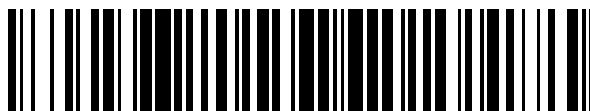


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 558 779**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61K 31/4985** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.02.2012** **E 12707276 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.10.2015** **EP 2681219**

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

30 Prioridad:

**01.03.2011 EP 11156463**

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

**08.02.2016**

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**TRABANCO-SUÁREZ, ANDRÉS AVELINO;**  
**GIJSEN, HENRICUS JACOBUS MARIA;**  
**VAN GOOL, MICHIEL LUC MARIA;**  
**VEGA RAMIRO, JUAN ANTONIO y**  
**DELGADO-JIMÉNEZ, FRANCISCA**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 558 779 T3

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

## DESCRIPCIÓN

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

## Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos derivados de 6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-il-amina como inhibidores de  $\beta$ -secretasa, también conocida enzima de escisión de amiloide del sitio  $\beta$ , BACE, BACE1, Asp2 o memapsina 2. La invención también se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden tales compuestos, a procedimientos para preparar tales compuestos y composiciones y al uso de tales compuestos y composiciones para la prevención y el tratamiento de trastornos en los que está implicada la  $\beta$ -secretasa, tales como la enfermedad de Alzheimer (AD, por sus siglas en inglés), el deterioro cognitivo leve, la senilidad, la demencia, la demencia con cuerpos de Lewy, el síndrome de Down, la demencia asociada con apoplejía, la demencia asociada con enfermedad de Parkinson o la demencia asociada con amiloide  $\beta$ .

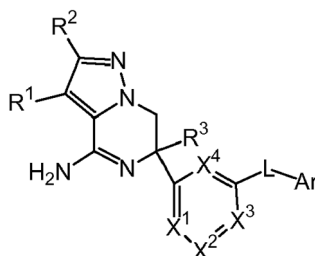
## Antecedentes de la invención

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

Las características patológicas distintivas en el cerebro de pacientes con AD son ovillos neurofibrilares que se generan mediante hiperfosforilación de proteína tau y placas amiláceas que se forman mediante agregación de péptido amiloide  $\beta$  1-42 (A $\beta$  1-42). A $\beta$  1-42 forma oligómeros y a continuación fibrillas, y finalmente placas amiláceas. Se cree que los oligómeros y las fibrillas son especialmente neurotóxicos y pueden provocar la mayoría del daño neurológico asociado con la AD. Los agentes que evitan la formación de A $\beta$  1-42 tienen el potencial de ser agentes modificadores de la enfermedad para el tratamiento de la AD. A $\beta$  1-42 se genera a partir de la proteína precursora de amiloide (APP, por sus siglas en inglés), comprendida por 770 aminoácidos. El extremo N de A $\beta$  1-42 es escindido por  $\beta$ -secretasa (BACE), y a continuación la  $\gamma$ -secretasa escinde el extremo C-terminal. Además de A $\beta$  1-42, la  $\gamma$ -secretasa también libera A $\beta$  1-40 que es el producto de escisión predominante así como A $\beta$  1-38 y A $\beta$  1-43. Estas formas de A $\beta$  también se pueden agregar para formar oligómeros y fibrillas. Así, se esperaría que los inhibidores de BACE evitaran la formación de A $\beta$  1-42 así como A $\beta$  1-40, A $\beta$  1-38 y A $\beta$  1-43 y fueran agentes terapéuticos potenciales en el tratamiento de la AD.

## Sumario de la invención

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



o uno de sus tautómeros o una de sus formas estereoisómeras, en donde

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halo, ciano, alquilo C<sub>1-3</sub>, mono- y polihalo-alquilo(C<sub>1-3</sub>) y cicloalquilo C<sub>3-6</sub>;

R<sup>3</sup> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-3</sub>, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, mono- y polihalo-alquilo(C<sub>1-3</sub>) homoarilo y heteroarilo;

$X^1, X^2, X^3, X^4$  son independientemente  $C(R^4)$  o N, con la condición de que no más de dos ellos representen N; cada  $R^4$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halo, alquilo  $C_{1-3}$ , mono- y polihalo-alquilo( $C_{1-3}$ ), ciano, alquiloxi  $C_{1-3}$ , mono- y polihalo-alquilo( $C_{1-3}$ );

L es un enlace o  $-N(R^5)CO-$ , en donde  $R^5$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-3}$ ;

5 Ar es homoarilo o heteroarilo;

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

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

una de sus sales por adición o uno de sus solvatos.

15 Es ilustrativa de la invención una composición farmacéutica que comprende un excipiente farmacéuticamente aceptable y cualquiera de los compuestos descritos anteriormente. Una ilustración de la invención es una composición farmacéutica elaborada al mezclar cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un excipiente farmacéuticamente aceptable. Es ilustrativo de la invención un procedimiento para elaborar una composición farmacéutica que comprende mezclar cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

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

### Descripción detallada de la invención

25 La presente invención se dirige a compuestos de Fórmula (I) como los definidos anteriormente en la presente memoria y sus sales farmacéuticamente aceptables y solvatos. Los compuestos de Fórmula (I) son inhibidores de la enzima  $\beta$ -secretasa (también conocida como enzima de escisión del sitio  $\beta$ , BACE, BACE1, Asp2 o memapsina 2), y son útiles en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, el deterioro cognitivo leve, la senilidad, la demencia, la demencia asociada con apoplejía, la demencia con cuerpos de Lewy, el síndrome de Down, la demencia asociada con enfermedad de Parkinson y la demencia asociada con amiloide  $\beta$ , preferiblemente la enfermedad de Alzheimer, 30 el deterioro cognitivo leve o la demencia, más preferiblemente la enfermedad de Alzheimer.

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

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

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

35 Ar es homoarilo o heteroarilo; en donde el homoarilo es fenilo o fenilo sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, ciano, alquilo  $C_{1-3}$ , alquiloxi  $C_{1-3}$  y polihalo-alquilo( $C_{1-3}$ );

el heteroarilo se selecciona del grupo que consiste en piridilo, pirimidilo y piracilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, ciano, alquilo  $C_{1-3}$ , alquiloxi  $C_{1-3}$  y polihalo-alquilo( $C_{1-3}$ ); o una de sus sales por adición de ácido o uno de sus solvatos.

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

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

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

Ar es homoarilo o heteroarilo;

en donde el homoarilo es fenilo sustituido con cloro;

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

una de sus sales por adición o uno de sus solvatos.

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

## Definiciones

- 5 "Halo" indicará fluoro, cloro y bromo; "alquilo  $C_{1-3}$ " indicará un grupo alquilo saturado lineal o ramificado que tiene 1, 2 o 3 átomos de carbono, p. ej. metilo, etilo, 1-propilo y 2-propilo; "alquilo  $C_{1-3}$ " indicará un radical éter en el que el alquilo  $C_{1-3}$  es como se define anteriormente; "mono- y polihalo-alquilo( $C_{1-3}$ )" indicará alquilo  $C_{1-3}$  como se define anteriormente, sustituido con 1, 2 3 o cuando sea posible con más átomos de halo como se define anteriormente; "mono- y polihalo-alquilo( $C_{1-3}$ )" indicará un radical éter en el que el mono- y polihalo-alquilo( $C_{1-3}$ ) es como se define anteriormente; "cicloalquilo  $C_{3-6}$ " indicará ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo; "cicloalcanodiilo  $C_{3-6}$ "  
10 indicará un radical bivalente tal como ciclopropanodiilo, ciclobutanodiilo, ciclopentanodiilo y ciclohexanodiilo.
- El término "sujeto", según se usa en la presente memoria, se refiere a un animal, preferiblemente un mamífero, lo más preferiblemente un ser humano, que es o ha sido objeto de tratamiento, observación o experimento.
- El término "cantidad terapéuticamente eficaz", según se usa en la presente memoria, significa la cantidad de compuesto o agente farmacéutico activo que provoca la respuesta biológica o médica en un sistema tisular, un  
15 animal o un ser humano que está siendo buscada por un investigador, veterinario, médico u otro profesional clínico, que incluye el alivio de los síntomas de la enfermedad o el trastorno que se está tratando.
- Según se usa en la presente memoria, se entiende que el término "composición" abarca un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de combinaciones de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.
- 20 Anteriormente y posteriormente en la presente memoria, se entiende que el término "compuesto de Fórmula (I)" incluye sus sales por adición, sus solvatos y sus estereoisómeros.
- Los términos "estereoisómeros" o "formas estereoquímicamente isómeras", anteriormente y posteriormente en la presente memoria, se usan intercambiamente.
- 25 La invención incluye todos los estereoisómeros del compuesto de Fórmula (I) bien como un estereoisómero puro o bien como una mezcla de dos o más estereoisómeros.
- Los enantiómeros son estereoisómeros que son imágenes especulares que no son superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es un racemato o mezcla racémica.
- Los diastereómeros (o diastereoisómeros) son estereoisómeros que no son enantiómeros, es decir no se relacionan como imágenes especulares. Si un compuesto contiene un doble enlace, los sustituyentes pueden estar en la  
30 configuración E o Z. Si un compuesto contiene un grupo cicloalquilo disustituido, los sustituyentes pueden estar en la configuración cis o trans. Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diastereómeros, racematos, isómeros E, isómeros Z, isómeros cis, isómeros trans y sus mezclas.
- La configuración absoluta se especifica según el sistema de Cahn-Ingold-Prelog. La configuración en un átomo asimétrico se especifica bien por R o bien por S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta no se  
35 conoce se pueden designar por (+) o (-) dependiendo de la dirección en la que hacen girar luz polarizada en un plano.
- Cuando se identifica un estereoisómero específico, esto significa que dicho estereoisómero está sustancialmente libre, es decir asociado con menos de 50%, preferiblemente menos de 20%, más preferiblemente menos de 10%, aún más preferiblemente menos de 5%, en particular menos de 2% y lo más preferiblemente menos de 1%, de los  
40 otros isómeros. Así, cuando un compuesto de Fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como (*R*)-, esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero (*S*); cuando un compuesto de Fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como E, esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero Z; cuando un compuesto de Fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como cis, esto significa que el compuesto está sustancialmente libre del isómero trans.
- 45 Los compuestos de Fórmula (I) coexisten en un equilibrio dinámico con los tautómeros de Fórmula (I-1).
- Por otra parte, algunas de las formas cristalinas de los compuestos de la presente invención pueden existir como polimorfos y como tales se entiende que están incluidos en la presente invención. Además, algunos de los compuestos de la presente invención pueden formar solvatos con agua (es decir, hidratos) o disolventes orgánicos comunes, y se entiende que tales solvatos también están abarcados dentro de esta invención
- 50 Para el uso en medicina, las sales de los compuestos de esta invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" atóxicas. Sin embargo, otras sales pueden ser útiles en la preparación de compuestos según esta invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los

compuestos incluyen sales por adición de ácidos que, por ejemplo, se pueden formar al mezclar una solución del compuesto con una solución de un ácido farmacéuticamente aceptable tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido carbónico o ácido fosfórico. Por otra parte, cuando los compuestos de la invención soportan un resto ácido, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden incluir sales de metales alcalinos, p. ej., sales sódicas o potásicas; sales de metales alcalinotérreos, p. ej., sales cálcicas y magnésicas; y sales formadas con ligandos orgánicos adecuados, p. ej., sales de amonio cuaternario.

Ácidos representativos que se pueden usar en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: ácido acético, ácido 2,2-dicloroacético, aminoácidos acilados, ácido adípico, ácido algínico, ácido ascórbico, ácido L-aspártico, ácido benzenosulfónico, ácido benzoico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido (+)-canfórico, ácido canforsulfónico, ácido cáprico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxi-etanosulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido D-glucónico, ácido D-glucurónico, ácido L-glutámico, ácido  $\beta$ -oxo-glutárico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido (+)-L-láctico, ácido ( $\pm$ )-DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido maleico, ácido (-)-L-málico, ácido malónico, ácido ( $\pm$ )-DL-mandélico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico, ácido fosfórico, ácido L-piroglutámico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebáico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiocianico, ácido p-toluenosulfónico, ácido trifluorometilsulfónico y ácido undecilénico. Bases representativas que se pueden usar en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: amoníaco, L-arginina, benetamina, benzatina, hidróxido cálcico, colina, dimetiletanolamina, dietanolamina, dietilamina, 2-(dietilamino)-etanol, etanolamina, etilendiamina, *N*-metil-glucamina, hidrabamina, 1*H*-imidazol, L-lisina, hidróxido magnésico, 4-(2-hidroxietil)-morfolina, piperacina, hidróxido potásico, 1-(2-hidroxietil)-pirrolidina, amina secundaria, hidróxido sódico, trietanolamina, trometamina e hidróxido de cinc.

Los nombres químicos de los compuestos de la presente invención se generan según las reglas de nomenclatura acordadas por the Chemical Abstracts Service. Algunos de los compuestos según la fórmula (I) también pueden existir en su forma tautómera. Se entiende que tales formas, aunque no se indiquen explícitamente en la fórmula anterior, están incluidas dentro del alcance de la presente invención.

#### A. Preparación de los compuestos finales

##### Procedimiento experimental 1

Los compuestos finales según la Fórmula (I) se pueden preparar al hacer reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (II) con una fuente apropiada de amoníaco tal como, por ejemplo, hidróxido amónico o amoníaco acuoso, según el esquema de reacción (1), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, agua o metanol, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a de 60 a 90°C, por ejemplo durante de 4 a 100 horas. En el esquema de reacción (1), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).

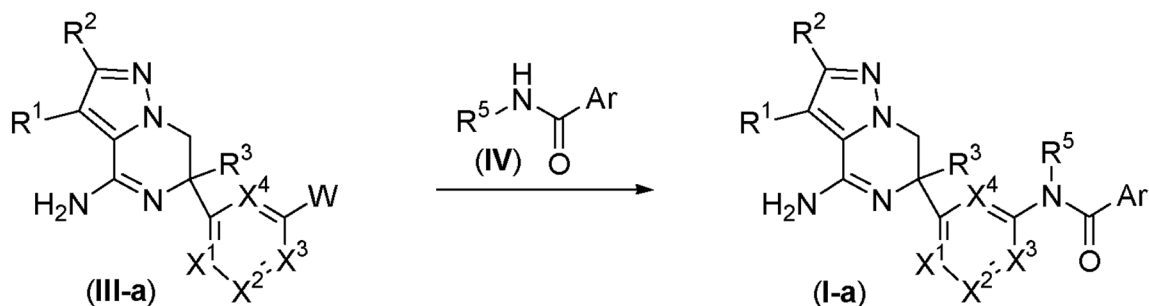


Esquema de Reacción 1

##### Procedimiento experimental 2

Los compuestos finales según la Fórmula (I-a) en la que L es -N(R<sup>5</sup>)CO- se pueden preparar al hacer reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (III-a) con un producto intermedio de Fórmula (IV) según el esquema de reacción (2), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, un catalizador de cobre tal como, por ejemplo, CuI, y una diamina tal como, por ejemplo, (1*R*,2*R*)-(-)-1,2-diaminociclohexano, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 180°C, por ejemplo durante 135 min., bajo

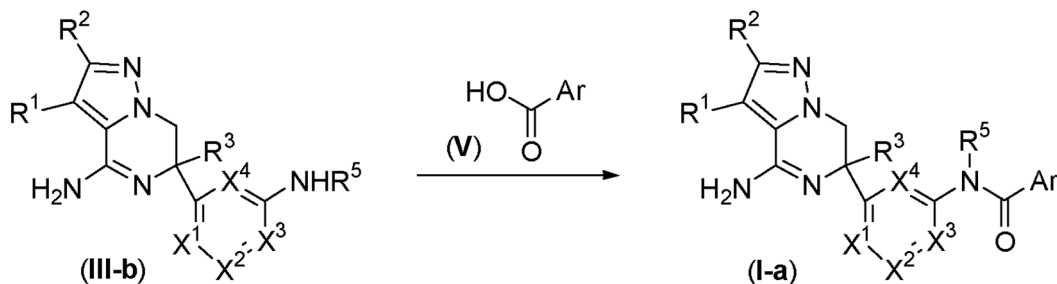
irradiación de microondas. En el esquema de reacción (2), todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y W es halo.



Esquema de Reacción 2

### 5 Procedimiento experimental 3

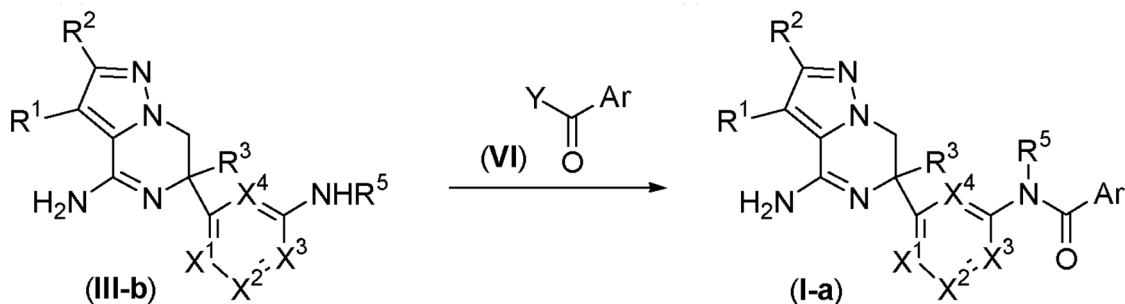
Adicionalmente, los compuestos finales según la Fórmula (I-a) se pueden preparar al hacer reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (III-b) con un producto intermedio de Fórmula (V) según el esquema de reacción (3), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, diclorometano o metanol, opcionalmente en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, *N,N*-diisopropiletilamina, en presencia de un agente de condensación tal como, por ejemplo, hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio o cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 25°C, por ejemplo durante 2 horas. En el esquema de reacción (3), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de Reacción 3

### Procedimiento experimental 4

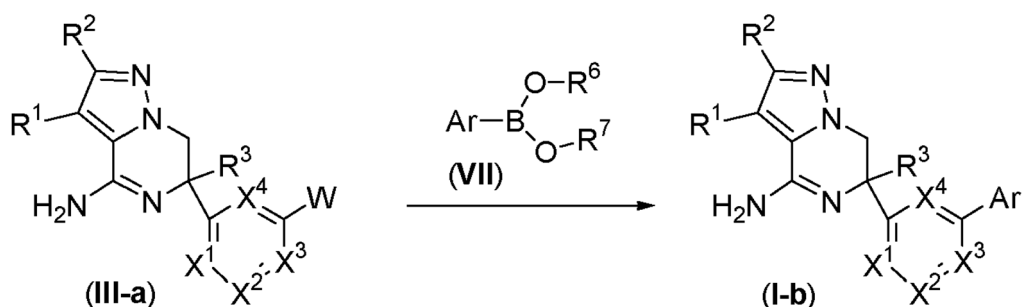
Adicionalmente, los compuestos finales según la Fórmula (I-a) se pueden preparar al hacer reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (III-b) con un producto intermedio de Fórmula (VI) según el esquema de reacción (4), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal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



Esquema de Reacción 4

## Procedimiento experimental 5

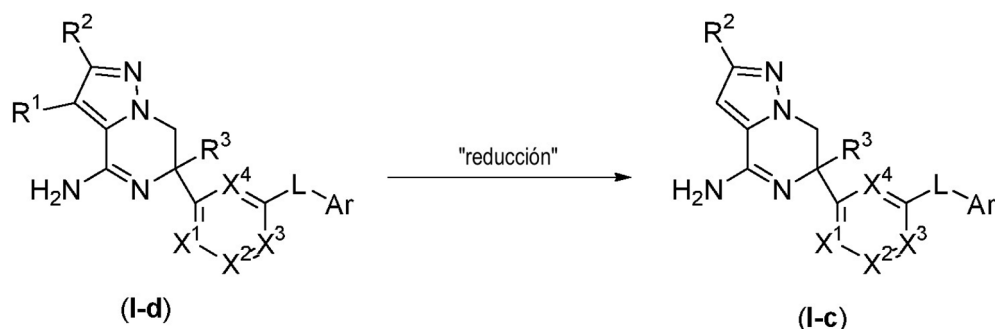
Los compuestos finales según la Fórmula (I-b) en la que L es un enlace se pueden preparar al hacer reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (III-a) con un producto intermedio de Fórmula (VII) según el esquema de reacción (5), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, mezclas de disolventes inertes tales como, por ejemplo, 1,4-dioxano/etanol, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo,  $K_2CO_3$ , un catalizador de complejo de Pd tal como, por ejemplo, tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0), bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a  $80^\circ C$ , por ejemplo durante 20 horas, o por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a  $150^\circ C$ , durante de 10 min. a 30 min. bajo irradiación de microondas. En el esquema de reacción (5), todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y W es halo.  $R^6$  y  $R^7$  pueden ser hidrógeno o alquilo, o se pueden tomar juntos para formar, por ejemplo, un radical bivalente de Fórmula  $-CH_2CH_2-$ ,  $-CH_2CH_2CH_2-$  o  $-C(CH_3)_2C(CH_3)_2-$ .



Esquema de Reacción 5

## Procedimiento experimental 6

Los compuestos finales según la Fórmula (I-c) en la que  $R^1$  es hidrógeno se pueden preparar a partir de los compuestos finales correspondientes de Fórmula (I-d) en la que  $R^1$  se selecciona del grupo que consiste en cloro, bromo y yodo, siguiendo procedimientos de reducción conocidos en la técnica según el esquema de reacción (6). Por ejemplo, dicha reducción se puede llevar a cabo al agitar los reaccionantes bajo una atmósfera de hidrógeno y en presencia de un catalizador apropiado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón vegetal, platino sobre carbón vegetal, níquel Raney y catalizadores similares. Disolventes adecuados son, por ejemplo, agua, alcanos, p. ej. metanol, etanol y similares, ésteres, p. ej. acetato de etilo y similares. A fin de aumentar la velocidad de dicha reacción de reducción, puede ser ventajoso elevar la temperatura y/o la presión de la mezcla de reacción. La hidrogenación adicional no deseada de ciertos grupos funcionales en los reaccionantes y los productos de reacción se puede prevenir mediante la adición de un veneno del catalizador, tal como, por ejemplo, tiofeno y similares, a la mezcla de reacción. En el esquema de reacción (6), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).



