFA al 0,05 % en agua (v/v); fase móvil B: TFA al 0,05 % en acetonitrilo (v/v); gradiente: 95 % A/5 % B lineal hasta 5 % A/95 % B en 4,0 minutos, mantenido a 5 % A/95 % B hasta 5,0 minutos; caudal: 2,0 ml/minuto. Procedimiento B: columna: Waters XBridge C18 4,6x50 mm, 5 µm; fase móvil A: 0,03 % NH₄OH en agua (v/v); fase móvil B: 0,03 % NH₄OH en acetonitrilo (v/v); gradiente: 95 % A/5 % B lineal hasta 5 % A/95 % B en 4,0 minutos, mantenido a 5 % A/95 % B hasta 5,0 minutos; caudal: 2,0 ml/minuto.

- 20 Las preparaciones descritas a continuación se usaron en la síntesis de compuestos ejemplificados en los siguientes Ejemplos y Ejemplos de Referencia y análogos de los mismos.

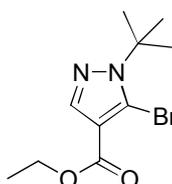
Preparación de Intermedios y Materiales de Partida

- 25 Los intermedios de ácido carboxílico se adquirieron en el mercado, se prepararon como se describe a continuación, se prepararon como se describe en la Publicación PCT N° WO 2009/144554, se prepararon usando preparaciones bien conocidas por los expertos en la materia, o se prepararon de manera análoga a las rutas descritas anteriormente para otros intermedios de ácido carboxílico.

Intermedio 1: 1'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'-(1'H)-ona sal clorhidrato

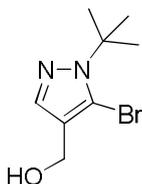


Etapas 1. 5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo



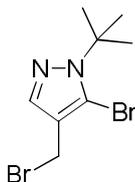
- 30 A una solución de 5-amino-1-terc-butil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (674 mg, 3,19 mmol, Li y col. J. Heterocycl. Chem., 2007, 44, 749) en acetonitrilo (20 ml) se le añadieron bromuro de cobre (II) (720 mg, 3,19 mmol) e nitrito de isoamil (0,56 ml, 4,15 mmol). La suspensión dorada se calentó a 45 °C durante 2 horas y después se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (50 ml), agua (50 ml) y salmuera (50 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 5-40 % / heptanos, 10 g gel de sílice) dando 685 mg de 5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo en forma de un aceite transparente. +IQPA (M+H) 275,0; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,87 (s, 1 H), 4,32 (c, J = 7,0 Hz, 2 H), 1,77 (s, 9 H), 1,36 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

- 40 Etapas 2: (5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metanol



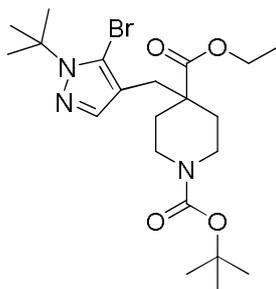
Una solución de 5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (685 mg, 2,49 mmol) en THF (20 ml) se enfrió a -78°C y se trató con hidruro de diisobutilaluminio (7,47 ml, 7,47 mmol, THF 1 M), gota a gota. La mezcla se agitó a -78°C durante 30 minutos y después se calentó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se inactivó con acetato de etilo (10 ml) y se agitó 15 minutos. La mezcla se trató después con sal de Rochelle acuosa saturada (25 ml) y se agitó 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y se lavó con agua (100 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (gradiente de acetato de etilo al 10-80 %/heptano, 25 g gel de sílice) dando 460 mg de 5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metanol en forma de un aceite transparente. +IQPA (M+H) 233,1, (M+2+H) 235,1; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ): 7,51 (s, 1 H), 4,53 (d, 2 H), 1,74 (s, 9 H), 1,55 (t, $J = 5,8$ Hz, 1 H).

10 Etapa 3: 5-bromo-4-(bromometil)-1-terc-butil-1H-pirazol



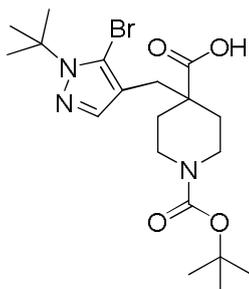
15 Una solución de (5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metanol (460 mg, 1,97 mmol) en diclorometano (25 ml) se enfrió a 0°C y después se trató con bromuro de fósforo (III) (0,37 ml, 3,46 mmol), gota a gota, durante 5 minutos. La mezcla se agitó 30 minutos a 0°C y después 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla se inactivó lentamente con agua (50 ml), se agitó 30 minutos, y después se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). La fase orgánica se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (50 ml), se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró dando 362 mg de 5-bromo-4-(bromometil)-1-terc-butil-1H-pirazol en forma de un aceite transparente. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ): 7,54 (s, 1 H), 4,39 (s, 2 H), 1,74 (s, 9 H).

Etapa 4: 4-((5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo



20 Una solución de piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo (0,37 ml, 1,47 mmol) en THF (15 ml) se enfrió a -78°C y después se trató con bis(trimetilsilil) amido de litio (1,48 ml, 1,48 mmol, tolueno 1 M), gota a gota. La reacción se agitó 15 minutos a -78°C , se calentó a 0°C durante 30 minutos y después se enfrió de nuevo a -78°C . Una solución de 5-bromo-4-(bromometil)-1-terc-butil-1H-pirazol (335 mg, 1,13 mmol) en THF (10 ml) se añadió, la mezcla se agitó 1 hora a -78°C , y después se dejó agitar 18 horas a temperatura ambiente. La reacción se interrumpió con cloruro de amonio acuoso saturado (20 ml), se agitó 30 minutos a temperatura ambiente, se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 5-40 %/heptano, 25 g gel de sílice) dando 256 mg de 4-((5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo en forma de un aceite transparente. +IEP (M+H) 474,2, (M+2+H) 476,2; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ): 7,20 (s, 1 H), 4,16 (c, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 3,93 (s a, 2 H), 2,84 (m, 2 H), 2,66 (s, 2 H), 2,10 (d, $J = 12,5$ Hz, 2 H), 1,72 (s, 9 H), 1,45 (m, 11 H), 1,25 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H).

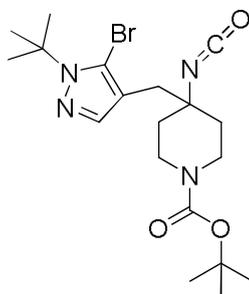
Etapa 5: ácido 4-((5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metil)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-carboxílico



35 A una solución de 4-((5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo (256 mg, 0,54 mmol) en metanol (15 ml) se le añadió NaOH 2,5 M acuoso (5 ml), y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 18 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y el metanol se retiró a presión reducida. La suspensión resultante se recogió en 25 ml de agua, se acidificó con HCl 1 N acuoso, y después se extrajo con

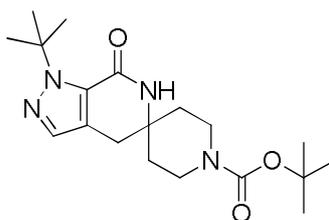
acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron dando 241 mg de ácido 4-((5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metil)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-carboxílico en forma de un sólido incoloro. +IQPA (M+H) 444,2, (M+2+H) 446,2; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,35 (s, 1 H), 3,95 (s a, 2 H), 2,92 (s a, 2 H), 2,71 (s, 2 H), 2,08 (d, J = 12,9 Hz, 2 H), 1,73 (s, 9 H), 1,50 (m, 11 H).

5 Etapa 6: 4-((5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-isocianatopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo



10 A una solución de ácido 4-((5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metil)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-carboxílico (241 mg, 0,54 mmol) en tolueno (10 ml) se le añadió trietilamina (91 µl, 0,65 mmol) y difenilfosforil azida (0,14 ml, 0,65 mmol). La mezcla se calentó a 120 °C durante 3 horas, la reacción se enfrió y los volátiles se retiraron a presión reducida. El aceite resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (25 g sílice, gradiente de acetato de etilo al 7-60 %/heptano) dando 225 mg de 4-((5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-isocianatopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo en forma de un aceite transparente. +IQPA (M+H) 385,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,40 (s, 1 H), 4,03 (s a, 2 H), 2,97 (t a, J = 12,3, 12,3 Hz, 2 H), 2,70 (s, 2 H), 1,74 (s, 9 H), 1,67 (m, 2 H), 1,62 (m, 2 H), 1,46 (s, 9 H).

Etapa 7: 1'-terc-butil-7'-oxo-1',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo

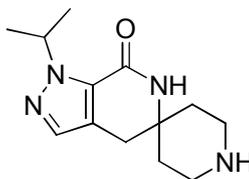


15 Una solución de 4-((5-bromo-1-terc-butil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-isocianatopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (225 mg, 0,51 mmol) en THF (10 ml) se enfrió a -78 °C y se añadió t-butil-litio (0,6 ml, 1,7 M en pentano), gota a gota, durante 2 minutos. La mezcla se agitó 30 minutos a -78 °C, se calentó a 0 °C, y después se inactivó con NH₄Cl acuoso saturado (20 ml). La mezcla se agitó 30 minutos a temperatura ambiente, se diluyó con agua (25 ml), y después se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 12-100 %/heptano, 10 g gel de sílice) dando 137 mg de 1'-terc-butil-7'-oxo-1',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo en forma de un sólido incoloro. +IEP (M-tBu) 307,2; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 7,74 (s, 1 H), 7,30 (s, 1 H), 3,51 (m, 2 H), 3,20 (m, 2 H), 2,79 (s, 2 H), 1,64 (s, 9 H), 1,56 (t, J = 5,8 Hz, 4 H), 1,38 (s, 9 H).

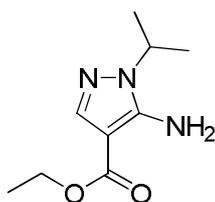
Etapa 8: 1'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(1'H)-ona sal clorhidrato

30 A una solución de 1'-terc-butil-7'-oxo-1',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo (137 mg, 0,39 mmol) en acetato de etilo (4 ml) se le añadió HCl 4 N en dioxano (2 ml). Después de agitar 1 hora a temperatura ambiente, los volátiles se retiraron a presión reducida y el sólido incoloro resultante se trituró en heptano (10 ml) dando 112 mg del compuesto del título en forma de un sólido incoloro. +IQPA (M+H) 263,3; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,84 (m, 2 H), 8,00 (s, 1 H), 7,29 (s, 1 H), 3,13 (d, J = 6,1 Hz, 2 H), 3,03 (s a, 2 H), 2,78 (s, 2 H), 1,76 (m, 4 H), 1,60 (s, 9 H).

Intermedio 2: la 1'-isopropil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(1'H)-ona mostrada a continuación, se preparó como sigue.

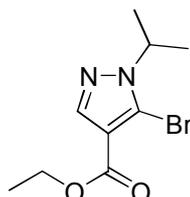


35 Etapa 1: 5-amino-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato



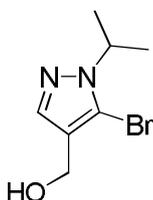
5 Una mezcla de 2-ciano-3-etoxiacrilato de etilo (84,4 g, 0,50 mol), clorhidrato de isopropil hidrazina (55,2 g, 0,50 mol) y carbonato potásico (68,8 g, 0,50 mol) en etanol al 90 %/metanol (1,5 l) se calentó a reflujo durante 16 horas. Después, el disolvente se retiró al vacío y se añadieron agua y acetato de etilo. La mezcla se separó y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y el disolvente se retiró al vacío dando 5-amino-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (92,4 g, 94 %). +IEP (M+H) 198,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,63 (s, 1 H), 4,97 (s, 2 H), 4,28 (c, 2 H), 4,18 (m, 1 H), 1,45 (d, 6 H), 1,31 (t, 3 H).

Etapa 2: 5-amino-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato



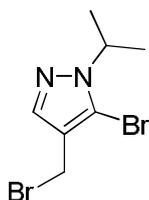
10 A una mezcla de 5-amino-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (107,5 g, 0,55 mol) en acetonitrilo (1 l) se le añadió bromuro de cobre (II) (182,6 g, 0,82 mol) a temperatura ambiente, en atmósfera de argón. La mezcla se calentó a 50 °C y se añadió nitrito de isoamilo (109,8 ml, 0,82 mol) gota a gota (se observó una exotermia y la temperatura aumentó a 65 °C). La reacción se agitó a 50 °C durante 2 horas, la mezcla se enfrió después a temperatura ambiente y se vertió en HCl 2 M, se agitó durante 15 minutos y después se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera y después con bicarbonato sódico acuoso saturado, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y el disolvente se retiró al vacío dando 5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (163 g, cuantitativo) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,97 (s, 1 H), 4,77 (m, 1 H), 4,28 (c, 2 H), 1,35 (t, 3 H), 0,90 (d, 6 H).

Etapa 3: (5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metanol



20 A una solución de 5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (163 g, 0,50 mol) en 2-metil tetrahidrofurano (400 ml) se le añadió borano-DMS (140 ml, 1,50 mol) a 0 °C, en atmósfera de argón (la efervescencia cesó después de añadir 50 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se calentó a 70 °C durante 2 horas, y después a reflujo durante 17 horas. Se añadió una porción adicional de borano DMS (40 ml) y la mezcla se agitó a la temperatura de reflujo durante 3 horas más. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y después se añadió gradualmente a metanol enfriado con hielo (500 ml) con agitación, durante un periodo de 30 minutos. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se añadió hidróxido sódico acuoso 2 M (1,5 l). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 500 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con salmuera (500 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y el disolvente se retiró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida en seco (acetato de etilo al 0-50 % en heptano) dando (5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metanol (70,8 g, 65 % en dos etapas). +IEP (M+H) 220,9; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,52 (s, 1 H), 4,67 (m, 1 H), 4,47 (s, 2 H), 2,59 (s, 1 H), 1,41 (s, 6 H).

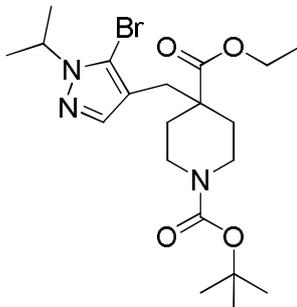
Etapa 4: 5-bromo-4-(bromometil)-1-isopropil-1H-pirazol



35 A una solución agitada de (5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metanol (10,0 g, 45,7 mmol) en diclorometano (200 ml) se le añadió PBr₃ (6,5 ml, 68,5 mmol) a 0 °C. Una vez completada la adición la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La mezcla se vertió en agua enfriada con hielo (300 ml), se agitó,

se separó y después se lavó dos veces con agua enfriada con hielo (2 x 100 ml) y después con salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato sódico, se filtró y el disolvente se retiró al vacío dando 5-bromo-4-(bromometil)-1-isopropil-1H-pirazol (12,2 g, 95 %). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 7,58 (s, 1 H), 4,64 (m, 1 H), 4,35 (s, 2 H), 1,43 (d, 6 H).

Etapa 5: 4-((5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo



5

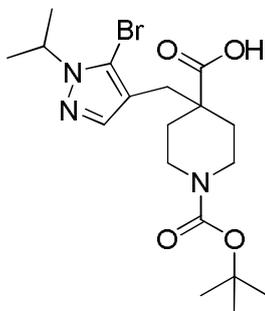
A una solución agitada de piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo (14,5 g, 56,3 mmol) en 2-metil tetrahidrofurano (120 ml) se añadió, gota a gota, LiHMDS 1 M en tetrahidrofurano (57 ml, 56,3 mmol) a -78 °C en atmósfera de argón. Después de 20 min, 5-bromo-4-(bromometil)-1-isopropil-1H-pirazol (12,2 g, 43,3 mmol) en 2-metiltetrahidrofurano (10 ml) se añadió. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La mezcla se diluyó con agua (200 ml) y la mezcla se separó. La fase orgánica se lavó con solución de ácido cítrico al 10 % (2 x 100 ml), después salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato sódico, se filtró y el disolvente se retiró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 10-30 % en heptano) dando 4-((5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo (9,3 g). También se aisló de la columna una fracción mixta de 7,1 g del éster de partida y el producto deseado. Esto se agitó con 1 equivalente de hidróxido sódico en etanol al 90 %/metanol durante 2 horas a temperatura ambiente. El disolvente se retiró al vacío y se añadió acetato de etilo (100 ml). La mezcla se lavó con hidróxido sódico 2 N (2 x 50 ml) y después con salmuera (100 ml), se secó sobre sulfato sódico, se filtró y el disolvente se retiró al vacío dando una segunda cosecha de 4-((5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo (5,1 g). El rendimiento combinado es 14,4 g (72 %). +IEP (M+H) 404,0; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 4,62 (m, 1 H), 4,12 (c, 2 H), 3,90 (s a, 2 H), 2,82 (m, 2 H), 2,63 (s, 2 H), 2,08 (d, 2 H), 1,66 (m, 2 H), 1,42 (s, 9 H), 1,21 (t, 3 H).

10

15

20

Etapa 6: ácido 4-((5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-carboxílico



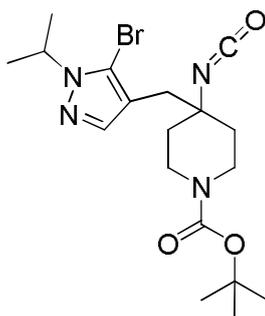
25

30

35

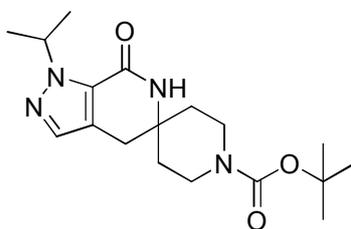
A una solución de 4-((5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo (14,5 g, 31,6 mmol) en metanol (50 ml) se le añadió hidróxido de litio (1,52 g, 36,2 mmol) y la mezcla se agitó a 80 °C durante 18 horas. Se añadió una porción adicional de hidróxido de litio (2,55 g, 63,3 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo vigoroso durante 3 horas, se enfrió a temperatura ambiente, el disolvente se retiró al vacío. El residuo se lavó con acetato de etilo, se filtró, y el filtrado se guardó. Los sólidos se disolvieron en hidróxido sódico acuoso 2 N (40 ml) y después se acidificó a pH 5 con solución de ácido cítrico al 10 %. La solución acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x 40 ml), los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y después se combinaron con el filtrado original. El disolvente se retiró del filtrado a presión reducida y el residuo resultante se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo/heptanos) dando ácido 4-((5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-carboxílico (10,1 g, 74 %) en forma de un sólido incoloro. +IEP (M+H) 429,9; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 7,41 (s, 1 H), 4,64 (m, 1 H), 3,94 (m, 2 H), 2,95 (m, 2 H), 2,68 (m, 2 H), 2,09 (m, 2 H), 1,47 (m, 17 H).

Etapa 7: 4-((5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-isocianatopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo



5 Una mezcla de ácido 4-((5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)-1-(terc-butoxicarbonil)piperidin-4-carboxílico (2,54 g, 5,9 mmol), difenilfosforil azida (1,79 g, 6,5 mmol) y trietilamina (0,91 ml, 6,5 mmol) en tolueno (15 ml) se calentó a reflujo durante 3 horas. La mezcla se enfrió después a temperatura ambiente y el disolvente se retiró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna dando 4-((5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-isocianatopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (2,8 g, 100 %). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 7,47 (s, 1 H), 4,68 (m, 1 H), 3,99 (m, 2 H), 2,95 (m, 2 H), 2,67 (s, 2 H), 1,62 (m, 4 H), 1,45 (m, 15 H).

Etapa 8: 1'-isopropil-7'-oxo-1',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo

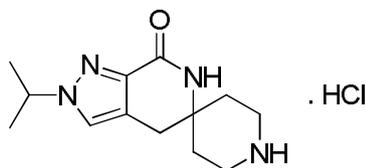


10 A una mezcla de 4-((5-bromo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-isocianatopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (1,4 g, 3,3 mmol) en 2-metil tetrahydrofurano (10 ml) se le añadió t-butil-litio (1,7 M en hexano, 4,3 ml, 7,2 mmol) a -78 °C, en atmósfera de argón. Una vez completada la adición la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. La mezcla se inactivó con agua (10 ml) y después se diluyó con acetato de etilo (20 ml).
 15 Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre sulfato sódico, se filtró y el disolvente se retiró al vacío. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida dando 1'-isopropil-7'-oxo-1',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo (0,77 g, 67 %). +IEP (M+H) 374,1; RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 7,34 (s, 1 H), 6,35 (s, 1 H), 5,45 (m, 1 H), 3,57 (m, 2 H), 3,42 (m, 2 H), 2,79 (s, 2 H), 1,70 (m, 4 H), 1,45 (m, 15 H).

Etapa 9: 1'-isopropil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(1'H)-ona

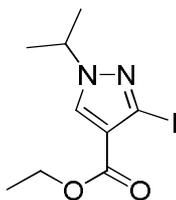
20 A una solución de 1'-isopropil-7'-oxo-1',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo (100 mg, 0,29 mmol) en 4 ml de acetato de etilo se le añadió HCl 4 N en dioxano (2 ml). Después de agitar 30 minutos a temperatura ambiente, se añadió metanol (1 ml) y la solución resultante se agitó durante 5 horas a temperatura ambiente. Los volátiles se retiraron a presión reducida y el sólido incoloro resultante se trituró con acetoneitrilo/diclorometano 1:1 dando 71 mg del compuesto del título en forma de un sólido incoloro. RMN ¹H (400
 25 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,72 (s a, 2 H), 8,05 (s, 1 H), 7,37 (s, 1 H), 5,36 (m, 1 H), 3,15 (m, 2 H), 3,05 (m, 2 H), 2,78 (s, 2 H), 1,78 (m, 4 H), 1,33 (d, J = 6,6 Hz, 6 H).

Intermedio 3: 2'-isopropil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona sal clorhidrato, mostrada a continuación, se preparó como sigue.



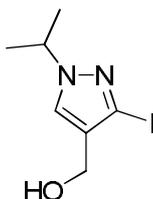
30

Etapa 1: 3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo



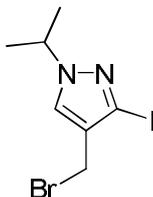
5 A una solución de 3-yodopirazol-4-carboxilato de etilo (1,58 g, 5,94 mmol, Truong; y col. Bioorg. Med. Chem. Lett., 19, 4920 (2009)) en 20 ml N,N-dimetilformamida se le añadió carbonato de cesio (3,87 g, 11,9 mmol) y 2-yodopropano (0,89 ml, 8,90 mmol). La mezcla se agitó 2 horas a 60 °C y después se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con 150 ml de agua y se extrajo con 2 x 100 ml de éter dietílico. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con 50 ml de salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El aceite resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (gradiente de acetato de etilo al 7-60 %/heptano, 50 g sílice) dando 340 mg de 5-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo en forma de un aceite transparente que cristalizó después de un periodo de reposo y 740 mg de 3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo en forma de un aceite transparente. 5-Yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo: +IQPA (M+H) 309,0; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,05 (s, 1 H) 4,82 (sept., J = 6,6 Hz, 1 H) 4,33 (c, J = 7,2 Hz, 2 H) 1,50 (d, J = 6,6 Hz, 6 H) 1,37 (t, J = 7,1 Hz, 3 H). 3-Yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo: +IQPA (M+H) 309,0; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,84 (s, 1 H) 4,52 (sept., J = 6,7 Hz, 1 H) 4,32 (c, J = 7,1 Hz, 2 H) 1,52 (d, J = 6,6 Hz, 6 H) 1,37 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

Etapa 2: (3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metanol



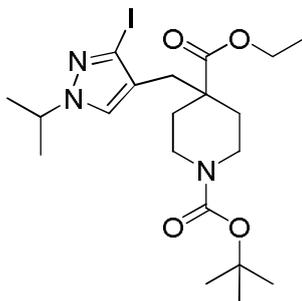
20 Una solución de 3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (740 mg, 2,40 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) se enfrió a -78 °C y se trató con hidruro de diisobutilaluminio (1,5 M en tolueno, 0,8 ml, 7,21 mmol), gota a gota. La mezcla se agitó a -78 °C durante 1 hora y después se calentó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se inactivó con 10 ml de acetato de etilo, se agitó 15 minutos, y después se trató con 25 ml sales de Rochelle acuosas saturadas. Después de agitar 1 hora más a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con 50 ml de acetato de etilo y se lavó con 100 ml de agua. La fase acuosa se extrajo con 50 ml más de acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó después por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 12-100 % / heptanos, 25 g gel de sílice) dando 630 mg de (3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metanol en forma de un aceite transparente. +IQPA (M+H) 266,8; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,37 (s, 1 H), 4,49 (m, 3 H), 1,67 (t, J = 5,9 Hz, 1 H), 1,50 (s, 6 H).

Etapa 3: 4-(bromometil)-3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol



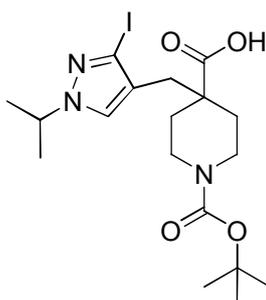
30 Una solución de (3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metanol (0,63 g, 2,37 mmol) en 20 ml de diclorometano se enfrió a 0 °C. Se añadió bromuro de fósforo (III) (0,67 ml, 7,10 mmol) a la solución y la mezcla se agitó 30 minutos a 0 °C, 1 hora a temperatura ambiente, y después se inactivó con 50 ml de agua y se agitó 15 minutos a temperatura ambiente. La mezcla se trató con bicarbonato sódico acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 10-80 % / heptanos, 25 g gel de sílice) dando 400 mg de 4-(bromometil)-3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol en forma de un sólido incoloro. +IQPA (M+H) 329,0; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,42 (s, 1 H), 4,47 (sept., J = 6,7 Hz, 1 H), 4,35 (s, 2 H), 1,50 (d, J = 6,6 Hz, 6 H).

Etapa 4: 4-((3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo



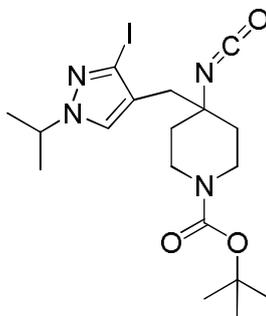
5 Una solución de piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo (0,54 ml, 2,11 mmol) en tetrahidrofurano (15 ml) en un matraz de fondo redondo de 100 ml, seco, en atmósfera de nitrógeno, se enfrió a -78°C y después se trató con bis(trimetilsilil) amido de litio (tolueno 1 M, 2,13 ml, 2,13 mmol). Después de agitar durante 45 minutos a -78°C , se añadió 4-(bromometil)-3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol (535 mg, 1,63 mmol) en forma de una suspensión en 10 ml de tetrahidrofurano. La mezcla se agitó 1 hora a -78°C y después se dejó agitar 18 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se inactivó con 20 ml de cloruro de amonio acuoso saturado, se agitó 30 minutos a temperatura ambiente, se diluyó con 50 ml de agua y después se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 10-80 % / heptanos, 25 g gel de sílice) dando 4-((3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo (645 mg) en forma de un aceite transparente. +IEP (M-tBu) 450,1; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ): 7,02 (s, 3 H), 4,44 (sept., $J = 6,6$ Hz, 1 H), 4,17 (m, 2 H), 3,92 (m, 2 H), 2,86 (m, 2 H), 2,62 (s, 2 H), 2,08 (m, 2 H), 1,46 (m, 17 H), 1,25 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H).

15 Etapa 5: ácido 1-(terc-butoxicarbonil)-4-((3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-4-carboxílico



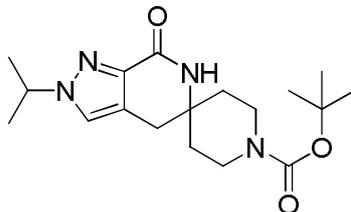
20 A una solución de 4-((3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo de 4-etilo (455 mg, 0,9 mmol) en metanol (20 ml) se le añadió NaOH 2 N (5 ml). Después de agitar durante 18 horas a temperatura ambiente, el metanol se retiró a presión reducida y la suspensión resultante se recogió en 20 ml de agua, se acidificó con HCl 2 N y se extrajo con acetato de etilo (2 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron dando ácido 1-(terc-butoxicarbonil)-4-((3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-4-carboxílico (430 mg) en forma de un sólido incoloro. -IQPA (M-H) 476,1; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ): 7,11 (s, 1 H), 4,45 (dq, $J = 13,4, 6,7$ Hz, 1 H), 3,95 (s, 2 H), 2,91 (m, 2 H), 2,69 (s, 2 H), 2,08 (m, 2 H), 1,47 (m, 8 H).

25 Etapa 6: 4-((3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-isocianatopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo



30 A una solución de ácido 1-(terc-butoxicarbonil)-4-((3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)piperidin-4-carboxílico (430 mg, 0,90 mmol) en tolueno (10 ml) se le añadió trietilamina (0,15 ml, 1,08 mmol) y difenilfosforil azida (0,24 ml, 1,08 mmol). La mezcla se calentó a 120°C durante 3 horas, los volátiles se retiraron a presión reducida y el aceite resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 7-60 % / heptanos, 25 g gel de sílice) dando 4-((3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-isocianatopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (280 mg) en forma de un aceite transparente. FT-IR (cm^{-1}): 2253; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ): 7,27 (s, 1 H), 4,50 (m, 1 H), 4,03 (s, 2 H), 2,97 (s, 2 H), 2,65 (s, 2 H), 1,65 (m, 4 H), 1,50 (s, 6 H), 1,47 (s, 9 H).