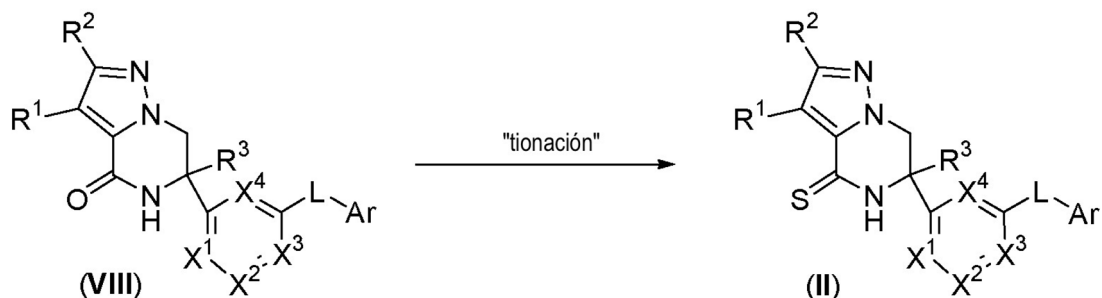
Esquema de Reacción 6

Un número de productos intermedios y materias primas en las preparaciones precedentes son compuestos conocidos que se pueden preparar según metodologías conocidas en la técnica para preparar dichos compuestos o similares y algunos productos intermedios son nuevos. Un número de tales métodos de preparación se describirá posteriormente en la presente memoria con más detalle.

## B. Preparación de los compuestos intermedios

## Procedimiento experimental 7

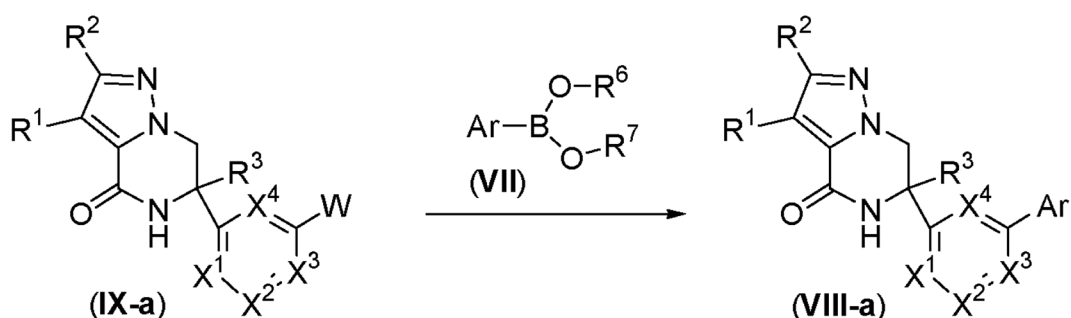
Los productos intermedios según la Fórmula (II) se pueden preparar al hacer reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (VIII) con un reactivo donante de azufre adecuado para la síntesis de tioamidas tal como, por ejemplo, pentasulfuro de fósforo o 2,4-disulfuro de 2,4-bis-(4-metoxifenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano [reactivo de Lawesson] según el esquema de reacción (7), una reacción que se realiza en un disolvente inerte para la reacción, tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano o tolueno, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, piridina, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 100°C, por ejemplo durante 5 horas. En el esquema de reacción (7), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de Reacción 7

## Procedimiento experimental 8

Los productos intermedios según la Fórmula (VIII-a) en la que L es un enlace se pueden preparar al hacer reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (IX-a) con un producto intermedio de Fórmula (VII) según el esquema de reacción (8), una reacción que se realiza en una mezcla adecuada de disolventes inertes tales como, por ejemplo, 1,4-dioxano/agua, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuoso, un catalizador de complejo de Pd tal como, por ejemplo, tetraakis(trifenilfosfina)paladio (0), bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 80°C, por ejemplo durante 20 horas o, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 150°C, por ejemplo durante de 15 a 30 min., bajo irradiación de microondas. En el esquema de reacción (8), todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y W es halo. R<sup>6</sup> y R<sup>7</sup> pueden ser hidrógeno o alquilo, o se pueden tomar juntos para formar, por ejemplo, un radical bivalente de Fórmula -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>-, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>-.

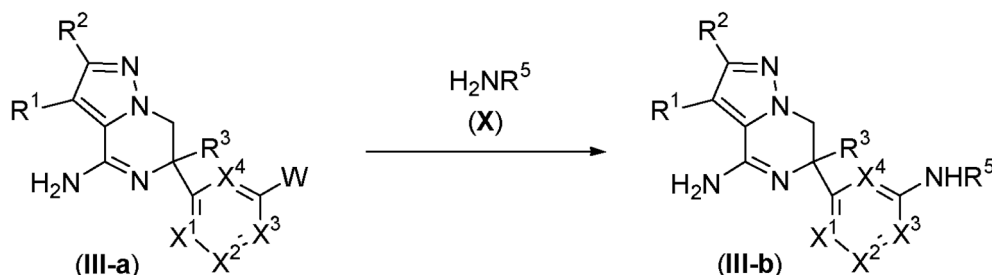


Esquema de Reacción 8

## Procedimiento experimental 9

Los productos intermedios según la Fórmula (III-b) se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (III-a) siguiendo procedimientos de acoplamiento de tipo Buchwald-Hartwig conocidos en la técnica según el esquema de reacción (9). Dicho acoplamiento se puede efectuar mediante el tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (III-a) con un producto intermedio de Fórmula (X) en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, etanol o mezclas de disolventes inertes tales como 1,2-dimetoxietano/agua/ etanol, en presencia de una base adecuada, tal como, por ejemplo, K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> o Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> acuosos, un catalizador de complejo de Pd tal como, por ejemplo, [1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno]-dicloropaladio(II) o *trans*-diacetato de bis(diciclohexilamino)paladio [DAPCy] bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la

mezcla de reacción a 80°C, por ejemplo durante 20 horas o, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 130°C, por ejemplo durante 10 min. bajo irradiación de microondas. En el esquema de reacción (9), todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y W es halo. R<sup>5</sup> es hidrógeno o alquilo C<sub>1-3</sub>. Alternativamente, cuando R<sup>5</sup> es hidrógeno, se pueden obtener asimismo productos intermedios de Fórmula (III-b) siguiendo una síntesis en dos etapas. En primer lugar, se puede realizar un acoplamiento de tipo Buchwald-Hartwig, bajo las condiciones conocidas por el experto en la técnica, entre el producto intermedio (III-a) y una imina estable tal como benzofenonaimina. En la segunda etapa, el producto intermedio (III-b) se puede obtener como una amina primaria al tratar el producto acoplado, disuelto en un disolvente adecuado, tal como isopropanol, con un ácido, tal como, por ejemplo, ácido clorhídrico, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 25°C, por ejemplo durante 2 horas.



Esquema de Reacción 9

## Procedimiento experimental 10

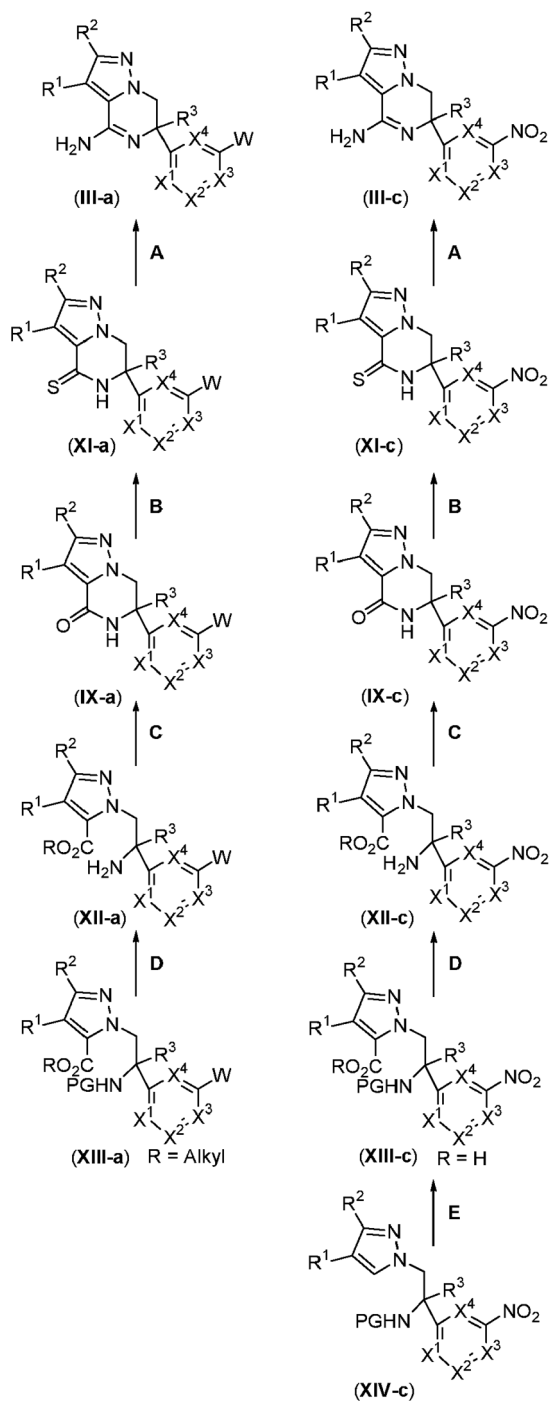
Adicionalmente, los productos intermedios según la Fórmula (III-b) en la que R<sup>5</sup> es hidrógeno se pueden preparar a partir de los correspondientes productos intermedios de Fórmula (III-c) siguiendo procedimientos de reducción de nitro en amino conocidos en la técnica según el esquema de reacción (10). Por ejemplo, dicha reducción se puede efectuar convenientemente en presencia de un agente reductor apropiado tal como cloruro de estaño, cinc o hierro, en un disolvente inerte adecuado tal como etanol o mezclas de solución acuosa de etanol/ácido acético o metanol/cloruro amónico, bajo condiciones de reacción adecuadas, tales como a una temperatura conveniente, que varía típicamente entre 70°C y 110°C, durante un período de tiempo que asegure la terminación de la reacción. El experto en la técnica apreciará que en el caso de que R<sup>1</sup> y/o R<sup>2</sup> en el producto intermedio (III-c) sea un halógeno seleccionado del grupo de cloro, bromo y yodo, y no deseado en el compuesto final, bajo las condiciones descritas anteriormente, también se puede producir un procedimiento de adición-protonación oxidativa, para dar el producto intermedio (III-b), donde R<sup>1</sup> y/o R<sup>2</sup> es hidrógeno. Alternativamente, dicha reducción se puede llevar a cabo al agitar los reaccionantes bajo una atmósfera de hidrógeno y en presencia de un catalizador apropiado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón vegetal, platino sobre carbón vegetal, níquel Raney y catalizadores similares. Disolventes adecuados son, por ejemplo, agua, alcoholes, p. ej. metanol, etanol y similares, ésteres, p. ej. acetato de etilo y similares. A fin de aumentar la velocidad de dicha reacción de reducción, puede ser ventajoso elevar la temperatura y/o la presión de la mezcla de reacción. La hidrogenación adicional no deseada de ciertos grupos funcionales en los reaccionantes y los productos de reacción se puede prevenir mediante la adición de un veneno de catalizador tal como, por ejemplo, tiofeno y similares, a la mezcla de reacción. En el esquema de reacción (10), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de Reacción 10

## Procedimiento experimental 11

Los compuestos de Fórmula (III-a) y (III-c) se pueden preparar generalmente siguiendo las etapas de reacción mostradas en los esquemas de reacción (11) y (12) posteriormente.



Esquema de Reacción 11

**A:** Conversión de tioamida en amidina

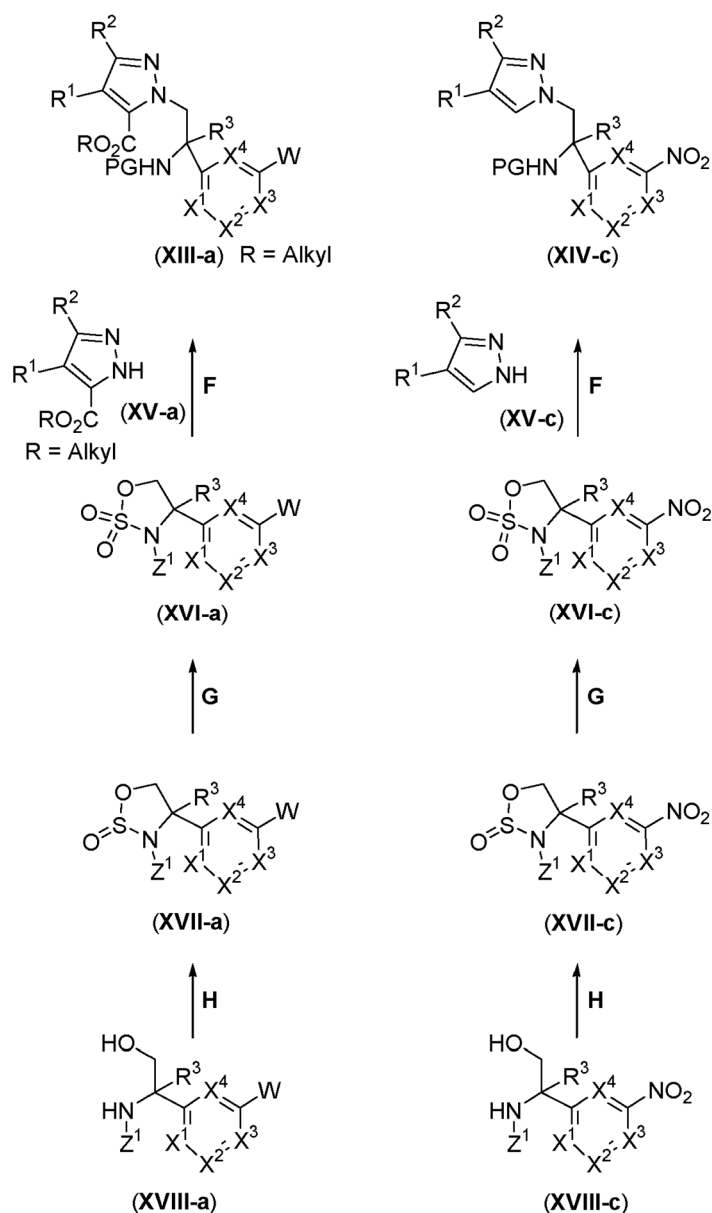
5 **B:** Conversión de amida en tioamida (tionación)

**C:** Ciclación

**D:** Retirada de cualquier grupo protector de N

**E:** Metalación

- Los derivados de amidina en el esquema de reacción (11) anterior se pueden preparar convenientemente a partir de los correspondientes derivados de tioamida siguiendo procedimientos de conversión de tioamida en amidina conocidos en la técnica (etapa de reacción A). Dicha conversión se puede efectuar convenientemente mediante el tratamiento de dichas tioamidas con una fuente de amoníaco tal como, por ejemplo, cloruro amónico o amoníaco acuoso, en un disolvente inerte para la reacción adecuado tal como, por ejemplo, agua o metanol y similares, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a de 60 a 90°C, por ejemplo durante de 6 a 100 horas.
- Los derivados de tioamida en el esquema de reacción (11) anterior se pueden preparar a partir de derivados de amida siguiendo procedimientos de tionación conocidos en la técnica (etapa de reacción B). Dicha conversión se puede efectuar convenientemente mediante el tratamiento de dichas amidas con un agente de tionación tal como, por ejemplo, pentasulfuro de fósforo o 2,4-disulfuro de 2,4-bis-(4-metoxi-fenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano [reactivo de Lawesson], bajo condiciones netas o en un disolvente inerte para la reacción tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano o 1,4-dioxano y similares, opcionalmente en presencia de una base adecuada como piridina, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a de 50 a 100°C, por ejemplo durante 24 horas.
- Los derivados de amida de Fórmula (IX-a) y (IX-c) en el esquema de reacción (11) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XII-a) y (XII-c) siguiendo procedimientos de ciclación conocidos en la técnica (etapa de reacción C). Dicha ciclación se puede efectuar convenientemente mediante el tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (XII-a) y (XII-c) con una base adecuada, tal como acetato potásico, en un disolvente de reacción adecuado, tal como, por ejemplo, etanol y similares, a de 70°C a 100°C, durante un período de tiempo que asegure la terminación de la reacción.
- Los productos intermedios de Fórmula (IX-a) en la que  $R^2$  es hidrógeno se pueden preparar a partir de un producto intermedio de Fórmula (IX-a-1) en la que  $R^2$  es nitro, mediante la reducción del grupo nitro al amino, seguido por una reacción de diazotización-desaminación.
- Los productos intermedios de Fórmula (IX-a) en la que  $R^2$  es difluorometilo se pueden preparar a partir de un producto intermedio de Fórmula (IX-a-2) en la que  $R^2$  es alcóxicarbonilo, mediante la conversión del grupo éster en un aldehído mediante uno de los varios métodos conocidos por el experto en la técnica, seguido por la reacción del grupo aldehído con DAST.
- Los compuestos intermedios de Fórmula (XII-a) y (XII-c) en el esquema de reacción (11) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XIII-a) y (XIII-c) mediante la retirada del grupo protector que se lleva a cabo según procedimientos conocidos por el experto en la técnica (etapa de reacción D).
- El compuesto intermedio de Fórmula (XIII-c) en el esquema de reacción (11) anterior se puede preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XIV-c) siguiendo procedimientos de metalación conocidos en la técnica (etapa de reacción E). Dicha metalación se puede efectuar convenientemente mediante el tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (XIV-c) con una base adecuada, tal como diisopropilamida de litio, y un electrófilo adecuado como hielo seco o cloroformiato de etilo, en un disolvente de reacción adecuado, tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano, a de -80°C a 0°C, durante un período de tiempo que asegure la terminación de la reacción.



Esquema de Reacción 12

F: Alquilación

G: Oxidación de oxatiazolidina

5 H: Formación de oxatiazolidina

Los productos intermedios según la Fórmula (XIII-a) y (XIV-c) en el esquema de reacción (12) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XVI-a) y (XVI-c), en las que  $Z^1$  es un grupo protector de aminas tal como, por ejemplo, el grupo *tert*-butoxicarbonilo, siguiendo procedimientos de alquilación conocidos en la técnica (etapa de reacción F). Dicha alquilación se puede efectuar convenientemente mediante el tratamiento de (XV-a) y (XV-c), respectivamente, con los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XVI-a) y (XVI-c) con una base adecuada tal como, por ejemplo, carbonato sódico o carbonato de cesio, en un disolvente inerte adecuado tal como, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida o dimetoxisulfóxido, a temperatura baja tal como, por ejemplo, 0°C durante 30 min. y a continuación a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 100°C durante de 24 horas a 100 horas o, por ejemplo, calentando la mezcla de reacción a 130°C, por ejemplo durante de 30 min. a 45 min., bajo irradiación de microondas.

Los productos intermedios según la Fórmula (XVI-a) y (XVI-c) en el esquema de reacción (12) anterior se pueden preparar al hacer reaccionar los compuestos intermedios de Fórmula (XVII-a) y (XVII-c) siguiendo procedimientos de oxidación conocidos en la técnica (etapa de reacción G). Dicha oxidación se puede efectuar convenientemente mediante el tratamiento de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XVII-a) y (XVII-c) con un agente oxidante tal como, por ejemplo, peryodato sódico en un disolvente inerte adecuado tal como, por ejemplo, acetonitrilo/agua, en presencia de cloruro de rutenio (III), a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 25°C, por ejemplo durante 2 horas.

Los productos intermedios según la Fórmula (XVII-a) y (XVII-c) en el esquema de reacción (12) anterior se pueden preparar al hacer reaccionar los compuestos intermedios de Fórmula (XVIII-a) y (XVIII-c) siguiendo procedimientos de formación de sulfamido conocidos en la técnica (etapa de reacción H). Dicha transformación se puede efectuar convenientemente mediante el tratamiento de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XVIII-a) y (XVIII-c) con cloruro de tionilo, en presencia de una base tal como, por ejemplo, piridina, en un disolvente inerte para la reacción adecuado, tal como, por ejemplo, acetonitrilo, a una temperatura baja tal como, por ejemplo, -40°C, por ejemplo durante 30 min., y a continuación a una temperatura moderadamente alta tal como, por ejemplo, 25°C, por ejemplo durante de 24 a 72 horas.

Los compuestos intermedios de Fórmula (XVIII-a) y (XVIII-c) en las que  $Z^1$  es un grupo protector de aminas tal como, por ejemplo, el grupo *tert*-butoxicarbonilo, generalmente se pueden preparar siguiendo procedimientos de tipo Strecker conocidos en la técnica descritos en la bibliografía.

#### Farmacología

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

La invención se refiere a un compuesto según la Formula general (I), una de sus formas estereoisómeras o una de sus sales por adición de ácido o base farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos, para el uso como un medicamento.

La invención también se refiere a un compuesto según la Formula general (I), una de sus formas estereoisómeras o una de sus sales por adición de ácido o base farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos, para el uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades o afecciones seleccionadas del grupo que consiste en AD, MCI, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, angiopatía cerebral amiloide, demencia por múltiples infartos, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson y demencia asociada con amiloide  $\beta$ .

La invención también se refiere al uso de un compuesto según la Formula general (I), una de sus formas estereoisómeras o una de sus sales por adición de ácido o base farmacéuticamente aceptables o uno de sus solvatos, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la prevención de una cualquiera de las afecciones patológicas mencionadas anteriormente en la presente memoria.

#### Composiciones farmacéuticas

La presente invención también proporciona composiciones para prevenir o tratar enfermedades en las que es beneficiosa la inhibición de  $\beta$ -secretasa, tales como la enfermedad de Alzheimer (AD), el deterioro cognitivo leve, la senilidad, la demencia, la demencia con cuerpos de Lewy, el síndrome de Down, la demencia asociada con apoplejía, la demencia asociada con enfermedad de Parkinson y la demencia asociada con amiloide  $\beta$ , comprendiendo dichas composiciones una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la Fórmula (I) y un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aunque es posible que el ingrediente activo se administre solo, es preferible presentarlo como una composición farmacéutica. Según esto, la presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la presente invención, junto con un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable. El excipiente o diluyente debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición y no perjudicial para sus receptores.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden preparar mediante cualquier método bien conocido en la técnica de la farmacia. Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto particular, en forma de base o en forma de sal por adición, como el ingrediente activo se combina en una mezcla íntima con un excipiente farmacéuticamente aceptable, que puede tomar una variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas están deseablemente en una forma de dosificación unitaria adecuada, preferiblemente, para administración sistémica tal como administración oral, percutánea o parenteral; o administración tópica tal como a través de inhalación, un aerosol nasal, gotas oculares o

a través de una crema, un gel, un champú o similares. Por ejemplo, al preparar las composiciones en forma de dosificación oral, se puede emplear cualquiera de los medios farmacéuticos adecuados, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o excipientes sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan la forma de dosificación unitaria más ventajosa, en cuyo caso obviamente se emplean excipientes farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, el excipiente habitualmente comprenderá agua estéril, al menos en gran parte, aunque se pueden incluir otros ingredientes, por ejemplo, para favorecer la solubilidad. Por ejemplo, se pueden preparar soluciones inyectables en las que el excipiente comprende solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y de glucosa. Se pueden preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear excipientes líquidos, agentes de suspensión y similares apropiados. En las composiciones adecuadas para la administración percutánea, el excipiente comprende opcionalmente un agente mejorador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinados con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones menores, aditivos que no provocan efectos perjudiciales significativos en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de diversos modos, p. ej., como un parche transdérmico, como una pipeta o como una pomada.

Es especialmente ventajoso formular las susodichas composiciones farmacéuticas en una forma de dosificación unitaria para la facilidad de administración y la uniformidad de dosificación. Forma de dosificación unitaria, según se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones presentes, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, que contienen cada una una cantidad predeterminada de ingrediente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado asociada con el excipiente farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas de dosificación unitarias son comprimidos (incluyendo comprimidos ranurados y revestidos), cápsulas, píldoras, bolsitas de polvos, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y sus múltiplos segregados.

La dosificación exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto de Fórmula (I) particular usado, la afección particular que se trata, la gravedad de la afección que se trata, la edad, el peso, el sexo, el alcance del trastorno y el estado físico general del paciente particular así como otra medicación que esté tomando el individuo, como es bien conocido por los expertos en la técnica. Por otra parte, es evidente que dicha cantidad diaria eficaz se puede disminuir o incrementar dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescriba los compuestos de esta invención.

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

Los presentes compuestos se pueden usar para administración sistémica, tal como administración oral, percutánea o parenteral; o administración tópica tal como a través de inhalación, un aerosol nasal, gotas oculares o a través de una crema, un gel, un champú o similares. Preferiblemente, los compuestos se administran oralmente. La dosificación exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto según la Fórmula (I) particular usado, la afección particular que se trata, la gravedad de la afección que se trata, la edad, el peso, el sexo, el alcance del trastorno y el estado físico general del paciente particular así como otra medicación que esté tomando el individuo, como es bien conocido para los expertos en la técnica. Por otra parte, es evidente que dicha cantidad eficaz se puede reducir o incrementar dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de esta invención.

La cantidad de un compuesto de Fórmula (I) que se puede combinar con un material excipiente para producir una sola forma de dosificación puede variar dependiendo de la enfermedad tratada, la especie de mamífero y el modo particular de administración. Sin embargo, como una norma general, las dosis unitarias adecuadas para los compuestos de la presente invención pueden contener, por ejemplo, preferiblemente, entre 0,1 mg y aproximadamente 1.000 mg del compuesto activo. Una dosis unitaria preferida está entre 1 mg y aproximadamente 500 mg. Una unidad más preferida está entre 1 mg y aproximadamente 300 mg. Una dosis unitaria aún más preferida está entre 1 mg y aproximadamente 100 mg. Tales dosis unitarias se pueden administrar más de una vez al día, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6 veces al día, pero preferiblemente 1 o 2 veces al día, de modo que la dosificación total para un adulto de 70 kg esté en el intervalo de 0,001 a aproximadamente 15 mg por kg de peso del sujeto por administración. Una dosificación preferida es de 0,01 a aproximadamente 1,5 mg por kg de peso del sujeto por administración, y tal terapia se puede prolongar durante un número de semanas o meses, y en algunos casos, años. Sin embargo, se entenderá que el nivel de dosis específico para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores incluyendo la actividad del compuesto específico empleado; la edad, el peso corporal, la salud general, el sexo y la dieta del individuo que se trata; el tiempo y la vía de administración; la velocidad de excreción; otros fármacos que hayan sido administrados previamente; y la gravedad de la enfermedad particular sometida a terapia, como es bien entendido por los expertos en la materia.

Puede ser necesario usar dosificaciones fuera de estos intervalos en algunos casos, como será evidente para los expertos en la técnica. Además, se apunta que el profesional clínico o el médico responsable sabrá cómo y cuándo iniciar, interrumpir, ajustar o terminar la terapia junto con la respuesta del paciente individual.

Se entiende que los siguientes ejemplos ilustran pero no limitar el alcance de la presente invención.

## 5 Parte experimental

Posteriormente en la presente memoria, el término "AcOH" significa ácido acético, "HCl" significa ácido clorhídrico, "AcOEt" significa acetato de etilo, "DCM" significa diclorometano, "DIPE" significa éter diisopropílico, "DMF" significa *N,N*-dimetilformamida, "CO<sub>2</sub>" significa dióxido de carbono, "DMSO" significa dimetilsulfóxido, "Et<sub>2</sub>O" significa éter dietílico, "Et<sub>3</sub>N" significa trietilamina, "EtOH" significa etanol, "iPrOH" significa isopropanol, "iPrNH<sub>2</sub>" significa isopropilamina, "MeCN" significa acetonitrilo, "MeOH" significa metanol, "NaOH" significa hidróxido sódico, "NH<sub>4</sub>Cl" significa cloruro amónico, "NH<sub>3</sub>" significa amoníaco, "NaHCO<sub>3</sub>" significa bicarbonato sódico, "NaHSO<sub>4</sub>" significa hidrogenosulfato sódico, "Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>" significa carbonato sódico, "Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>" significa sulfato sódico, "H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>" significa ácido sulfúrico, "MgSO<sub>4</sub>" significa sulfato magnésico, "CuI" significa yoduro de cobre, "TFA" significa ácido trifluorometanosulfónico, "RuO<sub>2</sub>" significa óxido de rutenio, "DAST" significa trifluoruro de dietilaminoazufre, "DBU" significa 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno, "N<sub>2</sub>" significa nitrógeno, "CO<sub>2</sub>" significa dióxido de carbono, "ac." significa acuoso, "min." significa minutos, "p.f." significa punto de fusión, "rac." significa racémico, "R<sub>t</sub>" significa tiempos de retención, "THF" significa tetrahidrofurano, "SFC" cromatografía de fluidos supercríticos.

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

20 Las reacciones de hidrogenación se realizaron en un hidrogenador de flujo continuo H-CUBE® de ThalesNano Nanotechnology Inc.

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

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro 341 de Perkin-Elmer con una lámpara de sodio y se presentaron como sigue: [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> (λ, c g/100 ml, disolvente, T°C).

30 Las reacciones de flujo se realizaron en un dispositivo modular R2+R4 de Vapourtec disponible comercialmente.

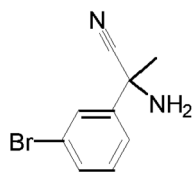
Para los productos intermedios clave, así como algunos compuestos finales, la configuración absoluta de los centros quirales (indicada como R y/o S) se estableció a través de la comparación con muestras de configuración conocida, o el uso de técnicas analíticas adecuadas para la determinación de la configuración absoluta, tales como VCD (dicroísmo circular vibratorio) o cristalografía de rayos X. Cuando la configuración absoluta en el centro quiral se desconoce, se designa arbitrariamente R\*.

## Ejemplos

### A. Preparación de los productos intermedios

#### Ejemplo A1

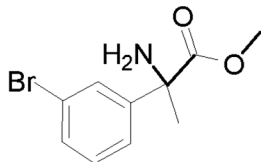
Preparación del producto intermedio A1: rac-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propionitrilo



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

## Ejemplo A2

Preparación del producto intermedio A2: rac-éster metílico de ácido 2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propiónico

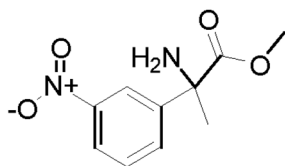


5 El producto intermedio A1 (20 g, 88,9 mmol) se disolvió en HCl/MeOH (500 ml). La mezcla se sometió a reflujo durante 4 días. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, se añadieron AcOEt (100 ml) y H<sub>2</sub>O (100 ml) y la mezcla se extrajo con AcOEt (2 x 100 ml). Las capas acuosas combinadas se basificaron con una solución de NH<sub>3</sub> hasta pH = 8 y se extrajeron con AcOEt (5 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y el disolvente se evaporó a vacío para dar el producto intermedio A2 (10,6 g, 46% de rendimiento) como un aceite. LCMS: 258 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 3,77 min. (método 7).

10 El siguiente producto intermedio se preparó según los procedimientos sintéticos descritos en los ejemplos A1 - A2:

## Ejemplo A3

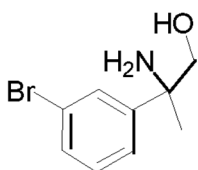
Preparación del producto intermedio A3: rac-éster metílico de ácido 2-amino-2-(3-nitro-fenil)-propiónico



15 A partir de rac-2-amino-2-(3-nitro-fenil)-propionitrilo. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt/éter de petróleo) para dar el producto intermedio 3 (63%). LCMS: 225 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,98 min. (método 9).

## Ejemplo A4

Preparación del producto intermedio A4: rac-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propan-1-ol

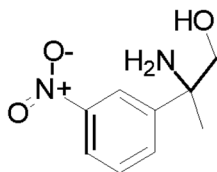


20 Se añadió gota a gota hidruro de litio y aluminio (1 M en THF; 22 ml, 22 mmol) a una solución agitada del producto intermedio A2 (7,5 g, 29,1 mmol) en THF (200 ml) a -15°C. Se dejó que la mezcla se calentara hasta 0°C durante 1 hora. Se añadió más THF (150 ml) y se añadió gota a gota una solución saturada de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> hasta que no se formó más hidrógeno. Se añadió Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se dejó agitando durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se filtró sobre tierra diatomácea, se lavó con THF y el disolvente se evaporó a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A4 (5,70 g, 85% de rendimiento) como un aceite. LCMS: 230 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,69 min. (método 1).

25

## Ejemplo A5

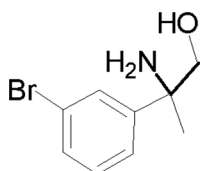
Preparación del producto intermedio A5: rac-2-amino-2-(3-nitro-fenil)-propan-1-ol



- 5 Se añadió en porciones borohidruro sódico (16,3 g, 429,4 mmol) a una solución agitada del producto intermedio A3 (48,3 g, 214,7 mmol) en MeOH (500 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 10 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se basificó con una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> hasta pH = 9 y se extrajo con AcOEt (3 x 200 ml). Las capas orgánicas se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtraron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A5 (30,26 g, 72% de rendimiento). LCMS: 197 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 3,16 min. (método 8); p. f. 238,7-241,6°C (WRS-2A).

## 10 Ejemplo A6

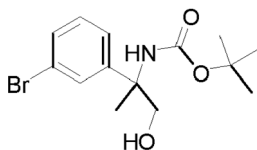
Preparación del producto intermedio A6: (*R*)-2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propan-1-ol



- 15 Una muestra de producto intermedio A4 (15,4 g) se separó en los enantiómeros correspondientes mediante SCF preparativa en (Chiralpak® Daicel AD x 250 mm). Fase móvil (CO<sub>2</sub>, MeOH con iPrNH<sub>2</sub> al 0,2%) para dar el producto intermedio A6 (7,21 g, 40% de rendimiento). LCMS: 230 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,71 min. (método 1); α<sub>D</sub>: -14,9 ° (589 nm, c 0,2946% p/v, MeOH, 20°C).

## Ejemplo A7

Preparación del producto intermedio A7: (*R*)-éster *terc*-butilico de ácido [1-(3-bromo-fenil)-2-hidroxi-1-metil-etil]-carbámico

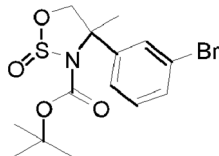


- 20 Se añadió en porciones carbonato de di-*terc*-butilo (19,8 g, 90,7 mmol) a una solución agitada del producto intermedio A6 (11,6 g, 50,4 mmol) en una mezcla de solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> (100 ml) y THF (100 ml) a 0°C. La mezcla se agitó a 0°C durante 10 min. y a temperatura ambiente durante 15 horas. La mezcla se enfrió en un baño de hielo/H<sub>2</sub>O y se acidificó con agitación hasta pH = 1-2 con NaHSO<sub>4</sub>. La capa orgánica se separó y la capa ac. se extrajo adicionalmente con AcOEt. Las capas orgánicas combinadas se separaron, se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna corta (gel de sílice; AcOEt/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el producto intermedio A7 (16,47 g, 99% de rendimiento) como un aceite incoloro que se solidificó al reposar. LCMS: 330 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2,58 min. (método 1).

30

## Ejemplo A8

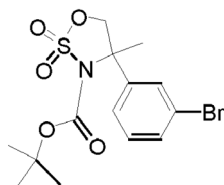
Preparación del producto intermedio A8: (*R*)-[3-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-(3-bromo-fenil)-4-metil-[1,1,3]oxatiazolidin-2-óxido



- 5 Una solución del producto intermedio A7 (14,3 g, 43,3 mmol) en MeCN seco (80 ml) se añadió gota a gota a una solución agitada de cloruro de tionilo (7,9 ml, 108,3 mmol) en MeCN seco (226 ml) enfriada hasta -40°C y bajo una atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla de reacción se agitó durante 30 min. a -40°C antes de que se añadiera piridina (17,4 ml, 216,5 mmol). Se dejó que la reacción se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 64 horas. Los disolventes se evaporaron a vacío. El residuo se trató con Et<sub>2</sub>O. Los sólidos se filtraron y el filtrado se concentró a vacío para dar el producto intermedio A8 (15,5 g, 95% de rendimiento) como un aceite rojo. El producto se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional. LCMS: 393 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 3,4 min. (método 1).

## Ejemplo A9

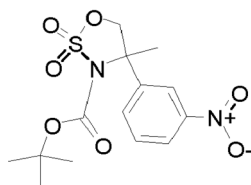
Preparación del producto intermedio A9: (*R*)-[3-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-(3-bromo-fenil)-4-metil-[1,1,3]oxatiazolidin-2,2-dióxido



- 15 Se añadió cloruro de rutenio (III) (85 mg, 0,41 mmol) a una solución del producto intermedio A8 (15,3 g, 40,8 mmol) en una mezcla de MeCN y H<sub>2</sub>O (1:1) (438 ml) a 0°C, seguido por la adición de peryodato sódico (13,1 g, 61,2 mmol). Se dejó que la reacción se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 2 horas. La mezcla se filtró a través de tierra diatomácea y se lavó con AcOEt (125 ml). Se añadieron al filtrado H<sub>2</sub>O (125 ml) y AcOEt (250 ml). La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A9 (14,4 g, 90% de rendimiento) como un sólido blanco. LCMS: 409 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 3,3 min. (método 1); p. f. 133,1°C (FP90); α<sub>D</sub>: -35,6° (589 nm, c 0,55 P/v%, DMF, 20°C).
- 20 El siguiente producto intermedio se preparó según los procedimientos sintéticos descritos en los ejemplos A7 - A9:

## Ejemplo A10

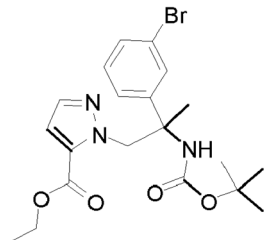
Preparación del producto intermedio A10: rac-[3-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-(3-nitro-fenil)-4-metil-[1,1,3]oxatiazolidin-2,2-dióxido



- 30 Preparado a partir de rac-[3-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-(3-nitro-fenil)-4-metil-[1,1,3]oxatiazolidin-2-óxido. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; DCM) para dar el producto intermedio A10 como un sólido amarillo (95%). LCMS: 376 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,35 min. (método 2).

## Ejemplo A11

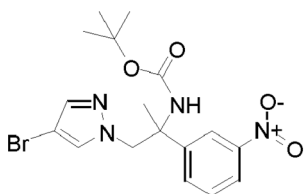
Preparación del producto intermedio A11: éster etílico de ácido 2-[2-(3-bromo-fenil)-2*R*-*tert*-butoxicarbonilamino-propil]-2*H*-pirazol-3-carboxílico



- 5 Se añadió carbonato de cesio (824 mg, 2,53 mmol) a una mezcla del producto intermedio A9 (0,661 g, 1,69 mmol) y éster etílico de ácido 2*H*-pirazol-3-carboxílico (260 mg, 1,86 mmol) en DMSO (8 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. y a 110°C durante 3 horas. La mezcla se trató con una solución saturada de ácido cítrico y DCM (20 ml) y se agitó durante 2 horas. La fase orgánica se separó y se trató con H<sub>2</sub>O (10 ml) y se extrajo con DCM (2 x 10 ml). La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los
- 10 disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A11 (186 mg, 24% de rendimiento) como un aceite incoloro. LCMS: 452 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 4,23 min. (método 3).

## Ejemplo A12

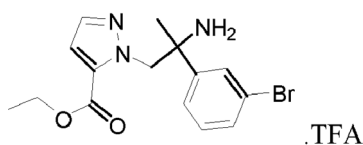
- 15 Preparación del producto intermedio A12: rac-éster *tert*-butílico de ácido [2-(4-bromo-pirazol-1-il)-1-metil-1-(3-nitro-fenil)-etil]-carbámico



- 20 Se añadió carbonato sódico (59 mg, 0,56 mmol) a una mezcla del producto intermedio A10 (100 mg, 0,28 mmol) y 4-bromo-1*H*-pirazol (53 mg, 0,36 mmol) en DMF (3 ml). La mezcla se agitó a 130°C durante 2 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se trató con H<sub>2</sub>O (2 ml) y se extrajo con DCM (2 x 10 ml). La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A12 (100 mg, 84% de rendimiento) como un sólido blanco después del tratamiento con Et<sub>2</sub>O frío. LCMS: 425 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 3,57 min. (método 3); p. f. 159,3°C (FP 90).
- 25

## Ejemplo A13

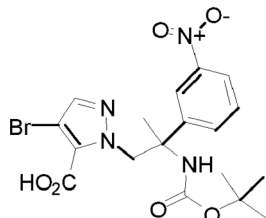
Preparación del producto intermedio A13: (*R*)-éster etílico de ácido 2-[2-amino-2-(3-bromo-fenil)-propil]-2*H*-pirazol-3-carboxílico



- 30 Se añadió ácido trifluoroacético (1 ml) a una solución agitada del producto intermedio A11 (186 mg, 0,41 mmol) en DCM (5 ml) a 0°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A13 (180 mg, 94% de rendimiento) como un aceite incoloro que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. LCMS: 352 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2,69 min. (método 3).

## Ejemplo A14

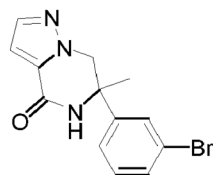
Preparación del producto intermedio A14: *rac*-ácido 4-bromo-2-[2-*tert*-butoxicarbonilamino-2-(3-nitro-fenil)-propil]-2*H*-pirazol-3-carboxílico



- 5 Una solución 2 M de diisopropilamida de litio en THF y heptano (0,25 ml, 0,49 mmol) se añadió a una solución de producto intermedio A12 (100 mg, 0,24 mmol) en THF (3 ml) a -78°C. La mezcla de reacción se agitó a -78°C durante 1 hora. A continuación, se añadió hielo seco y la mezcla se calentó hasta temperatura ambiente a lo largo de 2 horas. La mezcla se trató con una solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl y se extrajo con DCM (3 x 10 ml). La capa orgánica se separó, se secó, se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A14 (60 mg, 54% de rendimiento) como un aceite incoloro. LCMS: 469 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,74 min. (método 3).

## Ejemplo A15

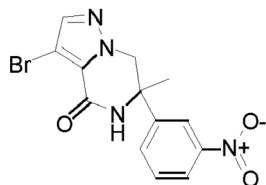
Preparación del producto intermedio A15: (*R*)-6-(3-bromo-fenil)-6-metil-6,7-dihidro-5*H*-pirazolo[1,5-*a*]piracin-4-ona



- 15 Se añadió acetato potásico (83 mg, 0,85 mmol) a una solución del producto intermedio A13 (180 mg, 0,39 mmol) en EtOH (5 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 90°C durante 5 horas. El disolvente se evaporó a vacío. El residuo se trató con una solución ac. 0,5 M de HCl y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A15 (100 mg, 84% de rendimiento) como un aceite incoloro. LCMS: 306 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2,01 min. (método 4).