Etapa 7: 2'-isopropil-7'-oxo-2',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo

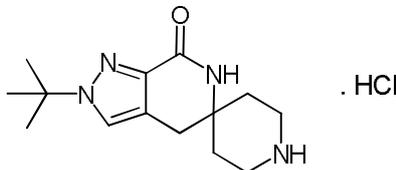


5 A una solución a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ de 4-((3-yodo-1-isopropil-1H-pirazol-4-il)metil)-4-isocianatopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (280 mg, 0,59 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) se le añadió t-butil-litio (0,7 ml, 1,7 M en pentano), gota a gota. Después de agitar durante 30 minutos a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ la mezcla se calentó a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$, se inactivó con 20 ml cloruro de amonio acuoso saturado, y se agitó 30 minutos más a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con 25 ml de agua y se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó después por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 12-100 % / heptanos, 10 g gel de sílice) dando 2'-isopropil-7'-oxo-2',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo (130 mg) en forma de un sólido incoloro. +IEP (M+H) 349,1; RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3 , δ): 7,28 (s, 1 H), 5,78 (s, 1 H), 4,57 (sept., $J = 6,6\text{ Hz}$, 1 H), 3,59 (m, 2 H), 3,37 (m, 2 H), 2,82 (s, 2 H), 1,74 (m, 4 H), 1,55 (d, $J = 6,6\text{ Hz}$, 6 H), 1,47 (s, 9 H).

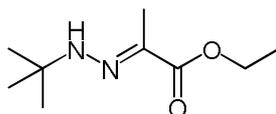
Etapa 8: clorhidrato de 2'-isopropil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona

15 A una solución de 2'-isopropil-7'-oxo-2',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo (130 mg, 0,37 mmol) en acetato de etilo (5 ml) se le añadió ácido clorhídrico 4 M (2 ml) en 1,4-dioxano. La mezcla de reacción se agitó 3 horas a temperatura ambiente, los volátiles se retiraron a presión reducida y el residuo resultante se trituró con 10 ml de heptano. El sólido se secó a presión reducida dando clorhidrato de 2'-isopropil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona (105 mg) en forma de un sólido de color blanquecino. +IEP (M+H) 249,1; RMN ^1H (500 MHz, $\text{DMSO-}d_6$, δ): 7,91 (s, 1 H) 7,69 (s, 1 H) 4,48 - 4,62 (m, 1 H) 3,02 - 3,28 (m, 4 H) 2,78 (s, 2 H) 1,74 - 1,89 (m, 4 H) 1,41 (d, $J = 6,59\text{ Hz}$, 6 H).

Intermedio 4: 2'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona sal clorhidrato, mostrada a continuación, se preparó como sigue.

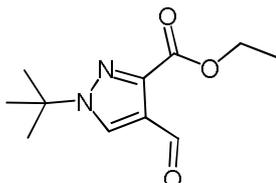


Etapa 1: (E)-2-(2-terc-butilhidrazono)propanoato de etilo



25 A una solución de piruvato de etilo (20,22 g, 174,1 mmol) en etanol (150 ml) se le añadió clorhidrato de t-butil hidrazina (21,7 g, 174 mmol) y *N,N*-diisopropil-etil amina (33,4 ml, 192 mmol). Después de agitar a reflujo durante 18 horas, la reacción se enfrió y los volátiles se retiraron a presión reducida. El aceite dorado resultante se recogió en 300 ml de acetato de etilo y se lavó con 200 ml de agua y 300 ml de bicarbonato sódico acuoso saturado. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró dando (E)-2-(2-terc-butilhidrazono)propanoato de etilo (23,1 g) en forma de un aceite de color amarillo pálido. +IQPA (M+H) 187,3; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ): 5,51 (s a, 1 H), 4,25 (c, $J = 7,2\text{ Hz}$, 2 H), 1,89 (s, 3 H), 1,32 (t, $J = 7,1\text{ Hz}$, 3 H), 1,28 (s, 9 H).

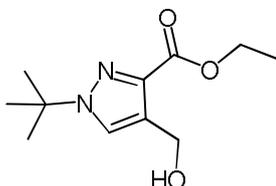
Etapa 2: 1-terc-butil-4-formil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo



35 A una solución de color amarillo anaranjado de (E)-2-(2-terc-butilhidrazono)propanoato de etilo (22,9 g, 123 mmol) en tolueno (300 ml) se le añadió cloruro de (clorometileno)dimetilamonio (sal de Vilsmeier, 34,0 g, 252 mmol) en una sola porción. La suspensión se agitó 3 horas a temperatura ambiente, convirtiéndose lentamente en una mezcla bifásica de tolueno sobre un gel naranja oscuro. La mezcla de reacción se enfrió a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se neutralizó lentamente con bicarbonato sódico acuoso saturado. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo

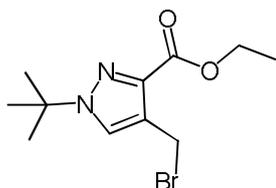
adicional (2 x 200 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se lavaron con 200 ml de salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron dando 1-terc-butil-4-formil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (18,6 g) en forma de un aceite naranja tostado que solidificó después de un periodo de reposo. +IQPA (M+H) 225,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 10,37 (s, 1 H), 8,14 (s, 1 H), 4,48 (c, J = 7,0 Hz, 2 H), 1,65 (s, 9 H), 1,44 (t, 3 H).

5 Etapa 3: 1-terc-butil-4-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo



10 A una solución de 1-terc-butil-4-formil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (2,87 g, 12,8 mmol) en etanol (50 ml) se le añadió borohidruro sódico (0,97 g, 25,6 mmol) en una porción. Después de agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente la mezcla se inactivó con ácido clorhídrico acuoso 1 N (100 ml), se agitó durante 15 minutos, y después se neutralizó con bicarbonato sódico acuoso saturado. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 x 150 ml), los extractos orgánicos combinados se secaron después sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron dando 1-terc-butil-4-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (2,57 g) en forma de un aceite transparente. +IQPA (M+Na) 249,2; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,49 (s, 1 H), 4,65 (d, J = 6,8 Hz, 2 H), 4,43 (c, J = 7,2 Hz, 2 H), 3,62 (t, J = 6,9 Hz, 1 H), 1,59 (s, 9 H), 1,41 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

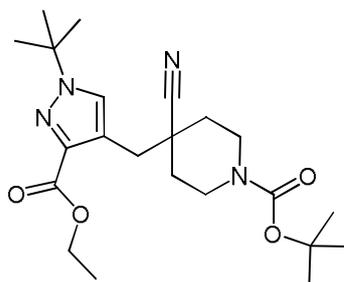
15 Etapa 4: 4-(bromometil)-1-terc-butil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo



20 A una solución a 0 °C de 1-terc-butil-4-(hidroximetil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (3,9 g, 17,24 mmol) en diclorometano (120 ml) se le añadió tribromuro de fósforo (4,91 ml, 51,7 mmol), y la mezcla resultante se agitó 30 minutos a 0 °C y después 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla se inactivó con 50 ml de agua, se neutralizó con bicarbonato sódico acuoso saturado, se agitó 30 minutos, y después se extrajo con diclorometano (2 x 150 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con 100 ml de salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 7-60 % / heptanos, 50 g gel de sílice) dando 4-(bromometil)-1-terc-butil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (4,12 g) en forma de un aceite transparente. +IQPA (M+H) 289,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,61 (s, 1 H), 4,70 (s, 2 H), 4,41 (c, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,60 (s, 9 H), 1,40 (t, 3 H).

25 un aceite transparente. +IQPA (M+H) 289,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,61 (s, 1 H), 4,70 (s, 2 H), 4,41 (c, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,60 (s, 9 H), 1,40 (t, 3 H).

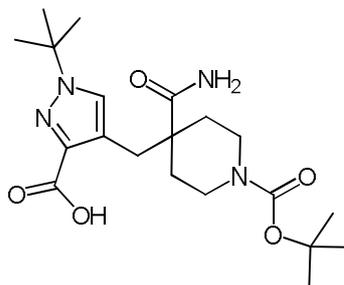
Etapa 5: 4-((1-terc-butil-3-(etoxicarbonil)-1H-pirazol-4-il)metil)-4-cianopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo



30 A una solución a -78 °C de 4-cianopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (1,0 g, 4,76 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) se le añadió bis(trimetilsilil)amiduro de litio (4,76 ml, 1 M en tetrahidrofurano). La mezcla se agitó 30 minutos a -78 °C, se calentó a 0 °C durante 30 minutos y después se enfrió a -78 °C. Una solución de 4-(bromometil)-1-terc-butil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (1,38 g, 4,76 mmol) en tetrahidrofurano se añadió después, gota a gota. Después de agitar 30 minutos a -78 °C la mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó 18 horas más. La mezcla de reacción se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado (50 ml), se agitó durante 30 minutos, se diluyó con agua (50 ml) y después se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 7-60 % / heptanos, 100 g gel de sílice) dando 4-((1-terc-butil-3-(etoxicarbonil)-1H-pirazol-4-il)metil)-4-cianopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (455 mg) en forma de un aceite transparente. +IQPA (M+H) 419,3; RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃, δ): 7,68 (s, 1 H), 4,40 (c, J = 7,2 Hz, 2 H), 4,13 (s, 2 H), 3,17 (s, 2 H), 2,97 (s, 2 H), 1,81 (d, J = 13,2 Hz, 2 H), 1,63 (s, 9 H), 1,56 (m, 2 H), 1,46 (s, 9 H), 1,41 (t, J = 7,2 Hz, 3 H).

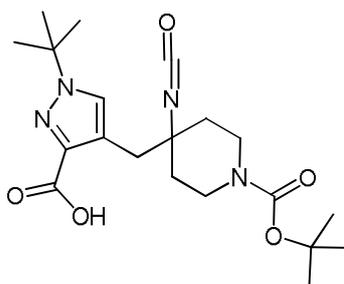
40

Etapa 6: ácido 4-((1-(terc-butoxicarbonil)-4-carbamoilpiperidin-4-il)metil)-1-terc-butil-1H-pirazol-3-carboxílico



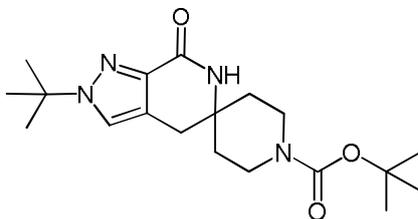
5 A una solución a 0 °C de 4-((1-(terc-butil-3-(etoxicarbonil)-1H-pirazol-4-il)metil)-4-cianopiperidin-1-carboxilato de terc-butilo (455 mg, 1,09 mmol) en metanol (11 ml) se le añadió una solución de urea-peróxido de hidrógeno (1,05 g, 10,9 mmol) en hidróxido sódico acuoso 1 M (10,9 ml), gota a gota. Después de agitar durante 18 horas a temperatura ambiente, los volátiles se retiraron a presión reducida y la suspensión resultante se recogió en agua (50 ml), se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 2 N y se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron dando ácido 4-((1-(terc-butoxicarbonil)-4-carbamoilpiperidin-4-il)metil)-1-terc-butil-1H-pirazol-3-carboxílico (418 mg) en forma de un sólido incoloro. -IQPA (M-H) 407,3; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12,33 (s a, 1 H), 7,47 (s, 1 H), 7,11 (s a, 1 H), 6,99 (s, 1 H), 3,59 (d, J = 13,3 Hz, 2 H), 2,89 (s, 2 H), 2,77 (m, 2 H), 1,84 (m, 2 H), 1,44 (s, 9 H), 1,31 (s, 9 H), 1,16 (m, 2 H).

Etapa 7: ácido 4-((1-(terc-butoxicarbonil)-4-isocianatopiperidin-4-il)metil)-1-terc-butil-1H-pirazol-3-carboxílico



15 A una suspensión de ácido 4-((1-(terc-butoxicarbonil)-4-carbamoilpiperidin-4-il)metil)-1-terc-butil-1H-pirazol-3-carboxílico (388 mg, 0,95 mmol) en acetonitrilo (20 ml) se le añadió bicarbonato sódico (319 mg, 3,80 mmol) y bis(trifluoroacetoxi) yodosobenceno (632 mg, 1,42 mmol). La mezcla se agitó 90 minutos a temperatura ambiente, se diluyó con 50 ml de agua, se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 1 N, y después se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida (1-10 % metanol / diclorometano, 25 g gel de sílice) dando ácido 4-((1-(terc-butoxicarbonil)-4-isocianatopiperidin-4-il)metil)-1-terc-butil-1H-pirazol-3-carboxílico (172 mg) en forma de un sólido incoloro. -IQPA (M-H) 405,4; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12,52 (s a, 1 H), 7,82 (s, 1 H), 3,83 (s a, 2 H), 3,03 (s, 2 H), 2,82 (s a, 2 H), 1,49 (m, 13 H), 1,36 (m, 9 H).

Etapa 8: 2'-terc-butil-7'-oxo-2',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo

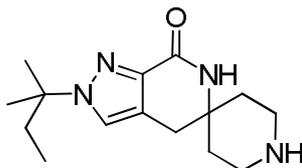


25 Una solución de ácido 4-((1-(terc-butoxicarbonil)-4-isocianatopiperidin-4-il)metil)-1-terc-butil-1H-pirazol-3-carboxílico (180 mg, 0,44 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) se trató con hidróxido sódico acuoso 2 N (0,664 ml, 1,33 mmol). La mezcla se agitó 3 horas a temperatura ambiente, el tetrahidrofurano y el agua se retiraron en un evaporador rotatorio y el sólido incoloro resultante se suspendió en acetonitrilo (10 ml) y después se concentró a sequedad. La trituración se repitió dos veces más en acetonitrilo (10 ml). El sólido incoloro resultante se recogió en diclorometano (10 ml) y se trató con clorhidrato de (3-(dimetilamino)propil)etil carbodiimida (170 mg, 0,89 mmol). La mezcla se agitó 18 horas a temperatura ambiente y después se diluyó con diclorometano (50 ml) y se lavó con agua (30 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. El residuo se purificó después por cromatografía ultrarrápida (acetato de etilo al 30-100 % / heptanos, 10 g gel de sílice) dando 2'-terc-butil-7'-oxo-2',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo (70 mg) en forma de un sólido incoloro. +IEP (M+H) 363,3; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 7,68 (s, 1 H), 7,57 (s, 1 H), 3,47 (m, 2 H), 3,20 (m, 2 H), 2,73 (s, 2 H), 1,53 (t, J = 5,7 Hz, 4 H), 1,49 (s, 9 H), 1,36 (s, 9 H).

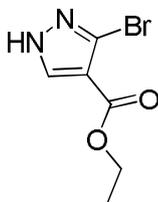
Etapa 9: El compuesto del título, 2'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona sal clorhidrato

A una solución de 2'-terc-butil-7'-oxo-2',4',6',7'-tetrahidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-1-carboxilato de terc-butilo (70 mg, 0,19 mmol) en acetato de etilo (5 ml) se le añadió ácido clorhídrico 4 M en 1,4-dioxano (2 ml) y la mezcla se agitó 3 horas a temperatura ambiente. Los volátiles se retiraron a presión reducida y el sólido incoloro resultante se trituró en heptanos (10 ml) y se secó a presión reducida dando 2'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona sal clorhidrato (56 mg) en forma de un sólido de color blanquecino. +IÉP (M+H) 263,1; RMN ¹H (500 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,72 (m, 2 H), 7,92 (s, 1 H), 7,75 (s, 1 H), 3,20 (s a, 2 H), 3,09 (s a, 2 H), 2,78 (s, 2 H), 1,79 (m, 4 H), 1,48 (s, 9 H).

Intermedio 5: 2'-terc-pentil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona, mostrada a continuación, se preparó como sigue:

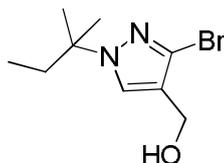


Etapa 1: 3-bromo-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo



A una solución a 0 °C de 3-amino-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (5,0 g, 32 mmol) y bromuro de cobre (II) (7,2 g, 32 mmol) en acetonitrilo (65 ml) se le añadió lentamente nitrito de isoamilo (12 ml, 86 mmol). La reacción se calentó a 50 °C y se agitó durante una noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó con ácido clorhídrico acuoso 1 N (150 ml). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron dando el compuesto del título en forma de un aceite de color pardo que solidificó parcialmente al vacío durante una noche (7,1 g, 100 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 9,78 (s a, 1 H), 8,10 (s a, 1 H), 4,33 (c, J = 7,22 Hz, 2 H), 1,36 (m, 3 H).

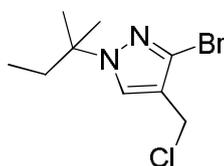
Etapa 2: (3-bromo-1-terc-pentil-1H-pirazol-4-il)metanol



Se añadió ácido sulfúrico concentrado (0,45 ml, 4,8 mmol) a una mezcla de 3-bromo-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (1,0 g, 4,6 mmol) y terc-amil alcohol (3,0 ml, 27 mmol). La reacción se calentó a 100 °C durante 2,5 horas. Después, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se dejó en agitación durante una noche. La reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró dando etil 3-bromo-1-terc-pentil-1H-pirazol-4-carboxilato (1,3 g) en forma de un aceite en bruto de color pardo.

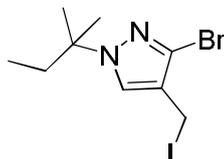
Este producto en bruto (1,3 g) se disolvió en tetrahidrofurano (24 ml) y se enfrió a -78 °C. Una solución de hidruro de diisobutilaluminio (1,5 M en tolueno, 9,0 ml, 160 mmol) se añadió lentamente y la reacción se agitó a -78 °C durante 1 hora. Después, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas más. La reacción se diluyó con acetato de etilo (20 ml) y sal de Rochelle acuosa saturada (20 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 0-100 % / heptanos) dio el compuesto del título (685 mg, 62 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,45 (s, 1 H), 4,51 (s, 2 H), 1,86 (c, J = 7,41 Hz, 2 H), 1,66 (s, 1 H), 1,51 (s, 6 H), 0,69 (m, 3 H).

Etapa 3: 3-bromo-4-(clorometil)-1-terc-pentil-1H-pirazol



Una solución de (3-bromo-1-terc-pentil-1H-pirazol-4-il)metanol (675 mg, 2,73 mmol) en diclorometano (10 ml) se enfrió a 0 °C. Se añadieron trietilamina (0,53 ml, 3,8 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,28 ml, 3,6 mmol). La reacción se agitó a 0 °C durante 15 minutos, después se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1,5 horas. La reacción se diluyó con acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró, y se concentró dando el compuesto del título (725 mg, 100 %) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,48 (s, 1 H), 4,47 (s, 2 H), 1,86 (c, *J* = 7,48 Hz, 2 H), 1,52 (s, 6 H), 0,69 (m, 3 H).

Etapas 4: 3-bromo-4-(yodometil)-1-terc-pentil-1H-pirazol

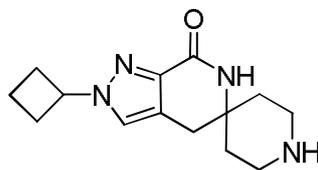


A una solución de 3-bromo-4-(clorometil)-1-terc-pentil-1H-pirazol (725 mg, 2,73 mmol) en acetona (25 ml) se le añadió yoduro sódico (4,09 g, 27,3 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante 2 horas, después se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó con tiosulfato sódico acuoso saturado y salmuera. Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron dando el compuesto del título (824 mg, 85 %) en forma de un aceite de color pardo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,47 (s, 1 H), 4,26 (s, 2 H), 1,83 (c, *J* = 7,41 Hz, 2 H), 1,50 (s, 6 H), 0,67 (t, *J* = 7,51 Hz, 3 H).

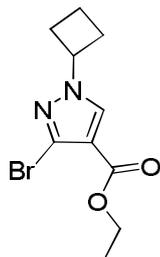
Etapas 5: 2'-terc-pentil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona

El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito para el Intermedio 3 en las Etapas 4-8, usando 3-bromo-4-(yodometil)-1-terc-pentil-1H-pirazol. +IEP (M+H) 277,3; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 7,67 (s, 1 H), 3,22 - 3,37 (m, 4 H), 2,93 (s, 2 H), 1,92 (c, *J* = 7,61 Hz, 2 H), 1,88 - 2,05 (m, 4 H), 1,57 (s, 6 H), 0,67 (t, *J* = 7,41 Hz, 3 H).

Intermedio 6: 2'-ciclobutil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona, mostrada a continuación, se preparó como sigue:



Etapas 1: 3-bromo-1-ciclobutil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo

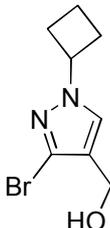


Una mezcla de 3-bromo-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (1,00 g, 4,56 mmol), bromuro de ciclobutilo (0,65 ml, 6,9 mmol) y carbonato de cesio (2,97 g, 9,13 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se calentó a 60 °C y se agitó durante una noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se repartió entre heptanos / acetato de etilo 1:1 y agua. La fase acuosa se extrajo de nuevo con heptanos / acetato de etilo 1:1. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida dio dos productos regioisoméricos en forma de aceites incoloros.

5-bromo-1-ciclobutil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (230 mg, 18 %): +IEP (M+H+1) 275,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,98 (s, 1 H), 4,98 (m, 1 H), 4,30 (c, *J* = 7,02 Hz, 2 H), 2,61 - 2,74 (m, 2 H), 2,43 (m, 2 H), 1,84 - 1,95 (m, 2 H), 1,34 (m, 3 H).

3-bromo-1-ciclobutil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (570 mg, 46 %): +IEP (M+H+1) 275,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,87 (s, 1 H), 4,69 (m, 1 H), 4,29 (c, *J* = 7,22 Hz, 2 H), 2,41 - 2,61 (m, 4 H), 1,78 - 1,98 (m, 2 H), 1,34 (m, 3 H).

Etapa 2: (3-bromo-1-ciclobutil-1H-pirazol-4-il)metanol

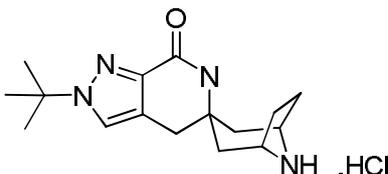


5 Una solución de 3-bromo-1-ciclobutil-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (565 mg, 2,07 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) se enfrió a -78 °C. Se añadió lentamente hidruro de diisobutilaluminio (4,13 ml, 6,02 mmol, 1,5 M en tolueno) y la reacción se agitó a -78 °C durante 1 hora. Después, la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas más. La reacción se diluyó con acetato de etilo (20 ml) y sal de Rochelle acuosa saturada (20 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se diluyó adicionalmente con acetato de etilo y se lavó con agua. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron dando el compuesto del título (478 mg, 100 %) en forma de un aceite incoloro. +IQPA (M+H⁺) 233,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,40 (s, 1 H), 4,62 - 4,71 (m, 1 H), 4,51 (s, 2 H), 2,39 - 2,59 (m, 4 H), 1,74 - 1,92 (m, 3 H).

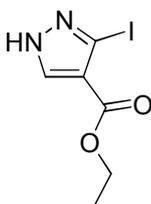
Etapa 3: 2'-ciclobutil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona

15 El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito para el Intermedio 5, Etapas 3 – 5, usando (3-bromo-1-ciclobutil-1H-pirazol-4-il)metanol. +IEP (M+H) 261,3; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 7,62 (s, 1 H), 4,84 - 4,92 (m, 1 H), 3,21 - 3,36 (m, 4 H), 2,93 (s, 2 H), 2,50 - 2,63 (m, 2 H), 2,40 - 2,50 (m, 2 H), 1,82 - 2,05 (m, 6 H).

Intermedio 7: clorhidrato de 2'-terc-butil-4',6'-dihidro-8-azaespiro[biciclo[3,2,1]octano-3,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona, mostrada a continuación, se preparó como sigue:

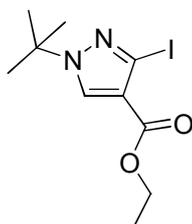


20 Etapa 1: 3-yodo-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo



25 Se disolvió 3-amino-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (860,0 mg, 5,54 mmol) en ácido acético (5 ml) y agua (5 ml). Se añadió yoduro potásico (921 mg, 5,54 mmol) y la mezcla se agitó hasta que todos los sólidos se hubieron disueltos. Una solución de nitrito sódico (386 mg, 5,54 mmol) en agua (2 ml) se añadió después gota a gota. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 minutos, cuando la agitación quedó impedida debido a la formación de precipitados. Se añadió más agua (5 ml) y la reacción se dejó en agitación durante una noche. El ácido acético se retiró a presión reducida. El residuo pardo se recogió en bicarbonato sódico acuoso saturado y se extrajo con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con tiosulfato sódico acuoso saturado (50 ml), se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 10-80 % / heptanos) dio el compuesto del título (863 mg, 59 %) en forma de un sólido de color blanco. +IQPA (M+H) 267,2; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 12,63 (s, 1 H), 8,13 (s, 1 H), 4,34 (c, J = 7,0 Hz, 2 H), 1,38 (t, J = 7,2 Hz, 3 H).

Etapa 2: 1-terc-butil-3-yodo-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo

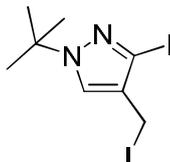


A una solución de 3-yodo-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (1,10 g, 3,91 mmol) en terc-butanol (5 ml) se le añadió ácido sulfúrico (0,40 ml, 4,18 mmol, 18 M). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante 3 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo (100 ml) y agua (25 ml). El pH se ajustó a 8 con bicarbonato sódico acuoso saturado. Las fases se separaron y los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 7 - 60 % / heptanos) dio 2 productos regioisoméricos.

1-terc-butil-5-yodo-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,91 (s, 1 H), 4,32 (c, J = 7,2 Hz, 2 H), 1,83 (s, 9 H), 1,37 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

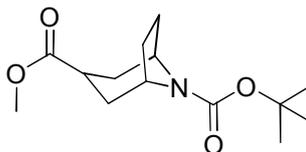
1-terc-butil-3-yodo-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (976 mg, 73 %) en forma de un aceite transparente: +IQPA (M+H) 323,3; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,90 (s, 1 H), 4,31 (c, J = 7,0 Hz, 2 H), 1,59 (s, 9 H), 1,36 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

Etapa 3: 1-terc-butil-3-yodo-4-(yodometil)-1H-pirazol



El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito para el Intermedio 5, Etapas 2 - 4, usando 1-terc-butil-3-yodo-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,49 (s, 1 H), 4,25 (s, 2 H), 1,56 (s, 9 H).

Etapa 4: (1R,5S)-8-terc-butil 3-metil 8-azabicyclo[3,2,1]octano-3,8-dicarboxilato

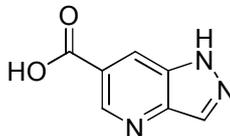


A una solución de ácido (1R,5S)-8-(terc-butoxicarbonil)-8-azabicyclo[3,2,1]octano-3-carboxílico (500 mg, 1,96 mmol) en N,N-dimetilformamida (5 ml) se le añadió carbonato potásico (541 mg, 3,92 mmol) y yoduro de metilo (0,18 ml, 2,94 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La reacción se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y heptanos (50 ml), y después se lavó con agua (100 ml) y salmuera (50 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida dio el compuesto del título (486 mg, 92 %) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 4,17 - 4,29 (m, 2 H), 3,65 (s, 3 H), 2,75 - 2,86 (m, 1 H), 1,93 - 2,01 (m, 2 H), 1,79 - 1,92 (m, 2 H), 1,67 - 1,76 (m, 2 H), 1,58 - 1,66 (m, 2 H), 1,45 (s, 9 H).

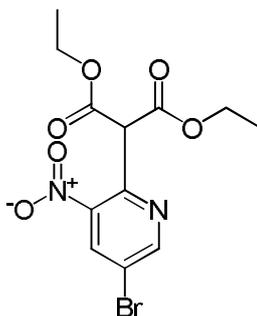
Etapa 5: clorhidrato de 2'-terc-butil-4',6'-dihidro-8-azaespiro[bicyclo[3,2,1]octano-3,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'-(2'H)-ona

El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito para el Intermedio 3, Etapas 4 - 8, usando (1R,5S)-8-terc-butil 3-metil 8-azabicyclo[3,2,1]octano-3,8-dicarboxilato y 1-terc-butil-3-yodo-4-(yodometil)-1H-pirazol. +IEP (M+H) 289,2; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 7,69 (s, 1 H), 4,03 - 4,10 (m, 2 H), 2,74 (s, 2 H), 2,39 - 2,46 (m, 2 H), 2,10 - 2,25 (m, 6 H), 1,59 (s, 9 H).

Intermedio 8: ácido 1H-pirazolo[4,3-b]piridin-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

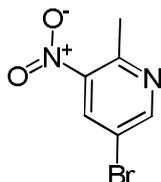


Etapa 1: 2-(5-bromo-3-nitropiridin-2-il)malonato de dietilo



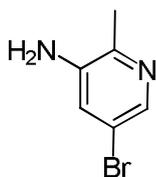
5 A una suspensión de hidruro sódico (5,08 g, 127 mmol) en N,N-dimetilformamida (75 ml) se le añadió malonato de dietilo (19,26 ml, 127 mmol) a 0 °C. La solución se agitó después a temperatura ambiente durante 30 minutos y una solución de 5-bromo-2-cloro-3-nitropiridina (30 g, 127 mmol) en N,N-dimetilformamida (75 ml) se añadió gota a gota. La mezcla de color pardo oscuro se agitó después a 100 °C durante 2 horas antes de enfriarla a temperatura ambiente y se inactivó con una solución saturada de cloruro de amonio (500 ml) a 0 °C. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 500 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio y se filtraron. El disolvente se retiró al vacío dando un aceite de color pardo oscuro que se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 10 % / hexano) dando 2-(5-bromo-3-nitropiridin-2-il)malonato de dietilo en forma de un sólido de color pardo (31,8 g, 69 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,86 (s, 1 H), 8,61 (s, 1 H), 5,44 (s, 1 H), 4,29 (c, 4 H), 1,27 (t, 6 H).