## Ejemplo A16

- 25 Preparación del producto intermedio A16: *rac*-3-bromo-6-metil-6-(3-nitro-fenil)-6,7-dihidro-5*H*-pirazolo[1,5-*a*]piracin-4-ona



## Método A

- 30 Se añadió ácido trifluoroacético (3 ml) a una solución del producto intermedio A14 (200 mg, 0,4 mmol) en DCM (20 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. A continuación, se añadió acetato potásico (59 mg, 0,06 mmol) en EtOH (3 ml). La mezcla se agitó a 90°C durante 3 horas. Los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se trató con una solución ac. 1 M de HCl (10 ml) y el producto se extrajo con AcOEt (4 x 20 ml). La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones

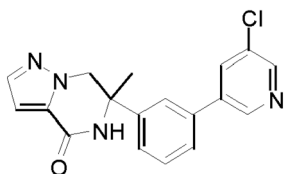
deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A16 (120 mg, 19% de rendimiento) como un sólido blanco. LCMS: 351 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2,45 min. (método 5); p. f. 285,3°C (FP 90).

#### Método B

- 5 Se añadió ácido trifluoroacético (100 ml) a una solución agitada del producto intermedio A23 (6,5 g, 13,07 mmol) en DCM (200 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El disolvente se evaporó a vacío, a continuación se añadieron acetato potásico (1,924 g, 19,60 mmol) y EtOH (100 ml) y la reacción se agitó a reflujo durante 4 horas. El producto en bruto se evaporó a vacío y el residuo se trató con una solución ac. 1 M de HCl hasta pH = 3. El producto en bruto se extrajo con AcOEt (3 x 50 ml), la fase orgánica se evaporó hasta sequedad y el producto en bruto se trató con EtOH y Et<sub>2</sub>O fríos para proporcionar el producto intermedio A16 como un sólido beige. Los disolventes combinados se evaporaron a vacío y se purificaron mediante cromatografía en columna (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para proporcionar una partida adicional del producto intermedio A16 como un sólido blanco (cantidad combinada 4 g, 87%). LCMS: 351 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,65 min. (método 3).

#### Ejemplo A17

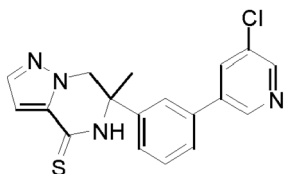
- 15 Preparación del producto intermedio A17: (R)-6-[3-(5-cloro-piridin-3-il)-fenil]-6-metil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ona



- 20 Se añadió tetraakis(trifenilfosfina)paladio(0) (34 mg, 0,029 mmol) a una suspensión agitada del producto intermedio A15 (90 mg, 0,29 mmol) y ácido 5-cloropiridin-3-borónico (55 mg, 0,35 mmol) en una mezcla de 1,4-dioxano (5 ml) y una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3 ml) a temperatura ambiente bajo N<sub>2</sub>. La mezcla se agitó a 150°C durante 15 min. bajo irradiación de microondas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío y se lavaron con EtOH y Et<sub>2</sub>O fríos para dar el producto intermedio A17 (81 mg, 81% de rendimiento) como un sólido blanco. LCMS: 339 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,89 min. (método 2).

#### Ejemplo A18

Preparación del producto intermedio A18: (R)-6-[3-(5-cloro-piridin-3-il)-fenil]-6-metil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracino-4-tiona

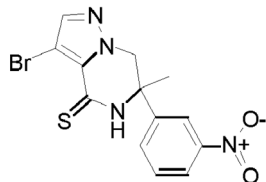


- 30 Se añadió pentasulfuro de fósforo (71 mg, 0,32 mmol) a una solución del producto intermedio A17 (90 mg, 0,27 mmol) en piridina (4 ml) y la mezcla se calentó a 100°C durante 5 horas. El disolvente se evaporó a vacío y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna corta (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A18 (60 mg, 63% de rendimiento) como un aceite amarillo. LCMS: 355 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2,4 min. (método 3).

Los siguientes productos intermedios se prepararon según los procedimientos sintéticos descritos en el ejemplo A18:

## Ejemplo A19

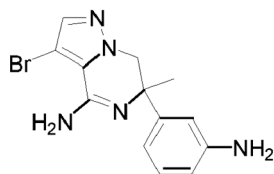
Preparación del producto intermedio A19: rac-3-bromo-6-metil-6-(3-nitro-fenil)-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracin-4-tiona



- 5 Preparado a partir del producto intermedio A16. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A19 como un sólido amarillo (87%). LCMS: 366 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2,37 min. (método 3).

## Ejemplo A20

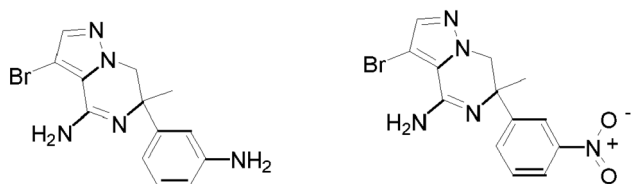
- 10 Preparación del producto intermedio A20: rac-6-(3-amino-fenil)-3-bromo-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina



- 15 Se añadió solución ac. al 32% de NH<sub>3</sub> (3 ml) a una mezcla agitada del producto intermedio A19 (600 mg, 1,63 mmol) en una solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH (5 ml) en un tubo cerrado herméticamente. La mezcla se agitó a 60°C durante 4 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se disolvió en EtOH (20 ml) y se añadió cloruro de estaño(II) (372 mg, 1,96 mmol). La mezcla se agitó a 90°C durante 24 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se filtró a través de celita y el disolvente se evaporó a vacío. El residuo se trató con una solución ac. al 8% de NaOH (10 ml) y se extrajo con DCM (30 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A20 (200 mg, 38% de rendimiento) como un aceite amarillo. LCMS: 320 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,5 min. (método 6).

## Ejemplo A21

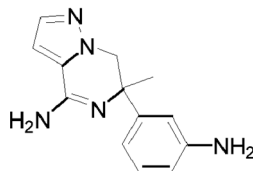
- 25 Preparación del producto intermedio A20: rac-6-(3-amino-fenil)-3-bromo-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina y el producto intermedio A21: rac-3-bromo-6-metil-6-(3-nitro-fenil)-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina



- 30 Se añadió una solución ac. al 32% de NH<sub>3</sub> (4 ml) a una mezcla agitada del producto intermedio A19 (3,8 g, 10,35 mmol) en una solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH (6 ml) en un tubo cerrado herméticamente. La mezcla se agitó a 100°C durante 6 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío y el producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio 20 (100 mg, 3% de rendimiento), el producto intermedio 21 (200 mg, 6% de rendimiento) y una fracción que contenía una mezcla de producto intermedio 20 y 21 (2,5 g). LCMS: A20: 322 [M+H]<sup>+</sup>, R<sub>t</sub>: 0,87 min. (método 3); A21: 350 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,95 min. (método 2)

## Ejemplo A22

Preparación del producto intermedio A22: rac-6-(3-amino-fenil)-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo [1,5-a]piracin-4-ilamina



## Método A

- 5 Una solución del producto intermedio A20 (200 mg, 0,62 mmol) en MeOH (30 ml) y Et<sub>3</sub>N (5 ml) se hidrogenó en un reactor H-Cube (1,2 ml/min, cartucho de 30 mm de paladio sobre carbono 10%, modo lleno de hidrógeno, 50°C, 3 ciclos). Los disolventes se concentraron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio 22 (100 mg, 66% de rendimiento) como un sólido blanco. LCMS: 415 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,58 min. (método 3).

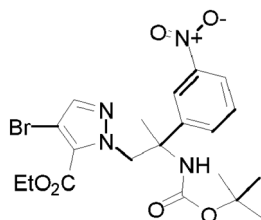
## Método B

- 15 Se añadió cinc (1,33 g, 20,40 mmol) a la fracción que contenía una mezcla de los productos intermedios 20 y 21 descritos en el Ejemplo A21 (2,5 g, 7,46 mmol) en EtOH (100 ml) y AcOH (20 ml). La mezcla se agitó a reflujo durante 24 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se filtró a través de celita y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio 22 (0,93 g, 52% de rendimiento) como un aceite amarillo que precipita al reposar.

- 20 Los siguientes productos intermedios se prepararon según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A14, usando cloroformato de etilo en lugar de hielo seco:

## Ejemplo A23

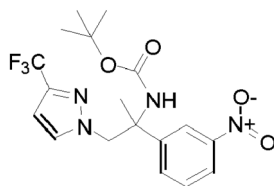
Preparación del producto intermedio A23: rac-éster etílico de ácido 4-bromo-2-[2-terc-butoxicarbonilamino-2-(3-nitrofenil)-propil]-2H-pirazol-3-carboxílico



- 25 Preparado a partir del producto intermedio A12. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt/heptano) para dar el producto intermedio A23 (65%). LCMS: 499 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 4,09 min. (método 3).

## Ejemplo A24

Preparación del producto intermedio A24: rac-éster *terc*-butilico de ácido [1-metil-1-(3-nitro-fenil)-2-(3-trifluorometilpirazol-1-il)-etil]-carbámico

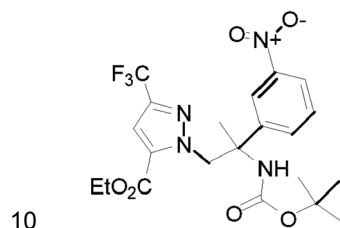


- 30 Se añadió el producto intermedio A10 (2,5 g, 6,976 mmol) a una solución agitada de 3-(trifluorometil)pirazol (1,234 g, 9,069 mmol) y carbonato potásico (1,928 g, 13,952 mmol) en DMF (175 ml) a temperatura ambiente. A continuación,

- 5 la mezcla se calentó a 110°C durante 2 horas. El disolvente se evaporó y el residuo se trató con una solución saturada de ácido cítrico (80 ml) y AcOEt (160 ml). La mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. La capa orgánica se separó, se secó y se evaporó a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se evaporaron a vacío para dar un aceite transparente, que, después del tratamiento con Et<sub>2</sub>O frío y reposo, precipitó como un sólido blanco (2 g, 69%).

## Ejemplo A25

Preparación del producto intermedio A25: rac-éster etílico de ácido 2-[2-terc-butoxicarbonilamino-2-(3-nitrofenil)-propil]-5-trifluorometil-2H-pirazol-3-carboxílico

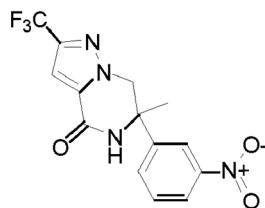


Preparado a partir del producto intermedio A24. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt/heptano) para dar el producto intermedio A25 (51%). LCMS: 487 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 4,22 min. (método 3).

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A16 - Método B:

## Ejemplo A26

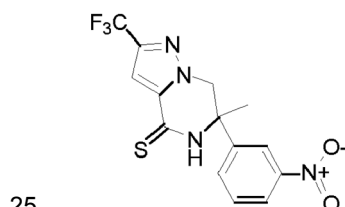
- 15 Preparación del producto intermedio A26: rac-6-metil-6-(3-nitro-fenil)-2-trifluorometil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ona



- 20 Preparado a partir del producto intermedio A25. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A26 como un sólido blanco (93%). LCMS: 339 [M-H]<sup>-</sup>; R<sub>t</sub>: 2,21 min. (método 3). El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A18 - A21:

## Ejemplo A27

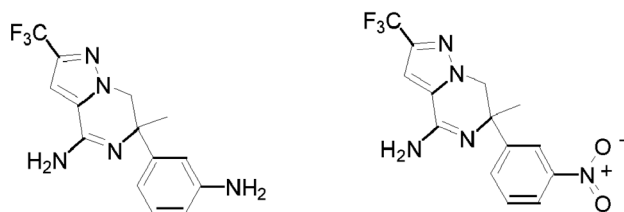
Preparación del producto intermedio A27: rac-6-metil-6-(3-nitro-fenil)-2-trifluorometil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracina-4-tiona



Preparado a partir del producto intermedio A26. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A27 como un sólido amarillo (95%). LCMS: 355 [M-H]<sup>-</sup>; R<sub>t</sub>: 1,29 min. (método 2).

## Ejemplo A28

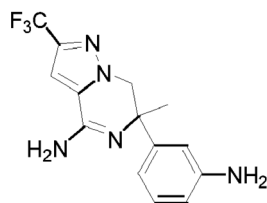
Preparación del producto intermedio A28: rac-6-(3-amino-fenil)-6-metil-2-trifluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina y el producto intermedio A29: 6-metil-6-(3-nitro-fenil)-2-trifluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina



Preparados a partir del producto intermedio A27. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A28 (16%) y el producto intermedio A29 (59%). LCMS: A28: 308 [M-H]<sup>-</sup>; R<sub>t</sub>: 0,77 min. (método 2); A29: 338 [M-H]<sup>-</sup>; R<sub>t</sub>: 2,28 min. (método 3),

## Ejemplo A29

Preparación del producto intermedio A28: rac-6-(3-amino-fenil)-6-metil-2-trifluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina

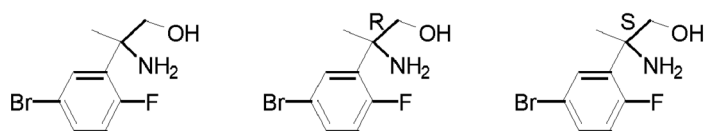


Se añadió hierro (272 mg, 4,87 mmol) a una mezcla del producto intermedio 29 (340 mg, 1 mmol) y NH<sub>4</sub>Cl (100 mg) en MeOH (20,4 ml) y H<sub>2</sub>O (6,8 ml). La reacción se agitó a 80°C durante 5 horas. El producto en bruto se enfrió y se filtró sobre celita y el disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para proporcionar el producto intermedio 28 como un aceite transparente (260 mg, 84% de rendimiento). LCMS: 310 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2,50 min. (método 5).

El siguiente producto intermedio A30 se preparó según los procedimientos sintéticos descritos en los ejemplos A1 - A4:

## Ejemplo A30

Preparación del producto intermedio A30: rac-2-amino-2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-propan-1-ol, el producto intermedio A31: (*R*)-2-amino-2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-propan-1-ol y el producto intermedio A32 (*S*) (*S*)-2-amino-2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-propan-1-ol:



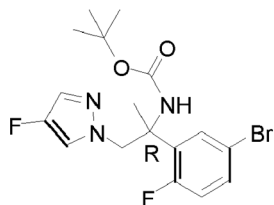
Preparados a partir de 1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-etanona.

Este material racémico se purificó adicionalmente mediante SFC preparativa en Chiralpak Diacel AD 20 μm (2.000 g), fase móvil (heptano al 70%, EtOH al 30% con Et<sub>3</sub>N al 0,1%). Las fracciones deseadas para cada enantiómero se recogieron y se concentraron a vacío para dar el producto intermedio A31 (44%) y el producto intermedio A32 (44%).

El siguiente producto intermedio se preparó según los procedimientos sintéticos descritos en los ejemplo A7 - A12:

## Ejemplo A31

Preparación del producto intermedio A33: (*R*)-[éster *terc*-butilico de ácido 1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2-(4-fluoropirazol-1-il)-1-metil-etil]-carbámico

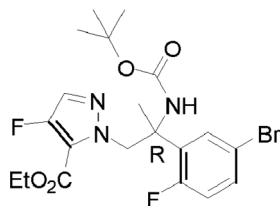


- 5 Preparado a partir del producto intermedio A31. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt/heptano) para dar el producto intermedio A33 como un aceite transparente (55%). LCMS: 418 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,57 min. (método 2).

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A25:

## Ejemplo A32

- 10 Preparación del producto intermedio A34: éster etílico de ácido (*R*)-2-[2-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2-tercbutoxicarbonilamino-propil]-4-fluoro-2H-pirazol-3-carboxílico

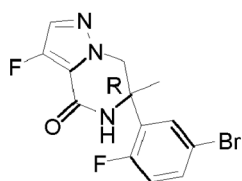


- 15 Preparado a partir del producto intermedio A33. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt/heptano) para dar el producto intermedio A34 como un aceite transparente (67%). LCMS: 490 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,71 min. (método 2).

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A16 - Método B:

## Ejemplo A33

Preparación del producto intermedio A35: (*R*)-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3-fluoro-6-metil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ona

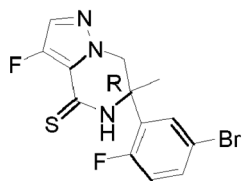


- 20 Preparado a partir del producto intermedio A34. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A35 como un aceite (90%). LCMS: 343 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,96 min. (método 2).

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A18:

## Ejemplo A34

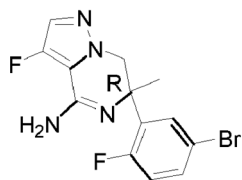
Preparación del producto intermedio A36: (*R*)-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3-fluoro-6-metil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracina-4-tiona



- 5 Preparado a partir del producto intermedio A35. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A36 como un sólido amarillo (85%). LCMS: 360 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,19 min. (método 2).

## Ejemplo A35

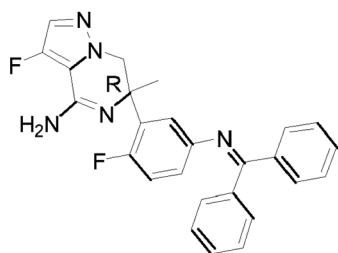
- 10 Preparación del producto intermedio A37: (*R*)-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3-fluoro-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina



- 15 Se añadieron solución ac. al 32% de NH<sub>3</sub> (1,5 ml) y una solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH (3 ml) al producto intermedio A36 (330 mg, 0,921 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 100°C en un tubo cerrado herméticamente durante 6 horas, y a continuación, después de enfriar, el disolvente se retiró a vacío. El material en bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron para proporcionar el producto intermedio A37 como un aceite transparente (260 mg, 83%). LCMS: 343 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,03 min. (método 2).

## Ejemplo A36

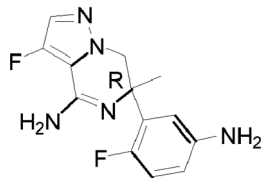
- 20 Preparación del producto intermedio A38: (*R*)-6-[5-(benzhidrilden-amino)-2-fluoro-fenil]-3-fluoro-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina



- 25 Se añadió tolueno (58 ml) a una mezcla del producto intermedio A37 (3 g, 8,178 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (749 mg, 0,818 mmol), 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (1,528 g, 2,453 mmol) y *tert*-butóxido sódico (1,415 g, 14,72 mmol) en un tubo cerrado herméticamente bajo N<sub>2</sub> a temperatura ambiente. La mezcla se barrió con N<sub>2</sub> durante unos pocos min. y a continuación se añadió benzofenonaimina (2,745 ml, 16,356 mmol) y la mezcla se agitó a 90°C durante 18 horas. La mezcla se concentró a vacío y a continuación la mezcla se diluyó con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y el disolvente se concentró a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el producto intermedio A38 como un sólido amarillo claro (3 g, 83%). LCMS: 442 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,39 min. (método 2).
- 30

## Ejemplo A37

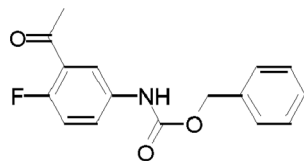
Preparación del producto intermedio A39: (*R*)-6-(5-amino-2-fluoro-fenil)-3-fluoro-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-*a*]piracin-4-ilamina



- 5 Se añadió HCl al 37% (1,05 ml) a una solución del producto intermedio A38 (3 g, 6,795 mmol) en iPrOH (78 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se concentró y a continuación se trituró con Et<sub>2</sub>O. El sólido se separó por filtración y se recogió en iPrOH. Se añadió a esto NaHCO<sub>3</sub> (5,709 g) y la mezcla se agitó durante 1 hora, a continuación se filtró y el filtrado se concentró a vacío. El producto se purificó mediante
- 10 cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar un aceite amarillo claro. El material se trató con una mezcla de DIPE/Et<sub>2</sub>O 3:1 para proporcionar el producto intermedio A39 como un sólido amarillo (1,1 g, 58%). LCMS: 278 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,56 min. (método 2).

## Ejemplo A38

Preparación del producto intermedio A40: éster bencílico de ácido (3-acetil-4-fluoro-fenil)-carbámico

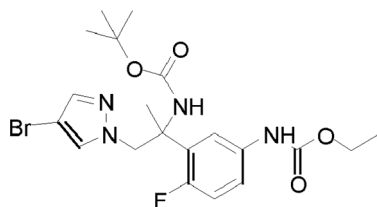


- 15 Se añadió cloroformiato de bencilo (3 ml, 21,5 mmol) a una mezcla de 1-(5-amino-2-fluorofenil)etanona (3 g, 19,6 mmol) y bromuro de tetrabutilamonio a temperatura ambiente. La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas, el producto en bruto se trató con AcOEt (50 ml) y H<sub>2</sub>O (50 ml), la fase orgánica se separó y se evaporó a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; MeOH/DCM). Las
- 20 fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para proporcionar el producto intermedio A40 como un sólido de color crema (4,7 g, 84%). LCMS: 286 [M-H]<sup>-</sup>; R<sub>t</sub>: 2,81 min. (método 3).

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito para la síntesis del producto intermedio A11:

## Ejemplo A39

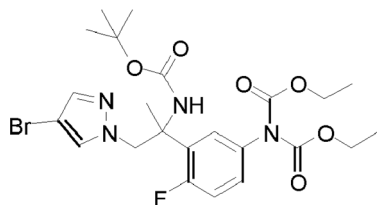
- 25 Preparación del producto intermedio A41: *rac*-éster etílico de ácido {3-[2-(4-bromo-pirazol-1-il)-1-*tert*-butoxicarbonilamino-1-metil-etil]-4-fluoro-fenil}-carbámico



- 30 Preparado a partir del producto intermedio A40. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt/heptano) seguido por lavado con DIPE para dar el producto intermedio A41 como un sólido blanco (72%). LCMS: 487 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 3,56 min. (método 3).

## Ejemplo A40

Preparación del producto intermedio A42: *rac*-2-[2-[5-[bis(etoxicarbonil)amino]-2-fluoro-fenil]-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)propil]-4-bromo-pirazol-3-carboxilato de etilo

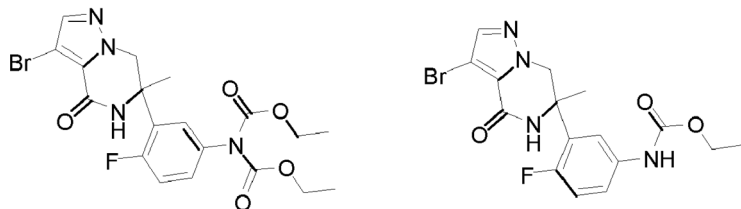


- 5 Se añadió diisopropilamida de litio (2 M en ciclohexano/etilbenceno/THF, 7,36 ml, 14,721 mmol) a una solución agitada del producto intermedio A41 (2,1 g, 4,327 mmol) en THF seco (66 ml) a -70°C bajo atmósfera de N<sub>2</sub>. La mezcla se agitó a -70°C durante 1 hora, a continuación se añadió cloroformato de etilo (0,91 ml, 9,519 mmol) a -70°C y la reacción se calentó a -30°C durante 2 horas. El producto en bruto se desactivó con una solución saturada de NH<sub>4</sub>Cl (30 ml) a -50°C y se calentó hasta temperatura ambiente, el producto en bruto se extrajo con AcOEt (3 x 20 ml), la fase orgánica se evaporó a vacío, se secó, el producto en bruto resultante se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt/heptano). Las fracciones deseadas se recogieron y se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A42 (1,6 g, 59%). LCMS: 631 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 4,22 min. (método 3).

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el Ejemplo A16 - Método B:

## 15 Ejemplo A41

Preparación del producto intermedio A43: *rac*-N-[3-(3-bromo-6-metil-4-oxo-5,7-dihidropirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-N-etoxicarbonil-carbamato de etilo y el producto intermedio A44: *rac*-N-[3-(3-bromo-6-metil-4-oxo-5,7-dihidropirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]carbamato de etilo

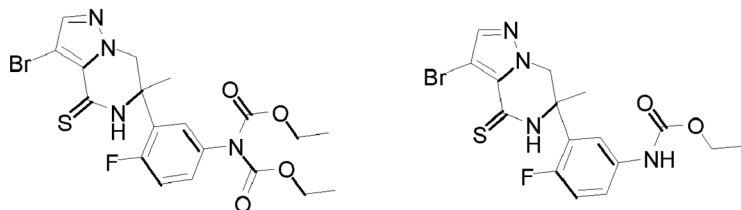


- 20 Preparados a partir del producto intermedio A42. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt/heptano) para dar el producto intermedio A43 como un sólido blanco (52%) y el producto intermedio A44 como un sólido color crema (20%). LCMS: A43: 485 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2,15 min. (método 3); A44: 413 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,98 min. (método 2)

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A18:

## 25 Ejemplo A42

Preparación del producto intermedio A45: *rac*-N-[3-(3-bromo-6-metil-4-thioxo-5,7-dihidropirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-N-etoxicarbonil-carbamato de etilo y el producto intermedio A46: *rac*-N-[3-(3-bromo-6-metil-4-thioxo-5,7-dihidropirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]carbamato de etilo

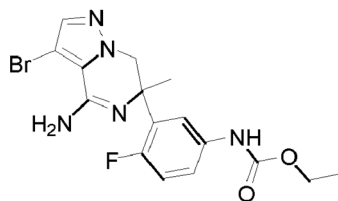


- 30 Preparados a partir del producto intermedio A43 y A44. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A45 como un sólido amarillo (65%) y el producto intermedio A46 como un sólido amarillo (28%). LCMS: A45: 501 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2,70 min. (método 3); A46: 429 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 2,53 min. (método 3).

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A35:

#### Ejemplo A43

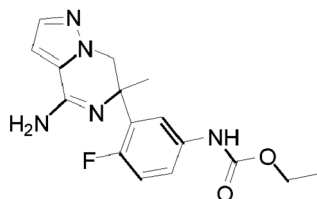
Preparación del producto intermedio A47: rac-éster etílico de ácido [3-(4-amino-3-bromo-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-carbámico



Preparado a partir de los productos intermedios A45 y A46. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A47 como un sólido color crema que se usó como tal en la siguiente etapa. El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A22 - Método B:

#### Ejemplo A44

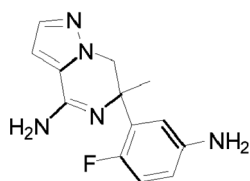
Preparación del producto intermedio A48: rac-éster etílico de ácido [3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo [1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-carbámico



Preparado a partir del producto intermedio A47. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A48 como un aceite (71%). LCMS: 322 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,63 min. (método 2).

#### Ejemplo A45

Preparación del producto intermedio A49: 6-(5-amino-2-fluoro-fenil)-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina

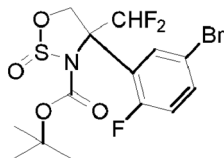


Se añadió el producto intermedio A48 (300 mg, 0,905 mmol) a una solución de HCl (6 M en H<sub>2</sub>O, 17,1 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 110°C durante 35 horas, a continuación el disolvente se retiró a vacío y se trató con una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo con AcOEt (3x 10 ml). La capa orgánica se separó y se evaporó a vacío. El material en bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron hasta el producto intermedio A49 como un aceite transparente (160 mg, 68%). LCMS: 260 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,51 min. (método 3).

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A8:

## Ejemplo A46

Preparación del producto intermedio A50: rac-éster *tert*-butílico de ácido 4-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4-difluorometil-2-oxo-2λ<sup>4</sup>-[1,2,3]oxatiazolidin-3-carboxílico

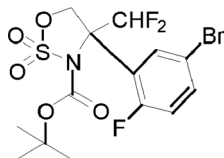


- 5 Preparado a partir de éster 1,1-dimetiletilico de ácido *N*-[1-(5-bromo-2-fluorofenil)-2,2-difluoro-1-(hidroximetil)etil]carbámico. Producto intermedio A50 obtenido como un aceite amarillo (material en bruto, mezcla de diaestereoisómeros, 100%).

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el ejemplo A9:

## Ejemplo A47

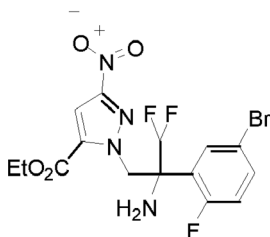
- 10 Preparación del producto intermedio A51: rac-éster *tert*-butílico de ácido 4-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-4-difluorometil-2,2-dioxo-2λ<sup>6</sup>-[1,2,3]oxatiazolidin-3-carboxílico



- 15 Preparado a partir del producto intermedio A50. La trituración en heptano seguida por cromatografía en columna (gel de sílice; DCM) para dar el producto intermedio A51 como un sólido blanco (78%). LCMS: 465 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,46 min. (método 2).

## Ejemplo A48

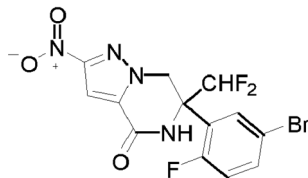
Preparación del producto intermedio A52: rac-1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2,2-difluoro-1-(5-metil-3-nitro-pirazol-1-ilmetil)-etilamina



- 20 Se añadió DBU (5,1 ml, 34,103 mmol) a temperatura ambiente al producto intermedio A51 (6,8 g, 15,238 mmol) y 5-nitro-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (3,4 g, 18,365 mmol) en MeCN (150 ml). La mezcla resultante se agitó 60°C durante 18 horas. A continuación, el disolvente se evaporó a vacío y se añadió al residuo HCl (4 M en dioxano, 40 ml) a temperatura ambiente. La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, a continuación el disolvente se evaporó a vacío. Se añadieron al residuo H<sub>2</sub>O y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sat. y la mezcla se extrajo con DCM. La
- 25 capa orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; DCM en heptano 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio 52 como una espuma pegajosa (4,6 g, 67%). LCMS: 453 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,46 min. (método 2).

## Ejemplo A49

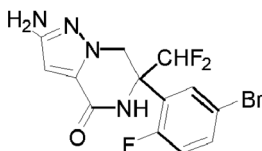
Preparación del producto intermedio A53: rac-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-6-difluorometil-2-nitro-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ona



- 5 Se añadió DBU (4,126 ml, 27,6 mmol) a una mezcla agitada del producto intermedio A52 (4,15 g, 9,198 mmol) en MeCN (45 ml) en un tubo cerrado herméticamente. La mezcla se agitó a 150°C durante 30 min. bajo irradiación de microondas. La mezcla se diluyó con NH<sub>4</sub>Cl al 10% y se extrajo con DCM. La capa orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y el disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt). Las fracciones deseadas se recogieron y se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A54 (2,48 g, 67%). LCMS: 405 [M-H]<sup>-</sup>; R<sub>t</sub>: 1,10 min. (método 2).

## Ejemplo A50

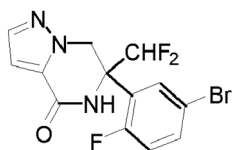
Preparación del producto intermedio A54: rac-2-amino-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-6-difluorometil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ona



- 15 El producto intermedio A53 (2,4 g, 5,924 mmol) se disolvió en MeOH (150 ml). La solución se hidrogenó con un cartucho de RuO<sub>2</sub> (50°C, lleno de hidrógeno, 1 ml/min). El disolvente se evaporó a vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el producto intermedio A54 como un sólido blancuzco (2,1 g, 94%). LCMS: 377 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,74 min. (método 2).

## Ejemplo A51

Preparación del producto intermedio A55: rac-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-6-difluorometil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ona

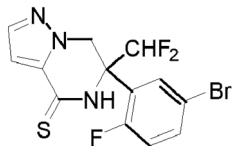


- 25 Una mezcla del producto intermedio A54 (1,8 g, 4,798 mmol), EtOH (36 ml) y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (0,767 ml) se calentó hasta 90°C. A continuación, se añadió en porciones nitrito sódico (828 mg, 11,995 mmol) y la mezcla se agitó a 90°C durante 20 min. A continuación, la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente, se vertió en Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sat. y H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el producto intermedio A55 como un sólido blanco (1,25 g, 72%). LCMS: 403 [M+MeCN+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,92 min. (método 2).

El siguiente producto intermedio se preparó según el procedimiento sintético descrito en el Ejemplo A18:

## Ejemplo A52

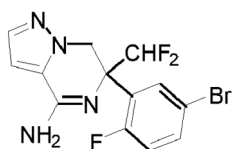
Preparación del producto intermedio A56: rac-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-6-difluorometil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracina-4-tiona



- 5 Preparado a partir del producto intermedio A55. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; DCM) para dar el producto intermedio 56 como un sólido amarillo (1,14 g, 88%). LCMS: 419 [M+MeCN+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,19 min. (método 2).

## Ejemplo A53

- 10 Preparación del producto intermedio A57: rac-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-6-difluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina

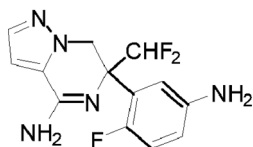


- 15 Una solución del producto intermedio 56 (1,12 g, 2,977 mmol) en NH<sub>3</sub> 7 M en MeOH (30 ml) se agitó bajo irradiación de microondas durante 30 min. a 120°C. El disolvente se evaporó a vacío y el residuo se trató con DCM y se lavó con solución diluida de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el producto intermedio 57 como un sólido amarillo (1,03 g, 96%). LCMS: 361 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,99 min. (método 2).

El siguiente producto intermedio se preparó según los procedimientos sintéticos descritos en los Ejemplos A36 - A37:

## 20 Ejemplo A54

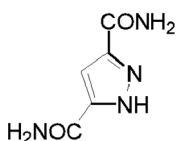
Preparación del producto intermedio A58: rac-6-(5-amino-2-fluoro-fenil)-6-difluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina



- 25 Preparado a partir del producto intermedio A54. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; 7 M NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM) para dar el producto intermedio 58 como una espuma blancuzca (86%). LCMS: 296 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,61 min. (método 2).

## Ejemplo A55

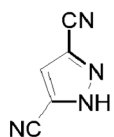
Preparación del producto intermedio A59: diamida de ácido 1H-pirazol-3,5-dicarboxílico



- 30 Se disolvió pirazol-3,5-dicarboxilato de dietilo (5,2 g, 24,5 mmol) en NH<sub>3</sub> 7 M en MeOH y la mezcla se calentó a 70°C en un tubo cerrado herméticamente durante 48 horas. A continuación, el disolvente se evaporó para suministrar el producto intermedio A59 (3,74 g, 99%) como un sólido.

## Ejemplo A56

Preparación del producto intermedio A60: 1H-pirazol-3,5-dicarbonitrilo

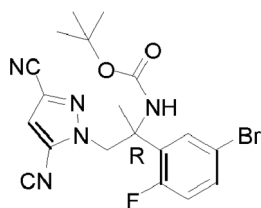


- 5 Se añadió oxidocloruro de fósforo (11,249 ml, 120,679 mmol) a una mezcla del producto intermedio 59 (3,72 g, 24,136 mmol) en MeCN (90 ml) a 0°C. La mezcla se agitó en un tubo cerrado herméticamente a 120°C durante 5 horas (hasta que el sólido desapareció). La reacción se vertió en una mezcla de hielo/H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el producto intermedio A60 como un sólido, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. LCMS: 117 [M-H]<sup>-</sup>; R<sub>t</sub>: 0,61 min. (método 2).

- 10 El siguiente producto intermedio se preparó según los procedimientos sintéticos descritos en los Ejemplos A7 - A12:

## Ejemplo A57

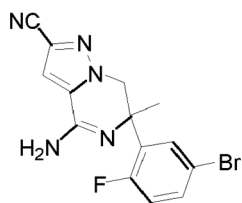
Preparación del producto intermedio A61: (*R*)-éster *tert*-butilico de ácido [1-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2-(3,5-diciano-pirazol-1-il)-1-metil-etil]-carbámico



- 15 Preparado a partir del producto intermedio A31. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt/DCM) para dar el producto intermedio A61 como una espuma (60%). LCMS: 467 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,57 min. (método 2).

## Ejemplo A58

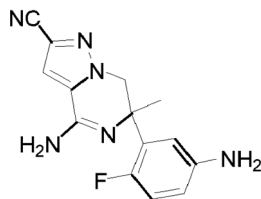
- 20 Preparación del producto intermedio A62: (*R*)-4-amino-6-(5-bromo-2-fluorofenil)-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracino-2-carbonitrilo



- 25 Se añadió ácido trifluoroacético (4 ml) a una mezcla agitada del producto intermedio A61 (4,483 g, 8,4 mmol) en DCM (40 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 20 horas a temperatura ambiente, a continuación se basificó con una solución sat. de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; NH<sub>3</sub> 7 N en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para suministrar el producto intermedio A62 (2,9 g, 99%). LCMS: 349 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 1,13 min. (método 2).

## Ejemplo A59

Preparación del producto intermedio A63: (*R*)-4-amino-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracino-2-carbonitrilo

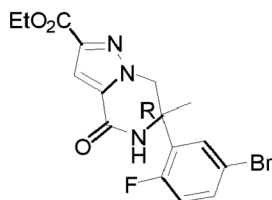


- 5 La reacción se dispuso en dos partidas. Se presenta la cantidad total de material usado. Se añadió CuI (342 mg, 1,795 mmol) a una suspensión del producto intermedio A62 (500 mg, 1,436 mmol), azida sódica (284 mg, 4,308 mmol), *N,N*-dimetiletilendiamina (255  $\mu$ l, 2,369 mmol) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (457 mg, 4,308 mmol) en MeCN (10 ml) y la reacción se desgasificó. La mezcla se calentó a 110°C durante 4 horas y a continuación a 120°C durante 2 horas adicionales. A continuación, la mezcla se desactivó con HCl 1 M y la capa acuosa se basificó con NH<sub>4</sub>OH y se extrajo con AcOEt (3x). Las capas orgánicas combinadas se secaron (MgSO<sub>4</sub>), se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; solución 7 N de NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el producto intermedio A63 (300 mg, 65%). LCMS: 285 [M+H]<sup>+</sup>; R<sub>t</sub>: 0,74 min. (método 2).

- 15 El siguiente producto intermedio se preparó según los procedimientos sintéticos descritos en los Ejemplos A7 - A9, A11, A13 y A15:

## Ejemplo A60

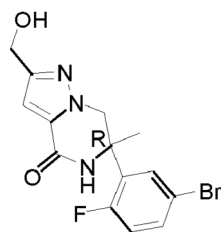
Preparación del producto intermedio A64: (*R*)-éster etílico de ácido 6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-6-metil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-pirazolo[1,5-a]piracin-2-carboxílico



- 20 Preparado a partir de pirazol-3,5-dicarboxilato de dietilo. El producto intermedio A64 se usó como un sólido blanco en bruto en la reacción posterior.

## Ejemplo A61

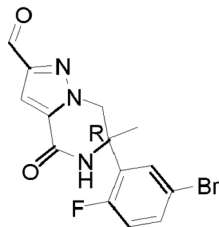
Preparación del producto intermedio A65: (*R*)-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2-hidroximetil-6-metil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ona



- 25 Se añadió borohidruro sódico (3,094 g, 81,774 mmol) a una solución agitada del producto intermedio 64 (3,6 g, 9,086 mmol) en THF (10 ml) y MeOH (5 ml) a 0°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se enfrió hasta 0°C, se trató con H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se secó (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), se filtró y el disolvente se evaporó a vacío para dar el producto intermedio A65 (3,2 g, 99%) como un sólido blanco.

## Ejemplo A62

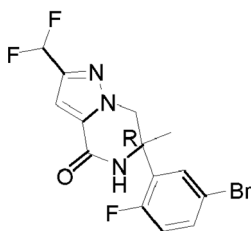
Preparación del producto intermedio A66: (*R*)-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-6-metil-4-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-pirazolo[1,5-*a*]piracin-2-carbaldehído



- 5 Se añadió dióxido de manganeso (7 g, 80,5 mmol) a una solución del producto intermedio A65 (3,2 g, 9,035 mmol) en cloroformo (48 ml). La mezcla de reacción se agitó a 62°C durante 4 horas. La mezcla se filtró a través de celita y se lavó con DCM. La capa orgánica se concentró para dar el producto intermedio A66 como un sólido apelmusado naranja claro (2,3 g, 72%).

## Ejemplo A63

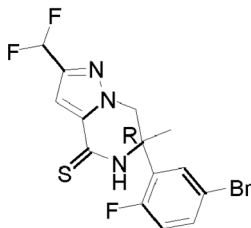
- 10 Preparación del producto intermedio A67: (*R*)-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2-difluorometil-6-metil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-*a*]piracin-4-ona



- 15 Una solución del producto intermedio A66 (2,3 g, 6,531 mmol) en DCM (50ml) y DAST (2,193 ml, 16,328 mmol) en DCM (50ml) se bombearon a través de un dispositivo modular Vapourtec R2+R4 para química de flujos, arrollamiento 10 ml a 80°C, Rt = 15 min. La solución de salida se recogió sobre CaCO<sub>3</sub>. La solución se filtró a través de celita y se lavó con DCM, la capa orgánica se lavó con una solución sat. de NaHCO<sub>3</sub> y se extrajo con DCM. La capa orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a vacío para dar el producto intermedio A67 (2,2 g, 90%) como un aceite pardo.

## Ejemplo A64

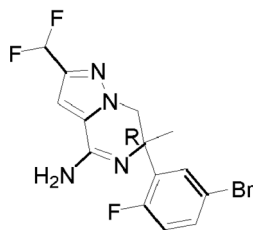
- 20 Preparación del producto intermedio A68: (*R*)-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2-difluorometil-6-metil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-*a*]piracino-4-tiona



- 25 Se añadió pentasulfuro de fósforo (1,871 g, 8,419 mmol) a una solución del producto intermedio A67 (2,1 g, 5,613 mmol) en dioxano (1 ml) y la mezcla se calentó a 100°C durante 18 horas. La mezcla se concentró a vacío y se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el producto intermedio A68 (2 g, 91%) como un aceite amarillo. LCMS: 392 [M+H]<sup>+</sup>; Rt: 1,29 min. (método 2).

## Ejemplo A65

Preparación del producto intermedio A69: (*R*)-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-2-difluorometil-6-metil-6,7-dihidropirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina

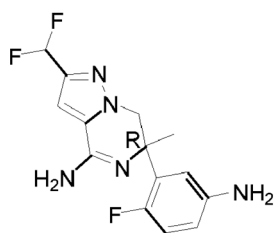


- 5 La reacción se dispuso en dos partidas. Se presenta la cantidad total de material usado. Se añadió  $\text{NH}_3$  (2 M en EtOH, 30 ml, 60 mmol) al producto intermedio A69 (2 g, 5,125 mmol) y  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (2,173 g, 41 mmol). La mezcla se calentó bajo irradiación de microondas a  $170^\circ\text{C}$  durante 45 min. La mezcla se concentró y se añadieron otros 30 ml de  $\text{NH}_3$  (2 M en EtOH). La mezcla se calentó bajo irradiación de microondas a  $170^\circ\text{C}$  durante 45 min. Este procedimiento se repitió 4 veces durante una cantidad total de tiempo de 180 min. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el producto intermedio A69 (1 g, 52%) como un aceite. LCMS: 375  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 1,11 min. (método 2).

El siguiente producto intermedio se preparó según procedimientos sintéticos similares al descrito en el Ejemplo A59:

## Ejemplo A66

- 15 Preparación del producto intermedio A70: (*R*)-6-(5-amino-2-fluoro-fenil)-2-difluorometil-6-metil-6,7-dihidropirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina

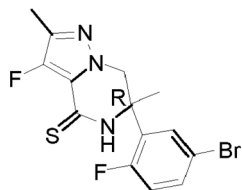


- 20 Preparado a partir del producto intermedio A69. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A70 como un aceite (51%). LCMS: 310  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 0,69 min. (método 2).