Etapa 2: 5-bromo-2-metil-3-nitropiridina



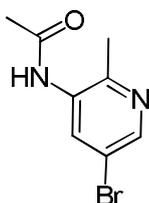
15 Una mezcla del 2-(5-bromo-3-nitropiridin-2-il)malonato de dietilo (31,8 g, 88 mmol) en ácido clorhídrico acuoso (6 M, 1,4 l) se agitó a la temperatura de reflujo durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió muy lentamente a una solución saturada acuosa de bicarbonato sódico acuoso (4 l) a 0 °C. La mezcla se extrajo después con diclorometano (7 l), se secó sobre sulfato de magnesio y el disolvente se retiró al vacío dando 5-bromo-2-metil-3-nitropiridina en forma de un aceite de color naranja (13,8 g, 72 %) que solidificó después de un periodo de reposo. RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃, δ): 8,78 (s, 1 H), 8,43 (s, 1 H), 2,79 (s, 3 H).

Etapa 3: 5-bromo-2-metilpiridin-3-amina



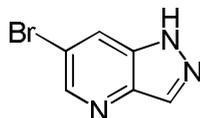
20 A una solución de 5-bromo-2-metil-3-nitropiridina (13,8 g, 63,9 mmol) en alcohol metilado industrial (330 ml) a 40 °C se le añadió polvo de hierro (20 g) (en porciones para evitar la aparición de grumos) seguido de ácido clorhídrico acuoso concentrado (5 ml). La mezcla de color pardo oscuro se agitó vigorosamente a reflujo durante 2 horas y después se enfrió y se filtró a través de Celite® (que se lavó con 1 l de alcohol metilado industrial). Después, el disolvente se retiró al vacío y el residuo se recogió en acetato de etilo (200 ml) y se lavó con una solución saturada acuosa de bicarbonato sódico (200 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y el disolvente se retiró al vacío dando 5-bromo-2-metilpiridin-3-amina en forma de un sólido de color naranja (10,7 g, 90 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,91 (s, 1 H), 7,00 (s, 1 H), 3,75 (s, 2 H), 2,25 (s, 3 H).

Etapa 4: N-(5-bromo-2-metilpiridin-3-il)acetamida



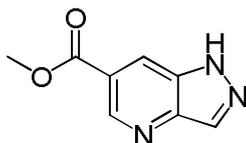
30 A una solución de 5-bromo-2-metilpiridin-3-amina (10,7 g, 57,5 mmol) en diclorometano (575 ml) se le añadió anhídrido acético (12 ml, 126,5 mmol) a 0 °C seguido de trietilamina (22 ml, 158 mmol). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas punto en el cual se añadió otro equivalente de anhídrido acético (6 ml, 63 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 72 horas más. La mezcla de reacción se inactivó con una solución saturada acuosa de bicarbonato sódico (500 ml) y la fase orgánica se lavó con cloruro sódico acuoso saturado (500 ml), se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró al vacío dando un sólido de color pardo. Este sólido se trituró con acetato de etilo al 30 % en hexano dando N-(5-bromo-2-metilpiridin-3-il)acetamida en forma de un sólido de color blanquecino (8,28 g, 63 %). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,31 (s, 1 H), 8,18 (s, 1 H), 2,43 (s, 3 H), 2,18 (s, 3 H).

40 Etapa 5: 6-bromo-1H-pirazolo[4,3-b]piridina



A una solución de N-(5-bromo-2-metilpiridin-3-il)acetamida (8,28 g, 36 mmol) en cloroformo (550 ml) a temperatura ambiente se le añadió acetato potásico (4,32 g, 43,6 mmol), ácido acético (2,5 ml, 43,6 mmol) y seguido de anhídrido acético (6,86 ml, 72,6 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de calentarla a 40 °C. Se añadió nitrito de isoamilo después gota a gota. Después, la reacción se agitó a 60 °C durante 5 48 horas. La mezcla de reacción se vertió lentamente en una solución saturada de bicarbonato sódico (500 ml) a 0 °C. La fase orgánica se retuvo y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (500 ml). Los extractos orgánicos combinados se concentraron después a un aceite de color pardo que se disolvió en metanol (500 ml). Se añadió hidróxido sódico acuoso (2 M, 500 ml) a 0 °C y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora antes de que el metanol se retirara al vacío. La mezcla acuosa se extrajo después con acetato de etilo (3 x 500 ml). Los 10 extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y el disolvente se retiró al vacío dando 6-bromo-1H-pirazolo[4,3-b]piridina en forma de un sólido de color pardo claro (5,5 g, 77 %). RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,55 (s, 1 H), 8,24 (s, 1 H), 8,21 (s, 1 H).

Etapa 6: 1H-pirazolo[4,3-b]piridin-6-carboxilato de metilo

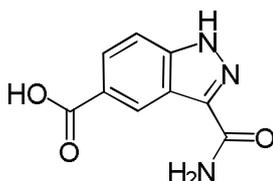


A una solución de 6-bromo-1H-pirazolo[4,3-b]piridina (5,5 g, 27,9 mmol) en metanol (125 ml) y acetonitrilo (75 ml) se le añadió trietilamina (22 ml, 156 mmol), 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil (1,98 g, 3,07 mmol) y dicloruro de paladio (1,23 g, 6,98 mmol). La mezcla se puso a 2 MPa de monóxido de carbono, se calentó a 100 °C, y se agitó vigorosamente durante 18 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a través de Celite® antes de que el disolvente se retiró al vacío dando un aceite de color pardo. Este aceite en bruto se purificó después por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 50 % / hexanos) dando 1H-pirazolo[4,3-b]piridin-6-carboxilato de metilo en forma de un sólido de color amarillo pálido (4,52 g, 92 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 10,56 (s, 1 H), 9,23 (s, 1 H), 8,35 (s, 1 H), 8,40 (s, 1 H), 4,01 (s, 3 H).

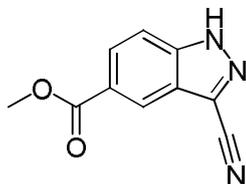
Etapa 7: ácido 1H-pirazolo[4,3-b]piridin-6-carboxílico

A una solución de 1H-pirazolo[4,3-b]piridin-6-carboxilato de metilo (3,52 g, 20 mmol) en metanol (250 ml) y agua (190 ml) a 0 °C se le añadió hidróxido sódico acuoso (2 M, 64 ml, 128 mmol), gota a gota. Se dejó entonces que la suspensión se calentara a temperatura ambiente y se agitó durante 18 horas. El metanol se retiró después al vacío y la mezcla acuosa se extrajo con acetato de etilo (250 ml). La fase acuosa se acidificó (a pH 5-6) con ácido clorhídrico acuoso 2 N (70 ml). El sólido de color crema que había precipitado se retiró después por filtración y se secó en un desecador dando el compuesto del título (0,675 g, 21 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,97 (s, 1 H), 8,45 (s, 1 H), 8,39 (s, 1 H).

Intermedio 9: ácido 3-carbamoil-1H-indazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



Etapa 1. 3-ciano-1H-indazol-5-carboxilato de metilo



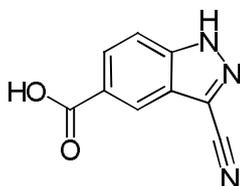
Se combinaron 3-yodo-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (30,7 g, 102 mmol), cianuro de cinc (20,3 g, 173 mmol), cinc en polvo (4,05 g, 61,9 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]-dicloropaladio (II), complejoado con diclorometano (12 g, 15 mmol) y yoduro de cobre (I) (19,7 g, 103 mmol) en un matraz de fondo redondo de 1 l. Se añadió N,N-dimetilacetamida (500 ml) y la mezcla de reacción se purgó con nitrógeno durante 10 minutos. La reacción se calentó a 120 °C durante 1 hora. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo (1 l), y se dejó agitar durante 20 minutos. La mezcla de reacción se filtró a través de un lecho de Celite, aclarando con 500 ml de acetato de etilo. El filtrado se añadió a una solución de cloruro de amonio saturado e hidróxido de amonio concentrado (2 l) (preparado añadiendo hidróxido de amonio a una solución saturada acuosa de cloruro de amonio hasta pH = 8) y la solución bifásica se agitó vigorosamente durante 1 hora. La emulsión resultante se filtró a través de un pequeño lecho de Celite. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo dos veces más con acetato de etilo (1100 ml), filtrando cada vez la emulsión resultante a través de Celite. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua (2 x 900 ml) y salmuera (900 ml), se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. Al producto en bruto se le añadió metanol (100 ml) y la mezcla se agitó durante 20 minutos. El precipitado resultante se retiró por filtración y se lavó con metanol (10 ml). El filtrado se concentró dando el compuesto del título (13,2 g, 65 %)

en forma de un sólido. -IEP (M-H) 200,0; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,43 - 8,45 (m, 1 H), 8,05 (dd, J = 8,8, 1,6 Hz, 1 H), 7,85 (dd, J = 8,9, 0,9 Hz, 1 H), 3,88 (s, 3 H).

Etapa 2. ácido 3-carbamoi-1H-indazol-5-carboxílico

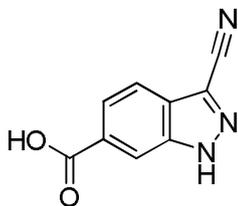
5 Una suspensión de 3-ciano-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (50,0 g, 249 mmol) en metanol (1 l) se enfrió a 10 °C. Una solución de urea-peróxido de hidrógeno (241 g, 2,49 mol) en hidróxido sódico (1 l de 2,5 N) y agua (100 ml) se añadió gota a gota, manteniendo una temperatura interna por debajo de 25 °C. Una vez completada la adición, el baño de hielo se retiró y la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 16 horas. Se observó una pequeña cantidad de material de partida no reaccionado por HPLC. La reacción se enfrió a 15 °C y se añadió más urea-peróxido de hidrógeno (50 g) en porciones. Se observó un burbujeo vigoroso. La reacción se dejó en agitación durante 2 horas más. La reacción bruta se filtró para retirar los sólidos presentes y el filtrado se concentró para retirar el metanol. La solución restante se enfrió en un baño de hielo y se añadió ácido clorhídrico 6 N (420 ml) gota a gota para ajustar el pH a 4. La solución se agitó durante 20 minutos y el sólido castaño resultante se recogió por filtración y se secó dando 57,2 g de producto bruto. Al producto bruto se le añadió acetonitrilo (700 ml) y diclorometano (700 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetonitrilo : diclorometano 1:1 (400 ml) y se secó dando el compuesto del título (39,5 g, 77 %) en forma de un sólido de color castaño. +IEP (M+H) 206,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,81 (s, 1 H), 12,85 (s a, 1 H), 8,82 (d, J = 0,8 Hz, 1 H), 7,93 (dd, J = 8,8, 1,6 Hz, 1 H), 7,79 - 7,85 (m, 1 H), 7,64 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 7,44 (s, 1 H).

Intermedio 10: ácido 3-ciano-1H-indazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

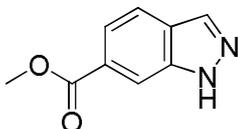


20 Se disolvió 3-ciano-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (500 mg, 2,5 mmol) en metanol (12 ml) y se añadió hidróxido de litio acuoso 2 N (3,7 ml, 7 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se concentró para retirar el metanol y el residuo se acidificó a pH = 4 con ácido clorhídrico acuoso 1 N. El precipitado amarillo resultante se recogió por filtración, se lavó con agua, y se secó en un horno de vacío proporcionando el compuesto del título (445 mg, 96 %). -IEP (M-H) 186,4; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,17 (s a, 1 H), 8,42 (s, 1 H), 8,05 (dd, J = 8,8, 1,6 Hz, 1 H), 7,83 (d, 1 H).

Intermedio 11: ácido 3-ciano-1H-indazol-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

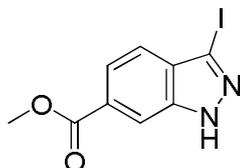


Etapa 1: 1H-indazol-6-carboxilato de metilo



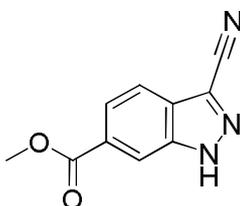
30 A una solución de ácido 1H-indazol-6-carboxílico (3,00 g, 18,5 mmol) en N,N-dimetilformamida (46 ml) se le añadió carbonato sódico (2,06 g, 19,4 mmol), seguido de yodometano (2,75 g, 1,21 ml, 19,4 mmol) gota a gota. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se vertió en bicarbonato sódico semisaturado y se extrajo con acetato de etilo tres veces. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío dando un aceite de color pardo. Este residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 12-100 % / heptanos) dando 1H-indazol-6-carboxilato de metilo en forma de un sólido de color amarillo (2,95 g, 90 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 10,40 (s a, 1 H), 8,26 (s, 1 H), 8,13 (s, 1 H), 7,84 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,79 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 3,96 (s, 3 H).

Etapa 2: 3-yodo-1H-indazol-6-carboxilato de metilo



5 A una solución de 1H-indazol-6-carboxilato de metilo (865 mg, 4,91 mmol) en N,N-dimetilformamida (12 ml) se le añadió hidróxido potásico (840 mg, 3,05 mmol) seguido de yodo (1,54 g, 5,9 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se añadió bisulfato sódico (30 ml de 5 % acuoso) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo dos veces. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 5-65 % / heptanos) dando 3-yodo-1H-indazol-6-carboxilato de metilo en forma de un sólido incoloro (1,16 g, 78 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,84 (s, 1 H), 8,13 (s, 1 H), 7,72 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,54 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 3,87 (s, 3 H).

Etapa 3: 3-ciano-1H-indazol-6-carboxilato de metilo

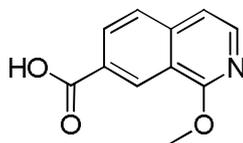


15 Una mezcla de 3-yodo-1H-indazol-6-carboxilato de metilo (3,0 g, 9,9 mmol), cinc en polvo (400 mg, 6,11 mmol), cianuro de cinc (2,0 g, 17,0 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II), complejoado con diclorometano (1,15 g, 1,41 mmol) y yoduro de cobre (I) (1,90 g, 9,97 mmol) en dimetilacetamida (55 ml) se purgó con nitrógeno durante 15 minutos. La mezcla se agitó a 120 °C durante 15 horas. La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con acetato de etilo (250 ml), y se filtró a través de Celite, aclarando con acetato de etilo (100 ml). Al filtrado se le añadieron ~400 ml de una solución de cloruro de amonio acuoso saturado e hidróxido de amonio concentrado (preparado añadiendo hidróxido de amonio a una solución saturada acuosa de cloruro de amonio hasta pH = 8). La mezcla se agitó durante 1 hora. Las fases se separaron después. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. Al residuo se le añadió metanol (40 ml) y la mezcla se agitó durante una noche. La mezcla se filtró y el sólido se secó al vacío dando 3-ciano-1H-indazol-6-carboxilato de metilo en forma de un sólido de color castaño (1,47 g, 73 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,40 (s a, 1 H), 8,25 (s, 1 H), 7,94 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 7,83 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 3,88 (s, 3 H).

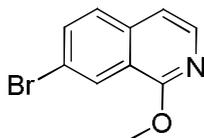
25 Etapa 4: ácido 3-ciano-1H-indazol-6-carboxílico

A una solución de 3-ciano-1H-indazol-6-carboxilato de metilo (1,47 g, 7,31 mmol) en metanol (36 ml) y tetrahidrofurano (20 ml) se le añadió hidróxido de litio acuoso 2 N (16 ml, 32 mmol). La reacción se calentó a 50 °C durante 72 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se diluyó con agua y el pH se ajustó a 4 con ácido clorhídrico acuoso 1 N. El precipitado resultante se retiró por filtración, se aclaró con agua, y se secó al vacío proporcionando el compuesto del título (500 mg, 37 %) en forma de un sólido de color castaño. +IEP (M+H) 188,2.

Intermedio 12: ácido 1-metoxiisoquinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



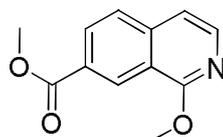
Etapa 1: 7-bromo-1-metoxiisoquinolina



35 Se combinó 7-bromo-1-cloroisoquinolina (570 mg, 2,4 mmol) con metanol (10 ml) y metóxido sódico (25 % en peso en metanol, 1,5 ml, 24 mmol) en un vial para microondas. El vial se cerró herméticamente y se calentó a 130 °C durante 3 horas en un microondas. La reacción se concentró. El residuo en bruto se recogió en acetato de etilo y se lavó con agua y bicarbonato sódico acuoso saturado. La fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo caliente. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron dando el compuesto del título (520 mg, 93 %). +IEP (M+H+1) 240,0; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,25 - 8,28 (m, 1 H),

8,04 (d, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 7,86 - 7,89 (m, 2 H), 7,40 (dd, $J = 6,0, 0,9$ Hz, 1 H), 4,03 (s, 3 H).

Etapa 2: 1-metoxiisquinolin-7-carboxilato de metilo

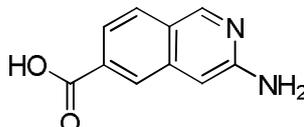


5 A una solución de 7-bromo-1-metoxiisquinolina (520 mg, 2,2 mmol) en metanol (30 ml) se le añadió acetato sódico (517 mg, 6,30 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]-dicloropaladio (II), complejado con diclorometano (257 mg, 0,315 mmol). La mezcla se sometió a vacío y se rellenó con nitrógeno tres veces. El recipiente de reacción se presurizó entonces a 0,17 MPa de monóxido de carbono. La reacción se calentó a 70 °C y se agitó durante 20 horas. La reacción se filtró, aclarando con metanol. El filtrado se concentró. El residuo resultante se recogió en diclorometano y los sólidos restantes se retiraron por filtración. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía
10 en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 0-100 % / heptanos) dando el compuesto del título (443 mg, 93 %) en forma de un sólido de color blanco. +IEP (M+H) 218,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,77 (d, $J = 0,8$ Hz, 1 H), 8,20 (dd, $J = 8,6, 1,8$ Hz, 1 H), 8,13 (d, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 8,00 (d, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 7,46 (d, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 4,08 (s, 3 H), 3,90 (s, 3 H).

Etapa 3: ácido 1-metoxiisquinolin-7-carboxílico

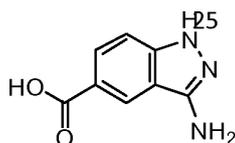
15 A una solución de 1-metoxiisquinolin-7-carboxilato de metilo (443 mg, 2,04 mmol) en metanol (10 ml) se le añadió hidróxido de litio acuoso 2 N (20 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La mezcla de reacción se diluyó con ácido clorhídrico acuoso 1 N y acetato de etilo. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo dos veces más con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron dando el compuesto del título (414 mg, 100 %) en forma de un sólido. +IEP (M+H) 204,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,24 (s, 1 H), 8,76 (d, $J = 0,8$ Hz, 1 H), 8,18 (dd, $J = 8,6, 1,8$ Hz, 1 H), 8,11 (d, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 7,97 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,45 (d, $J = 5,9$ Hz, 1 H), 4,07 (s, 3 H).

Intermedio 13: ácido 3-aminoisquinolin-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



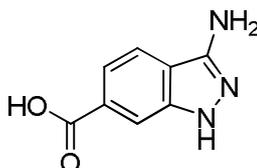
25 El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito para el Intermedio 12, Etapas 2 - 3, usando 6-bromoisquinolin-3-amina. +IEP (M+H) 189,0; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,15 (s, 1 H), 8,94 (s, 1 H), 8,20 (s, 1 H), 7,91 (m, 1 H), 7,62 - 7,59 (m, 1 H), 6,78 (s, 1 H), 6,14 (s, 2 H).

Intermedio 14: ácido 3-amino-1H-indazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



30 A una solución de ácido 3-ciano-4-fluorobenzoico (980,0 mg, 5,94 mmol) en etanol (6 ml), se le añadió hidrazina hidrato (0,89 ml, 17,8 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante 3 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el etanol se retiró a presión reducida. El aceite amarillo resultante se recogió en agua (50 ml) y se basificó con hidróxido sódico acuoso 1 N (5 ml). La solución se lavó una vez con acetato de etilo (25 ml). La fase acuosa se acidificó a pH = 3 con ácido clorhídrico acuoso 6 N y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante
35 1 hora. El precipitado resultante se recogió por filtración y se secó al vacío dando el compuesto del título (612 mg, 48 %) en forma de un sólido rosa. +IEP (M+H) 178,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,42 - 8,47 (m, 1 H), 7,76 (dd, $J = 8,8, 1,6$ Hz, 1 H), 7,21 (d, $J = 8,8$ Hz, 1 H).

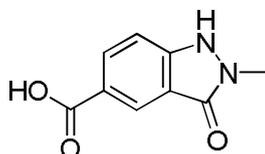
Intermedio 15: ácido 3-amino-1H-indazol-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



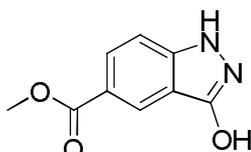
40 A una solución de ácido 4-ciano-3-fluorobenzoico (500 mg, 3,0 mmol) en n-butanol (9 ml) se le añadió hidrazina monohidrato (0,5 ml, 10 mmol). La reacción se calentó a 110 °C durante una noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el precipitado se recogió por filtración. El sólido se disolvió después en hidróxido sódico acuoso 1 N (2 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x). La fase acuosa se acidificó a pH = 4 con ácido clorhídrico

acuoso 1 N. El precipitado resultante se recogió por filtración y se secó al vacío proporcionando el compuesto del título (140 mg, 26 %) en forma de un sólido rojo. +IEP (M+H) 178,2; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 7,99 - 8,01 (m, 1 H), 7,73 (dd, *J* = 8,4, 0,8 Hz, 1 H), 7,61 (dd, *J* = 8,5, 1,3 Hz, 1 H).

5 Intermedio 16: ácido 2-metil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-indazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

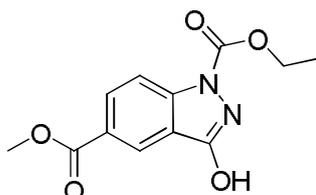


Etapa 1: 3-hidroxi-1H-indazol-5-carboxilato de metilo



10 Se suspendió ácido 3-hidroxi-1H-indazol-5-carboxílico (1,5 g, 8,4 mmol) en metanol (17 ml). Se añadió ácido clorhídrico concentrado (3,11 ml, 101 mmol) y la reacción se calentó a 100 °C durante 6 horas. La reacción se concentró proporcionando el compuesto del título (1,60 g, 99 %). +IEP (M+H) 193,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆, δ): 12,00 (s a, 1 H), 8,35 (s, 1 H), 7,83 (dd, *J* = 8,9, 1,7 Hz, 1 H), 7,33 (dd, *J* = 8,9, 0,7 Hz, 1 H), 3,82 (s, 3 H).

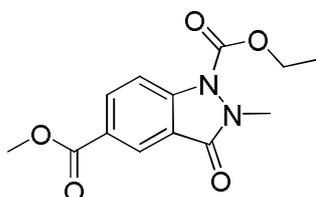
Etapa 2: 3-hidroxi-1H-indazol-1,5-dicarboxilato de 1-etilo de 5-metilo



15 Se suspendió 3-hidroxi-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (1,60 g, 8,33 mmol) en piridina (10 ml). Se añadió lentamente cloroformiato de etilo (0,90 ml, 9,3 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió cloroformiato de etilo adicional (0,30 ml, 3,1 mmol) y la reacción se agitó durante 30 minutos más. Se vertió en agua (65 ml) y se enfrió en un frigorífico durante 3 horas. El sólido pardo se recogió por filtración, se aclaró con agua, y se secó al vacío dando el compuesto del título (1,75 g, 80 %). +IEP (M+H) 265,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,56 (s, 1 H), 8,29 (d, *J* = 7,8 Hz, 1 H), 8,13 (s a, 1 H), 4,59 (c, *J* = 7,0 Hz, 2 H), 3,97 (s, 3 H), 1,56 (t, *J* = 7,0 Hz, 3 H).

20

Etapa 3: 2-metil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-indazol-1,5-dicarboxilato de 1-etilo de 5-metilo



25 Se suspendió 3-hidroxi-1H-indazol-1,5-dicarboxilato de 1-etilo de 5-metilo (1,75 g, 6,62 mmol) en acetona (85 ml). Se añadieron carbonato de cesio (2,27 g, 6,95 mmol) y yoduro de metilo (1,3 ml, 20 mmol) y la reacción se agitó a la temperatura de reflujo durante 22 horas. La reacción se concentró a sequedad y el residuo se repartió entre diclorometano (60 ml) y agua (100 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano (60 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 7-60 % / heptanos) dio dos productos regioisoméricos.

30

3-metoxi-1H-indazol-1,5-dicarboxilato de 1-etilo de 5-metilo (590 mg, 32 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,41 (dd, *J* = 1,6, 0,8 Hz, 1 H), 8,22 (dd, *J* = 9,2, 3,5 Hz, 1 H), 8,14 (d, *J* = 9,2 Hz, 1 H), 4,57 (c, *J* = 7,1 Hz, 2 H), 4,20 (s, 3 H), 3,95 (s, 3 H), 1,51 (t, *J* = 7,1 Hz, 3 H).

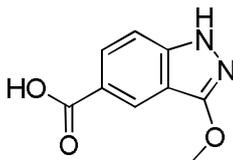
35 2-metil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-indazol-1,5-dicarboxilato de 1-etilo de 5-metilo (699 mg, 38 %) en forma de un sólido de color amarillo. +IEP (M+H) 279,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,56 (dd, *J* = 1,8, 0,6 Hz, 1 H), 8,30 (dd, *J* = 8,8, 1,8 Hz, 1 H), 7,93 (d, *J* = 8,8 Hz, 1 H), 4,50 (c, *J* = 7,0 Hz, 2 H), 3,94 (s, 3 H), 3,67 (s, 3 H), 1,48 (t, *J* = 7,1 Hz, 3 H).

Etapa 4: ácido 2-metil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-indazol-5-carboxílico

Se disolvió 2-metil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-indazol-1,5-dicarboxilato de 1-etilo de 5-metilo (300 mg, 1,08 mmol) en etanol (4 ml). Se añadió hidróxido potásico (485 mg, 8,62 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. CLEM mostró que la reacción era incompleta. Se añadió después una solución acuosa de hidróxido potásico (10 ml, 10 mmol, 1,0 M) y la reacción se calentó a 65 °C durante 2 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El sólido naranja resultante se disolvió en agua y se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 1 N. El precipitado se recogió por filtración y se secó al vacío dando el compuesto del título (158 mg, 76 %) en forma de un sólido de color blanco. +IEP (M+H) 193,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12,75 (s, 1 H), 11,06 (s, 1 H), 8,15 (s, 1 H), 7,99 (dd, J = 8,7, 1,5 Hz, 1 H), 7,28 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 3,37 (s, 3 H).

5

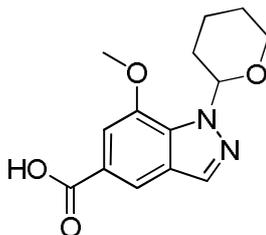
10 Intermedio 17: ácido 3-metoxi-1H-indazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



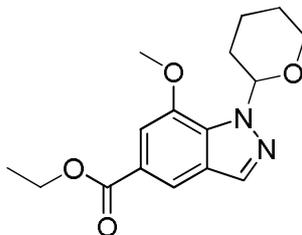
El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito para el Intermedio 16, usando 3-metoxi-1H-indazol-1,5-dicarboxilato de 1-etilo de 5-metilo, el producto regioisomérico formado en la Etapa 3, +IEP (M+H) 193,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12,65 (s, 1 H), 12,26 (s, 1 H), 8,18 (s, 1 H), 7,86 (dd, J = 8,9, 1,5 Hz, 1 H), 7,38 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 3,99 (s, 3 H).

15

Intermedio 18: ácido 7-metoxi-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



Etapa 1: 7-metoxi-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-5-carboxilato de etilo



20

A una mezcla de 7-hidroxi-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-5-carboxilato de etilo (WO2009144554) (100 mg, 0,34 mmol) y carbonato potásico (95,1 mg, 0,68 mmol) en N,N-dimetilformamida (1 ml) se le añadió yoduro de metilo (32 µl, 0,51 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (4 x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron dando el compuesto del título (105 mg, 100 %) en forma de un aceite de color amarillo. +IEP (M+1-THP) 221,2; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,07 - 8,10 (m, 2 H), 7,43 (d, J = 0,98 Hz, 1 H), 6,24 (dd, J = 10,24, 2,44 Hz, 1 H), 4,38 (c, J = 7,15 Hz, 2 H), 4,08 (dt, J = 11,56, 2,02 Hz, 1 H), 4,04 (s, 3 H), 3,70 - 3,78 (m, 1 H), 2,54 - 2,66 (m, 1 H), 2,09 - 2,19 (m, 1 H), 2,01 - 2,08 (m, 1 H), 1,71 - 1,83 (m, 2 H), 1,55 - 1,64 (m, 1 H), 1,41 (t, J = 7,12 Hz, 3 H).

25

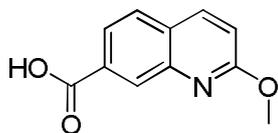
30 Etapa 2: ácido 7-metoxi-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-5-carboxílico

A una solución de 7-metoxi-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-5-carboxilato de etilo (102 mg, 0,33 mmol) en tetrahydrofurano (2 ml) se le añadió hidróxido de litio acuoso 1 N (0,67 ml, 0,67 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. CLEM mostró que la reacción era incompleta. Se añadió hidróxido de litio adicional (0,35 ml, 2 M, 0,7 mmol) y la reacción se calentó a 40 °C durante 1 hora. La reacción se dejó después en agitación a temperatura ambiente durante 70 horas. El tetrahydrofurano se retiró al vacío y el residuo se acidificó a pH = 4 con ácido clorhídrico acuoso 1 N. La solución se extrajo con acetato de etilo (3 x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron dando el compuesto del título (84 mg, 91 %) en forma de un sólido. (M+1-THP) 193,2; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,18 (d, J = 1,37 Hz, 1 H), 8,12 (s, 1 H), 7,46 (d, J = 1,17 Hz, 1 H), 6,26 (dd, J = 10,15, 2,54 Hz, 1 H), 4,07 - 4,12 (m, 1 H), 4,06 (s, 3 H), 3,65 - 3,81 (m, 1 H), 2,54 - 2,72 (m, 1 H), 2,10 - 2,22 (m, 1 H), 2,01 - 2,10 (m, 1 H), 1,71 - 1,85 (m, 2 H), 1,57 - 1,67 (m, 1 H).

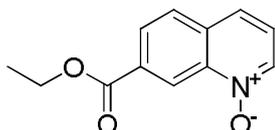
35

40

Intermedio 19: ácido 2-metoxiquinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

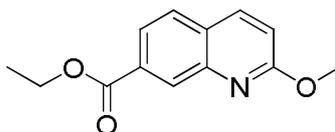


Etapa 1: 1-óxido de 7-(etoxicarbonil)quinolina



- 5 A una solución de quinolin-7-carboxilato de etilo (1,02 g, 5,05 mmol) en diclorometano (20 ml) se le añadió ácido peracético (2,13 ml, 10,1 mmol, 32 % en peso en ácido acético). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se repartió entre agua y diclorometano. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (4 x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron. El sólido se concentró en heptanos y acetato de etilo varias veces, después se secó al vacío dando el compuesto del título (1,01 g, 92 %) en forma de un sólido de color amarillo. +IEP (M+H) 218,2; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 9,40 (s, 1 H), 8,65 (d, J = 6,05 Hz, 1 H), 8,27 (dd, J = 8,58, 1,56 Hz, 1 H), 7,95 (d, J = 8,39 Hz, 1 H), 7,82 (d, J = 8,58 Hz, 1 H), 7,42 (dd, J = 8,49, 6,15 Hz, 1 H), 4,47 (c, J = 7,02 Hz, 2 H), 1,45 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

Etapa 2: 2-metoxiquinolin-7-carboxilato de etilo



- 15 A una solución a 0 °C de 1-óxido de 7-(etoxicarbonil)quinolina (150 mg, 0,69 mmol) y cloruro de tolueno-4-sulfonilo (171 mg, 0,89 mmol) en metanol (5 ml) se le añadió trietilamina (0,19 ml, 1,4 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. CLEM mostró que la reacción estaba incompleta. Se añadió trietilamina adicional (0,05 ml) y la reacción se agitó durante 4 horas más. La reacción se concentró y el residuo se repartió entre acetato de etilo y carbonato sódico acuoso saturado. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo dos veces más con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 0-40 % / heptanos) dio el compuesto del título (130 mg, 81 %) en forma de un sólido de color amarillo pálido. +IEP (M+H) 232,2; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,49 - 8,60 (m, 1 H), 7,95 - 8,05 (m, 2 H), 7,75 (d, J = 8,19 Hz, 1 H), 6,98 (d, J = 8,78 Hz, 1 H), 4,43 (c, J = 7,22 Hz, 2 H), 4,08 (s, 3 H), 1,43 (t, J = 7,12 Hz, 3 H).

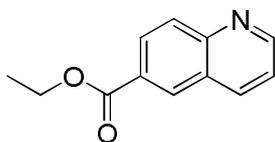
Etapa 3: ácido 2-metoxiquinolin-7-carboxílico

- 30 A una solución de 2-metoxiquinolin-7-carboxilato de etilo (125 mg, 0,54 mmol) en tetrahidrofurano (1,5 ml) se le añadió hidróxido de litio acuoso 2 N (0,81 ml, 1,6 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 65 horas. El tetrahidrofurano se retiró al vacío y el residuo se acidificó a pH = 4 con ácido clorhídrico acuoso 1 N. La mezcla se diluyó con agua y el precipitado resultante se recogió por filtración y se secó al vacío dando el compuesto del título (106 mg, 96 %) en forma de un sólido de color blanco. +IEP (M+H) 204,2; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,64 (d, J = 1,37 Hz, 1 H), 8,01 - 8,04 (m, 1 H), 8,01 (s, 1 H), 7,79 (d, J = 8,58 Hz, 1 H), 7,01 (d, J = 8,78 Hz, 1 H), 4,09 (s, 3 H).

Intermedio 20: ácido 2-(metilamino)quinolin-6-carboxílico, mostrada a continuación, se preparó como sigue:



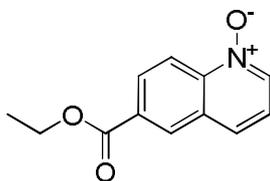
- 35 Etapa 1: quinolin-6-carboxilato de etilo



A una solución de ácido quinolin-6-carboxílico (2,8 g, 16 mmol) en etanol (100 ml) se le añadió ácido sulfúrico concentrado (2 ml). La reacción se calentó a reflujo durante una noche. El disolvente se evaporó dando un residuo

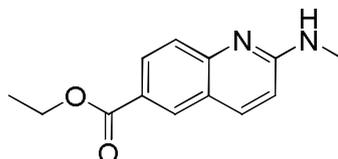
pardo que se recogió en acetato de etilo (150 ml). La mezcla se lavó con agua (2 x 30 ml), bicarbonato sódico acuoso saturado (2 x 30 ml), y salmuera (2 x 30 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró, y se concentró hasta un aceite. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida dio el compuesto del título (2,0 g, 81 %) en forma de un sólido de color pardo.

5 Etapa 2: 1-óxido de 6-(etoxicarbonil)quinolina



10 A quinolin-6-carboxilato de etilo (3,2 g, 16 mmol) en diclorometano (120 ml) se añadió ácido metacloroperoxibenzoico (4,9 g, 0,024 mol) en porciones. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con carbonato sódico acuoso saturado (3 x 30 ml) y salmuera (2 x 40 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró, y se concentró. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida dio el compuesto del título (2,45 g, 71 %) en forma de un sólido de color pardo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,81 - 8,79 (d, 1 H), 8,62 (s, 2 H), 8,35 - 8,33 (d, 1 H), 7,87 - 7,85 (d, 1 H), 7,39 (s, 1 H), 4,49 - 4,44 (c, 2 H), 1,47 - 1,43 (t, 3 H).

Etapa 3: 2-(metilamino)quinolin-6-carboxilato de etilo

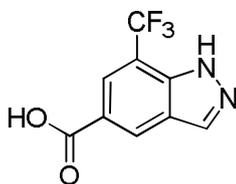


15 Se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (1,92 ml, 11,4 mmol) gota a gota a una solución a -70 °C de 1-óxido de 6-(etoxicarbonil)quinolina (2,25 g, 10,4 mmol) en diclorometano (150 ml). La mezcla se agitó a -70 °C durante 5 minutos. Después, una solución de metilamina en tetrahidrofurano (31 ml, 62 mmol, 2 M) se añadió gota a gota. La mezcla se agitó a -70 °C durante 5 minutos. La reacción se interrumpió con agua (20 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (3 x 30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida dio el compuesto del título (850 mg, 35 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,33 (d, 1 H), 8,16 - 8,13 (m, 1 H), 7,90 - 7,87 (d, 1 H), 7,70 - 7,67 (d, 1 H), 6,68 (d, 1 H), 5,30 (s a, 1 H), 4,43 - 4,38 (c, 2 H), 3,13 - 3,12 (d, 3 H), 1,44 - 1,40 (m, 3 H).

25 Etapa 4: ácido 2-(metilamino)quinolin-6-carboxílico

30 Se añadió hidróxido sódico acuoso (4 ml, 8 mmol, 2 N) a una solución de 2-(metilamino)quinolin-6-carboxilato de etilo (850 mg, 3,7 mmol) en etanol (10 ml). La reacción se calentó a 50 °C durante una noche. El etanol se retiró al vacío y el residuo se acidificó a pH = 5 con ácido clorhídrico acuoso 1 N. El precipitado resultante se recogió por filtración y se secó al vacío dando el compuesto del título (710 mg, 96 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,26 (d, 1 H), 7,96 - 7,93 (m, 2 H), 7,50 (d, 1 H), 7,43 (d, 1 H), 6,81 (d, 1 H), 2,91 (d, 3 H).

Intermedio 21: ácido 7-(trifluorometil)-1H-indazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



Etapa 1: 4-bromo-2-metil-6-(trifluorometil)anilina

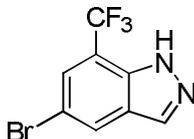


35 A una solución a temperatura ambiente de 2-metil-6-(trifluorometil)anilina (3,0 g, 17 mmol) en acetonitrilo (85 ml) se le añadió N-bromosuccinimida (3,0 g, 17 mmol) en pequeñas porciones durante 30 minutos. La reacción se dejó en agitación durante 1 hora. La reacción se vertió en una mezcla agua / salmuera y se extrajo con acetato de etilo (3 x). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 0-40 % / heptanos) dio el compuesto del

40

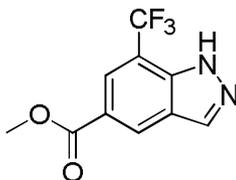
título (4,13 g, 95 %) en forma de un aceite de color pardo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,42 (d, J = 2,34 Hz, 1 H), 7,31 (s, 1 H), 2,17 (s, 3 H).

Etapa 2: 5-bromo-7-(trifluorometil)-1H-indazol



- 5 A una solución de 4-bromo-2-metil-6-(trifluorometil)anilina (3,3 g, 13 mmol) en tolueno (65 ml) y ácido acético glacial (11,2 ml, 195 mmol) se le añadió acetato potásico (10,2 g, 104 mmol) en porciones. Después de 15 minutos se había formado una gran cantidad de precipitado, que impedía la agitación de la reacción. La reacción se diluyó con ácido acético (10 ml). Después se añadió nitrito de isoamilo (1,92 ml, 14,3 mmol) gota a gota y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Se añadió nitrito de isoamilo adicional (0,5 ml, 3,7 mmol) y la reacción se dejó agitar durante 15 horas. La reacción se diluyó con agua (100 ml) y se agitó durante 1,5 horas. La solución se repartió entre acetato de etilo y bicarbonato sódico acuoso saturado. Las fases se separaron y los extractos orgánicos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 5-50 % / heptanos) dio el compuesto del título (1,78 g, 52 %) en forma de un polvo de color amarillo. -IEP (M-H+1) 264,9; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,13 (s, 1 H), 8,09 - 8,11 (m, 1 H), 7,76 (dd, J = 1,66, 0,88 Hz, 1 H).

Etapa 3: 7-(trifluorometil)-1H-indazol-5-carboxilato de metilo

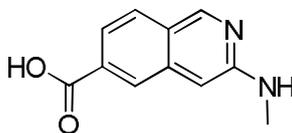


- 20 A un tubo cerrado herméticamente se le añadió [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]-dicloropaladio (II), complejoado con diclorometano (45,7 mg, 0,056 mmol), 5-bromo-7-(trifluorometil)-1H-indazol (100 mg, 0,38 mmol), trietilamina (105 µl, 0,752 mmol) y metanol (2 ml). El tubo se tapó y se burbujeó monóxido de carbono a través del mismo durante 5 minutos. La reacción se calentó después a 70 °C durante 5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se dejó en agitación durante 2 días. La reacción se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 0-50 % / heptanos) dando el compuesto del título (64 mg, 69 %) en forma de un polvo de color blanco. -IEP (M-H) 243,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,72 (s, 1 H), 8,37 (s, 1 H), 8,28 (s, 1 H), 3,98 (s, 3 H).

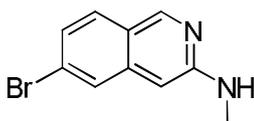
25 Etapa 4: ácido 7-(trifluorometil)-1H-indazol-5-carboxílico

- 30 A una solución de 7-(trifluorometil)-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (62 mg, 0,25 mmol) en metanol (2 ml) y tetrahidrofurano (2 ml) se le añadió hidróxido de litio acuoso 1 N (0,76 ml, 0,76 mmol). La reacción se calentó a 60 °C durante 17 horas. La reacción se concentró y el residuo se diluyó con agua y se acidificó a pH = 3 con ácido clorhídrico acuoso 1 N. La solución se extrajo con diclorometano (3 x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y se concentraron dando el compuesto del título (17 mg, 29 %) en forma de un polvo blanquecino. +IEP (M+H) 231,1.

Intermedio 22: ácido 3-(metilamino)isoquinolin-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



Etapa 1: 6-bromo-N-metilisoquinolin-3-amina



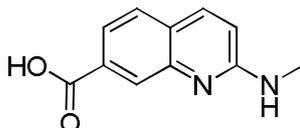
- 35 A una solución de 6-bromoisoquinolin-3-amina (50,0 mg, 2,6 mmol) en N,N-dimetilformamida (10 ml) se le añadió N,N-dimetilformamida dimetilacetal (2 ml). El recipiente de reacción se cerró herméticamente y se calentó en un microondas Biotage Smith Synthesizer a 110 °C durante 20 minutos. Después se añadió triacetoxiborohidruro sódico (59 mg, 0,28 mmol) a la mezcla de reacción. El vial se volvió a sellar y se calentó de nuevo a 110 °C en un microondas Biotage Smith Synthesizer durante 10 minutos. La reacción se concentró. El residuo se disolvió en acetato de etilo (50 ml) y se lavó con salmuera (2 x 20 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida dio el compuesto del título (23 mg, 43 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,76 (s, 1 H), 7,74 (s, 1 H), 7,61

(d, 1 H), 7,28 (d, 1 H), 6,40 (s, 1 H), 5,09 - 5,07 (m, 1 H), 2,97 (s, 3 H).

Etapa 2: ácido 3-(metilamino)isoquinolin-6-carboxílico

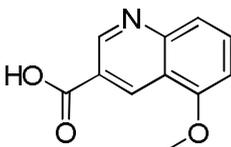
- 5 Se preparó 3-(metilamino)isoquinolin-6-carboxilato de metilo mediante un procedimiento análogo al descrito en la Etapa 3 del Intermedio 21, usando 6-bromo-N-metilisquinolin-3-amina. Al material en bruto (580 mg, 2,7 mmol) se le añadió agua (5 ml), metanol (5 ml), e hidróxido de litio monohidrato (300 mg, 7 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se concentró y el residuo se acidificó a pH = 5 con ácido clorhídrico acuoso 1 N. El residuo resultante se secó al vacío y se purificó por HPLC de fase inversa dando el compuesto del título (512 mg, 89 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,81 (s, 1 H), 8,23 (s, 1 H), 7,80 (d, 1 H), 7,72 (d, 1 H), 6,70 (s, 1 H), 2,93 (s, 3 H).

- 10 Intermedio 23: ácido 2-(metilamino)quinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



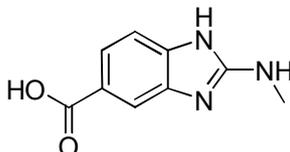
El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito en las Etapas 3 - 4 del Intermedio 20, usando 1-óxido de 7-(etoxicarbonil)quinolina. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,08 (s, 1 H), 7,90 (d, 1 H), 7,71 - 7,62 (m, 2 H), 7,21 (s, 1 H), 6,84 (d, 1 H), 2,91 (d, 3 H).

- 15 Intermedio 24: ácido 5-metoxiquinolin-3-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

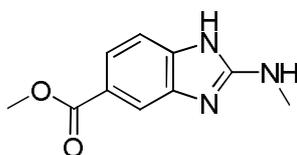


Se saponificó 5-metoxiquinolin-3-carboxilato de metilo (Organic and Biomolecular Chemistry, 7(12), 2612-2618; 2009) usando hidróxido de litio acuoso. +IEP (M+H) 203,9; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 9,30 (d, 1 H), 9,03 (d, 1 H), 7,84 - 7,80 (m, 1 H), 7,66 (d, 1 H), 7,15 (d, 1 H), 4,04 (s, 3 H).

- 20 Intermedio 25: ácido 2-(metilamino)-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



Etapa 1. 2-(metilamino)-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxilato de metilo



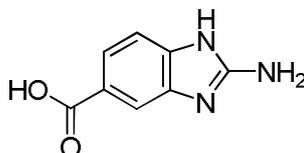
- 25 Una mezcla de ácido 3,4-diaminobenzoico (15 g, 0,09 mol) e isotiocianatometano (6,6 g, 0,09 mol) se disolvió en tetrahidrofurano (90 ml). La reacción se calentó a reflujo durante 3 horas y después se concentró. El residuo se vertió en agua enfriada con hielo. El precipitado resultante se filtró, se lavó con agua, y se secó al vacío dando 4-amino-3-(3-metiloureido)benzoato de metilo (12,0 g, 56 %).

- 30 Al sólido (12 g, 0,05 mol) se le añadió etanol (200 ml), seguido de yoduro de metilo (35,5 g, 0,25 mol). La reacción se calentó a reflujo y se agitó durante una noche. La reacción se concentró y el residuo se basificó con hidróxido de amonio. Los sólidos se recogieron por filtración y se lavaron con agua. La purificación por cromatografía en columna (9-25 % acetato de etilo / éter de petróleo) dio el compuesto del título (2,9 g, 28 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,37 (s, 1 H), 7,92 - 7,96 (m, 1 H), 7,51 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 3,93 (s, 3 H), 2,81 (s, 3 H).

- 35 Etapa 2. ácido 2-(metilamino)-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico

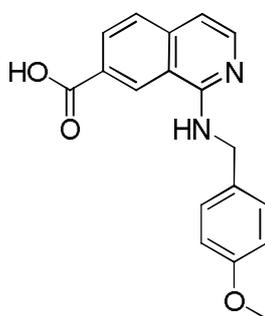
Se añadió ácido clorhídrico acuoso 3 N (14 ml, 42 mmol) a 2-(metilamino)-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxilato de metilo (2,9 g, 14 mmol) y la reacción se agitó a la temperatura de reflujo durante una noche. La reacción se concentró dando el compuesto del título (2,4 g, 90 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 7,96 - 8,00 (m, 2 H), 7,40 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 3,10 (s, 3 H).

Intermedio 26: ácido 2-amino-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

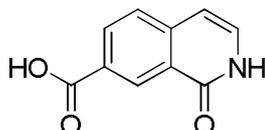


5 Una solución de bromuro de cianógeno (5,0 ml, 5 M en acetonitrilo, 25 mmol) se añadió a una mezcla de 3,4-diaminobenzoato de metilo (3,0 g, 18 mmol) en agua (50 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se añadieron amoníaco acuoso (20 ml) y acetato de etilo (100 ml) a la mezcla de reacción y las fases se separaron. Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron. Al residuo en bruto se le añadió ácido clorhídrico acuoso 2 N (18 ml, 36,0 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante una noche. La reacción se concentró dando el compuesto del título (2,90 g, 97 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,75 (s, 2 H), 7,84 (s, 1 H), 7,77 (dd, J = 1,2, 8,4 Hz, 1 H), 7,38 (d, J = 8,4 Hz, 1 H).

10 Intermedio 27: ácido 1-(4-metoxibencilamino)isoquinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

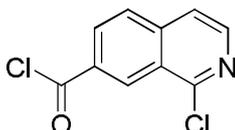


Etapa 1: ácido 1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-7-carboxílico



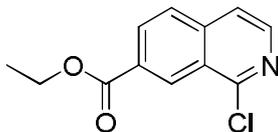
15 A una suspensión de 7-bromoisoquinolin-1(2H)-ona (70 g, 0,31 mol) en N,N-dimetilformamida (1 l) se le añadió cianuro de cobre (56 g, 0,63 mol). La reacción se calentó a 180 °C durante 2 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con agua (1 l). La solución se extrajo con acetato de etilo (3 x). Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron dando 1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-7-carbonitrilo en bruto (37 g). Este material en bruto se recogió en etanol (500 ml) y se añadió hidróxido sódico acuoso 1 N (400 ml). La mezcla se calentó a reflujo y se agitó durante 2 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y el pH se ajustó a ~2 con ácido clorhídrico acuoso 1 N. Los sólidos se recogieron por filtración, se aclararon con agua, y se secaron al vacío dando el compuesto del título (35 g, 85 %) en forma de un sólido de color blanquecino. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,15 (s a, 1 H), 11,49 (s, 1 H), 8,75 (s, 1 H), 8,17 - 8,14 (m, 1 H), 7,75 (d, 1 H), 7,34 - 7,29 (m, 1 H), 6,62 (d, 1 H).

25 Etapa 2: cloruro de 1-cloroisoquinolin-7-carbonilo



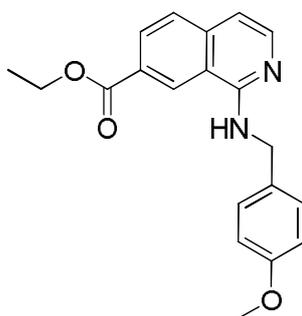
30 Se añadió oxiclورو de fósforo (74 ml, 793 mmol) a ácido 1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-7-carboxílico (3,0 g, 20 mmol). La reacción se calentó a 90 °C durante 5 horas. La reacción se concentró a sequedad. El material se recogió en diclorometano (250 ml) y bicarbonato sódico acuoso saturado (200 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano (100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y se concentraron dando el compuesto del título (3,0 g, 80 %) en forma de un sólido de color amarillo. +IEP (M+H) 227,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 9,18 - 9,22 (m, 1 H), 8,44 (d, J = 5,7 Hz, 1 H), 8,32 (dd, J = 8,8, 1,8 Hz, 1 H), 7,95 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 7,68 (d, J = 5,7 Hz, 1 H).

Etapa 3: 1-cloroisoquinolin-7-carboxilato de etilo



Se disolvió cloruro de 1-cloroisoquinolin-7-carbonilo (3,02 g, 13,4 mmol) en tetrahidrofurano (135 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadieron etanol (6,1 ml, 94 mmol) y trietilamina (2,05 ml, 14,7 mmol). La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (500 ml) y bicarbonato sódico acuoso saturado (250 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, y se concentró dando el compuesto del título (3,0 g, 96 %) en forma de un sólido de color amarillo. +IEP (M+H) 236,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 9,06 (s, 1 H), 8,30 - 8,39 (m, 2 H), 7,89 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 7,63 (d, J = 5,7 Hz, 1 H), 4,48 (c, J = 7,1 Hz, 2 H), 1,46 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

10 Etapa 4: 1-(4-metoxibencilamino)isoquinolin-7-carboxilato de etilo

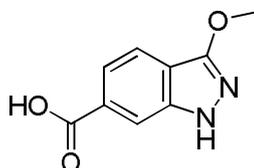


A una solución de 1-cloroisoquinolin-7-carboxilato de etilo (548 mg, 2,32 mmol) en N,N-dimetilformamida (9,3 ml) se le añadió 4-metoxi-bencilamina (4,6 ml, 35 mmol) y carbonato potásico (5,14 g, 37,2 mmol). La reacción se calentó a 70 °C y se agitó durante una noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (0-35 % acetato de etilo / heptanos) dio el compuesto del título (430 mg, 55 %) en forma de un aceite verdoso. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,49 (s, 1 H), 8,16 (dd, J = 8,6, 1,6 Hz, 1 H), 8,09 (d, J = 5,9 Hz, 1 H), 7,69 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 7,33 - 7,40 (m, 2 H), 6,96 (d, J = 5,9 Hz, 1 H), 6,87 - 6,93 (m, 2 H), 5,67 (s a, 1 H), 4,76 (d, J = 5,1 Hz, 2 H), 4,41 (c, J = 7,2 Hz, 2 H), 3,81 (s, 3 H), 1,37 - 1,43 (m, 3 H).

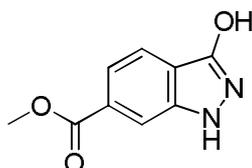
Etapa 5: ácido 1-(4-metoxibencilamino)isoquinolin-7-carboxílico

A una solución de 1-(4-metoxibencilamino)isoquinolin-7-carboxilato de etilo (430 mg, 1,28 mmol) en metanol (8,5 ml) se le añadió hidróxido sódico acuoso 6 N (1,1 ml, 6,4 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se concentró. El residuo se recogió en agua y se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 1 N hasta que se formó un precipitado. El sólido se recogió por filtración y se secó al vacío dando el compuesto del título (328 mg, 83 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,92 (s, 1 H), 8,30 (t, J = 5,8 Hz, 1 H), 8,06 (dd, J = 8,4, 1,4 Hz, 1 H), 7,88 (d, J = 5,7 Hz, 1 H), 7,69 (d, J = 8,6 Hz, 1 H), 7,24 - 7,31 (m, 2 H), 6,88 (d, J = 5,7 Hz, 1 H), 6,79 - 6,85 (m, 2 H), 4,62 (d, J = 5,9 Hz, 2 H), 3,67 (s, 3 H).

Intermedio 28: ácido 3-metoxi-1H-indazol-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



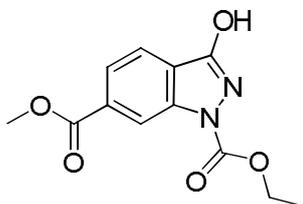
Etapa 1: 3-hidroxi-1H-indazol-6-carboxilato de metilo



Se suspendió ácido 3-oxo-2,3-dihidro-1H-indazol-6-carboxílico (1,5 g, 8,4 mmol) en metanol (17 ml). Se añadió ácido clorhídrico concentrado (3,1 ml, 101 mmol) y la reacción se calentó a reflujo durante 24 horas. La reacción se concentró dando el compuesto del título (1,6 g, 100 %). +IEP (M+H) 193,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 11,98

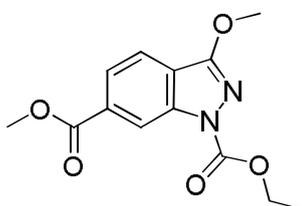
(s, 1 H), 7,89 (s, 1 H), 7,72 (d, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 7,50 (dd, $J = 8,5, 1,3$ Hz, 1 H), 3,85 (s, 3 H).

Etapa 2: 3-hidroxi-1H-indazol-1,6-dicarboxilato de 1-etilo 6-metilo



5 Se suspendió 3-hidroxi-1H-indazol-6-carboxilato de metilo (1,6 g, 8,3 mmol) se suspendió en piridina (10 ml). Se añadió lentamente cloroformiato de etilo (1,0 ml, 10 mmol) y la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. La reacción se vertió en agua (65 ml) y se enfrió en un frigorífico durante 4 horas. El precipitado de color pardo resultante se recogió por filtración, se aclaró con agua y se secó al vacío dando el compuesto del título (1,35 g, 61 %) en forma de un sólido de color beige. +IEP (M+H) 265,0; RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8,80 (d, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 8,01 (dd, $J = 8,2, 1,2$ Hz, 1 H), 7,88 (d, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 4,60 (c, $J = 7,0$ Hz, 2 H), 3,98 (s, 3 H), 1,57 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H).

Etapa 3: 3-metoxi-1H-indazol-1,6-dicarboxilato de 1-etilo 6-metilo



15 Se suspendió 3-hidroxi-1H-indazol-1,6-dicarboxilato de 1-etilo 6-metilo (1,35 g, 5,11 mmol) en acetona (65 ml). Se añadieron carbonato de cesio (1,75 g, 5,36 mmol) y yoduro de metilo (1,0 ml, 15 mmol) y la reacción se calentó a reflujo durante 23 horas. La reacción se concentró a sequedad. El residuo se recogió en diclorometano (100 ml) y agua (100 ml). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo de nuevo con diclorometano. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida dio dos productos regioisoméricos.

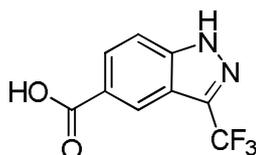
20 3-metoxi-1H-indazol-1,6-dicarboxilato de 1-etilo 6-metilo (444 mg, 31 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8,78 (s, 1 H), 7,96 (dd, $J = 8,2, 1,4$ Hz, 1 H), 7,70 (dd, $J = 8,2, 0,8$ Hz, 1 H), 4,57 (c, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 4,19 (s, 3 H), 3,96 (s, 3 H), 1,51 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H).

2-metil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-indazol-1,6-dicarboxilato de 1-etilo 6-metilo (514 mg, 36 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 , δ): 8,56 (s, 1 H), 8,00 (m, 1 H), 7,92 (d, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 4,49 (c, $J = 7,2$ Hz, 2 H), 3,97 (s, 3 H), 3,69 (s, 3 H), 1,49 (t, $J = 7,1$ Hz, 3 H).