El siguiente producto intermedio se preparó según procedimientos sintéticos similares al descrito en los Ejemplos A7 - A11, A48, A15 y A18:

## Ejemplo A67

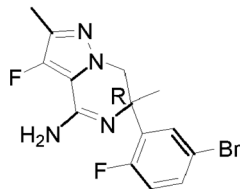
- 25 Preparación del producto intermedio A71: (*R*)-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3-fluoro-2,6-dimetil-6,7-dihidro-5H-pirazolo[1,5-a]piracino-4-tiona



Preparada a partir de éster etílico de ácido 4-fluoro-5-metil-1H-pirazol-3-carboxílico. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; AcOEt/DCM) para dar el producto intermedio A71 como un sólido amarillo (92%). LCMS: 374  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 1,27 min. (método 2).

## Ejemplo A68

Preparación del producto intermedio A72: (*R*)-6-(5-bromo-2-fluoro-fenil)-3-fluoro-2,6-dimetil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-*a*]piracin-4-ilamina

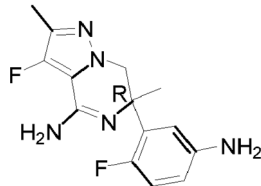


- 5 Se añadió  $\text{NH}_3$  (2 M en EtOH, 10 eq.) a una solución del producto intermedio 71 (2,4 g, 6,448 mmol) y  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (4 eq.) y la mezcla se calentó a  $85^\circ\text{C}$  en un tubo cerrado herméticamente durante 24 horas. El disolvente se evaporó a vacío y el residuo se suspendió en DCM y se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$ . La capa orgánica se separó, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. Se añadieron al residuo más  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (4 eq.) seguido por  $\text{NH}_3$  (2 M en EtOH, 10 eq.) y la mezcla se calentó a  $85^\circ\text{C}$  en un tubo cerrado herméticamente durante 24 horas. Este procedimiento se repitió cuatro veces más para una cantidad total de  $\text{NH}_3$  (2 M en EtOH) de 276 ml, y 8,277 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . A continuación, el producto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para dar el producto intermedio A72 (960 mg, 42%) como un sólido amarillo claro. LCMS: 357  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 1,11 min. (método 2).

- 15 El siguiente producto intermedio se preparó según procedimientos sintéticos similares al descrito en los Ejemplos A36 - A37:

## Ejemplo A69

Preparación del producto intermedio A73: (*R*)-6-(5-amino-2-fluoro-fenil)-3-fluoro-2,6-dimetil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-*a*]piracin-4-ilamina

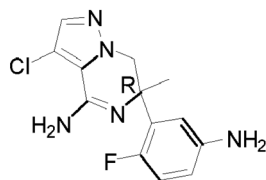


- 20 Preparado a partir del producto intermedio A72. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; 7 N  $\text{NH}_3$  en MeOH/DCM) para dar el producto intermedio A73 como un sólido amarillo claro (42%).

El siguiente producto intermedio se preparó según procedimientos sintéticos similares al descrito en los Ejemplos A7 - A9, A48, A23, A16B, A18, A21, A36, A37:

## Ejemplo A70

- 25 Preparación del producto intermedio A74: (*R*)-6-(5-amino-2-fluoro-fenil)-3-cloro-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-*a*]piracin-4-ilamina

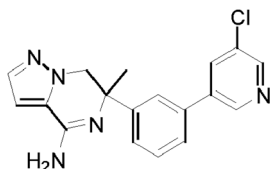


- 30 Preparado a partir del producto intermedio A31. Cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) seguida por trituración en DIPE/ $\text{Et}_2\text{O}$  para dar el producto intermedio A74 como un sólido amarillo (94%). LCMS: 294  $[\text{M}+\text{H}]^+$ ;  $R_t$ : 1,13 min. (método 3).

## Preparación de los compuestos finales

## Ejemplo B1

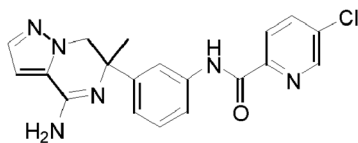
Preparación del compuesto 1: sal de trifluoroacetato de (*R*)-6-[3-(5-cloro-piridin-3-il)-fenil]-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-4-ilamina



Se añadió una solución ac. al 32% de  $\text{NH}_3$  (0,5 ml) a una mezcla agitada del producto intermedio A18 (60 mg, 0,17 mmol) en una solución 7 M de  $\text{NH}_3$  en MeOH (1,5 ml) en un tubo cerrado herméticamente. La mezcla se agitó a 100°C durante 5 horas. Después de enfriar hasta temperatura ambiente, los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna corta (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para suministrar una fracción que se purificó adicionalmente mediante HPLC en fase inversa (Gradiente de 80% de solución de TFA al 0,1% en  $\text{H}_2\text{O}$ , 20% de  $\text{CH}_3\text{CN}$  a 0% de solución de TFA al 0,1% en  $\text{H}_2\text{O}$ , 100% de  $\text{CH}_3\text{CN}$ ) y se trituraron con DIPE para dar el compuesto 1 (36 mg, 46% de rendimiento) como un sólido blanco.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,79 (s, 3 H), 4,69 (d,  $J=13,6$  Hz, 1 H), 5,25 (d,  $J=13,9$  Hz, 1 H), 7,23 (d,  $J=2,3$  Hz, 1 H), 7,45 (d an.,  $J=8,7$  Hz, 1 H), 7,52 (t,  $J=7,8$  Hz, 1 H), 7,69 (d,  $J=2,0$  Hz, 1 H), 7,75 (d an.,  $J=7,8$  Hz, 1 H), 7,94 - 7,96 (m, 1 H), 8,28 (t,  $J=2,2$  Hz, 1 H), 8,66 (d,  $J=2,3$  Hz, 1 H), 8,88 (d,  $J=2,0$  Hz, 1 H), 9,28 (s an., 1 H), 9,87 (s an., 1 H), 11,06 (s an., 1 H).

## Ejemplo B2

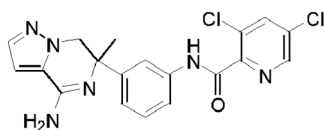
Preparación del compuesto 2: rac-[3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 5-cloro-piridin-2-carboxílico



Se añadió ácido 5-cloro-piridin-2-carboxílico (71,8 mg, 0,68 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (137 mg, 0,5 mmol) en MeOH (4 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A22 (100 mg, 0,41 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La mezcla se trató con una solución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}$  y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se trituró con  $\text{Et}_2\text{O}$  y a continuación se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío y la fracción resultante se purificó adicionalmente mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el compuesto 2 (21 mg, 13% de rendimiento) como un sólido blanco.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,67 (s, 3 H), 4,38 (d,  $J=13,3$  Hz, 1 H), 4,53 (d,  $J=13,3$  Hz, 1 H), 4,79 (s an., 2H), 6,72 (s an., 1 H), 7,24 (d an.,  $J=7,8$  Hz, 1 H), 7,34 (t,  $J=7,9$  Hz, 1 H), 7,51 (d,  $J=2,0$  Hz, 1 H), 7,73 (dd,  $J=8,1$ , 1,2 Hz, 1 H), 7,85 - 7,90 (m, 2 H), 8,23 (d,  $J=8,4$  Hz, 1 H), 8,55 (d,  $J=2,0$  Hz, 1 H), 9,86 (s an., 1 H).

## Ejemplo B3

Preparación del compuesto 3: rac-[3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 3,5-dicloro-piridin-2-carboxílico

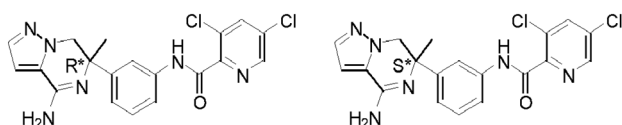


Se añadió ácido 3,5-dicloro-piridin-2-carboxílico (112 mg, 0,58 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (176,2 mg, 0,64 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura

ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A22 (128 mg, 0,53 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas. La mezcla se trató con una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se trituró con Et<sub>2</sub>O y a continuación se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el compuesto 3 (180 mg, 82% de rendimiento) como un sólido blanco. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,41 (s, 3 H), 4,12 - 4,45 (m, 2 H), 6,54 (s an., 2 H), 6,64 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H), 7,25 - 7,32 (m, 2 H), 7,45 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H), 7,63 (m, *J*=6,3, 2,5, 2,5 Hz, 1 H), 7,82 (s an., 1 H), 8,43 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H), 8,72 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H), 10,64 (s an., 1 H).

#### Ejemplo B4

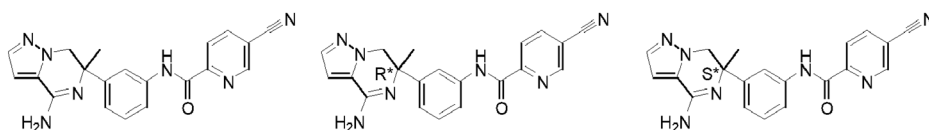
Preparación del compuesto 4: (R\*)-[3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 3,5-dicloro-piridin-2-carboxílico y el compuesto 5: (S\*)-[3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 3,5-dicloro-piridin-2-carboxílico



Una muestra del compuesto 3 (0,58 g) se lavó con DCM frío y a continuación con Et<sub>2</sub>O. Este compuesto racémico se separó a continuación en los correspondientes enantiómeros mediante SFC preparativa en Chiralpak AD-H 5μm (250 x 20 mm), fase móvil (0,3% de iPrNH<sub>2</sub>, 60% de CO<sub>2</sub>, 40% de EtOH). Las fracciones deseadas para cada enantiómero se recogieron y se concentraron a vacío para dar el compuesto 4 (152 mg, 26% de rendimiento). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,41 (s, 3 H), 4,28 (s an., 2 H), 6,41 (s an., 2 H), 6,64 (d, *J*=1,4 Hz, 1 H), 7,30 (s, 2 H), 7,45 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H), 7,60 - 7,67 (m, 1 H), 7,83 (s, 1 H), 8,44 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H), 8,73 (d, *J*=2,3 Hz, 1 H), 10,65 (s an., 1 H) y el compuesto 5 (155 mg, 27% de rendimiento). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,41 (s, 3 H), 4,28 (s, 2 H), 6,41 (s an., 2 H), 6,64 (d, *J*=0,9 Hz, 1 H), 7,26 - 7,33 (m, 2 H), 7,45 (d, *J*=1,4 Hz, 1 H), 7,59 - 7,69 (m, 1 H), 7,84 (s, 1 H), 8,44 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H), 8,73 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H), 10,65 (s an., 1 H) ambos como sólidos blancos.

#### Ejemplo B5

Preparación del compuesto 6: rac-[3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 5-ciano-piridin-2-carboxílico y el compuesto 7: (R\*)-[3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 5-ciano-piridin-2-carboxílico y el compuesto 8: (S\*)-[3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 5-ciano-piridin-2-carboxílico

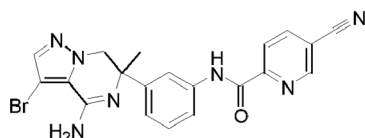


Se añadió ácido 5-ciano-piridin-2-carboxílico (187,8 mg, 1,27 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (412,9 mg, 1,49 mmol) en MeOH (20 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A22 (300 mg, 1,24 mmol) en MeOH (10 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla se trató con una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se trituró con Et<sub>2</sub>O y a continuación se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; solución 7 M de NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se lavó con EtOH y Et<sub>2</sub>O y a continuación se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío para dar el compuesto 6 (122 mg, 26% de rendimiento) como un sólido color crema. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,42 (s, 3 H), 4,31 (m, *J*=3,5 Hz, 2 H), 6,66 (s an., 2 H), 6,66 (d, *J*=1,7 Hz, 1 H), 7,26 - 7,33 (m, 2 H), 7,45 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H), 7,78 (dt, *J*=6,9, 1,9 Hz, 1 H), 8,01 - 8,06 (m, 1 H), 8,29 (dd, *J*=8,1, 0,6 Hz, 1 H), 8,59 (dd, *J*=8,1, 2,0 Hz, 1 H), 9,18 - 9,22 (m, 1 H), 10,68 (s, 1 H). A continuación, este compuesto racémico se purificó adicionalmente mediante SFC preparativa en Chiralpak AD-H 5μm (250 x 20 mm), fase móvil (0,3% de iPrNH<sub>2</sub>, 60% de CO<sub>2</sub>, 40% de EtOH). Las fracciones deseadas para cada enantiómero se recogieron y se concentraron a vacío para dar el compuesto 7 (45,8 mg, 10% de rendimiento). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,41 (s, 3 H), 4,21 - 4,35 (m, 2 H),

6,39 (s an., 2 H), 6,64 (s an., 1 H), 7,26 - 7,35 (m, 2 H), 7,45 (d,  $J=1,2$  Hz, 1 H), 7,78 (d an.,  $J=7,2$  Hz, 1 H), 8,05 (s an., 1 H), 8,30 (d,  $J=8,1$  Hz, 1 H), 8,60 (dd,  $J=8,1$ , 2,0 Hz, 1 H), 9,20 - 9,22 (m, 1 H), 10,68 (s, 1 H) y el compuesto 8 (46,5 mg, 10% de rendimiento)  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,41 (s, 3 H), 4,29 (s an., 2 H), 6,41 (s an., 2 H), 6,64 (d,  $J=1,7$  Hz, 1 H), 7,27 - 7,34 (m, 2 H), 7,45 (d,  $J=1,7$  Hz, 1 H), 7,77 - 7,80 (m, 1 H), 8,05 (s an., 1 H), 8,30 (dd,  $J=8,2$ , 0,7 Hz, 1 H), 8,60 (dd,  $J=8,1$ , 2,0 Hz, 1 H), 9,19 - 9,24 (m, 1 H), 10,68 (s, 1 H), ambos como sólidos blancos.

#### Ejemplo B6

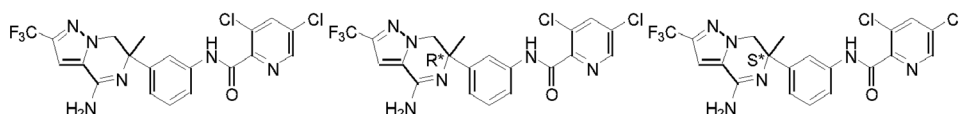
Preparación del compuesto 9: sal de trifluoroacetato de rac-[3-(4-amino-3-bromo-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 5-ciano-piridin-2-carboxílico



Se añadió ácido 5-ciano-piridin-2-carboxílico (23,6 mg, 0,16 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (51,9 mg, 0,19 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A20 (50 mg, 0,16 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla se trató con una solución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}$  y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se trituró con  $\text{Et}_2\text{O}$  y a continuación se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío y el residuo se purificó mediante HPLC preparativa (RP C18 XSelect 19 x 100 5  $\mu\text{m}$ ), fase móvil (gradiente de 80% de solución de TFA al 0,1% en  $\text{H}_2\text{O}$ , 20% de  $\text{CH}_3\text{CN}$  a 0% de solución de TFA al 0,1% en  $\text{H}_2\text{O}$ , 100% de  $\text{CH}_3\text{CN}$ ) para dar el compuesto 9 (9,8 mg, 11% de rendimiento) como un sólido blanco.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,75 (s, 3 H), 4,74 (d,  $J=13,9$  Hz, 1 H), 5,09 (d,  $J=13,6$  Hz, 1 H), 7,19 - 7,24 (m, 1 H), 7,40 (t,  $J=8,1$  Hz, 1 H), 7,87 (dd,  $J=8,1$ , 1,2 Hz, 1 H), 7,88 (s, 1 H), 8,00 (s an., 1 H), 8,29 (dd,  $J=8,1$ , 0,6 Hz, 1 H), 8,60 (dd,  $J=8,4$ , 2,0 Hz, 1 H), 8,78 (s an., 1 H), 9,21 (dd,  $J=2,0$ , 0,9 Hz, 1 H), 9,70 (s an., 1 H), 10,89 (s, 1 H), 11,23 (s an., 1 H).

#### Ejemplo B7

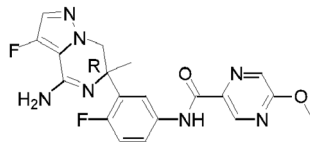
Preparación del compuesto 10: rac-[3-(4-amino-6-metil-2-trifluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 3,5-dicloro-piridin-2-carboxílico y el compuesto 11: ( $R^*$ )-[3-(4-amino-6-metil-2-trifluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 3,5-dicloro-piridin-2-carboxílico y el compuesto 12: ( $S^*$ )-[3-(4-amino-6-metil-2-trifluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-fenil]-amida de ácido 3,5-dicloro-piridin-2-carboxílico



Se añadió ácido 3,5-dicloro-2-piridincarboxílico (70 mg, 0,366 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (119 mg, 0,431 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A28 (111 mg, 0,359 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla se trató con una solución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y  $\text{H}_2\text{O}$  y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se trituró con  $\text{Et}_2\text{O}$ , se trató con ultrasonidos, se filtró y se secó a vacío a 50°C para dar el compuesto 10 (95 mg, 55% de rendimiento) como un sólido blanco. A continuación, este compuesto racémico se purificó adicionalmente mediante SFC preparativa en Chiralpak AD-H 5 $\mu\text{m}$  (250 x 20 mm), fase móvil (0,3% de  $i\text{PrNH}_2$ , 70% de  $\text{CO}_2$ , 30% de  $i\text{PrOH}$ ). Las fracciones deseadas para cada enantiómero se recogieron y se concentraron a vacío para dar el compuesto 11 (40 mg, 23% de rendimiento).  $^1\text{H}$  NMR (400 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  ppm 1,42 (s, 3 H), 4,35 - 4,47 (m, 2 H), 6,61 (s an., 2 H), 7,09 (s an., 1 H), 7,26 - 7,35 (m, 2 H), 7,59 - 7,67 (m, 1 H), 7,83 (s an., 1 H), 8,43 (d,  $J=2,1$  Hz, 1 H), 8,72 (d,  $J=2,1$  Hz, 1 H), 10,67 (s, 1 H) y el compuesto 12 (38 mg, 22% de rendimiento), para los que la  $^1\text{H}$  NMR estaba de acuerdo con la del compuesto 11.

## Ejemplo B8

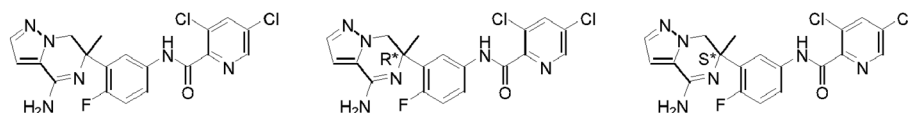
Preparación del compuesto 13: (*R*)-[3-(4-amino-3-fluoro-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-metoxi-piracin-2-carboxílico



- 5 Se añadió ácido 5-metoxipiracin-2-carboxílico (120 mg, 0,78 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (233 mg, 0,841 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A39 (212 mg, 0,764 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla se trató con una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se trituró con Et<sub>2</sub>O y a continuación se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y se concentraron a vacío para proporcionar un sólido blanco. El sólido se trató con DIPE para proporcionar el compuesto 13 (155 mg, 49%) como un sólido blanco. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,59 (s, 3 H), 4,06 (s, 3 H), 4,28 (d an., J=13,0 Hz, 1 H), 4,51 (d an., J=13,0 Hz, 1 H), 5,04 (s an., 2 H), 7,09 (dd, J=11,6, 9,0 Hz, 1 H), 7,36 (d, J=4,0 Hz, 1 H), 7,84 - 7,97 (m, 2 H), 8,12 (d, J=1,2 Hz, 1 H), 8,99 (d, J=1,2 Hz, 1 H), 9,51 (s an., 1 H).

## Ejemplo B9

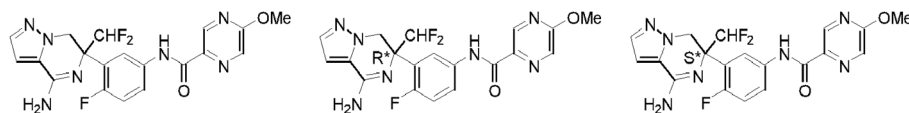
- 20 Preparación del compuesto 14: *rac*-[3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 3,5-dicloro-piridin-2-carboxílico y el compuesto 15: (*R*<sup>\*</sup>)-[3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 3,5-dicloro-piridin-2-carboxílico y el compuesto 16: (*S*<sup>\*</sup>)-[3-(4-amino-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 3,5-dicloro-piridin-2-carboxílico



- 25 Se añadió ácido 3,5-dicloro-2-piridincarboxílico (75,5 mg, 0,393 mmol) a una solución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (128 mg, 0,463 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A49 (100 mg, 0,386 mmol) en MeOH (5 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas. La mezcla se trató con una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se trituró con Et<sub>2</sub>O, se trató con ultrasonidos, se filtró y se secó a vacío a 50°C. El compuesto resultante se purificó una vez más mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM) para dar, después del tratamiento con AcOEt y DIPE, el compuesto 14 (95 mg, 57% de rendimiento) como un sólido blanco. Este compuesto racémico se purificó a continuación mediante SFC preparativa en Chiralcel OJ-H 5 μm (250 x 20 mm), fase móvil (0,3% de iPrNH<sub>2</sub>, 85% de CO<sub>2</sub>, 15% de EtOH). Las fracciones deseadas para cada enantiómero se recogieron y se concentraron a vacío para dar el compuesto 15 (38 mg, 23% de rendimiento). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,58 (s, 3 H), 2,52 (s an., 2 H), 4,41 (d an., J=13,2 Hz, 1 H), 4,62 (dd, J=13,2, 0,9 Hz, 1 H), 6,43 (d, J=2,1 Hz, 1 H), 7,08 (dd, J=11,7, 8,9 Hz, 1 H), 7,52 (d, J=2,1 Hz, 1 H), 7,81 (dd, J=6,9, 2,8 Hz, 1 H), 7,89 (d, J=2,1 Hz, 1 H), 7,94 (ddd, J=8,8, 4,1, 3,0 Hz, 1 H), 8,42 (d, J=2,1 Hz, 1 H), 9,71 (s an., 1 H) y el compuesto 16 (40 mg, 24% de rendimiento), para los que la <sup>1</sup>H NMR estaba de acuerdo con la del compuesto 15.