25 Etapa 4: ácido 3-metoxi-1H-indazol-6-carboxílico

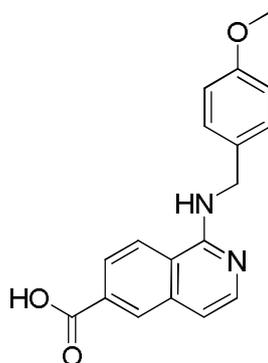
30 Se suspendió 3-metoxi-1H-indazol-1,6-dicarboxilato de 1-etilo 6-metilo (444 mg, 1,60 mmol) en etanol (5 ml). Se añadió una solución acuosa de hidróxido potásico (16 ml, 16 mmol, 1 M) y la reacción se calentó a 65 °C y se agitó durante 1,5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se recogió en agua y la solución se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 1 N hasta que se formó un precipitado. El sólido se recogió por filtración, se aclaró con agua y se secó al vacío dando el compuesto del título (232 mg, 76 %) en forma de un sólido de color naranja. +IEP (M+H) 193,2; RMN ^1H (400 MHz, DMSO-d_6 , δ): 12,22 (s, 1 H), 7,90 - 7,94 (m, 1 H), 7,64 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,53 (dd, $J = 8,4, 1,4$ Hz, 1 H), 3,99 (s, 3 H).

Intermedio 29: ácido 3-(trifluorometil)-1H-indazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

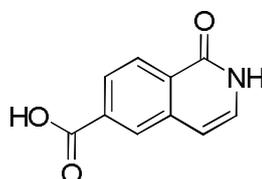


35 El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en las Etapas 3-4 del Intermedio 21, usando 5-bromo-3-(trifluorometil)-1H-indazol. +IEP (M+H) 231,1.

Intermedio 30: ácido 1-(4-metoxibencilamino)isoquinolin-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



Etapa 1: ácido 1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-carboxílico

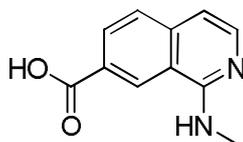


5 Una mezcla de 6-bromoisoquinolin-1(2H)-ona (30 g, 0,134 mol), trietilamina (17,6 g, 0,174 mol), cloruro de paladio (II) (0,24 g, 1,34 mmol) y 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftil (0,84 g, 1,34 mmol) en metanol (300 ml) se presurizó con 2 MPa de monóxido de carbono. La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante 12 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite y se concentró. El residuo se lavó con agua y el sólido se secó al vacío dando 1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-carboxilato metilo en bruto (23,8 g, 95,2 %) en forma de un sólido de color amarillo. El sólido se diluyó con tetrahidrofurano (200 ml) y agua (200 ml). A esta mezcla se le añadió hidróxido de litio (16,8 g, 0,4 mol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se lavó con acetato de etilo (3 x) y estos lavados se descartaron. La fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 4 N a pH = 5. El precipitado resultante se recogió por filtración y se secó al vacío dando el compuesto del título (11,3 g, 49 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 11,48 (s, 1 H), 8,24 (d, 2 H), 7,93 (d, 1 H), 7,22 (d, 1 H), 6,68 (d, 1 H).

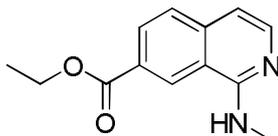
Etapa 2: ácido 1-(4-metoxibencilamino)isoquinolin-6-carboxílico

20 El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en las Etapas 2-5 del Intermedio 27, usando ácido 1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-6-carboxílico. +IEP (M+H) 309,2; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,37 (d, J = 1,56 Hz, 1 H), 8,34 (d, J = 8,78 Hz, 1 H), 8,12 (dd, J = 8,68, 1,66 Hz, 1 H), 7,67 (d, J = 6,44 Hz, 1 H), 7,29 - 7,36 (m, 2 H), 7,15 (d, J = 6,24 Hz, 1 H), 6,86 - 6,93 (m, 2 H), 4,73 (s, 2 H), 3,76 (s, 3 H).

Intermedio 31: ácido 1-(metilamino)isoquinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



Etapa 1: 1-(metilamino)isoquinolin-7-carboxilato de etilo



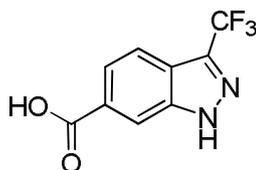
25 Una solución de metilamina en tetrahidrofurano (30 ml, 60 mmol, 2 M) se añadió a 1-cloroisoquinolin-7-carboxilato de etilo (formado en la Etapa 3 del Intermedio 27) (705 mg, 2,99 mmol) en un tubo cerrado herméticamente. La reacción se calentó a 60 °C y se agitó durante una noche. CLEM indicó que la reacción no estaba completa. Se añadió más metilamina (10 ml, 20 mmol, 2 M en THF) se añadió y la reacción se calentó a 60 °C durante 18 horas más. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se repartió entre agua y diclorometano. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 25-65 %/heptanos) dio el compuesto del título (584 mg, 85 %) en forma de un aceite de color amarillo que solidificó después de un periodo de reposo. +IEP (M+H) 231,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,83 - 8,94 (m, 1 H), 8,07 (dd, J = 8,58, 1,56 Hz, 1 H), 7,99 (d, J = 5,85 Hz, 1 H), 7,89 (d, J = 4,49 Hz, 1 H), 7,77 (d, J = 8,58 Hz, 1 H), 6,92 (d, J = 5,07 Hz, 1 H), 4,38 (c, J = 7,02 Hz, 2 H), 2,97 (d, J = 4,49 Hz, 3 H), 1,38 (t, J = 7,12

Hz, 3 H).

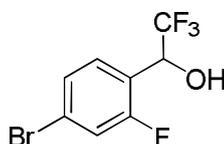
Etapa 2: Ácido 1-(metilamino)isoquinolin-7-carboxílico

El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en la Etapa 3 del Intermedio 19, usando 1-(metilamino)isoquinolin-7-carboxilato de etilo. +IEP (M+H) 203,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,03 (s a, 1 H), 8,87 (s, 1 H), 8,06 (dd, J = 8,51, 1,47 Hz, 1 H), 7,97 (d, J = 5,67 Hz, 1 H), 7,85 (d, J = 4,50 Hz, 1 H), 7,75 (d, J = 8,41 Hz, 1 H), 6,91 (d, J = 5,87 Hz, 1 H), 2,95 (d, J = 4,50 Hz, 3 H).

Intermedio 32: ácido 3-(trifluorometil)-1H-indazol-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

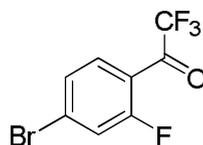


Etapa 1: 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2,2,2-trifluoroetanol



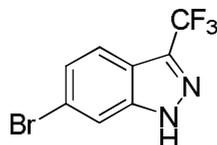
A una solución a 0 °C de 4-bromo-2-fluorobenzaldehído (1,00 g, 4,93 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) se le añadió gota a gota trimetilsilil trifluorometano (0,77 ml, 4,9 mmol) durante 5 minutos. La reacción se agitó a 0 °C durante 10 minutos. Después, se añadió lentamente fluoruro de tetrabutilamonio (0,49 ml, 0,49 mmol, 1 M en tetrahidrofurano) y la reacción se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante 3 días. La reacción se concentró y el residuo se recogió en diclorometano. La solución se lavó una vez con ácido clorhídrico acuoso 1 N y una vez con salmuera. Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna (acetato de etilo al 0-50 %/heptanos) dio el compuesto del título (1,0 g, 75 %) en forma de un aceite transparente. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,48 (d, J = 7,61 Hz, 1 H), 7,39 (d, J = 1,76 Hz, 1 H), 7,29 (dd, J = 9,56, 1,95 Hz, 1 H), 5,33 - 5,40 (m, 1 H), 2,70 (d, J = 5,46 Hz, 1 H).

Etapa 2: 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2,2,2-trifluoroetanova



A una solución de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2,2,2-trifluoroetanol (1,09 g, 3,99 mmol) en acetato de etilo (30 ml) se le añadió ácido 2-yodoxibenzoico (2,28 g, 7,97 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante una noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con heptanos (30 ml). La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró dando el compuesto del título (1,03 g, 95 %) en forma de un aceite de color amarillo pálido. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,44 (dd, J = 10,15, 1,56 Hz, 1 H), 7,48 (m, 1 H), 7,76 (m, 1 H).

Etapa 3: 6-bromo-3-(trifluorometil)-1H-indazol



Se añadió hidrazina hidrato (3,5 ml, 45 mmol) a una solución de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2,2,2-trifluoroetanova (1,00 g, 3,69 mmol) en 1-butanol (15 ml). La reacción se calentó a reflujo durante 5 horas, después se enfrió a temperatura ambiente y se dejó en agitación durante una noche. La reacción se diluyó con agua (50 ml) y se extrajo con acetato de etilo (3 x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 0-50 %/heptanos) dio el compuesto del título (310 mg, 32 %) en forma de un sólido de color blanquecino. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 7,42 (dd, J = 8,58, 1,56 Hz, 1 H), 7,72 (d, J = 8,58 Hz, 1 H), 7,75 (dd, J = 1,56, 0,78 Hz, 1 H).

Etapa 4: ácido 3-(trifluorometil)-1H-indazol-6-carboxílico

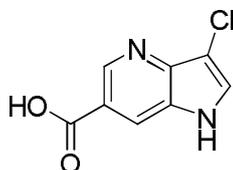
El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en las Etapas 3-4 del Intermedio 21, usando 6-bromo-3-(trifluorometil)-1H-indazol. -IEP (M-H) 229,1.

Intermedio 33: ácido 2-metil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-indazol-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

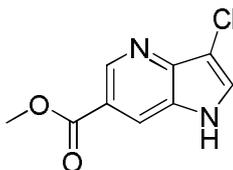


5 A una suspensión de 2-metil-3-oxo-2,3-dihidro-1H-indazol-1,6-dicarboxilato de 1-etilo 6-metilo (formado en la Etapa 3 del Intermedio 28) (514 mg, 1,85 mmol) en etanol (6 ml) se le añadió hidróxido potásico acuoso 1 N (18,5 ml, 18,5 mmol). La reacción se calentó a 65 °C durante 1,5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a sequedad. El residuo se recogió en agua y se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 1 N hasta que se formó un precipitado. El sólido se recogió por filtración y se secó al vacío dando el compuesto del título (196 mg, 55 %) en forma de un sólido de color pardo. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,12 (s a, 1 H), 10,61 (s a, 1 H), 7,76 (s, 1 H), 7,70 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,60 (dd, J = 8,2, 1,2 Hz, 1 H), 3,38 (s, 3 H).

Intermedio 34: ácido 3-cloro-1H-pirrolol[3,2-b]piridin-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



Etapa 1: 3-cloro-1H-pirrolol[3,2-b]piridin-6-carboxilato de metilo

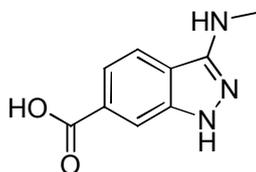


15 A una solución a 0 °C de 1H-pirrolol[3,2-b]piridin-6-carboxilato de metilo (1,00 g, 5,68 mmol) en N,N-dimetilformamida (15 ml) se le añadió N-clorosuccinimida (895 mg, 5,96 mmol). La reacción se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La reacción se diluyó con agua (125 ml) y se agitó durante 20 minutos. El sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó al vacío dando el compuesto del título (1,11 g, 93 %) en forma de un polvo de color naranja. +IEP (M+H) 211,0; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 11,99 (s a, 1 H), 8,92 (d, J = 2,0 Hz, 1 H), 8,31 (d, J = 1,8 Hz, 1 H), 8,08 (d, J = 3,1 Hz, 1 H), 3,88 (s, 3 H).

Etapa 2: ácido 3-cloro-1H-pirrolol[3,2-b]piridin-6-carboxílico

25 Se suspendió 3-cloro-1H-pirrolol[3,2-b]piridin-6-carboxilato de metilo (1,10 g, 5,22 mmol) en 1,4-dioxano (25 ml) y se añadió ácido clorhídrico acuoso 6 N (8,7 ml). La reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. Después, la reacción se concentró dando el compuesto del título (1,2 g, 100 %). +IEP (M+H) 197,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 12,50 (s a, 1 H), 8,92 (d, J = 1,6 Hz, 1 H), 8,46 (s a, 1 H), 8,19 (s a, 1 H).

Intermedio 35: ácido 3-(metilamino)-1H-indazol-6-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



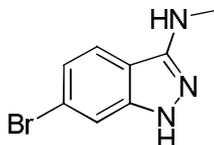
Etapa 1: 4-bromo-2-fluoro-N-metilbenzotioamida



30 Una mezcla de 4-bromo-2-fluoro-N-metilbenzotioamida (500 mg, 2 mmol) y reactivo Lawesson (872 mg, 2,16 mmol) en tolueno (10 ml) se calentó a 100 °C y se agitó durante 4 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con tolueno y se filtró. El filtrado se concentró y la purificación del residuo por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 0-20 %/heptanos) dio el compuesto del título (520 mg, 97 %) en forma de un sólido

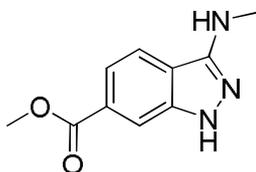
de color amarillo. +IEP (M+H+1) 250,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,09 (t, *J* = 8,58 Hz, 1 H), 8,03 (s a, 1 H), 7,35 (dd, *J* = 8,19, 2,15 Hz, 1 H), 7,27 (dd, *J* = 11,41, 1,85 Hz, 1 H), 3,36 (dd, *J* = 4,88, 0,78 Hz, 3 H).

Etapa 2: 6-bromo-N-metil-1H-indazol-3-amina



- 5 Se añadió hidrazina anhidra (0,25 ml, 8,1 mmol) a una solución de 4-bromo-2-fluoro-N-metilbenzotioamida (200 mg, 0,8 mmol) en dimetilsulfóxido (2,5 ml). La reacción se calentó a 100 °C y se agitó durante 2 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (3 x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con carbonato sódico acuoso saturado y salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. La purificación por
- 10 cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 20-100 %/heptanos) dio el compuesto del título (98 mg, 54 %) en forma de un sólido de color blanco. +IEP (M+H+1) 228,0; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 7,52 (d, *J* = 8,58 Hz, 1 H), 7,43 (s, 1 H), 7,04 (d, *J* = 8,39 Hz, 1 H), 2,94 (s, 3 H).

Etapa 3: 3-(metilamino)-1H-indazol-6-carboxilato de metilo

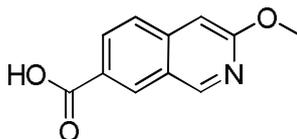


- 15 El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en la Etapa 2 del Intermedio 12, usando 6-bromo-N-metil-1H-indazol-3-amina. +IEP (M+H) 206,2; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 7,95 (t, *J* = 1,17 Hz, 1 H), 7,67 (dd, *J* = 8,39, 0,78 Hz, 1 H), 7,55 (dd, *J* = 8,49, 1,27 Hz, 1 H), 3,90 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H).

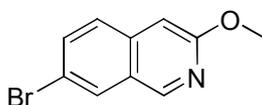
Etapa 4: ácido 3-(metilamino)-1H-indazol-6-carboxílico

- 20 A una solución de 3-(metilamino)-1H-indazol-6-carboxilato de metilo (30,0 mg, 0,15 mmol) en 1,4-dioxano (0,2 ml) se le añadió ácido clorhídrico acuoso 3 N (0,2 ml, 0,6 mmol). La mezcla se calentó a 100 °C durante 2 horas. La reacción se concentró y se secó al vacío dando el compuesto del título (33 mg, 99 %) en forma de un sólido de color castaño claro. +IEP (M+H) 192,1; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,09 (s, 1 H), 7,98 (dd, *J* = 8,58, 0,78 Hz, 1 H), 7,85 (dd, *J* = 8,58, 1,37 Hz, 1 H), 3,12 (s, 3 H).

Intermedio 36: ácido 3-metoxiisquinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



- 25 Etapa 1: 7-bromo-3-metoxiisquinolina

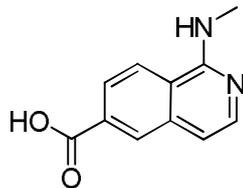


- 30 Una mezcla de 7-bromo-3-cloroisquinolina (100 mg, 0,4 mmol) y metóxido sódico (113 mg, 2,1 mmol) en diglima (1 ml) se calentó a 150 °C durante 1 hora. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con tolueno y agua. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con tolueno (3 x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron hasta un aceite. El aceite se secó al vacío durante una noche dando el compuesto del título (83 mg, 85 %) en forma de un sólido de color amarillo. +IEP (M+H+1) 240,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,87 (s, 1 H), 8,01 - 8,05 (m, 1 H), 7,58 - 7,64 (m, 1 H), 7,53 - 7,58 (m, 1 H), 6,97 (s, 1 H), 4,02 (s, 3 H).

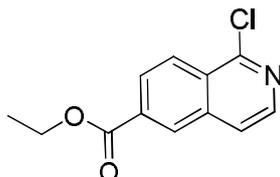
- 35 Etapa 2: ácido 3-metoxiisquinolin-7-carboxílico

El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en las Etapas 3-4 del Intermedio 21, usando 7-bromo-3-metoxiisquinolina. +IEP (M+H) 204,2; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 9,08 (s, 1 H), 8,71 (s, 1 H), 8,14 (dd, *J* = 8,78, 1,56 Hz, 1 H), 7,83 (d, *J* = 8,78 Hz, 1 H), 7,17 (s, 1 H), 4,02 (s, 3 H).

Intermedio 37: ácido 1-(metilamino)isoquinolin-6-carboxílico, mostrada a continuación, se preparó como sigue:

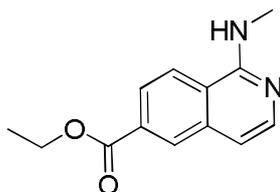


Etapas 1: 1-cloroisoquinolin-6-carboxilato de etilo



- 5 El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en las Etapas 1-3 de Intermedio 27, usando 6-bromoisoquinolin-1(2H)-ona. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,56 (d, J = 1,6 Hz, 1 H), 8,38 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 8,34 (d, J = 5,7 Hz, 1 H), 8,25 (dd, J = 8,8, 1,6 Hz, 1 H), 7,70 (d, J = 6,0 Hz, 1 H), 4,47 (c, J = 7,0 Hz, 2 H), 1,45 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

Etapas 2: 1-(metilamino)isoquinolin-6-carboxilato de etilo

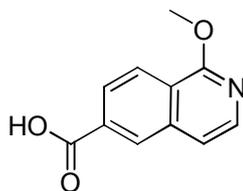


- 10 El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en la Etapa 1 de Intermedio 31, usando 1-cloroisoquinolin-6-carboxilato de etilo. +IEP (M+H) 231,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,39 (s, 1 H), 8,06 - 8,14 (m, 2 H), 8,00 (d, J = 5,9 Hz, 1 H), 7,02 (d, J = 6,0 Hz, 1 H), 4,44 (c, J = 7,3 Hz, 2 H), 3,25 (d, J = 4,7 Hz, 3 H), 1,43 (t, J = 7,1 Hz, 3 H).

15 Etapas 3: ácido 1-(metilamino)isoquinolin-6-carboxílico

- A una suspensión de 1-(metilamino)isoquinolin-6-carboxilato etilo (150 mg, 0,65 mmol) en etanol (2,5 ml) se le añadió hidróxido potásico acuoso 1 N (6,5 ml, 6,5 mmol). La reacción se calentó a 65 °C durante 1,5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a sequedad. El sólido se disolvió en agua y la solución se acidificó con HCl 1 N. La mezcla se concentró. El sólido se disolvió en agua (50 ml) y se extrajo dos veces con 2-butanol (50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (20 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron dando el compuesto del título (95 mg, 72 %) en forma de un sólido de color blanco. +IEP (M+H) 203,2; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,07 (s a, 1 H), 10,25 (d, J = 4,9 Hz, 1 H), 8,74 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 8,51 (s, 1 H), 8,15 (dd, J = 8,6, 1,8 Hz, 1 H), 7,67 (d, J = 6,8 Hz, 1 H), 7,35 (d, J = 7,0 Hz, 1 H), 3,15 (d, J = 4,7 Hz, 3 H).

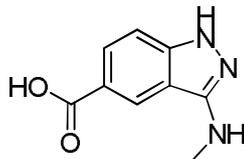
25 Intermedio 38: ácido 1-metoxiisoquinolin-6-carboxílico



- Una solución de metóxido sódico se preparó añadiendo lentamente con agitación metal de sodio (870 mg, 37 mmol) a metanol (25 ml). Después de que todo el metal de sodio hubiera reaccionado, esta solución se añadió a 1-cloroisoquinolin-6-carboxilato de etilo (440 mg, 1,9 mmol). La suspensión resultante se calentó a reflujo y se agitó durante 3 días. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. El residuo se repartió entre agua y acetato de etilo. Las fases se separaron y la fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 1 N hasta que se formó un precipitado. El sólido se recogió por filtración y se secó al vacío dando el compuesto del título (294 mg, 78 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,50 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 8,23 (d, J = 8,8 Hz, 1 H), 8,02 - 8,10 (m, 2 H), 7,54 (d, J = 6,0 Hz, 1 H), 4,05 (s, 3 H).

35

Intermedio 39: ácido 3-(metilamino)-1H-indazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



Etapa 1: 5-bromo-2-fluoro-N-metilbenzamida



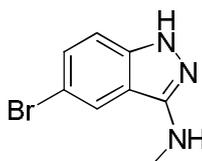
5 A una mezcla de ácido 5-bromo-2-fluorobenzoico (200 mg, 0,91 mmol) en diclorometano (5 ml) se le añadió cloruro de oxalilo (0,16 ml, 1,8 mmol), seguido de 1 gota de N,N-dimetilformamida. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. La reacción se concentró y el residuo resultante se disolvió en diclorometano (3 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió metilamina (2,3 ml, 5 mmol, 2 M en tetrahidrofurano) y la reacción se dejó en agitación a 0 °C durante 30 minutos. La reacción se interrumpió con agua y la mezcla se concentró. El residuo se diluyó con agua y los sólidos resultantes se filtraron, se aclararon con agua y se secaron al vacío dando el compuesto del título (196,6 mg, 93 %) en forma de un sólido de color blanco. +IEP (M+H+1) 234,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,22 (dd, J = 6,83, 2,73 Hz, 1 H), 7,55 (ddd, J = 8,68, 4,49, 2,63 Hz, 1 H), 7,00 (dd, J = 11,32, 8,58 Hz, 1 H), 6,67 (s a, 1 H), 3,02 (dd, J = 4,88, 1,17 Hz, 3 H).

Etapa 2: 5-bromo-2-fluoro-N-metilbenzotioamida



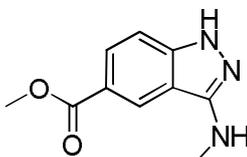
15 Una mezcla de 5-bromo-2-fluoro-N-metilbenzamida (500 mg, 2 mmol) y reactivo de Lawesson (872 mg, 2,16 mmol) en tolueno (10 ml) se calentó a 100 °C y se agitó durante 3,5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con tolueno y se filtró. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo 0-20 %/heptanos) dando el compuesto del título (494 mg, 92 %) en forma de un aceite de color amarillo que solidificó después de un periodo de reposo. +IEP (M+H+1) 250,1; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,20 (dd, J = 6,93, 2,63 Hz, 1 H), 8,06 (s a, 1 H), 7,47 (ddd, J = 8,73, 4,44, 2,63 Hz, 1 H), 6,95 (dd, J = 11,12, 8,78 Hz, 1 H), 3,32 (dd, J = 4,88, 0,78 Hz, 3 H).

Etapa 3: 5-bromo-N-metil-1H-indazol-3-amina



25 Una mezcla de 5-bromo-2-fluoro-N-metilbenzotioamida (480 mg, 1,9 mmol) y hidrazina anhidra (0,61 ml, 19 mmol) en dimetilsulfóxido (6 ml) se calentó a 80 °C y se agitó durante 1 hora. La temperatura se aumentó a 100 °C y la reacción se agitó durante 40 minutos. La temperatura se aumentó de nuevo a 130 °C y la reacción se agitó durante 45 minutos más. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo y salmuera. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (4 x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 20-70 %/heptanos) dio el compuesto del título (103 mg, 23 %) en forma de un sólido de color blanco. +IEP (M+H+1) 228,0; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 7,78 (dd, J = 1,85, 0,68 Hz, 1 H), 7,29 - 7,40 (m, 1 H), 7,17 (dd, J = 8,88, 0,68 Hz, 1 H), 2,94 (s, 3 H).

Etapa 4: 3-(metilamino)-1H-indazol-5-carboxilato de metilo



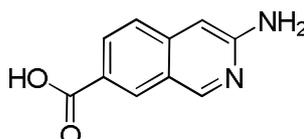
35

El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en la Etapa 3 del Intermedio 21, usando 5-bromo-N-metil-1H-indazol-3-amina. +IEP (M+H) 206,2; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,44 (dd, J = 1,56, 0,78 Hz, 1 H), 7,92 (dd, J = 8,78, 1,56 Hz, 1 H), 7,26 (dd, J = 8,78, 0,78 Hz, 1 H), 3,88 (s, 3 H), 2,96 (s, 3 H).

Etapa 5: ácido 3-(metilamino)-1H-indazol-5-carboxílico

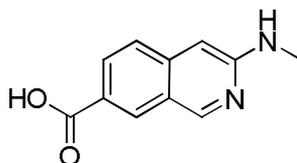
- 5 Se disolvió 3-(metilamino)-1H-indazol-5-carboxilato de metilo (60,0 mg, 0,29 mmol) en 1,4-dioxano (0,5 ml). Se añadió ácido clorhídrico acuoso 3 N (0,3 ml, 0,9 mmol) y la reacción se calentó a 100 °C durante 11,5 horas. El calor se retiró y la reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se concentró dando el compuesto del título (63 mg, 95 %) en forma de un sólido de color castaño claro. +IEP (M+H) 192,1; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,61 (d, J = 0,78 Hz, 1 H), 8,19 (dd, J = 8,80, 1,57 Hz, 1 H), 7,38 (d, J = 8,80 Hz, 1 H), 3,02 (s, 3 H).

Intermedio 40: ácido 3-aminoisoquinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:

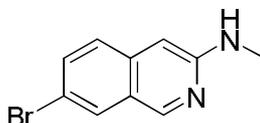


- 15 El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en las Etapas 3-4 del Intermedio 21, usando 7-bromoisoquinolin-3-amina. +IEP (M+H) 189,2; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,87 (s, 1 H), 8,52 (d, J = 0,78 Hz, 1 H), 7,98 (dd, J = 8,78, 1,76 Hz, 1 H), 7,54 (d, J = 8,78 Hz, 1 H), 6,77 (s, 1 H).

Intermedio 41: ácido 3-(metilamino)isoquinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



Etapa 1: 7-bromo-N-metilisoquinolin-3-amina

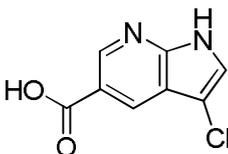


- 20 Una mezcla de 7-bromo-3-cloroisoquinolina (100 mg, 0,4 mmol), clorhidrato de metilamina (139 mg, 2,06 mmol) y carbonato potásico (456 mg, 3,30 mmol) en 1-metoxi-2-(2-metoxietoxi)etano (1 ml) se calentó a 150 °C y se agitó durante 60 horas. Se añadieron más clorhidrato metilamina (100 mg, 1,5 mmol) y carbonato potásico (200 mg, 1,4 mmol) y se continuó calentando durante 40 horas más. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con agua. La mezcla se agitó durante 30 minutos. El sólido resultante se retiró por filtración, se aclaró con agua y se secó al vacío. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (acetato de etilo al 10-30 %/heptanos) dio el compuesto del título (82 mg) en forma de un sólido de color amarillo pálido. -IQPA (M-H+1) 237,8; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,70 (s, 1 H), 7,84 (d, J = 1,95 Hz, 1 H), 7,48 (dd, J = 8,97, 2,15 Hz, 1 H), 7,38 (d, J = 8,97 Hz, 1 H), 6,39 (s, 1 H), 2,92 (s, 3 H).

Etapa 2: ácido 3-(metilamino)isoquinolin-7-carboxílico

- 30 El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en las Etapas 3-4 del Intermedio 21, usando 7-bromo-N-metilisoquinolin-3-amina. +IEP (M+H) 203,1; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 8,87 (s, 1 H), 8,51 (s, 1 H), 7,98 (dd, J = 8,88, 1,66 Hz, 1 H), 7,58 (d, J = 8,78 Hz, 1 H), 6,60 (s, 1 H), 2,93 (s, 3 H).

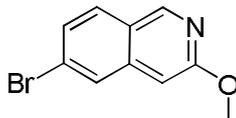
Intermedio 42: ácido 3-cloro-1H-pirrolo[2,3-b]piridin-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



- 35 Una suspensión de ácido 1H-pirrolo[2,3-b]piridin-5-carboxílico (250 mg, 1,5 mmol) en N,N-dimetilformamida (5 ml) se calentó a 40 °C. Se añadió N-clorosuccinimida (243 mg, 1,62 mmol) y la mezcla se agitó a 55 °C durante 5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se dejó en agitación durante 2 días. La mezcla se diluyó con agua (20 ml) y se agitó durante una noche. El sólido resultante se recogió por filtración y se secó dando el compuesto del título (161 mg, 55 %). +IEP (M+H) 197,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,08 (s, 1 H), 12,39 (s, 1 H), 8,86 (d, J = 1,8 Hz, 1 H), 8,40 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 7,84 (d, J = 2,5 Hz, 1 H).

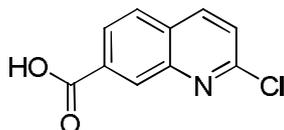
40

Intermedio 43: 6-bromo-3-metoxiisquinolina, mostrada a continuación, se preparó como sigue:



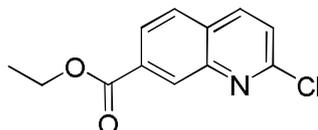
5 Una mezcla de 6-bromoisquinolin-3-ol (606 mg, 2,70 mmol), carbonato de plata (1,5 g, 5,3 mmol) y N,N-dimetilformamida (12 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 16 minutos. Se añadió yoduro de metilo (186 μ l, 2,97 mmol) y la reacción se dejó en agitación durante 18 horas. La reacción se diluyó con metanol y se filtró a través de Celite. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida dando el compuesto del título (90 mg, 14 %). +IEP (M+H⁺) 240,0; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,91 (s, 1 H), 7,86 (d, *J* = 1,8 Hz, 1 H), 7,73 (d, *J* = 8,8 Hz, 1 H), 7,43 (dd, *J* = 8,8, 1,8 Hz, 1 H), 6,90 (s, 1 H), 4,02 (s, 3 H).

Intermedio 44: ácido 2-cloroquinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



10

Etapa 1: 2-cloroquinolin-7-carboxilato de etilo



15

20

Se añadió oxiclورو de fósforo (1,94 ml, 20,7 mmol) a una solución de 1-óxido de 7-(etoxicarbonil)quinolina (450 mg, 2,07 mmol) en diclorometano (15 ml). La reacción se calentó a 50 °C durante 3 horas. Después, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió lentamente en 200 ml de agua, con agitación. La mezcla se dejó en agitación durante 1 hora y después se neutralizó con hidróxido potásico acuoso 1 N. La mezcla se extrajo con diclorometano (3 x). Los extractos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía en columna (acetato de etilo al 0-20 %/heptanos) dio el compuesto del título (254 mg, 52 %) en forma de un sólido de color blanco. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,70 - 8,79 (m, 1 H), 8,13 - 8,18 (m, 2 H), 7,87 (d, *J* = 8,39 Hz, 1 H), 7,47 (d, *J* = 8,58 Hz, 1 H), 4,44 (c, *J* = 7,02 Hz, 2 H), 1,43 (t, *J* = 7,12 Hz, 3 H).

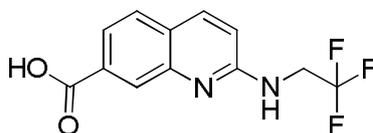
Etapa 2: Ácido 2-cloroquinolin-7-carboxílico

25

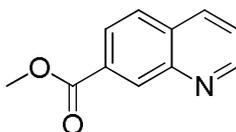
A una solución de 2-cloroquinolin-7-carboxilato de etilo (800 mg, 3,4 mmol) en tetrahidrofurano (10 ml) se le añadió hidróxido de litio acuoso 1 N (7 ml, 7 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se concentró y el residuo se diluyó con agua y se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 1 N. El precipitado resultante se recogió por filtración y se secó al vacío dando el compuesto del título (648 mg, 92 %) en forma de un polvo de color blanco. +IEP (M+H⁺) 208,1; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 13,43 (s, 1 H), 8,53 (d, *J* = 8,7 Hz, 1 H), 8,44 - 8,45 (m, 1 H), 8,14 (d, *J* = 8,4 Hz, 1 H), 8,07 - 8,11 (m, 1 H), 7,70 (d, *J* = 8,5 Hz, 1 H).

30

Intermedio 44: ácido 2-((2,2,2-trifluoroetil)amino)quinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



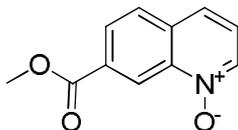
Etapa 1: quinolin-7-carboxilato de metilo



35

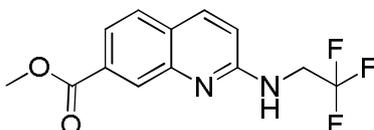
El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en la Etapa 3 del Intermedio 21 usando 7-bromoquinolina como material de partida.

Etapa 2: 1-óxido de 7-(metoxicarbonil)quinolina, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



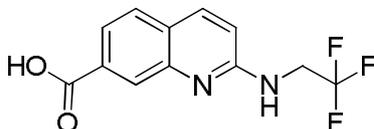
5 A una solución de quinolin-7-carboxilato de metilo (17,8 g, 94,87 mmol) en diclorometano (315 ml) se le añadió ácido peracético (39,9 ml, 190 mmol, 32 % en ácido acético). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió ácido peracético (10 ml, 48 mmol, 32 % en ácido acético) y la mezcla se agitó durante 5 h. La mezcla de reacción se diluyó con una solución saturada de bicarbonato sódico acuoso. La fase acuosa se extrajo en diclorometano (2 x 1 l). Los extractos se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. La purificación por cromatografía ultrarrápida (2-15 % metanol en diclorometano) dio el compuesto del título (17,4 g, 90 %) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d, δ): 9,41 (1 H, s), 8,56 (1 H, dd, J = 6,0, 0,8 Hz), 8,24 (1 H, dd, J = 8,5, 1,7 Hz), 7,93 (1 H, d, J = 8,6 Hz), 7,75 (1 H, d, J = 8,6 Hz), 7,39 (1 H, dd, J = 8,6, 6,0 Hz), 4,01 (3 H, s)

Etapa 3: 2-((2,2,2-trifluoroetil)amino)quinolin-7-carboxilato de metilo, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



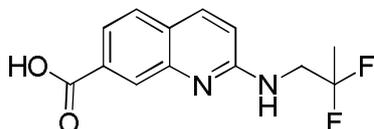
15 A una solución de 1-óxido de 7-(metoxicarbonil)quinolina (200 mg, 0,984 mmol) y 2,2,2-trifluoroetilamina (292 mg, 0,295 mmol) a 0 °C se le añadió en porciones anhídrido 4-metilbencenosulfónico (964 mg, 2,95 mmol) durante un periodo de 45 minutos. La reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La reacción se diluyó con diclorometano y se lavó con una solución saturada de cloruro de amonio. La fase acuosa se extrajo en diclorometano (1 x). Los extractos orgánicos se combinaron y se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. La purificación por cromatografía ultrarrápida dio el compuesto del título (172 mg, 62 %). +IEP (M+H) 285,1

Etapa 4: ácido 2-((2,2,2-trifluoroetil)amino)quinolin-7-carboxílico



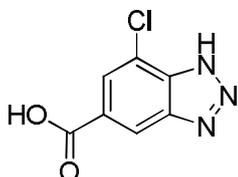
25 A una solución de 2-((2,2,2-trifluoroetil)amino)quinolin-7-carboxilato de metilo (172 mg, 0,605 mmol) en tetrahidrofurano (5 ml) se le añadió hidróxido de litio acuoso (1,82 ml, 1,82 mmol, solución 1 M) a temperatura ambiente. La reacción se agitó durante 2,5 días. El disolvente se retiró a presión reducida y el residuo se acidificó con ácido clorhídrico acuoso 1 N. El precipitado resultante se filtró y se secó dando el compuesto del título (65 mg, 40 %) +IEP (M+H) 271,1. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d6, δ): 4,31-4,41 (m, 2 H) 7,01 (d, J = 8,87 Hz, 1H) 7,69 - 7,80 (m, 2 H) 8,06 (d, J = 8,66 Hz, 1H) 8, 14 (s, 1 H) 13,03 (s a, 1H)

30 Intermedio 45: ácido 2-((2,2-difluoropropil)amino)quinolin-7-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



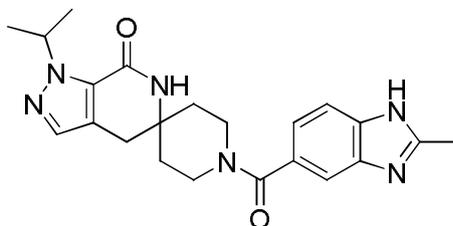
35 El compuesto del título se preparó mediante un procedimiento análogo al descrito para el Intermedio 44, usando 2,2-difluoroetilamina en lugar de 2,2,2-trifluoroetilamina. +IEP (M+H) 267,2; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d6, δ): 1,63 (t, J = 19,02 Hz, 3 H) 3,89-3,99 (m, 2 H) 6,97 (d, J = 8,97 Hz, 1 H) 7,54 (t, 1 H) 7,62 - 7,68 (m, 1 H) 7,71 (d, J = 8,19 Hz, 1 H) 7,96 (d, J = 9,10 Hz, 1H) 8,06 - 8,09 (m, 1H) 12,95 (s a, 1 H).

Intermedio 46: ácido 7-cloro-1H-benzo[d][1,2,3]triazol-5-carboxílico, mostrado a continuación, se preparó como sigue:



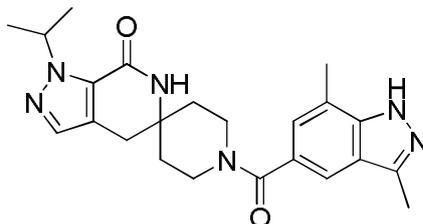
5 A una solución de ácido 3,4-diamino-5-clorobenzoico (125 mg, 0,67 mmol) en ácido sulfúrico concentrado (0,45 ml) se le añadió agua (2 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 1 h. La mezcla se dejó en agitación durante una noche. La reacción se diluyó con agua y el precipitado resultante se filtró dando el compuesto del título (124 mg, 94 %) en forma de un sólido de color pardo. +IQPA (M+H) 198,0; RMN ¹H (400 MHz, METANOL-d₄, δ): 8,53 (d, J = 1,2 Hz, 1 H), 8,10 (d, J = 1,0 Hz, 1 H)

Ejemplo de Referencia 1: 1'-isopropil-1-(2-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(1'H)-ona



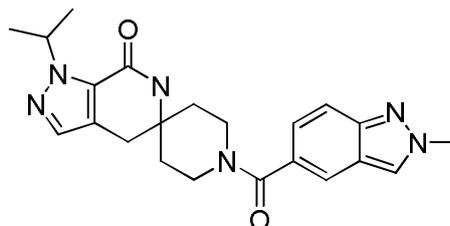
10 A una solución de ácido 2-metil-1H-benzo[d]imidazol-5-carboxílico (42 mg, 0,13 mmol) en diclorometano (2 ml) se le añadieron 1'-isopropil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(1H)-ona sal clorhidrato (42 mg, 0,13 mmol), trietilamina (0,01 ml, 0,07 mmol) y hexafluorofosfato (1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (54,8 mg, 0,144 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se concentró al vacío y los sólidos resultantes se disolvieron en acetato de etilo, se lavaron con bicarbonato sódico saturado y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró al vacío. El residuo se disolvió en dimetilsulfóxido (1 ml) y se purificó por HPLC de fase inversa (columna: Waters XBridge C18 19 x 100, 5 μm; fase móvil A: NH₄OH al 0,03 % en agua (v/v); fase móvil B: NH₄OH al 0,03 % en acetonitrilo (v/v); gradiente: A al 90 %/B al 10 % lineal a A al 0 %/B al 100 % en 8,5 min, mantenido a A al 0 %/B al 100 % durante 10,0 min; flujo: 25 ml/min. +IEP (M+H) 407,2; tiempo de retención de HPLC 1,74 minutos (Procedimiento A)

20 **Ejemplo de Referencia 2: 1-(3,7-dimetil-1H-indazol-5-carbonil)-1'-isopropil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(1'H)-ona**



25 A una solución de 1'-isopropil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(1'H)-ona sal clorhidrato (Intermedio 2, 430 mg, 1,3 mmol) y ácido 3,7-dimetil-1H-indazol-5-carboxílico (306 mg, 1,6 mmol) en dimetilformamida (2 ml) se le añadieron trietilamina (0,75 ml, 5,4 mmol), 4-dimetilaminopiridina (33 mg, 0,37 mmol) y anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,52 ml, 1,74 mmol, solución al 50 % en acetato de etilo) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío, se recogió en acetato de etilo y se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para dar un sólido. El sólido se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (metanol al 0-15 %/diclorometano) dando un sólido vítreo. El sólido vítreo se agitó en acetato de etilo durante 16 horas y el sólido resultante se recogió por filtración al vacío dando el producto deseado en forma de un sólido de color blanco (138 mg). +IEP (M+H) 421,0; RMN ¹H (400 MHz, CD₃OD, δ): 7,65 (s, 1 H) 7,42 (s, 1 H) 7,21 (s, 1 H) 5,50 (m, 1H) 3,95 (s a, 1H) 3,50 - 3,62 (s a, 3 H) 2,97 (s, 2 H) 2,56 (m, 6 H) 1,83 (s a, 4 H) 1,44 (d, 6 H).

30 **Ejemplo de referencia 3: 1'-isopropil-1-(2-metil-2H-indazol-5-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(1'H)-ona**



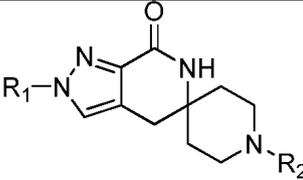
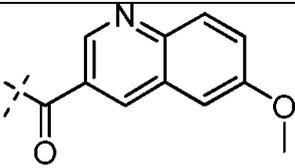
35 A una solución de ácido 2-metil-2H-indazol-5-carboxílico (28 mg, 0,16 mmol) en dimetilformamida seca se le añadió 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (37 mg, 0,19 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (26 mg, 0,19 mmol) N,N-diisopropiletilamina (84 μl, 0,48 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos y después se añadió clorhidrato de 1'-isopropil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(1'H)-ona (Intermedio 2, 30 mg, 0,12 mmol) y la reacción se agitó durante 16 horas. La mezcla se vertió en agua enfriada y el precipitado resultante se recogió por filtración al vacío. El sólido obtenido se trituró en éter dietílico dando 1'-isopropil-1-(2-metil-2H-indazol-5-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(1'H)-ona (25 mg).

40

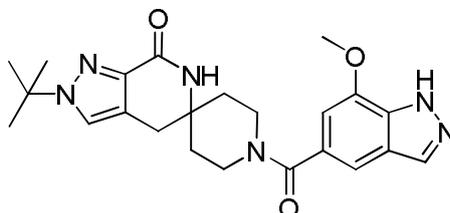
+IEP (M+H) 407,3; RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆, δ): 8,41 (s, 1 H), 7,85 (s, 1 H), 7,75 (s, 1 H), 7,63 (d, 1 H), 7,40 (s, 1 H), 7,20 (s, 1 H), 5,40 (m, 1 H), 4,18 (s, 3 H), 3,60 (s a, 4 H), 2,85 (s, 2 H), 1,70 (s a, 4 H), 1,35 (d, 6 H).

5 El compuesto enumerado a continuación en la Tabla 2 se preparó usando procedimientos análogos a los descritos anteriormente para la síntesis de los compuestos de los Ejemplos de Referencia 1-3 usando los materiales de partida apropiados que están disponibles en el mercado, se preparan usando preparaciones bien conocidas para los expertos en la materia o se preparan de manera análoga a las rutas descritas anteriormente para otros intermedios. El compuesto enumerado a continuación se aisló inicialmente en forma de la base libre y puede convertirse en una sal farmacéuticamente aceptable para experimentación.

Tabla 2

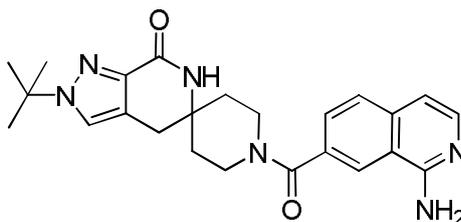
			
Ej.	R ₁	R ₂	datos analíticos
48	tBu		+APCI (M+H) 448,6; RMN ¹ H (400 MHz, CDCl ₃ , δ): 8,74 (d, J = 2,1 Hz, 1 H), 8,10 (d, J = 1,6 Hz, 1 H), 7,96 (d, J = 9,4 Hz, 1 H), 7,37 (dd, J = 9,3, 2,8 Hz, 1 H), 7,24 (d, J = 6,4 Hz, 1 H), 7,05 (d, J = 2,7 Hz, 1 H), 3,93 - 4,16 (m, 1 H), 3,89 (s, 3 H), 3,45 - 3,78 (m, 3 H), 2,82 (s, 2 H), 1,60 - 2,04 (m, 4 H), 1,57 (s, 9 H).
el término "tBu" se usa para designar un grupo t-butilo			

10 **Ejemplo de Referencia 99: 2'-terc-butil-1-(7-metoxi-1H-indazol-5-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona**

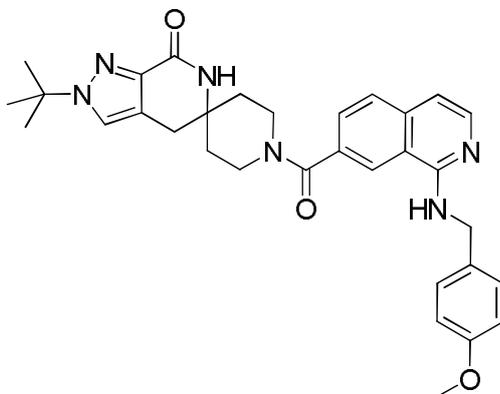


15 A una mezcla de 2'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona sal clorhidrato (Intermedio 4, 25 mg, 0,075 mmol) y ácido 7-metoxi-1-(tetrahydro-2H-piran-2-il)-1H-indazol-5-carboxílico (Intermedio 18, 25 mg, 0,090 mmol) en N,N-dimetilformamida (0,4 ml) se le añadió trietilamina (0,05 ml, 0,37 mmol). La mezcla se agitó durante 5 minutos. Después, se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,09 ml, 0,1 mmol, solución al 50 % en acetato de etilo) se añadió y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (3 x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron, y se concentraron dando una goma de color amarillo. A este material en bruto se le añadió ácido clorhídrico (0,19 ml, 0,75 mmol, 4 M en dioxano). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se concentró. La purificación por HPLC de fase inversa dio el compuesto del título (3,4 mg, 10 %). +IEP (M+H) 437,3; tiempo de retención de HPLC 2,12 minutos (Procedimiento A).

25 **Ejemplo de Referencia 100: 1-(1-aminoisoquinolin-7-carbonil)-2'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona**



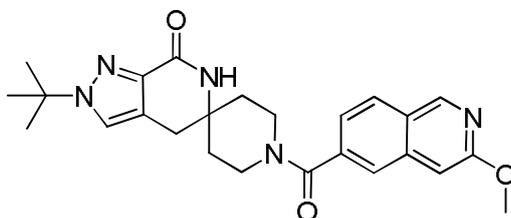
Etapa 1: 2'-terc-butil-1-(1-(4-metoxibencilamino)isoquinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona



5 El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito en el Ejemplo 3, usando 2'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona sal clorhidrato (Intermedio 4) y ácido 1-(4-metoxibencilamino)isoquinolin-7-carboxílico (Intermedio 27). +IEP (M+H) 553,5. Etapa 2: 1-(1-aminoisoquinolin-7-carbonil)-2'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona

10 A una solución de 2'-terc-butil-1-(1-(4-metoxibencilamino)isoquinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona (28 mg, 0,051 mmol) en ácido trifluoroacético (0,51 ml) se le añadió anisol (8,3 µl, 0,076 mmol). La reacción se calentó a 65 °C y se agitó durante 19 horas. La reacción se concentró. La purificación por HPLC de fase inversa dio el compuesto del título (7,1 mg, 32 %). +IEP (M+H) 433,2; tiempo de retención de HPLC 1,79 minutos (Procedimiento A).

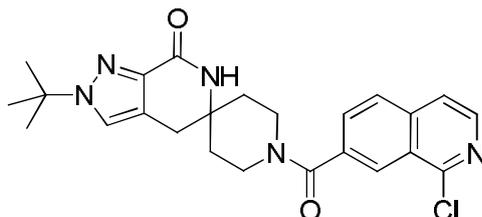
Ejemplo de Referencia 102: 2'-terc-butil-1-(3-metoxiisoquinolin-6-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona



15 A una solución de 6-bromo-3-metoxiisoquinolina (Intermedio 43, 89,9 mg, 0,378 mmol) en 1,4-dioxano (6 ml) se le añadió 2'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona sal clorhidrato (Intermedio 4, 244 mg, 0,727 mmol) y acetato sódico (130 mg, 1,5 mmol). Se burbujeó gas nitrógeno a través de la mezcla durante 15 minutos. Después se añadió [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]-dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (102 mg, 0,125 mmol), se tapó el recipiente de reacción y se burbujeó a su través gas de monóxido de carbono durante 5 minutos. Después, la reacción se calentó a 80 °C durante 18 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo. La mezcla se filtró a través de Celite y el filtrado se concentró. La purificación por HPLC de fase inversa dio el compuesto del título. +IEP (M+H) 448,1; tiempo de retención de HPLC 2,26 minutos (Procedimiento A).

25 **Ejemplo de Referencia 103: 2'-terc-butil-1-(1-(dimetilamino)isoquinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona**

Etapa 1: 2'-terc-butil-1-(1-cloroisoquinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona

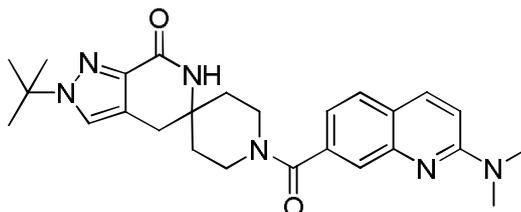


30 El compuesto del título se preparó por un procedimiento análogo al descrito para el Ejemplo 2, usando 2'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona sal clorhidrato (Intermedio 4) y ácido 1-cloroisoquinolin-7-carboxílico y omitiendo 4-dimetilaminopiridina. +IEP (M+H) 452,3; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,37 (s, 1 H), 8,32 (d, J = 5,7 Hz, 1 H), 7,89 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,75 - 7,79 (m, 1 H), 7,62 (d, J = 5,7 Hz, 1 H), 7,39 (s, 1 H), 6,42 (s, 1 H), 3,43 - 3,73 (m, 4 H), 2,87 (s, 2 H), 1,64 - 2,01 (m, 4 H), 1,61 (s, 9 H).

Etapa 2: 2'-terc-butil-1-(1-(dimetilamino)isoquinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona

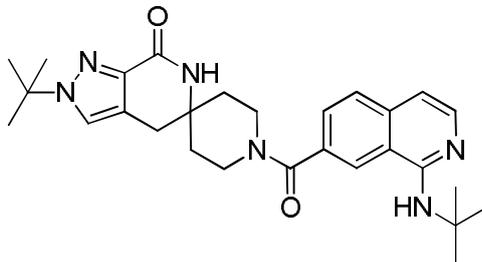
Una solución de dimetilamina en metanol (1,75 ml, 3,50 mmol, 2 M) se añadió a 2'-terc-butil-1-(1-cloroisoquinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona (158 mg, 0,350 mmol). El recipiente de reacción se cerró herméticamente y la mezcla se calentó a 60 °C y se agitó durante 65 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida (metanol al 1-15 %/diclorometano) dio el compuesto del título (99 mg, 61 %) en forma de un sólido de color blanco. +IQPA (M+H) 461,4; RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃, δ): 8,16 - 8,20 (m, 1 H), 8,12 (d, J = 5,9 Hz, 1 H), 7,75 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 7,58 - 7,64 (m, 1 H), 7,37 (s, 1 H), 7,14 (d, J = 5,9 Hz, 1 H), 6,00 (s a, 1 H), 3,40 - 3,71 (m, 4 H), 3,10 - 3,28 (m, 6 H), 2,85 (s, 2 H), 1,64 - 1,99 (m, 4 H), 1,60 (s, 9 H).

Ejemplo de Referencia 105: 2'-terc-butil-1-(2-(dimetilamino)quinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona

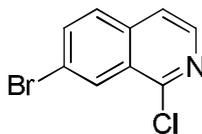


Una solución de dimetilamina en tetrahidrofurano (2,2 ml, 4,4 mmol, 2,0 M) se añadió a 2'-terc-butil-1-(2-cloroquinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona (100 mg, 0,2 mmol). El recipiente de reacción se cerró herméticamente y la mezcla se calentó a 70 °C durante 15 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró. La purificación por HPLC de fase inversa dio el compuesto del título (25 mg, 25 %). +IEP (M+H) 461,2; tiempo de retención de HPLC 1,96 minutos (Procedimiento A).

Ejemplo de Referencia 123: 2'-(terc-butil)-1-(1-(terc-butilamino)isoquinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona



Etapa 1: ácido 1-cloroisoquinolin-7-carboxílico



A una suspensión de 7-bromo-1-cloroisoquinolina (2,000 g, 8,247 mmoles) en THF (12 ml) y éter dietílico (12 ml) enfriada a -78 °C se le añadió n-BuLi (3,96 ml, 9,9 mmol, en hexanos 2,5 M). Se agitó durante cinco minutos y después se burbujó dióxido de carbono mientras se ventilaba con una aguja durante aproximadamente. La mezcla de reacción se calentó hasta 0 °C y se añadieron 5 ml de hidróxido sódico acuoso 1 N. La mezcla se diluyó con éter dietílico y se agitó durante 18 h. Las fases orgánica y acuosa se separaron y los extractos orgánicos se lavaron con hidróxido sódico acuoso 1 N y agua. Las fracciones de la fase acuosa se combinaron y se acidificaron a pH 4 con ácido clorhídrico acuoso 1 N. Los sólidos resultantes se recogieron por filtración y se secaron dando el compuesto del título (1,252 g, 73 %). +IEP (M+H) 208,1 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 13,58 (s a, 1 H) 8,86 (m, 1 H) 8,43 (d, J = 5,67 Hz, 1 H) 8,33 (dd, J = 8,61, 1,57 Hz, 1 H) 8,19 (d, J = 8,41 Hz, 1 H) 8,01 (dd, 1 H)

Etapa 2: 2'-(terc-butil)-1-(1-(terc-butilamino)isoquinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona

A una suspensión de ácido 1-cloroisoquinolin-7-carboxílico (100 mg, 0,482 mmol), RuFos (6,5 mg, 0,014 mmol), BrettFos (11,2 mg, 0,014 mmol) y terc-butóxido sódico (70,2 mg, 0,723 mmol) en dioxano (0,5 ml) se le añadió t-butilamina (0,254 ml, 2,41 mmol). El recipiente se cerró herméticamente, la mezcla se calentó a 110 °C y se agitó durante una noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió bistrimetilsililamida de litio (0,136 ml, 0,723 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 110 °C y se dejó en agitación durante una noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de celite y se enjuagó con metanol. El filtrado se concentró a presión reducida y se añadió hidróxido sódico acuoso 1 N (1 ml). Se repartió entre acetato de etilo y una mezcla de agua e hidróxido sódico acuoso 1 N. Las fases se separaron y la fase acuosa se acidificó a pH 4. La fase acuosa se extrajo en acetato de etilo. Los extractos se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se

concentraron a presión reducida obteniendo ácido 1-(terc-butilamino)isoquinolin-7-carboxílico.

A una suspensión de ácido 1-(terc-butilamino)isoquinolin-7-carboxílico (24,7 mg, 0,101 mmol) y 2'-terc-butil-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona sal clorhidrato (33,9 mg, 0,101 mmol) en N,N-dimetilformamida (1 ml) se le añadió trietilamina (0,07 ml, 0,50 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Después, se añadió anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (0,07 ml, 0,12 mmol, solución al 50 % en acetato de etilo) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se retiró N,N-dimetilformamida a presión reducida y el residuo se purificó por HPLC de fase inversa dando 2'-(terc-butil)-1-(1-(terc-butilamino)isoquinolin-7-carbonil)-4',6'-dihidroespiro[piperidin-4,5'-pirazolo[3,4-c]piridin]-7'(2'H)-ona (6,1 mg, 24 %). +IEP (m+H) 489,3; tiempo de retención de HPLC 2,94 minutos (Procedimiento B).

DATOS FARMACOLÓGICOS

Protocolos Biológicos

La utilidad del compuesto de la presente invención en el tratamiento de enfermedades (tales como las detalladas en el presente documento) en animales, particularmente mamíferos (por ejemplo, seres humanos), puede demostrarse por la actividad de los mismos en ensayos convencionales conocidos por un experto habitual en la materia, incluyendo los ensayos *in vitro* o *in vivo* descritos a continuación. Dichos ensayos también proporcionan un medio con el cual las actividades de los compuestos de la presente invención pueden compararse con las actividades de otros compuestos conocidos.

Inhibición Directa de las Actividades de la ACC1 y la ACC2

La actividad inhibidora de las ACC del compuesto de la presente invención se demostró mediante procedimientos basados en procedimientos convencionales. Por ejemplo la inhibición directa de la actividad de la ACC, para el compuesto de Fórmula I, se determinó usando preparaciones de la ACC1 humana recombinante (rhACC1) y ACC2 humana recombinante (rhACC2). Las secuencias representativas de la ACC1 y la ACC2 humana recombinante que pueden usarse en el ensayo se proporcionan en la Figura 1 (SEC ID N°: 1) y en la Figura 2 (SEC ID N°: 2), respectivamente.