## Ejemplo B10

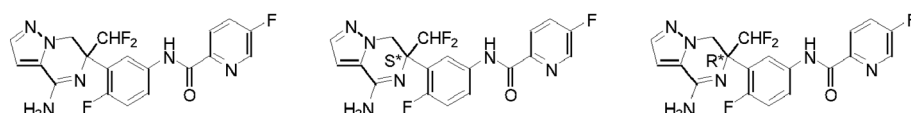
Preparación del compuesto 17: *rac*-[3-(4-amino-6-difluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-metoxi-piracin-2-carboxílico y el compuesto 18: (*R*<sup>\*</sup>)-[3-(4-amino-6-difluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-metoxi-piracin-2-carboxílico y el compuesto 19: (*S*<sup>\*</sup>)-[3-(4-amino-6-difluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-metoxi-piracin-2-carboxílico



Se añadió ácido 5-metoxipiracin-2-carboxílico (187,9 mg, 1,219 mmol) a una mezcla de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (337 mg, 1,219 mmol) en MeOH (6 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A58 (300 mg, 1,016 mmol) en MeOH (4 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora, a continuación se trató con una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. Parte del producto se precipitó con DCM y el material en bruto restante se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; 7 M NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto resultante se combinó con el obtenido a partir de precipitación y se trituró con heptano, se trató con ultrasonidos y se filtró, para proporcionar el compuesto 17 (278 mg, 62% de rendimiento) como un sólido blanco. A continuación, este compuesto racémico se purificó adicionalmente mediante SFC preparativa en Chiralcel OD-H 5 µm (250 x 20 mm), fase móvil (0,3% de iPrNH<sub>2</sub>, 70% de CO<sub>2</sub>, 30% de EtOH). Las fracciones deseadas para cada enantiómero se recogieron y se concentraron a vacío para dar el compuesto 18 (103 mg, 23% de rendimiento). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 4,03 (s, 3 H) 4,58 (d an., *J*=13,6 Hz, 1 H) 4,75 (d an., *J*=13,6 Hz, 1 H) 6,27 (t, *J*=55,5 Hz, 1 H) 6,68 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H) 6,93 (s an., 2 H) 7,20 (dd, *J*=11,8, 9,0 Hz, 1 H) 7,48 (d, *J*=2,0 Hz, 1 H) 7,78 (dt, *J*=8,4, 3,6 Hz, 1 H) 8,17 (dd, *J*=7,1, 2,7 Hz, 1 H) 8,42 (d, *J*=1,2 Hz, 1 H) 8,88 (d, *J*=1,2 Hz, 1 H) 10,51 (s, 1 H) y el compuesto 19 (102 mg, 23% de rendimiento), para los que la <sup>1</sup>H NMR estaba de acuerdo con la del compuesto 18.

## Ejemplo B11

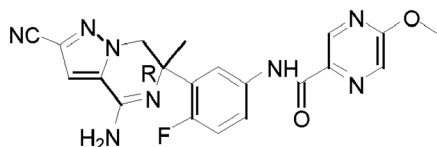
Preparación del compuesto 20: *rac*-[3-(4-amino-6-difluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-fluoro-piridin-2-carboxílico y el compuesto 21: (*S*<sup>\*</sup>)-[3-(4-amino-6-difluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-fluoro-piridin-2-carboxílico y el compuesto 22: (*R*<sup>\*</sup>)-[3-(4-amino-6-difluorometil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-fluoro-piridin-2-carboxílico



Se añadió ácido 5-fluoro-2-piridincarboxílico (74,5 mg, 0,528 mmol) a una mezcla de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (146 mg, 0,528 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. A continuación, la mezcla se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A58 (130 mg, 0,44 mmol) en MeOH (2 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora, a continuación se trató con una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y H<sub>2</sub>O y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; 7 M NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto resultante se trituró con heptano, se trató con ultrasonidos y se filtro, para proporcionar el compuesto 17 (112 mg, 60% de rendimiento) como un sólido blanco. A continuación, este compuesto racémico se purificó adicionalmente mediante SFC preparativa en una columna Chiralpak AD-H (5 µm, 250 x 20 mm), fase móvil [70% de CO<sub>2</sub>, 30% de EtOH (+ 0,3% de iPrNH<sub>2</sub>)]. Las fracciones deseadas para cada enantiómero se recogieron y se concentraron a vacío para dar el compuesto 21 (41 mg, 22% de rendimiento), para el que la <sup>1</sup>H NMR estaba de acuerdo con la del compuesto 22, y el compuesto 22 (43 mg, 23% de rendimiento). <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 4,53 - 4,61 (m, 1 H), 4,74 (d an., *J*=13,4 Hz, 1 H), 6,26 (t, *J*=55,9 Hz, 1 H), 6,67 (d, *J*=1,8 Hz, 1 H), 6,93 (s an., 2 H), 7,20 (dd, *J*=12,0, 9,0 Hz, 1 H), 7,47 (d, *J*=1,8 Hz, 1 H), 7,79 (ddd, *J*=8,8, 3,9, 2,8 Hz, 1 H), 7,98 (td, *J*=8,7, 2,9 Hz, 1 H), 8,16 (dd, *J*=7,1, 2,7 Hz, 1 H), 8,21 (dd, *J*=8,8, 4,6 Hz, 1 H), 8,73 (d, *J*=2,8 Hz, 1 H), 10,62 (s an., 1 H).

## Ejemplo B12

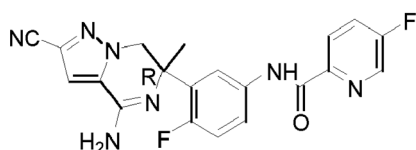
Preparación del compuesto 23: (*R*)-[3-(4-amino-2-ciano-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-metoxi-piracin-2-carboxílico



- 5 Se añadió ácido 5-metoxipiracin-2-carboxílico (95,4 mg, 0,619 mmol) a una mezcla de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (171,3 mg, 0,619 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, a continuación se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A63 (160 mg, 0,563 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 20
- 10 hora, a continuación se trató con una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y se agitó durante unos pocos minutos. A continuación, la mezcla se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío, para proporcionar después del secado el compuesto 23 (115 mg, 49% de rendimiento) como un sólido. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,58 (s, 3 H), 1,66 (s an., 2 H), 4,07 (s, 3 H), 4,47 (d an., J=13,6 Hz, 1 H), 4,66 (d an., J=13,3 Hz, 1 H), 6,81 (s an., 1 H), 7,09 (dd, J=11,6, 9,0 Hz, 1 H), 7,75 - 7,81 (m, 1 H), 7,97 (dd, J=7,1, 2,7 Hz, 1 H), 8,14 (s, 1 H), 9,00 (s, 1 H), 9,49 (s an., 1 H).
- 15

## Ejemplo B13

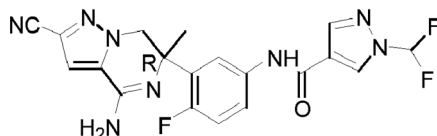
Preparación del compuesto 24: (*R*)-[3-(4-amino-2-ciano-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-fluoro-piridin-2-carboxílico



- 20 Se añadió ácido 5-fluoro-2-piridincarboxílico (87,4 mg, 0,619 mmol) a una mezcla de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (171,3 mg, 0,619 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min., a continuación se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A63 (160 mg, 0,563 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 20
- 25 horas, a continuación se trató con una solución saturada de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y se agitó durante unos pocos min. A continuación, la mezcla se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío, para proporcionar un aceite que se trituró con DIPE. El sólido resultante se filtró y se secó para suministrar el compuesto 24 (95 mg, 41% de rendimiento) como un sólido. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ ppm 1,58 (s an., 3 H) 4,46 (d an., J=13,4 Hz, 1 H) 4,66 (d, J=13,4 Hz, 1 H) 4,90 (s an., 2 H) 6,81 (s, 1 H) 7,10 (dd, J=11,8, 8,8 Hz, 1 H) 7,60 (td, J=8,3, 2,8 Hz, 1 H) 7,78 - 7,86 (m, 1 H) 7,96 (dd, J=7,1, 2,7 Hz, 1 H) 8,32 (dd, J=8,7, 4,5 Hz, 1 H) 8,45 (d, J=2,8 Hz, 1 H) 9,80 (s an., 1 H).
- 30

## Ejemplo B14

- 35 Preparación del compuesto 25: (*R*)-[3-(4-amino-2-ciano-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 1-difluorometil-1H-pirazol-4-carboxílico

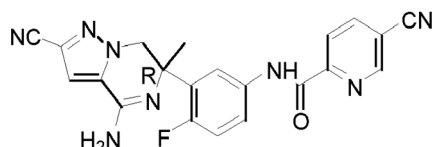


- 40 Se añadió ácido 1-difluorometil-1H-pirazol-3-carboxílico (82,7 mg, 0,51 mmol) a una mezcla de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (155 mg, 0,561 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min, a continuación se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A63 (145 mg, 0,51 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas,

a continuación se trató con una solución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se agitó durante unos pocos min. A continuación, la mezcla se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío, para proporcionar un aceite que se trituró con heptano. El sólido resultante se filtró y se secó para suministrar el compuesto 25 (100 mg, 46% de rendimiento) como un sólido.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  ppm 1,58 (s, 3 H) 4,47 (d an.,  $J=13,3$  Hz, 1 H) 4,65 (d,  $J=13,3$  Hz, 1 H) 4,94 (s an., 2 H) 6,81 (s, 1 H) 7,05 (d,  $J=2,6$  Hz, 1 H) 7,09 (dd,  $J=11,6$ , 9,0 Hz, 1 H) 7,20 (t,  $J=60,4$  Hz, 1 H) 7,69 - 7,75 (m, 1 H) 7,88 (d,  $J=2,6$  Hz, 1 H) 7,91 (dd,  $J=6,8$ , 2,2 Hz, 1 H) 8,62 (s an., 1 H).

## Ejemplo B15

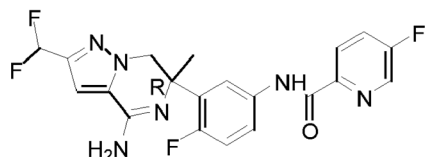
- 10 Preparación del compuesto 26: (*R*)-[3-(4-amino-2-ciano-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-ciano-piridin-2-carboxílico



- 15 Se añadió ácido 5-ciano-2-piridincarboxílico (79,7 mg, 0,538 mmol) a una mezcla de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (163,8 mg, 0,592 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min., a continuación se enfrió hasta  $0^\circ\text{C}$  y se añadió una solución del producto intermedio A63 (153 mg, 0,538 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 horas, a continuación se trató con una solución saturada de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se agitó durante unos pocos min. A continuación, la mezcla se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y los disolventes se evaporaron a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío, para proporcionar un aceite que se trituró con heptano. El sólido resultante se filtró y se secó para suministrar el compuesto 26 (63 mg, 28% de rendimiento) como un sólido.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,47 (s an., 3 H) 4,43 - 4,55 (m, 2 H) 6,76 (s an., 2 H) 7,20 (dd,  $J=11,8$ , 9,0 Hz, 1 H) 7,27 (s an., 1 H) 7,71 - 7,79 (m, 1 H) 8,10 (d an.,  $J=5,2$  Hz, 1 H) 8,26 (d,  $J=8,1$  Hz, 1 H) 8,57 (dd,  $J=8,2$ , 1,6 Hz, 1 H) 9,18 (s an., 1 H) 10,81 (s an., 1 H).

## Ejemplo B16

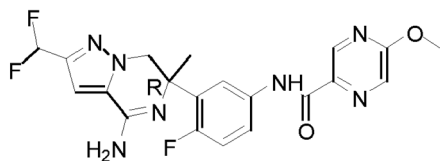
Preparación del compuesto 27: (*R*)-[3-(4-amino-2-difluorometil-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluoro-fenil]-amida de ácido 5-fluoro-piridin-2-carboxílico



- 30 Se añadió ácido 5-fluoro-2-piridincarboxílico (68 mg, 0,485 mmol) a una mezcla de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (148 mg, 0,533 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min., a continuación se enfrió hasta  $0^\circ\text{C}$  y se añadió una solución del producto intermedio A70 (150 mg, 0,485 mmol) en MeOH (2 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas, a continuación se concentró a vacío en un baño frío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (carga seca, gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío, para proporcionar un sólido blancuzco, que se purificó adicionalmente mediante RP HPLC en C18 Sunfire (30 x 100  $\mu\text{m}$ ). Fase móvil: gradiente de 80% de solución de TFA al 0,1% en  $\text{H}_2\text{O}$ , 20% de  $\text{CH}_3\text{CN}$  a 0% de solución de TFA al 0,1% en  $\text{H}_2\text{O}$ , 100% de  $\text{CH}_3\text{CN}$ , dando el compuesto 27 (57 mg, 33%) como un sólido blanco.  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  ppm 1,84 (s an., 3 H) 4,79 (d an.,  $J=13,9$  Hz, 1 H) 5,02 (d an.,  $J=13,3$  Hz, 1 H) 7,10 (t,  $J=54,3$  Hz, 1 H) 7,30 (dd,  $J=12,0$ , 8,8 Hz, 1 H) 7,46 (s an., 1 H) 7,86 - 7,91 (m, 1 H) 7,93 (dd,  $J=7,5$ , 2,3 Hz, 1 H) 7,98 (td,  $J=8,7$ , 2,9 Hz, 1 H) 8,20 (dd,  $J=8,7$ , 4,6 Hz, 1 H) 8,73 (d,  $J=2,9$  Hz, 1 H) 9,33 (s an., 1 H) 10,07 (s an., 1 H) 10,80 (s an., 1 H) 11,09 (s an., 1 H).

## Ejemplo B17

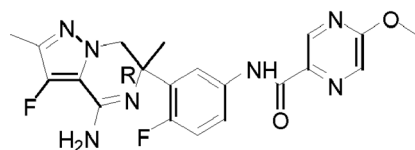
Preparación del compuesto 28: (*R*)-[3-(4-amino-2-difluorometil-6-metil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluorofenil]-amida de ácido 5-metoxi-piracin-2-carboxílico



- 5 Se añadió ácido 5-metoxipiracin-2-carboxílico (75 mg, 0,485 mmol) a una mezcla de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (148 mg, 0,533 mmol) en MeOH (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min., a continuación se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A70 (150 mg, 0,485 mmol) en MeOH (2 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 4 horas, a continuación se concentró a vacío en un baño frío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (carga seca, gel de sílice; MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío, para proporcionar un sólido blancuzco, que se purificó adicionalmente mediante RP HPLC en C18 Sunfire (30 x 100 5um). Fase móvil: gradiente de 80% de solución de TFA al 0,1% en H<sub>2</sub>O, 20% de CH<sub>3</sub>CN a 0% de solución de TFA al 0,1% en H<sub>2</sub>O, 100% de CH<sub>3</sub>CN, dando el compuesto 27 (32 mg, 12%) como un sólido blanco. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,85 (s an., 3 H) 4,03 (s, 3 H) 4,80 (d an., *J*=13,9 Hz, 1 H) 5,03 (d an., *J*=12,7 Hz, 1 H) 7,12 (t, *J*=54,3 Hz, 1 H) 7,31 (dd, *J*=11,8, 9,0 Hz, 1 H) 7,47 (s an., 1 H) 7,84 - 7,90 (m, 1 H) 7,96 (dd, *J*=7,4, 2,2 Hz, 1 H) 8,42 (d, *J*=Hz, 1 H) 8,88 (d, *J*=1,4 Hz, 1 H) 9,32 (s an., 1 H) 10,09 (s an., 1 H) 10,70 (s, 1 H) 11,08 (s an., 1H).

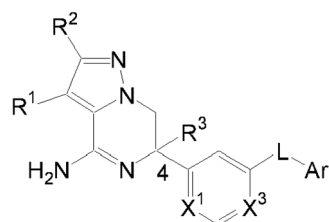
## Ejemplo B18

- 20 Preparación del compuesto 29: (*R*)-[3-(4-amino-3-fluoro-2,6-dimetil-6,7-dihidro-pirazolo[1,5-a]piracin-6-il)-4-fluorofenil]-amida de ácido 5-metoxi-piracin-2-carboxílico

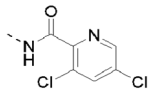
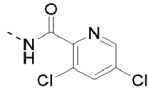
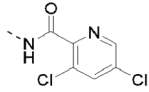
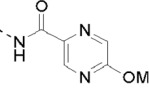
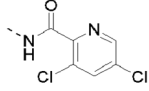
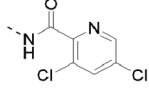
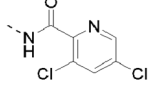
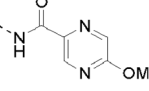
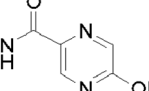
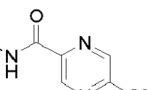
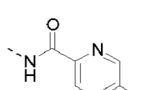


- 25 Se añadió ácido 5-metoxipiracin-2-carboxílico (97 mg, 0,631 mmol) a una mezcla de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triacin-2-il)-4-metilmorfolinio (175 mg, 0,631 mmol) en MeOH (2 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 min., a continuación se enfrió hasta 0°C y se añadió una solución del producto intermedio A73 (175 mg, 0,601 mmol) en MeOH (2 ml). La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 24 horas. El disolvente se retiró a vacío y el residuo se suspendió en DCM y se trató con Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sat. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se concentró a vacío. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía en columna de desarrollo rápido (gel de sílice; 7 M NH<sub>3</sub> en MeOH/DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y los disolventes se evaporaron a vacío. El residuo se suspendió en Et<sub>2</sub>O. El precipitado se separó por filtración y se secó bajo vacío a 50°C para dar el compuesto 29 (195 mg, 76%) como un sólido blanco. <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ ppm 1,45 (s an., 3 H), 2,12 (s, 3 H), 4,02 (s, 3 H), 4,18 (d an., *J*=13,0 Hz, 1 H), 4,24 (d an., *J*=12,4 Hz, 1 H), 6,26 (s an., 2 H), 7,17 (dd, *J*=12,0, 8,8 Hz, 1 H), 7,68 - 7,77 (m, 1 H), 8,04 (d an., *J*=5,2 Hz, 1 H), 8,40 (d, *J*=1,2 Hz, 1 H), 8,87 (d, *J*=1,2 Hz, 1 H), 10,46 (s an., 1 H).

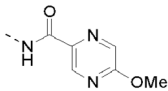
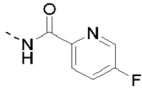
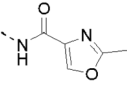
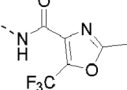
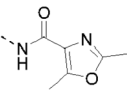
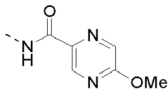
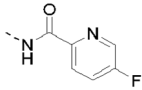
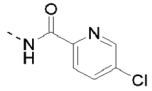
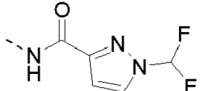
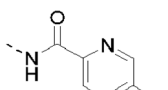
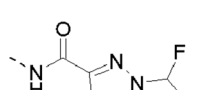
Tabla 1

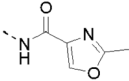


| Comp. N° | Ej. N° | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup> | R <sup>3</sup>  | X <sup>1</sup> | X <sup>3</sup> | ---L-Ar | Estereoquímica de C <sub>4</sub> /sal |
|----------|--------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|---------|---------------------------------------|
| 1        | B1     | H              | H              | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |         | R/CF <sub>3</sub> COOH                |
| 2        | B2     | H              | H              | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |         | RS                                    |
| 3        | B3     | H              | H              | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |         | RS                                    |
| 4        | B4     | H              | H              | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |         | S*                                    |
| 5        | B4     | H              | H              | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |         | R*                                    |
| 6        | B5     | H              | H              | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |         | RS                                    |
| 7        | B5     | H              | H              | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |         | R*                                    |
| 8        | B5     | H              | H              | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |         | S*                                    |
| 9        | B6     | Br             | H              | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |         | RS / CF <sub>3</sub> COOH             |

| Comp. N° | Ej. N° | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup>  | R <sup>3</sup>   | X <sup>1</sup> | X <sup>3</sup> | ---L-Ar                                                                              | Estereoquímica de C <sub>4</sub> /sal |
|----------|--------|----------------|-----------------|------------------|----------------|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 10       | B7     | H              | CF <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub>  | CH             | CH             |    | RS                                    |
| 11       | B7     | H              | CF <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub>  | CH             | CH             |    | R*                                    |
| 12       | B7     | H              | CF <sub>3</sub> | CH <sub>3</sub>  | CH             | CH             |    | S*                                    |
| 13       | B8     | F              | H               | CH <sub>3</sub>  | CH             | CH             |    | R                                     |
| 14       | B9     | H              | H               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |   | RS                                    |
| 15       | B9     | H              | H               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |  | R*                                    |
| 16       | B9     | H              | H               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |  | S*                                    |
| 17       | B10    | H              | H               | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |  | RS                                    |
| 18       | B10    | H              | H               | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |  | R*                                    |
| 19       | B10    | H              | H               | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |  | S*                                    |
| 20       | B11    | H              | H               | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |  | RS                                    |

| Comp. N° | Ej. N° | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup>   | R <sup>3</sup>   | X <sup>1</sup> | X <sup>3</sup> | ---L-Ar | Estereoquímica de C <sub>4</sub> /sal |
|----------|--------|----------------|------------------|------------------|----------------|----------------|---------|---------------------------------------|
| 21       | B11    | H              | H                | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |         | R*                                    |
| 22       | B11    | H              | H                | CHF <sub>2</sub> | CF             | CH             |         | S*                                    |
| 23       | B12    | H              | CN               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |         | R                                     |
| 24       | B13    | H              | CN               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |         | R                                     |
| 25       | B14    | H              | CN               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |         | R                                     |
| 26       | B15    | H              | CN               | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |         | R                                     |
| 27       | B16    | H              | CHF <sub>2</sub> | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |         | R / CF <sub>3</sub> COOH              |
| 28       | B17    | H              | CHF <sub>2</sub> | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |         | R / CF <sub>3</sub> COOH              |
| 29       | B18    | F              | CH <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub>  | CF             | CH             |         | R                                     |
| 30       | B11    | H              | CF <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub>  | CH             | CH             |         | RS                                    |
| 31       | B11    | H              | CF <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub>  | CH             | CH             |         | S*                                    |

| Comp. N° | Ej. N° | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup>   | R <sup>3</sup>  | X <sup>1</sup> | X <sup>3</sup> | ---L-Ar                                                                              | Estereoquímica de C <sub>4</sub> /sal |
|----------|--------|----------------|------------------|-----------------|----------------|----------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 32       | B11    | H              | CF <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub> | CH             | CH             |    | R*                                    |
| 33       | B2     | F              | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |    | R                                     |
| 34       | B2     | F              | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |     | R                                     |
| 35       | B2     | F              | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |     | R                                     |
| 36       | B2     | F              | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |    | R                                     |
| 37       | B2     | Cl             | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | R                                     |
| 38       | B2     | Cl             | H                | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | R                                     |
| 39       | B16    | H              | CHF <sub>2</sub> | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | R                                     |
| 40       | B16    | H              | CHF <sub>2</sub> | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | R                                     |
| 41       | B2     | F              | CH <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | RS                                    |
| 42       | B2     | F              | CH <sub>3</sub>  | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | R                                     |

| Comp. N° | Ej. N° | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup> | R <sup>3</sup>  | X <sup>1</sup> | X <sup>3</sup> | ---L-Ar                                                                           | Estereoquímica de C <sub>4</sub> /sal |
|----------|--------|----------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------|
| 43       | B6     | H              | CN             | CH <sub>3</sub> | CF             | CH             |  | R                                     |