[1] Preparación de rhACC1. Se suspendieron dos litros de células SF9, infectadas con baculovirus recombinante que contenía ADNc de la ACC1 humana de longitud completa, en tampón de lisis enfriado con hielo (Tris 25 mM, pH 7,5; NaCl 150 mM; glicerol al 10 %; imidazol 5 mM (EMD Bioscience; Gibbstown, NJ); TCEP 2 mM (BioVectra; Charlottetown, Canadá); nucleasa Benzona (concentrado celular 10.000 U/100 g; Novagen; Madison, WI); cóctel inhibidor sin proteasa-EDTA (1 comprimido/50 ml; Roche Diagnostics; Mannheim, Alemania). Se realizó la lisis celular mediante 3 ciclos de congelación-descongelación y se centrifugó a 40.000 x g durante 40 minutos (4 °C). El sobrenadante se cargó directamente sobre una columna HisTrap FF en bruto (GE Healthcare; Piscataway, NJ) y se eluyó con un gradiente de imidazol de hasta durante 0,5 M volúmenes de columna (VC). Las fracciones que contenían la ACC1 se agruparon y se diluyeron 1:5 con Tris 25 mM, pH 7,5, TCEP 2 mM, glicerol al 10 % y se cargaron directamente sobre una columna CaptoQ (GE Healthcare) y se eluyeron con un gradiente de NaCl de hasta durante 1 M de 20 VC. Los grupos fosfato se eliminaron de la ACC1 purificada por incubación con lambda fosfatasa (100 U/10 µM de proteína diana; New England Biolabs; Beverly, MA) durante 14 horas a 4 °C; se añadió ácido okadaico (concentración final 1 µM; Roche Diagnostics) para inhibir la fosfatasa. La ACC1 purificada se intercambió en Tris 25 mM, pH 7,5, TCEP 2 mM, glicerol al 10 %, NaCl 0,5 M por diálisis de 6 horas a 4 °C. Se prepararon alícuotas y se congelaron a -80 °C.

[2] medición de la inhibición de la rhACC1. Se ensayó hACC1 en una placa Costar N° 3676 (Costar, Cambridge, MA) de 384 pocillos usando el kit de ensayo FP de detección de ADP Transcreeper (Bellbrook Labs, Madison, Wisconsin) usando las instrucciones recomendadas por el fabricante para una reacción de ATP 50 µM. Las condiciones finales para el ensayo fueron HEPES 50 mM, pH 7,2, MgCl₂ 10 mM, citrato de tripotasio 7,5 mM, DTT 2 mM, BSA 0,1 mg/ml, acetil-CoA 30 µM, ATP 50 µM y KHCO₃ 10 mM. Típicamente, se procesó una reacción de 10 µl durante 120 minutos a 25 °C y se añadieron 10 µl de tampón de terminación y detección Transcreeper y la combinación se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora más. Los datos se obtuvieron sobre un lector de fluorescencia Envision (PerkinElmer) usando un espejo dual general FP Cy5 de excitación a 620, un filtro FP Cy5 de excitación a 620, emisión a 688 (S) y un filtro de emisión (P) 688.

[3] Preparación de rhACC2. La inhibición de la ACC2 humana se midió usando ACC2 humana recombinante (hrACC2) purificada. Brevemente, se adquirió un clon de ACC2 Cytomax de longitud completa en Cambridge Bioscience Limited y se secuenció y se subclonó en PCDNA5 FRT TO-TOPO (Invitrogen, Carlsbad, CA). La ACC2 se expresó en células CHO por inducción con tetraciclina y se recogió en 5 litros de DMEM/F12 con glutamina, biotina, higromicina y blastidina con tetraciclina 1 µg/ml (Invitrogen, Carlsbad, CA). Después, el medio adaptado que contenía la ACC2 se aplicó a una columna Softlink Soft Release Avidin (Promega, Madison, Wisconsin) y se eluyó con biotina 5 mM. Se eluyeron 4 mg de ACC2 a una concentración de 0,05 mg/ml (determinada por A280) con una pureza calculada del 95 % (determinada por A280). La ACC2 purificada se dializó en Tris 50 mM, NaCl 200 mM, DTT 4 mM, EDTA 2 mM y glicerol al 5 %. La proteína agrupada se congeló y se conservó a -80 °C, sin pérdida de actividad tras la descongelación. Para medir la actividad de la ACC2 y valoración de la inhibición de la ACC2, los compuestos de ensayo se disolvieron en DMSO y se añadieron a la enzima rhACC2 como una solución madre 5x con una concentración de DMSO final del 1 %.

[4] Medición de la inhibición de la ACC2 humana. La hACC2 se ensayó en una placa Costar N° 3676 (Costar, Cambridge, MA) de 384 pocillos usando el kit de ensayo FP de detección de ADP Transcreeper (Bellbrook Labs, Madison, Wisconsin) usando las instrucciones recomendadas por el fabricante para una reacción de ATP 50 µM. Las condiciones finales para el ensayo fueron HEPES 50 mM, pH 7,2, MgCl₂ 5 mM, citrato tripotásico 5 mM, DTT 2 mM, BSA 0,1 mg/ml, acetil-CoA 30 µM, ATP 50 µM y KHCO₃ 8 mM. Típicamente, se desarrolló una reacción de 10 µl durante 50 minutos a 25 °C y se añadieron 10 µl de tampón de terminación y detección Transcreeper y la combinación se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora más. Los datos se obtuvieron sobre un lector de fluorescencia Envision (PerkinElmer) usando un espejo dual general FP Cy5 de excitación a 620, un filtro FP Cy5

de excitación a 620, emisión a 688 (S) y un filtro de emisión (P) 688.

En la siguiente tabla se resumen los resultados usando los ensayos Transcreeper hACC1 recombinante y hACC2 recombinante descritos anteriormente para el Compuesto de Fórmula (I) ilustrado en el Ejemplo anterior.

Ejemplo	CI50 de hACC1 (nM)	n	CI50 de hACC2 (nM)	n
48	30	3	9,2	3
"n" se usa para indicar el número de procesos del ensayo				

5 El **Listado de Secuencia 1** proporciona una secuencia de la ACC1 recombinante humana (SEC ID N°: 1) que puede emplearse en el ensayo Transcreeper *in vitro*.

El **Listado de Secuencia 2** proporciona una secuencia de la ACC2 recombinante humana (SEC ID N°: 2) que puede emplearse en el ensayo Transcreeper *in vitro*.

Evaluación a corto plazo *in vivo* de la inhibición de la ACC en animales experimentales

10 La actividad inhibidora de la ACC del compuesto de la presente invención puede confirmarse *in vivo* evaluando su capacidad para reducir niveles de la malonil-CoA en tejido hepático y muscular de animales tratados.

La medición de la inhibición de la producción de la malonil-CoA en animales experimentales puede determinarse usando la siguiente metodología.

15 En este procedimiento, antes del estudio, se asignaron ratas macho Sprague-Dawley al azar, se alimentaron con pienso convencional y agua a discreción (225-275 g). A los animales se les proporcionó alimento o se dejaron en ayunas durante 18 horas antes de comenzar el experimento. Durante 2 horas en el ciclo con luz a los animales se les administró por vía oral un volumen de 5 ml/kg (metil celulosa al 0,5 %; vehículo) o el compuesto apropiado (preparado en el vehículo). Se incluyeron controles alimentados con vehículo para determinar los niveles de la línea basal de la malonil-CoA en tejidos mientras que se incluyeron animales en ayunas para determinar el efecto que tenía el ayuno sobre los niveles de la malonil-CoA. Una hora después de la administración del compuesto se asfixió a los animales con CO₂ y se extrajeron los tejidos. Específicamente, se extrajo sangre por punción cardiaca y se colocó en tubos BD Microtainer que contenían EDTA (BD Biosciences, NJ) se mezcló y se colocaron en hielo. El plasma se usó para determinar la exposición al fármaco. Se extirpó el hígado y los cuádriceps, inmediatamente se fijaron por congelación, se envolvieron en papel metalizado y se conservaron en nitrógeno líquido.

25 Para garantizar la uniformidad del muestreo los tejidos se pulverizaron con N₂ líquido. Del tejido se extrajo la malonil-CoA (150-200 mg) con 5 volúmenes de ácido tricarbóxico al 10 % en Lising Matrix A (MP Biomedicals, PN 6910) en un FastPrep FP120 (Thermo Scientific, velocidad=5,5; durante 45 segundos). El sobrenadante que contenía la malonil-CoA se eliminó del residuo celular después de una centrifugación a 15.000 x g durante 30 minutos (Centrifuga Eppendorf 5402). Las muestras se congelaron de manera estable a -80 °C hasta completar el análisis.

30 El análisis de los niveles de la malonil-CoA en tejido hepático y muscular pudo evaluarse usando la siguiente metodología.

35 El procedimiento usó los siguientes materiales: sal de tetralitio de malonil-CoA y sal de tetralitio de malonil-¹³C₃-CoA adquiridas en Isotec (Miamisburg, OH, Estados Unidos), perclorato de sodio (Sigma, cat N° 410241), ácido tricloroacético (ACROS, cat N° 42145), ácido fosfórico (J.T. Baker, cat N° 0260-01), formato de amonio (Fluka, cat N° 17843), metanol (calidad HPLC, J.T. Baker, cat N° 9093-33) y agua (calidad HPLC, J.T. Baker, 4218-03) los cuales se usaron para preparar las fases móviles necesarias. Las columnas de extracción en fase sólida Strata-X on-line, 25 µm, 20 mm x 2,0 mm D.I. (cat N° 00M-S033-B0-CB) se obtuvieron de Phenomenex (Torrance, CA, Estados Unidos). Las columnas de fase inversa SunFire C18, 3,5 µm, 100 mm x 3,0 mm D.I. (cat N° 186002543) se adquirieron en Waters Corporation (Milford, MA, Estados Unidos).

40 Este procedimiento puede realizarse usando el siguiente equipo. Cromatografía bidimensional usando una bomba binaria Agilent 1100, una bomba cuaternaria Agilent 1100 y dos válvulas de doble posición de 6 puertos Valco Cheminert. Las muestras se introdujeron mediante un inyector automático LEAP HTC PAL con una pila de Peltier enfriada mantenida a 10 °C y un ciclo de muestreo de 20 µl. Las soluciones de lavado para la aguja del inyector automático fueron ácido tricloroacético al 10 % (p/v) en agua para el Lavado 1 y metanol:agua 90:10 para el Lavado 2. La columna analítica (Sunfire) se mantuvo a 35 °C usando un horno para columnas MicroTech Scientific Micro-LC. El eluyente se analizó en un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo ABI Sciex API3000 con Pulverización Turbo Iónica.

50 Se realizó una cromatografía bidimensional en paralelo usando diferentes condiciones de elución en gradiente para la extracción en fase sólida on-line y cromatografía de fase inversa. El diseño general del procedimiento fue de tal manera que la primera dimensión se usó para limpiar la muestra y capturar el analito de interés seguido de un breve acoplamiento de ambas dimensiones para la elución desde la primera dimensión sobre la segunda dimensión. Posteriormente las dimensiones se desacoplaron permitiendo la elución en gradiente del analito de la segunda dimensión para la cuantificación preparando simultáneamente al mismo tiempo la primera dimensión para la siguiente muestra en la secuencia. Cuando ambas dimensiones estuvieron brevemente acopladas entre sí, el flujo de la fase móvil en la primera dimensión se invirtió para la elución del analito sobre la segunda dimensión, permitiendo una anchura máxima, forma máxima y tiempo de elución óptimos.

La primera dimensión del sistema HPCL que usó la columna de extracción en fase sólida on-line Phenomenex

strata-X y la fase móvil consistió en perclorato sódico 100 mM / ácido fosfórico al 0,1 % (v/v) para el disolvente A y metanol para el disolvente B.

La segunda dimensión del sistema HPLC que usó la columna de fase inversa Waters SunFire C18 y la fase móvil consistió en formato de amonio 100 mM para el disolvente A y metanol para el disolvente B. La condición inicial del gradiente se mantuvo durante 2 minutos y durante este tiempo el analito se transfirió a la columna para analitos. Era importante que la condición inicial fuese lo suficientemente fuerte para eluir el analito de la columna on-line SPE manteniéndole al mismo tiempo sobre la analítica. Después de esto, el gradiente ascendió linealmente a 74,5 % A en 4,5 minutos antes de un lavado y una etapa de reequilibrio.

Cuando la espectrometría de masas se acopla con la HPLC puede ser un procedimiento altamente selectivo y sensible para medir cuantitativamente analitos en matrices complejas aunque aún es objeto de interferencias y supresión. Acoplando una HPLC bidimensional al espectrómetro de masas, estas interferencias se redujeron significativamente. Adicionalmente, usando la función de Control de Reacción Múltiple (CRM) del espectrómetro de masas de triple cuadrupolo, la proporción señal con respecto a interferencia mejoró significativamente.

Para este ensayo, el espectrómetro de masas se accionó en modo ion positivo con un voltaje TurbolonSpray de 2250 V. El gas nebulizador se calentó a 450 °C. El Potencial de Separación (PS), Potencial de Enfoque (PE) y Energía de Colisión (EC) se ajustaron a 60,340 y 42 V, respectivamente. La resolución del cuadrupolo 1 (C1) se ajustó a la baja para unir la resolución con el ajuste del cuadrupolo 3 (C3). El gas CAD se ajustó a 8. Las transiciones MRM controladas para malonil CoA fueron: 854,1 → 347,0 m/z (*L. Gao y col. (2007) J. Chromatogr. B 853, 303–313*); y para la malonil-¹³C₃-CoA: 857,1 → 350,0 m/z con tiempos de residencia de 200 ms. El eluyente se desvió al espectrómetro de masas cerca del tiempo de elución esperado para el analito, de otra manera se desvió a los residuos para ayudar a preservar la fuente y mejorar la fuerza de la instrumentación. Los cromatogramas resultantes se integraron usando el programa informático Analyst (Applied Biosystems). Las concentraciones tisulares para la malonil CoA se calcularon a partir de una curva patrón preparada en una solución de ácido tricloroacético al 10 % en agua.

Las muestras que comprendían la curva patrón para la cuantificación de la malonil-CoA en extractos tisulares se prepararon en ácido tricloroacético (ATC) al 10 % (p/v) y varjaron de 0,01 a 1 pmol/μl. Como patrón interno, a cada componente y muestra de la curva patrón se añadió malonil-¹³C₃-CoA (concentración final de 0,4 pmol/μl).

Se prepararon seis controles de calidad intra-ensayo; tres de un extracto agrupado preparado de animales en ayunas y tres de un grupo de animales alimentados. Estos se procesaron como muestras independientes enriquecidas con ¹²C- malonil-CoA 0, 0,1 o 0,3 pmol/μl así como con malonil-¹³C₃-CoA (0,4 pmol/μl). Cada control de calidad intra-ensayo contenía 85 % de extracto de tejido acuoso aportando la parte restante el patrón interno (0,4 pmol/μl) y ¹²C- malonil-CoA. En cada proceso se incluyeron controles inter-ensayo; estos consistían en una muestra de cuádriceps agrupada de animales en ayunas y una de animales alimentados y/o en una muestra de hígado agrupada de animales en ayunas o animales alimentados. A todos estos controles se les añadió malonil-¹³C₃-CoA (0,4 pmol/μl).

Aunque la invención se ha descrito anteriormente con referencia a las realizaciones desveladas, los expertos en la materia apreciarán fácilmente que los experimentos específicos detallados son únicamente ilustrativos de la invención. Deberá entenderse que pueden realizarse diversas modificaciones sin alejarse del espíritu de la invención. Por consiguiente, la invención está limitada únicamente por las siguientes reivindicaciones.

40 **Listado de Secuencias**

<110> Pfizer Inc Griffith, David A Dow, Robert L Bagley, Scott W Smith, Aaron

<120> Inhibidores de N1/N2-lactama acetil-CoA carboxilasa

<130> PC71687A

45 <150> 61/531.744

<151> 07/09/2011

<150> 61/408.127

<151> 29/10/2010

<160>2

50 <170> PatentIn version 3.5

<210> 1

<211> 2356

<212> PRT

<213> Homo sapiens

55 <400> 1

ES 2 546 465 T3

Met Ala His His His His His His Asp Glu Val Asp Asp Glu Pro Ser
 1 5 10 15

Pro Leu Ala Gln Pro Leu Glu Leu Asn Gln His Ser Arg Phe Ile Ile
 20 25 30

Gly Ser Val Ser Glu Asp Asn Ser Glu Asp Glu Ile Ser Asn Leu Val
 35 40 45

Lys Leu Asp Leu Leu Glu Lys Glu Gly Ser Leu Ser Pro Ala Ser Val
 50 55 60

Gly Ser Asp Thr Leu Ser Asp Leu Gly Ile Ser Ser Leu Gln Asp Gly
 65 70 75 80

Leu Ala Leu His Ile Arg Ser Ser Met Ser Gly Leu His Leu Val Lys
 85 90 95

Gln Gly Arg Asp Arg Lys Lys Ile Asp Ser Gln Arg Asp Phe Thr Val
 100 105 110

Ala Ser Pro Ala Glu Phe Val Thr Arg Phe Gly Gly Asn Lys Val Ile
 115 120 125

Glu Lys Val Leu Ile Ala Asn Asn Gly Ile Ala Ala Val Lys Cys Met
 130 135 140

ES 2 546 465 T3

Arg Ser Ile Arg Arg Trp Ser Tyr Glu Met Phe Arg Asn Glu Arg Ala
 145 150 155 160

Ile Arg Phe Val Val Met Val Thr Pro Glu Asp Leu Lys Ala Asn Ala
 165 170 175

Glu Tyr Ile Lys Met Ala Asp His Tyr Val Pro Val Pro Gly Gly Pro
 180 185 190

Asn Asn Asn Asn Tyr Ala Asn Val Glu Leu Ile Leu Asp Ile Ala Lys
 195 200 205

Arg Ile Pro Val Gln Ala Val Trp Ala Gly Trp Gly His Ala Ser Glu
 210 215 220

Asn Pro Lys Leu Pro Glu Leu Leu Leu Lys Asn Gly Ile Ala Phe Met
 225 230 235 240

Gly Pro Pro Ser Gln Ala Met Trp Ala Leu Gly Asp Lys Ile Ala Ser
 245 250 255

Ser Ile Val Ala Gln Thr Ala Gly Ile Pro Thr Leu Pro Trp Ser Gly
 260 265 270

Ser Gly Leu Arg Val Asp Trp Gln Glu Asn Asp Phe Ser Lys Arg Ile
 275 280 285

Leu Asn Val Pro Gln Glu Leu Tyr Glu Lys Gly Tyr Val Lys Asp Val
 290 295 300

Asp Asp Gly Leu Gln Ala Ala Glu Glu Val Gly Tyr Pro Val Met Ile
 305 310 315 320

Lys Ala Ser Glu Gly Gly Gly Gly Lys Gly Ile Arg Lys Val Asn Asn
 325 330 335

Ala Asp Asp Phe Pro Asn Leu Phe Arg Gln Val Gln Ala Glu Val Pro
 340 345 350

Gly Ser Pro Ile Phe Val Met Arg Leu Ala Lys Gln Ser Arg His Leu
 355 360 365

Glu Val Gln Ile Leu Ala Asp Gln Tyr Gly Asn Ala Ile Ser Leu Phe
 370 375 380

Gly Arg Asp Cys Ser Val Gln Arg Arg His Gln Lys Ile Ile Glu Glu
 385 390 395 400

Ala Pro Ala Thr Ile Ala Thr Pro Ala Val Phe Glu His Met Glu Gln

ES 2 546 465 T3

				405						410					415	
Cys	Ala	Val	Lys	Leu	Ala	Lys	Met	Val	Gly	Tyr	Val	Ser	Ala	Gly	Thr	
			420					425					430			
Val	Glu	Tyr	Leu	Tyr	Ser	Gln	Asp	Gly	Ser	Phe	Tyr	Phe	Leu	Glu	Leu	
		435					440					445				
Asn	Pro	Arg	Leu	Gln	Val	Glu	His	Pro	Cys	Thr	Glu	Met	Val	Ala	Asp	
	450					455					460					
Val	Asn	Leu	Pro	Ala	Ala	Gln	Leu	Gln	Ile	Ala	Met	Gly	Ile	Pro	Leu	
465					470					475					480	
Tyr	Arg	Ile	Lys	Asp	Ile	Arg	Met	Met	Tyr	Gly	Val	Ser	Pro	Trp	Gly	
				485					490					495		
Asp	Ser	Pro	Ile	Asp	Phe	Glu	Asp	Ser	Ala	His	Val	Pro	Cys	Pro	Arg	
			500					505					510			
Gly	His	Val	Ile	Ala	Ala	Arg	Ile	Thr	Ser	Glu	Asn	Pro	Asp	Glu	Gly	
		515					520					525				
Phe	Lys	Pro	Ser	Ser	Gly	Thr	Val	Gln	Glu	Leu	Asn	Phe	Arg	Ser	Asn	
	530					535						540				
Lys	Asn	Val	Trp	Gly	Tyr	Phe	Ser	Val	Ala	Ala	Ala	Gly	Gly	Leu	His	
545					550					555					560	
Glu	Phe	Ala	Asp	Ser	Gln	Phe	Gly	His	Cys	Phe	Ser	Trp	Gly	Glu	Asn	
				565					570					575		
Arg	Glu	Glu	Ala	Ile	Ser	Asn	Met	Val	Val	Ala	Leu	Lys	Glu	Leu	Ser	
			580					585					590			
Ile	Arg	Gly	Asp	Phe	Arg	Thr	Thr	Val	Glu	Tyr	Leu	Ile	Lys	Leu	Leu	
		595					600					605				
Glu	Thr	Glu	Ser	Phe	Gln	Met	Asn	Arg	Ile	Asp	Thr	Gly	Trp	Leu	Asp	
	610					615						620				
Arg	Leu	Ile	Ala	Glu	Lys	Val	Gln	Ala	Glu	Arg	Pro	Asp	Thr	Met	Leu	
625					630					635					640	
Gly	Val	Val	Cys	Gly	Ala	Leu	His	Val	Ala	Asp	Val	Ser	Leu	Arg	Asn	
				645					650					655		
Ser	Val	Ser	Asn	Phe	Leu	His	Ser	Leu	Glu	Arg	Gly	Gln	Val	Leu	Pro	
			660					665					670			

ES 2 546 465 T3

Ala His Thr Leu Leu Asn Thr Val Asp Val Glu Leu Ile Tyr Glu Gly
675 680 685

Val Lys Tyr Val Leu Lys Val Thr Arg Gln Ser Pro Asn Ser Tyr Val
690 695 700

Val Ile Met Asn Gly Ser Cys Val Glu Val Asp Val His Arg Leu Ser
705 710 715 720

Asp Gly Gly Leu Leu Leu Ser Tyr Asp Gly Ser Ser Tyr Thr Thr Tyr
725 730 735

Met Lys Glu Glu Val Asp Arg Tyr Arg Ile Thr Ile Gly Asn Lys Thr
740 745 750

Cys Val Phe Glu Lys Glu Asn Asp Pro Ser Val Met Arg Ser Pro Ser
755 760 765

Ala Gly Lys Leu Ile Gln Tyr Ile Val Glu Asp Gly Gly His Val Phe
770 775 780

Ala Gly Gln Cys Tyr Ala Glu Ile Glu Val Met Lys Met Val Met Thr
785 790 795 800

Leu Thr Ala Val Glu Ser Gly Cys Ile His Tyr Val Lys Arg Pro Gly
805 810 815

Ala Ala Leu Asp Pro Gly Cys Val Leu Ala Lys Met Gln Leu Asp Asn
820 825 830

Pro Ser Lys Val Gln Gln Ala Glu Leu His Thr Gly Ser Leu Pro Arg
835 840 845

Ile Gln Ser Thr Ala Leu Arg Gly Glu Lys Leu His Arg Val Phe His
850 855 860

Tyr Val Leu Asp Asn Leu Val Asn Val Met Asn Gly Tyr Cys Leu Pro
865 870 875 880

Asp Pro Phe Phe Ser Ser Lys Val Lys Asp Trp Val Glu Arg Leu Met
885 890 895

Lys Thr Leu Arg Asp Pro Ser Leu Pro Leu Leu Glu Leu Gln Asp Ile
900 905 910

Met Thr Ser Val Ser Gly Arg Ile Pro Pro Asn Val Glu Lys Ser Ile
915 920 925

ES 2 546 465 T3

Lys Lys Glu Met Ala Gln Tyr Ala Ser Asn Ile Thr Ser Val Leu Cys
 930 935 940

Gln Phe Pro Ser Gln Gln Ile Ala Asn Ile Leu Asp Ser His Ala Ala
 945 950 955 960

Thr Leu Asn Arg Lys Ser Glu Arg Glu Val Phe Phe Met Asn Thr Gln
 965 970 975

Ser Ile Val Gln Leu Val Gln Arg Tyr Arg Ser Gly Ile Arg Gly His
 980 985 990

Met Lys Ala Val Val Met Asp Leu Leu Arg Gln Tyr Leu Arg Val Glu
 995 1000 1005

Thr Gln Phe Gln Asn Gly His Tyr Asp Lys Cys Val Phe Ala Leu
 1010 1015 1020

Arg Glu Glu Asn Lys Ser Asp Met Asn Thr Val Leu Asn Tyr Ile
 1025 1030 1035

Phe Ser His Ala Gln Val Thr Lys Lys Asn Leu Leu Val Thr Met
 1040 1045 1050

Leu Ile Asp Gln Leu Cys Gly Arg Asp Pro Thr Leu Thr Asp Glu
 1055 1060 1065

Leu Leu Asn Ile Leu Thr Glu Leu Thr Gln Leu Ser Lys Thr Thr
 1070 1075 1080

Asn Ala Lys Val Ala Leu Arg Ala Arg Gln Val Leu Ile Ala Ser
 1085 1090 1095

His Leu Pro Ser Tyr Glu Leu Arg His Asn Gln Val Glu Ser Ile
 1100 1105 1110

Phe Leu Ser Ala Ile Asp Met Tyr Gly His Gln Phe Cys Ile Glu
 1115 1120 1125

Asn Leu Gln Lys Leu Ile Leu Ser Glu Thr Ser Ile Phe Asp Val
 1130 1135 1140

Leu Pro Asn Phe Phe Tyr His Ser Asn Gln Val Val Arg Met Ala
 1145 1150 1155

Ala Leu Glu Val Tyr Val Arg Arg Ala Tyr Ile Ala Tyr Glu Leu
 1160 1165 1170

ES 2 546 465 T3

Asn Ser Val Gln His Arg Gln Leu Lys Asp Asn Thr Cys Val Val
1175 1180 1185

Glu Phe Gln Phe Met Leu Pro Thr Ser His Pro Asn Arg Gly Asn
1190 1195 1200

Ile Pro Thr Leu Asn Arg Met Ser Phe Ser Ser Asn Leu Asn His
1205 1210 1215

Tyr Gly Met Thr His Val Ala Ser Val Ser Asp Val Leu Leu Asp
1220 1225 1230

Asn Ser Phe Thr Pro Pro Cys Gln Arg Met Gly Gly Met Val Ser
1235 1240 1245

Phe Arg Thr Phe Glu Asp Phe Val Arg Ile Phe Asp Glu Val Met
1250 1255 1260

Gly Cys Phe Ser Asp Ser Pro Pro Gln Ser Pro Thr Phe Pro Glu
1265 1270 1275

Ala Gly His Thr Ser Leu Tyr Asp Glu Asp Lys Val Pro Arg Asp
1280 1285 1290

Glu Pro Ile His Ile Leu Asn Val Ala Ile Lys Thr Asp Cys Asp
1295 1300 1305

Ile Glu Asp Asp Arg Leu Ala Ala Met Phe Arg Glu Phe Thr Gln
1310 1315 1320

Gln Asn Lys Ala Thr Leu Val Asp His Gly Ile Arg Arg Leu Thr
1325 1330 1335

Phe Leu Val Ala Gln Lys Asp Phe Arg Lys Gln Val Asn Tyr Glu
1340 1345 1350

Val Asp Arg Arg Phe His Arg Glu Phe Pro Lys Phe Phe Thr Phe
1355 1360 1365

Arg Ala Arg Asp Lys Phe Glu Glu Asp Arg Ile Tyr Arg His Leu
1370 1375 1380

Glu Pro Ala Leu Ala Phe Gln Leu Glu Leu Asn Arg Met Arg Asn
1385 1390 1395

Phe Asp Leu Thr Ala Ile Pro Cys Ala Asn His Lys Met His Leu
1400 1405 1410

Tyr Leu Gly Ala Ala Lys Val Glu Val Gly Thr Glu Val Thr Asp

ES 2 546 465 T3

1415						1420										1425
Tyr	Arg	Phe	Phe	Val	Arg	Ala	Ile	Ile	Arg	His	Ser	Asp	Leu	Val		
	1430					1435					1440					
Thr	Lys	Glu	Ala	Ser	Phe	Glu	Tyr	Leu	Gln	Asn	Glu	Gly	Glu	Arg		
	1445					1450					1455					
Leu	Leu	Leu	Glu	Ala	Met	Asp	Glu	Leu	Glu	Val	Ala	Phe	Asn	Asn		
	1460					1465					1470					
Thr	Asn	Val	Arg	Thr	Asp	Cys	Asn	His	Ile	Phe	Leu	Asn	Phe	Val		
	1475					1480					1485					
Pro	Thr	Val	Ile	Met	Asp	Pro	Ser	Lys	Ile	Glu	Glu	Ser	Val	Arg		
	1490					1495					1500					
Ser	Met	Val	Met	Arg	Tyr	Gly	Ser	Arg	Leu	Trp	Lys	Leu	Arg	Val		
	1505					1510					1515					
Leu	Gln	Ala	Glu	Leu	Lys	Ile	Asn	Ile	Arg	Leu	Thr	Pro	Thr	Gly		
	1520					1525					1530					
Lys	Ala	Ile	Pro	Ile	Arg	Leu	Phe	Leu	Thr	Asn	Glu	Ser	Gly	Tyr		
	1535					1540					1545					
Tyr	Leu	Asp	Ile	Ser	Leu	Tyr	Lys	Glu	Val	Thr	Asp	Ser	Arg	Thr		
	1550					1555					1560					
Ala	Gln	Ile	Met	Phe	Gln	Ala	Tyr	Gly	Asp	Lys	Gln	Gly	Pro	Leu		
	1565					1570					1575					
His	Gly	Met	Leu	Ile	Asn	Thr	Pro	Tyr	Val	Thr	Lys	Asp	Leu	Leu		
	1580					1585					1590					
Gln	Ser	Lys	Arg	Phe	Gln	Ala	Gln	Ser	Leu	Gly	Thr	Thr	Tyr	Ile		
	1595					1600					1605					
Tyr	Asp	Ile	Pro	Glu	Met	Phe	Arg	Gln	Ser	Leu	Ile	Lys	Leu	Trp		
	1610					1615					1620					
Glu	Ser	Met	Ser	Thr	Gln	Ala	Phe	Leu	Pro	Ser	Pro	Pro	Leu	Pro		
	1625					1630					1635					
Ser	Asp	Met	Leu	Thr	Tyr	Thr	Glu	Leu	Val	Leu	Asp	Asp	Gln	Gly		
	1640					1645					1650					
Gln	Leu	Val	His	Met	Asn	Arg	Leu	Pro	Gly	Gly	Asn	Glu	Ile	Gly		
	1655					1660					1665					

ES 2 546 465 T3

Met Val Ala Trp Lys Met Thr Phe Lys Ser Pro Glu Tyr Pro Glu
1670 1675 1680

Gly Arg Asp Ile Ile Val Ile Gly Asn Asp Ile Thr Tyr Arg Ile
1685 1690 1695

Gly Ser Phe Gly Pro Gln Glu Asp Leu Leu Phe Leu Arg Ala Ser
1700 1705 1710

Glu Leu Ala Arg Ala Glu Gly Ile Pro Arg Ile Tyr Val Ser Ala
1715 1720 1725

Asn Ser Gly Ala Arg Ile Gly Leu Ala Glu Glu Ile Arg His Met
1730 1735 1740

Phe His Val Ala Trp Val Asp Pro Glu Asp Pro Tyr Lys Gly Tyr
1745 1750 1755

Arg Tyr Leu Tyr Leu Thr Pro Gln Asp Tyr Lys Arg Val Ser Ala
1760 1765 1770

Leu Asn Ser Val His Cys Glu His Val Glu Asp Glu Gly Glu Ser
1775 1780 1785

Arg Tyr Lys Ile Thr Asp Ile Ile Gly Lys Glu Glu Gly Ile Gly
1790 1795 1800

Pro Glu Asn Leu Arg Gly Ser Gly Met Ile Ala Gly Glu Ser Ser
1805 1810 1815

Leu Ala Tyr Asn Glu Ile Ile Thr Ile Ser Leu Val Thr Cys Arg
1820 1825 1830

Ala Ile Gly Ile Gly Ala Tyr Leu Val Arg Leu Gly Gln Arg Thr
1835 1840 1845

Ile Gln Val Glu Asn Ser His Leu Ile Leu Thr Gly Ala Gly Ala
1850 1855 1860

Leu Asn Lys Val Leu Gly Arg Glu Val Tyr Thr Ser Asn Asn Gln
1865 1870 1875

Leu Gly Gly Ile Gln Ile Met His Asn Asn Gly Val Thr His Cys
1880 1885 1890

Thr Val Cys Asp Asp Phe Glu Gly Val Phe Thr Val Leu His Trp
1895 1900 1905

ES 2 546 465 T3

Leu Ser Tyr Met Pro Lys Ser Val His Ser Ser Val Pro Leu Leu
 1910 1915 1920

Asn Ser Lys Asp Pro Ile Asp Arg Ile Ile Glu Phe Val Pro Thr
 1925 1930 1935

Lys Thr Pro Tyr Asp Pro Arg Trp Met Leu Ala Gly Arg Pro His
 1940 1945 1950

Pro Thr Gln Lys Gly Gln Trp Leu Ser Gly Phe Phe Asp Tyr Gly
 1955 1960 1965

Ser Phe Ser Glu Ile Met Gln Pro Trp Ala Gln Thr Val Val Val
 1970 1975 1980

Gly Arg Ala Arg Leu Gly Gly Ile Pro Val Gly Val Val Ala Val
 1985 1990 1995

Glu Thr Arg Thr Val Glu Leu Ser Ile Pro Ala Asp Pro Ala Asn
 2000 2005 2010

Leu Asp Ser Glu Ala Lys Ile Ile Gln Gln Ala Gly Gln Val Trp
 2015 2020 2025

Phe Pro Asp Ser Ala Phe Lys Thr Tyr Gln Ala Ile Lys Asp Phe
 2030 2035 2040

Asn Arg Glu Gly Leu Pro Leu Met Val Phe Ala Asn Trp Arg Gly
 2045 2050 2055

Phe Ser Gly Gly Met Lys Asp Met Tyr Asp Gln Val Leu Lys Phe
 2060 2065 2070

Gly Ala Tyr Ile Val Asp Gly Leu Arg Glu Cys Cys Gln Pro Val
 2075 2080 2085

Leu Val Tyr Ile Pro Pro Gln Ala Glu Leu Arg Gly Gly Ser Trp
 2090 2095 2100

Val Val Ile Asp Ser Ser Ile Asn Pro Arg His Met Glu Met Tyr
 2105 2110 2115

Ala Asp Arg Glu Ser Arg Gly Ser Val Leu Glu Pro Glu Gly Thr
 2120 2125 2130

Val Glu Ile Lys Phe Arg Arg Lys Asp Leu Val Lys Thr Met Arg
 2135 2140 2145

ES 2 546 465 T3

Arg Val Asp Pro Val Tyr Ile His Leu Ala Glu Arg Leu Gly Thr
 2150 2155 2160

Pro Glu Leu Ser Thr Ala Glu Arg Lys Glu Leu Glu Asn Lys Leu
 2165 2170 2175

Lys Glu Arg Glu Glu Phe Leu Ile Pro Ile Tyr His Gln Val Ala
 2180 2185 2190

Val Gln Phe Ala Asp Leu His Asp Thr Pro Gly Arg Met Gln Glu
 2195 2200 2205

Lys Gly Val Ile Ser Asp Ile Leu Asp Trp Lys Thr Ser Arg Thr
 2210 2215 2220

Phe Phe Tyr Trp Arg Leu Arg Arg Leu Leu Leu Glu Asp Leu Val
 2225 2230 2235

Lys Lys Lys Ile His Asn Ala Asn Pro Glu Leu Thr Asp Gly Gln
 2240 2245 2250

Ile Gln Ala Met Leu Arg Arg Trp Phe Val Glu Val Glu Gly Thr
 2255 2260 2265

Val Lys Ala Tyr Val Trp Asp Asn Asn Lys Asp Leu Ala Glu Trp
 2270 2275 2280

Leu Glu Lys Gln Leu Thr Glu Glu Asp Gly Val His Ser Val Ile
 2285 2290 2295

Glu Glu Asn Ile Lys Cys Ile Ser Arg Asp Tyr Val Leu Lys Gln
 2300 2305 2310

Ile Arg Ser Leu Val Gln Ala Asn Pro Glu Val Ala Met Asp Ser
 2315 2320 2325

Ile Ile His Met Thr Gln His Ile Ser Pro Thr Gln Arg Ala Glu
 2330 2335 2340

Val Ile Arg Ile Leu Ser Thr Met Asp Ser Pro Ser Thr
 2345 2350 2355

<210>2
 <211> 2458
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

5

<400>2

Met Val Leu Leu Leu Cys Leu Ser Cys Leu Ile Phe Ser Cys Leu Thr
 1 5 10 15

ES 2 546 465 T3

Phe Ser Trp Leu Lys Ile Trp Gly Lys Met Thr Asp Ser Lys Pro Ile
 20 25 30

Thr Lys Ser Lys Ser Glu Ala Asn Leu Ile Pro Ser Gln Glu Pro Phe
 35 40 45

Pro Ala Ser Asp Asn Ser Gly Glu Thr Pro Gln Arg Asn Gly Glu Gly
 50 55 60

His Thr Leu Pro Lys Thr Pro Ser Gln Ala Glu Pro Ala Ser His Lys
 65 70 75 80

Gly Pro Lys Asp Ala Gly Arg Arg Arg Asn Ser Leu Pro Pro Ser His
 85 90 95

Gln Lys Pro Pro Arg Asn Pro Leu Ser Ser Ser Asp Ala Ala Pro Ser
 100 105 110

Pro Glu Leu Gln Ala Asn Gly Thr Gly Thr Gln Gly Leu Glu Ala Thr
 115 120 125

Asp Thr Asn Gly Leu Ser Ser Ser Ala Arg Pro Gln Gly Gln Gln Ala
 130 135 140

Gly Ser Pro Ser Lys Glu Asp Lys Lys Gln Ala Asn Ile Lys Arg Gln
 145 150 155 160

Leu Met Thr Asn Phe Ile Leu Gly Ser Phe Asp Asp Tyr Ser Ser Asp
 165 170 175

Glu Asp Ser Val Ala Gly Ser Ser Arg Glu Ser Thr Arg Lys Gly Ser
 180 185 190

Arg Ala Ser Leu Gly Ala Leu Ser Leu Glu Ala Tyr Leu Thr Thr Gly
 195 200 205

Glu Ala Glu Thr Arg Val Pro Thr Met Arg Pro Ser Met Ser Gly Leu
 210 215 220

His Leu Val Lys Arg Gly Arg Glu His Lys Lys Leu Asp Leu His Arg
 225 230 235 240

Asp Phe Thr Val Ala Ser Pro Ala Glu Phe Val Thr Arg Phe Gly Gly
 245 250 255

Asp Arg Val Ile Glu Lys Val Leu Ile Ala Asn Asn Gly Ile Ala Ala
 260 265 270

ES 2 546 465 T3

Val Lys Cys Met Arg Ser Ile Arg Arg Trp Ala Tyr Glu Met Phe Arg
 275 280 285

Asn Glu Arg Ala Ile Arg Phe Val Val Met Val Thr Pro Glu Asp Leu
 290 295 300

Lys Ala Asn Ala Glu Tyr Ile Lys Met Ala Asp His Tyr Val Pro Val
 305 310 315 320

Pro Gly Gly Pro Asn Asn Asn Asn Tyr Ala Asn Val Glu Leu Ile Val
 325 330 335

Asp Ile Ala Lys Arg Ile Pro Val Gln Ala Val Trp Ala Gly Trp Gly
 340 345 350

His Ala Ser Glu Asn Pro Lys Leu Pro Glu Leu Leu Cys Lys Asn Gly
 355 360 365

Val Ala Phe Leu Gly Pro Pro Ser Glu Ala Met Trp Ala Leu Gly Asp
 370 375 380

Lys Ile Ala Ser Thr Val Val Ala Gln Thr Leu Gln Val Pro Thr Leu
 385 390 395 400

Pro Trp Ser Gly Ser Gly Leu Thr Val Glu Trp Thr Glu Asp Asp Leu
 405 410 415

Gln Gln Gly Lys Arg Ile Ser Val Pro Glu Asp Val Tyr Asp Lys Gly
 420 425 430

Cys Val Lys Asp Val Asp Glu Gly Leu Glu Ala Ala Glu Arg Ile Gly
 435 440 445

Phe Pro Leu Met Ile Lys Ala Ser Glu Gly Gly Gly Gly Lys Gly Ile
 450 455 460

Arg Lys Ala Glu Ser Ala Glu Asp Phe Pro Ile Leu Phe Arg Gln Val
 465 470 475 480

Gln Ser Glu Ile Pro Gly Ser Pro Ile Phe Leu Met Lys Leu Ala Gln
 485 490 495

His Ala Arg His Leu Glu Val Gln Ile Leu Ala Asp Gln Tyr Gly Asn
 500 505 510

Ala Val Ser Leu Phe Gly Arg Asp Cys Ser Ile Gln Arg Arg His Gln
 515 520 525

ES 2 546 465 T3

Lys Ile Val Glu Glu Ala Pro Ala Thr Ile Ala Pro Leu Ala Ile Phe
 530 535 540

Glu Phe Met Glu Gln Cys Ala Ile Arg Leu Ala Lys Thr Val Gly Tyr
 545 550 555 560

Val Ser Ala Gly Thr Val Glu Tyr Leu Tyr Ser Gln Asp Gly Ser Phe
 565 570 575

His Phe Leu Glu Leu Asn Pro Arg Leu Gln Val Glu His Pro Cys Thr
 580 585 590

Glu Met Ile Ala Asp Val Asn Leu Pro Ala Ala Gln Leu Gln Ile Ala
 595 600 605

Met Gly Val Pro Leu His Arg Leu Lys Asp Ile Arg Leu Leu Tyr Gly
 610 615 620

Glu Ser Pro Trp Gly Val Thr Pro Ile Ser Phe Glu Thr Pro Ser Asn
 625 630 635 640

Pro Pro Leu Ala Arg Gly His Val Ile Ala Ala Arg Ile Thr Ser Glu
 645 650 655

Asn Pro Asp Glu Gly Phe Lys Pro Ser Ser Gly Thr Val Gln Glu Leu
 660 665 670

Asn Phe Arg Ser Ser Lys Asn Val Trp Gly Tyr Phe Ser Val Ala Ala
 675 680 685

Thr Gly Gly Leu His Glu Phe Ala Asp Ser Gln Phe Gly His Cys Phe
 690 695 700

Ser Trp Gly Glu Asn Arg Glu Glu Ala Ile Ser Asn Met Val Val Ala
 705 710 715 720

Leu Lys Glu Leu Ser Ile Arg Gly Asp Phe Arg Thr Thr Val Glu Tyr
 725 730 735

Leu Ile Asn Leu Leu Glu Thr Glu Ser Phe Gln Asn Asn Asp Ile Asp
 740 745 750

Thr Gly Trp Leu Asp Tyr Leu Ile Ala Glu Lys Val Gln Ala Glu Lys
 755 760 765

Pro Asp Ile Met Leu Gly Val Val Cys Gly Ala Leu Asn Val Ala Asp
 770 775 780

Ala Met Phe Arg Thr Cys Met Thr Asp Phe Leu His Ser Leu Glu Arg

ES 2 546 465 T3

Pro Ala Pro Val Glu Lys Ser Val Arg Arg Val Met Ala Gln Tyr
1055 1060 1065

Ala Ser Asn Ile Thr Ser Val Leu Cys Gln Phe Pro Ser Gln Gln
1070 1075 1080

Ile Ala Thr Ile Leu Asp Cys His Ala Ala Thr Leu Gln Arg Lys
1085 1090 1095

Ala Asp Arg Glu Val Phe Phe Ile Asn Thr Gln Ser Ile Val Gln
1100 1105 1110

Leu Val Gln Arg Tyr Arg Ser Gly Ile Arg Gly Tyr Met Lys Thr
1115 1120 1125

Val Val Leu Asp Leu Leu Arg Arg Tyr Leu Arg Val Glu His His
1130 1135 1140

Phe Gln Gln Ala His Tyr Asp Lys Cys Val Ile Asn Leu Arg Glu
1145 1150 1155

Gln Phe Lys Pro Asp Met Ser Gln Val Leu Asp Cys Ile Phe Ser
1160 1165 1170

His Ala Gln Val Ala Lys Lys Asn Gln Leu Val Ile Met Leu Ile
1175 1180 1185

Asp Glu Leu Cys Gly Pro Asp Pro Ser Leu Ser Asp Glu Leu Ile
1190 1195 1200

Ser Ile Leu Asn Glu Leu Thr Gln Leu Ser Lys Ser Glu His Cys
1205 1210 1215

Lys Val Ala Leu Arg Ala Arg Gln Ile Leu Ile Ala Ser His Leu
1220 1225 1230

Pro Ser Tyr Glu Leu Arg His Asn Gln Val Glu Ser Ile Phe Leu
1235 1240 1245

Ser Ala Ile Asp Met Tyr Gly His Gln Phe Cys Pro Glu Asn Leu
1250 1255 1260

Lys Lys Leu Ile Leu Ser Glu Thr Thr Ile Phe Asp Val Leu Pro
1265 1270 1275

Thr Phe Phe Tyr His Ala Asn Lys Val Val Cys Met Ala Ser Leu
1280 1285 1290

ES 2 546 465 T3

Glu Val Tyr Val Arg Arg Gly Tyr Ile Ala Tyr Glu Leu Asn Ser
 1295 1300 1305

Leu Gln His Arg Gln Leu Pro Asp Gly Thr Cys Val Val Glu Phe
 1310 1315 1320

Gln Phe Met Leu Pro Ser Ser His Pro Asn Arg Met Thr Val Pro
 1325 1330 1335

Ile Ser Ile Thr Asn Pro Asp Leu Leu Arg His Ser Thr Glu Leu
 1340 1345 1350

Phe Met Asp Ser Gly Phe Ser Pro Leu Cys Gln Arg Met Gly Ala
 1355 1360 1365

Met Val Ala Phe Arg Arg Phe Glu Asp Phe Thr Arg Asn Phe Asp
 1370 1375 1380

Glu Val Ile Ser Cys Phe Ala Asn Val Pro Lys Asp Thr Pro Leu
 1385 1390 1395

Phe Ser Glu Ala Arg Thr Ser Leu Tyr Ser Glu Asp Asp Cys Lys
 1400 1405 1410

Ser Leu Arg Glu Glu Pro Ile His Ile Leu Asn Val Ser Ile Gln
 1415 1420 1425

Cys Ala Asp His Leu Glu Asp Glu Ala Leu Val Pro Ile Leu Arg
 1430 1435 1440

Thr Phe Val Gln Ser Lys Lys Asn Ile Leu Val Asp Tyr Gly Leu
 1445 1450 1455

Arg Arg Ile Thr Phe Leu Ile Ala Gln Glu Lys Glu Phe Pro Lys
 1460 1465 1470

Phe Phe Thr Phe Arg Ala Arg Asp Glu Phe Ala Glu Asp Arg Ile
 1475 1480 1485

Tyr Arg His Leu Glu Pro Ala Leu Ala Phe Gln Leu Glu Leu Asn
 1490 1495 1500

Arg Met Arg Asn Phe Asp Leu Thr Ala Val Pro Cys Ala Asn His
 1505 1510 1515

Lys Met His Leu Tyr Leu Gly Ala Ala Lys Val Lys Glu Gly Val
 1520 1525 1530

ES 2 546 465 T3

Glu Val Thr Asp His Arg Phe Phe Ile Arg Ala Ile Ile Arg His
 1535 1540 1545

 Ser Asp Leu Ile Thr Lys Glu Ala Ser Phe Glu Tyr Leu Gln Asn
 1550 1555 1560

 Glu Gly Glu Arg Leu Leu Leu Glu Ala Met Asp Glu Leu Glu Val
 1565 1570 1575

 Ala Phe Asn Asn Thr Ser Val Arg Thr Asp Cys Asn His Ile Phe
 1580 1585 1590

 Leu Asn Phe Val Pro Thr Val Ile Met Asp Pro Phe Lys Ile Glu
 1595 1600 1605

 Glu Ser Val Arg Tyr Met Val Met Arg Tyr Gly Ser Arg Leu Trp
 1610 1615 1620

 Lys Leu Arg Val Leu Gln Ala Glu Val Lys Ile Asn Ile Arg Gln
 1625 1630 1635

 Thr Thr Thr Gly Ser Ala Val Pro Ile Arg Leu Phe Ile Thr Asn
 1640 1645 1650

 Glu Ser Gly Tyr Tyr Leu Asp Ile Ser Leu Tyr Lys Glu Val Thr
 1655 1660 1665

 Asp Ser Arg Ser Gly Asn Ile Met Phe His Ser Phe Gly Asn Lys
 1670 1675 1680

 Gln Gly Pro Gln His Gly Met Leu Ile Asn Thr Pro Tyr Val Thr
 1685 1690 1695

 Lys Asp Leu Leu Gln Ala Lys Arg Phe Gln Ala Gln Thr Leu Gly
 1700 1705 1710

 Thr Thr Tyr Ile Tyr Asp Phe Pro Glu Met Phe Arg Gln Ala Leu
 1715 1720 1725

 Phe Lys Leu Trp Gly Ser Pro Asp Lys Tyr Pro Lys Asp Ile Leu
 1730 1735 1740

 Thr Tyr Thr Glu Leu Val Leu Asp Ser Gln Gly Gln Leu Val Glu
 1745 1750 1755

 Met Asn Arg Leu Pro Gly Gly Asn Glu Val Gly Met Val Ala Phe
 1760 1765 1770

 Lys Met Arg Phe Lys Thr Gln Glu Tyr Pro Glu Gly Arg Asp Val

ES 2 546 465 T3

1775						1780								1785
Ile Val	Ile Gly	Asn Asp	Ile	Thr Phe	Arg Ile	Gly	Ser Phe	Gly						
1790			1795			1800								
Pro Gly	Glu Asp	Leu Leu	Tyr	Leu Arg	Ala Ser	Glu	Met Ala	Arg						
1805			1810			1815								
Ala Glu	Gly Ile	Pro Lys	Ile	Tyr Val	Ala Ala	Asn	Ser Gly	Ala						
1820			1825			1830								
Arg Ile	Gly Met	Ala Glu	Glu	Ile Lys	His Met	Phe	His Val	Ala						
1835			1840			1845								
Trp Val	Asp Pro	Glu Asp	Pro	His Lys	Gly Phe	Lys	Tyr Leu	Tyr						
1850			1855			1860								
Leu Thr	Pro Gln	Asp Tyr	Thr	Arg Ile	Ser Ser	Leu	Asn Ser	Val						
1865			1870			1875								
His Cys	Lys His	Ile Glu	Glu	Gly Gly	Glu Ser	Arg	Tyr Met	Ile						
1880			1885			1890								
Thr Asp	Ile Ile	Gly Lys	Asp	Asp Gly	Leu Gly	Val	Glu Asn	Leu						
1895			1900			1905								
Arg Gly	Ser Gly	Met Ile	Ala	Gly Glu	Ser Ser	Leu	Ala Tyr	Glu						
1910			1915			1920								
Glu Ile	Val Thr	Ile Ser	Leu	Val Thr	Cys Arg	Ala	Ile Gly	Ile						
1925			1930			1935								
Gly Ala	Tyr Leu	Val Arg	Leu	Gly Gln	Arg Val	Ile	Gln Val	Glu						
1940			1945			1950								
Asn Ser	His Ile	Ile Leu	Thr	Gly Ala	Ser Ala	Leu	Asn Lys	Val						
1955			1960			1965								
Leu Gly	Arg Glu	Val Tyr	Thr	Ser Asn	Asn Gln	Leu	Gly Gly	Val						
1970			1975			1980								
Gln Ile	Met His	Tyr Asn	Gly	Val Ser	His Ile	Thr	Val Pro	Asp						
1985			1990			1995								
Asp Phe	Glu Gly	Val Tyr	Thr	Ile Leu	Glu Trp	Leu	Ser Tyr	Met						
2000			2005			2010								
Pro Lys	Asp Asn	His Ser	Pro	Val Pro	Ile Ile	Thr	Pro Thr	Asp						
2015			2020			2025								

ES 2 546 465 T3

Pro Ile Asp Arg Glu Ile Glu Phe Leu Pro Ser Arg Ala Pro Tyr
 2030 2035 2040

Asp Pro Arg Trp Met Leu Ala Gly Arg Pro His Pro Thr Leu Lys
 2045 2050 2055

Gly Thr Trp Gln Ser Gly Phe Phe Asp His Gly Ser Phe Lys Glu
 2060 2065 2070

Ile Met Ala Pro Trp Ala Gln Thr Val Val Thr Gly Arg Ala Arg
 2075 2080 2085

Leu Gly Gly Ile Pro Val Gly Val Ile Ala Val Glu Thr Arg Thr
 2090 2095 2100

Val Glu Val Ala Val Pro Ala Asp Pro Ala Asn Leu Asp Ser Glu
 2105 2110 2115

Ala Lys Ile Ile Gln Gln Ala Gly Gln Val Trp Phe Pro Asp Ser
 2120 2125 2130

Ala Tyr Lys Thr Ala Gln Ala Ile Lys Asp Phe Asn Arg Glu Lys
 2135 2140 2145

Leu Pro Leu Met Ile Phe Ala Asn Trp Arg Gly Phe Ser Gly Gly
 2150 2155 2160

Met Lys Asp Met Tyr Asp Gln Val Leu Lys Phe Gly Ala Tyr Ile
 2165 2170 2175

Val Asp Gly Leu Arg Gln Tyr Lys Gln Pro Ile Leu Ile Tyr Ile
 2180 2185 2190

Pro Pro Tyr Ala Glu Leu Arg Gly Gly Ser Trp Val Val Ile Asp
 2195 2200 2205

Ala Thr Ile Asn Pro Leu Cys Ile Glu Met Tyr Ala Asp Lys Glu
 2210 2215 2220

Ser Arg Gly Gly Val Leu Glu Pro Glu Gly Thr Val Glu Ile Lys
 2225 2230 2235

Phe Arg Lys Lys Asp Leu Ile Lys Ser Met Arg Arg Ile Asp Pro
 2240 2245 2250

Ala Tyr Lys Lys Leu Met Glu Gln Leu Gly Glu Pro Asp Leu Ser
 2255 2260 2265

ES 2 546 465 T3

Asp Lys Asp Arg Lys Asp Leu Glu Gly Arg Leu Lys Ala Arg Glu
 2270 2275 2280

Asp Leu Leu Leu Pro Ile Tyr His Gln Val Ala Val Gln Phe Ala
 2285 2290 2295

Asp Phe His Asp Thr Pro Gly Arg Met Leu Glu Lys Gly Val Ile
 2300 2305 2310

Ser Asp Ile Leu Glu Trp Lys Thr Ala Arg Thr Phe Leu Tyr Trp
 2315 2320 2325

Arg Leu Arg Arg Leu Leu Leu Glu Asp Gln Val Lys Gln Glu Ile
 2330 2335 2340

Leu Gln Ala Ser Gly Glu Leu Ser His Val His Ile Gln Ser Met
 2345 2350 2355

Leu Arg Arg Trp Phe Val Glu Thr Glu Gly Ala Val Lys Ala Tyr
 2360 2365 2370

Leu Trp Asp Asn Asn Gln Val Val Val Gln Trp Leu Glu Gln His
 2375 2380 2385

Trp Gln Ala Gly Asp Gly Pro Arg Ser Thr Ile Arg Glu Asn Ile
 2390 2395 2400

Thr Tyr Leu Lys His Asp Ser Val Leu Lys Thr Ile Arg Gly Leu
 2405 2410 2415

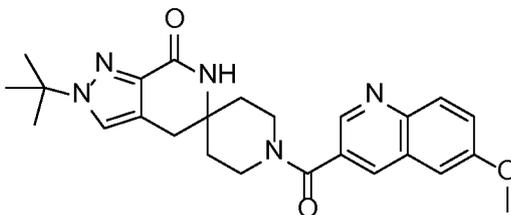
Val Glu Glu Asn Pro Glu Val Ala Val Asp Cys Val Ile Tyr Leu
 2420 2425 2430

Ser Gln His Ile Ser Pro Ala Glu Arg Ala Gln Val Val His Leu
 2435 2440 2445

Leu Ser Thr Met Asp Ser Pro Ala Ser Thr
 2450 2455

REIVINDICACIONES

1. El compuesto de estructura



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 2. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
3. La composición de la reivindicación 2, que comprende además al menos un agente antidiabético adicional.
- 10 4. La composición de la reivindicación 3, en la que dicho agente antidiabético es seleccionado entre el grupo que consiste en metformina, acetohexamida, clorpropamida, diabinese, glibenclamida, glipizida, gliburida, glimepirida, gliclazida, glipentida, gliquidona, glisolamida, tolazamida, tolbutamida, tendamistat, trestatina, acarbosa, adiposina, camiglibosa, emiglitato, miglitol, voglibosa, pradimicina-Q, salbostatina, balaglitazona, ciglitazona, darglitazona, englitazona, isaglitazona, pioglitazona, rosiglitazona, troglitazona, exendina-3, exendina-4, trodusquemina, reservatrol, GSK2245840, GSK184072, extracto de hirtiosal, sitagliptina, vildagliptina, alogliptina, saxagliptina, dutogliptina, linagliptina, un inhibidor de ACC, un inhibidor de DGAT-1, un inhibidor de fosfodiesterasa (PDE)-10, un inhibidor de AMPK, una meglitinida, tendamistat, trestatina, AL-3688, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297, L-796449, LR-90, MK-0767, SB-219994, liraglutida, albiglutida, exenatida, albiglutida, taspoglutida, lixisenatida, dulaglutida, semaglutidea, NN-9924, un secretagogo de insulina, un inhibidor de oxidación de ácido graso, un antagonista de A2, un inhibidor de quinasa c-jun amino-terminal (JNK), un activador de glucoquinasa, insulina, un mimético de insulina, un inhibidor de glucógeno fosforilasa, un agonista del receptor VPAC2, un inhibidor de SGLT2, un modulador de receptores de glucagón, un inhibidor del receptor mineralocorticoide, derivados de FGF21 o análogos, un modulador del receptor TGR5, un modulador de GPR119, agosnitra de GPR40, un modulador de GPR120, un activador del receptor de ácido nicotínico de alta afinidad (HM74A) y un inhibidor de SGLT1.
- 20 5. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, para su uso como un medicamento.
- 25 6. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica de una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 4, para su uso en un procedimiento para tratar la diabetes Tipo 2, trastornos relacionados con la diabetes, enfermedad hepática grasa no alcohólica (EHGNA) o resistencia hepática a la insulina en animales.