### C. Parte analítica

#### Resonancia magnética nuclear (NMR)

- 5 Los espectros de <sup>1</sup>H NMR se registraron en un espectrómetro bien Bruker DPX-400 o bien Bruker AV-500 con secuencias pulsatorias estándar, que funcionaban a 400 MHz y 500 MHz, respectivamente. Los desplazamientos químicos (δ) se presentan en partes por millón (ppm) relativas al tetrametilsilano (TMS), que se usó como patrón interno

#### Método de LCMS

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

#### 10 Procedimiento general A para el instrumento Acquity-SQD

- 15 La medida por UPLC (cromatografía de líquidos de eficacia ultraalta, por sus siglas en inglés) se realizó usando un sistema de UPLC Acquity (Waters) que comprende un organizador muestreador, una bomba binaria con desgasificador, un horno de cuatro columnas, un detector de diodos en serie (DAD, por sus siglas en inglés) y una columna como la especificada en los métodos respectivos. El detector de MS se configuró con una fuente de ionización por electropulverización. Los espectros de masas se adquirieron en un detector SQD de un solo cuadrupolo barriendo desde 100 hasta 1.000 en 0,1 segundos usando un retardo entre canales de 0,08 segundos. El voltaje de la aguja capilar fue 3,0 kV. El voltaje del cono fue 25 V para el modo de ionización positiva y 30 V para el modo de ionización negativa. Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. La fuente de temperatura se mantuvo a 140°C. La adquisición de datos se realizó con el programa MassLynx-Openlynx.

#### 20 Método 1:

- 25 Además del procedimiento general A: Se llevó a cabo UPLC en fase inversa en una columna BEH-C18 (1,7 μm, 2,1 x 50 mm) de Waters, con un caudal de 1,0 ml/min, a 50°C, sin separación al detector de MS. Las condiciones de gradiente usadas eran: 95% de A (solución de acetato amónico de 0,5 g/l + 5% de acetonitrilo), 5% de B (acetonitrilo), a 40% de A, 60% de B en 3,8 minutos, a 5% de A, 95% de B en 4,6 minutos, mantenido hasta 5,0 minutos. Volumen de inyección 2,0 μl.

#### Método 2:

- 30 Además del procedimiento general A: Se llevó a cabo UPLC en fase inversa en una RRHD Eclipse Plus-C18 (1,8 μm, 2,1 x 50 mm) de Agilent, con un caudal de 1,0 ml/min, a 50°C sin separación al detector de MS. Las condiciones de gradiente usadas eran: 95% de A (solución de acetato amónico de 0,5 g/l + 5% de acetonitrilo), 5% de B (acetonitrilo), a 40% de A, 60% de B en 1,2 minutos, a 5% de A, 95% de B en 1,8 minutos, mantenido hasta 2,0 minutos. Volumen de inyección 2,0 μl.

#### Método 3:

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

#### Procedimiento general B para instrumentos HP 1100-MS (TOF, SQD o MSD)

- 35 La medida de HPLC se realizó usando un sistema HP 1100 (Agilent Technologies) que comprende una bomba (cuaternaria o binaria) con desgasificador, un automuestreador, un horno de columna, un detector de diodos en serie (DAD) y una columna como la especificada en los métodos respectivos. El detector de MS (SQD, TOF o MSD) se configuró bien con una fuente de ionización por electropulverización o bien una fuente de ionización doble ESCI (electropulverización combinada con ionización química a presión atmosférica). Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. La temperatura de la fuente se mantuvo bien a 140°C o bien a 100°C. La adquisición de datos se realizó bien con el programa MassLynx-Openlynx o bien el programa Chemsation-Agilent Data Browser.
- 40

B1: Los espectros de masas se adquirieron en un detector MSD de un solo cuadrupolo en modo APCI barriendo desde 100 hasta 1.000 en 0,99 segundos, tamaño del paso de 0,30 y anchura del pico de 0,10 minutos. El voltaje de la aguja capilar fue 3,0 Kv, el voltaje del fragmentador fue 70V para los modos de ionización positiva y negativa y la intensidad de la corona fue 4 µA.

- 5 B2: Los espectros de masas se adquirieron en un detector SQD de un solo cuadrupolo barriendo desde 100 hasta 1.000 en 0,1 segundos usando un retardo entre canales de 0,08 segundos. El voltaje de la aguja capilar fue 3,0 kV. El voltaje del cono fue 20 V para el modo de ionización positiva y 30 V para el modo de ionización negativa.

- 10 B3: Los espectros de masas se adquirieron en un detector de tiempo de vuelo (TOF) barriendo desde 100 hasta 750 en 0,5 segundos usando un tiempo de reposo de 0,3 segundos. El voltaje de la aguja capilar fue 2,5 kV para el modo de ionización positiva y 2,9 kV para el modo de ionización negativa. El voltaje del cono fue 20 V para los modos de ionización tanto positiva como negativa. Leucina-encefalina fue la sustancia estándar usada para la calibración del patrón de masa.

#### Método 4:

- 15 Además del procedimiento general B1: Se llevó a cabo HPLC en fase inversa en una columna Eclipse Plus-C18 (3,5 µm, 2,1 x 30 mm) de Agilent, con un caudal de 1,0 ml/min, a 60°C. Las condiciones de gradiente usadas eran: 95% de A (NH<sub>4</sub>AcO 6,5 mM en H<sub>2</sub>O/ACN 95/5), 5% de B (ACN), mantenido 0,2 minutos, a 100% de B en 3,0 minutos, mantenido hasta 3,15 minutos y equilibrado hasta las condiciones iniciales en 3,3 minutos hasta 5,0 minutos. Volumen de inyección 2 µl

#### Método 5:

- 20 Además del procedimiento general B2: Se llevó a cabo HPLC en fase inversa en una columna Eclipse Plus-C18 (3,5 µm, 2,1 x 30 mm) de Agilent, con un caudal de 1,0 ml/min, a 60°C. Las condiciones de gradiente usadas eran: 95% de A (NH<sub>4</sub>AcO 6,5 mM en H<sub>2</sub>O/ACN 95/5), 5% de B (ACN/ MeOH 1/1), a 100% de B en 5,0 minutos, mantenido hasta 5,15 minutos y equilibrado hasta las condiciones iniciales en 5,30 minutos hasta 7,0 minutos. Volumen de inyección 2 µl

- 25 Método 6:

- Además del procedimiento general B3: Se llevó a cabo HPLC en fase inversa en una columna Eclipse Plus-C18 (3,5 µm, 2,1 x 30 mm) de Agilent, con un caudal de 1,0 ml/min, a 60°C. Las condiciones de gradiente usadas eran: 95% de A (NH<sub>4</sub>AcO 6,5 mM en H<sub>2</sub>O/ACN 95/5), 5% de B (ACN), mantenido 0,2 minutos, a 100% de B en 3,0 minutos, mantenido hasta 3,15 minutos y equilibrado hasta las condiciones iniciales en 3,3 minutos hasta 5,0 minutos. Volumen de inyección 2 µl
- 30

#### Procedimiento general C

- La medida de HPLC se realizó usando un módulo Agilent 1100 que comprende una bomba, un detector de diodos en serie (DAD) (longitud de onda usada 220 nm), un calentador de columna y una columna como la especificada en los métodos respectivos posteriormente. El flujo procedente de la columna se dividió en un MSD Agilent Serie G1946C y G1956A. El detector de MS se configuró como API-ES (ionización por electropulverización a presión atmosférica). Los espectros de masas se adquirieron barriendo desde 100 hasta 1.000. El voltaje de la aguja capilar fue 2.500 V para el modo de ionización positiva y 3.000 V para el modo de ionización negativa. El voltaje de fragmentación fue 50 V. La temperatura del gas de secado se mantuvo a 350°C con un flujo de 10 l/min.
- 35

#### Método 7:

- 40 Además del procedimiento general C: Se llevó a cabo HPLC en fase inversa en una columna YMC-Pack ODS-AQ, 50x2,0 mm 5µm con un caudal de 0,8 ml/min. Se usaron dos fases móviles (fase móvil A: H<sub>2</sub>O con TFA al 0,1%; fase móvil B: ACN con TFA al 0,05%). En primer lugar, se mantuvo 100% de A durante 1 minuto. A continuación, se aplicó un gradiente hasta 40% de A y 60% de B en 4 minutos y se mantuvo durante 2,5 minutos. Se usaron volúmenes de inyección típicos de 2 µl. La temperatura del horno fue 50°C. (polaridad de MS: positiva).

- 45 Método 8:

Además del procedimiento general C: Se llevó a cabo HPLC en fase inversa en una columna Ultimate XB-C18, 50x2,1 mm 5µm con un caudal de 0,8 ml/min. Se usaron dos fases móviles (fase móvil C: 10 mmol/l de NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>; fase móvil D: ACN). En primer lugar, se mantuvo 100% de C durante 1 minuto. A continuación, se aplicó un

gradiente hasta 40% de C y 60% de D en 4 minutos y se mantuvo durante 2,5 minutos. Se usaron volúmenes de inyección típicos de 2 µl. La temperatura del horno fue 50°C. (polaridad de MS: positiva).

#### Procedimiento general D

- 5 La medida de UHPLC se realizó usando un sistema de LCMS Shimadzu 2010 que comprende una bomba, un detector de serie de fotodiodos (PDA, por sus siglas en inglés) (longitud de onda usada 220 nm), un horno de columna y una columna como la especificada en los métodos respectivos posteriormente. El flujo procedente de la columna se separó a un detector MSD Shimadzu 2010. El detector de MS se configuró con API-ES (ionización por electropulverización a presión atmosférica). Los espectros de masas se adquirieron barriendo desde 100 hasta 1.000. El voltaje interfacial fue 4.500 V para el modo de ionización positiva. El flujo del gas de nebulización fue 1,5 l/min. La temperatura del CDL (conducto de desolvatación curvado con capilar calentado) fue 250°C y el voltaje del CDL fue 30 V. La temperatura del bloque calentador fue 200°C. El voltaje del detector fue 1.500 V.

#### Método 9

- 15 Además del procedimiento general D: Se llevó a cabo UHPLC en fase inversa en una columna Xtimate C18 (30×2,1mm 3,0µm) con un caudal de 1,2 ml/min. Se usaron dos fases móviles (A: H<sub>2</sub>O con TFA al 0,15%; B: ACN con TFA al 0,75%). En primer lugar, se mantuvo 100% de A durante 1 min. A continuación, se aplicó un gradiente hasta 40% de A y 60% de B en 0,9 min., se mantuvo hasta 1,5 min. y se equilibró hasta las condiciones iniciales en 1,51 min. hasta 2,0 min. Se usaron volúmenes de inyección típicos de 1,0 µl. La temperatura del horno fue 50°C. (polaridad de MS: positiva).

#### Procedimiento general E

- 20 La medida de LC se realizó usando un sistema de UPLC (cromatografía de líquidos de rendimiento ultraalto) Acquity (Waters) que comprende una bomba binaria con desgasificador, un automuestreador, un detector de diodos en serie (DAD) y una columna como la especificada en los métodos respectivos posteriormente, la columna se mantiene a una temperatura de 40°C. El flujo procedente de la columna se llevó hasta un detector de MS. El detector de MS se configuró con una fuente de ionización por electropulverización. Los espectros de masas se adquirieron en un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo Quattro (Waters) al barrer desde 100 hasta 1.000 en 0,2 segundos usando un retardo entre barridos de 0,1 segundos. El voltaje de la aguja capilar fue 3 kV y la temperatura de la fuente se mantuvo a 130°C. El voltaje del cono fue 20V para el modo de ionización positiva y negativa. Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. La adquisición de datos se realizó con el programa MassLynx-Openlynx (Waters).

#### 30 Método 10:

- Además del procedimiento general E: Se llevó a cabo UPLC en fase inversa en una columna de fenilo-hexilo Acquity BEH (híbrido puenteado de etilsiloxano/sílice) (1,7 µm, 2,1 x 100 mm) de Waters con un caudal de 0,343 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: 95% de NH<sub>4</sub>AcO 7 mM/ 5% de ACN; fase móvil B: 100% de ACN) para mover una condición de gradiente desde 84,2% de A y 15,8% de B (mantenido durante 0,49 minutos) hasta 10,5% de A y 89,5% de B en 2,18 minutos, mantenido durante 1,94 min. y de nuevo hasta las condiciones iniciales en 0,73 min, mantenidas durante 0,73 minutos. Se usó un volumen de inyección de 2 ml.

#### Puntos de fusión

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

#### 40 Aparato Mettler FP 81HT/FP90 - FP62 (indicado por FP90 y FP62 en la Tabla 2)

Para un número de compuestos, los puntos de fusión se determinaron en tubos capilares abiertos en un aparato bien Mettler FP62 o bien Mettler FP81HT/FP90. Los puntos de fusión se midieron con un gradiente de temperatura de 1, 3, 5 o 10°C/minuto. La temperatura máxima fue 300°C. El punto de fusión se leyó de una pantalla digital.

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

| Comp. N° | $R_t$ | $[M+H]^+$ | Método | Punto de Fusión |
|----------|-------|-----------|--------|-----------------|
| 1        | 1,55  | 338       | 3      | n.d.            |
| 2        | 1,6   | 381       | 3      | n.d.            |
| 3        | 1,58  | 415       | 3      | 94,4°C (FP62)   |
| 4        | 2,25  | 415       | 10     | 212,2°C (FP62)  |
| 5        | 2,25  | 415       | 10     | 186,3°C (FP62)  |
| 6        | 1,18  | 372       | 3      | 221,6°C (FP62)  |
| 7        | 1,98  | 372       | 10     | 281,8°C (FP62)  |
| 8        | 1,99  | 372       | 10     | 248,8°C (FP62)  |
| 9        | 1,98  | 450       | 3      | 147,4°C (FP62)  |
| 10       | 3,60  | 483       | 5      | >300°C (FP90)   |
| 11       | 2,90  | 483       | 10     | 147,8°C (FP62)  |
| 12       | 2,90  | 483       | 10     | 221,8°C (FP62)  |
| 13       | 0,97  | 414       | 2      | 99,4°C (FP90)   |
| 14       | 1,74  | 433       | 3      | n.d.            |
| 15       | 2,37  | 433       | 10     | >300°C (FP90)   |
| 16       | 2,37  | 433       | 10     | >300°C (FP90)   |
| 17       | 1,90  | 432       | 3      | 263,4°C (FP90)  |
| 18       | 2,45  | 432       | 10     | 248°C (FP90)    |
| 19       | 2,45  | 432       | 10     | 279,9°C (FP90)  |
| 20       | 1,94  | 419       | 3      | 236,9°C (FP90)  |
| 21       | 2,48  | 419       | 10     | n.d.            |
| 22       | 2,49  | 419       | 10     | 220,4°C (FP90)  |
| 23       | 2,26  | 421       | 3      | 276,3°C (FP90)  |
| 24       | 2,29  | 408       | 3      | 186,4°C (FP90)  |
| 25       | 2,23  | 433       | 3      | 180°C (FP90)    |

| Comp. N° | R <sub>t</sub> | [M+H] <sup>+</sup> | Método | Punto de Fusión |
|----------|----------------|--------------------|--------|-----------------|
| 26       | 2,18           | 446                | 3      | n.d.            |
| 27       | 2,14           | 428                | 3      | n.d.            |
| 28       | 2,18           | 429                | 3      | n.d.            |
| 29       | 2,25           | 415                | 3      | >300°C (FP90)   |
| 30       | 3,31           | 446                | 5      | n.d.            |
| 31       | 2,72           | 446                | 10     | 220,9°C (FP62)  |
| 32       | 2,72           | 446                | 10     | 220°C (FP62)    |
| 33       | 0,99           | 401                | 2      | 186°C (FP90)    |
| 34       | 1,47           | 387                | 3      | 187°C (FP62)    |
| 35       | 3,24           | 455                | 5      | 87,2°C (FP62)   |
| 36       | 2,75           | 401                | 5      | 109,8°C (FP62)  |
| 37       | 2,24           | 430                | 3      | 108,8°C (FP90)  |
| 38       | 2,32           | 417                | 3      | >300°C (FP90)   |
| 39       | 2,53           | 449                | 3      | n.d.            |
| 40       | 2,04           | 454                | 3      | n.d.            |
| 41       | 2,18           | 415                | 3      | n.d.            |
| 42       | 1,94           | 436                | 3      | n.d.            |
| 43       | 1,86           | 394                | 3      | n.d.            |

n.d. significa no determinado

#### Métodos de SFCMS

##### Procedimiento general A para métodos de SFC-MS

- 5 La medida de SFC se realizó usando un sistema de SFC Analytical de Berger Instruments (Newark, DE, EE. UU. de A.) que comprende un módulo de control de doble bomba (FCM-1200) para el aporte de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y un modificador, un módulo de control térmico para el calentamiento de la columna (TCM2100) con un control de temperatura en el intervalo 1-150°C y válvulas de selección de la columna (Valco, VICI, Houston, TX, EE. UU. de A.) para seis columnas diferentes. El detector de serie de fotodiodos (Agilent 1100, Waldbronn, Alemania) está equipado con una célula de flujo de alta presión (hasta 400 bar) y configurado con un automuestreador CTC LC Mini PAL (Leap Technologies, Carrboro, NC, EE. UU. de A.). Un espectrómetro de masas ZQ (Waters, Milford, MA, EE. UU. de A.) con una interfase de electropulverización Z ortogonal está acoplado al sistema de SFC. El control de los instrumentos, la recogida de datos y el procesamiento se realizaron con una plataforma integrada que consistía en el programa SFC ProNTTo y el programa Masslynx.
- 10

## Método 1

Además del procedimiento general A: La separación quiral en SFC se llevó a cabo en una columna CHIRALPAK AD-H (4,6 mm x 500 mm) a 50°C con un caudal de 3,0 ml/min. La fase móvil es CO<sub>2</sub>, 20% de MeOH (que contiene iPrNH<sub>2</sub> al 0,2%) mantenido 15,00 min., modo isocrático.

## 5 Procedimiento general B

La medida de SFC se realizó usando un sistema de SFC Analytical de Berger instruments (Newark, DE, EE. UU. de A.) que comprende un módulo de control de fluidos de doble bomba FCM-1200 para aportar dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) y un modificador, un muestreador de líquidos automático CTC Analytics, un módulo de control térmico TCM-20000 para el calentamiento de la columna desde temperatura ambiente hasta 80°C. Se usó un detector de serie de fotodiodos UV Agilent 1100 equipado con una célula de flujo de alta presión que soportaba hasta 400 bar. El flujo procedente de la columna se separó hasta un espectrómetro de MS. El detector de MS se configuró con una fuente de ionización a presión atmosférica. Los siguientes parámetros de ionización para el espectrómetro de masas Waters ZQ son: corona: 9 µa, temperatura de la fuente: 140°C, cono: 30 V, temperatura de la sonda 450°C, extractor 3 V, gas de desolvatación 400 l/h, gas del cono 70 l/h. Se usó nitrógeno como el gas nebulizador. La adquisición de datos se realizó con un sistema de datos MassLynx-Openlynx de Waters-Micromass.

## Método 2

Además del procedimiento general B: La separación quiral en SFC se llevó a cabo en una columna CHIRALPAK AD DAICEL (10 µm, 4,6 x 250 mm) a 35°C con un caudal de 3,0 ml/min. La fase móvil es CO<sub>2</sub>, 60% de etanol, 40% de EtOH (que contiene iPrNH<sub>2</sub> al 0,3%) mantenida 7 min.

20 Tabla 3: Datos analíticos de SFC - R<sub>t</sub> significa tiempo de retención (en min), [M+H]<sup>+</sup> significa la masa protonada del compuesto, método se refiere al método usado para el análisis de SFC/MS de compuestos enantiómeramente puros.

| Comp. N°                  | R <sub>t</sub> | [M+H] <sup>+</sup> | % Área UV | Método | Orden de Elución de Isómeros* | ee (%) |
|---------------------------|----------------|--------------------|-----------|--------|-------------------------------|--------|
| Producto intermedio A6(S) | 5,35           | 230                | 100       | 1      | A                             | -      |
| Producto intermedio A6(R) | 6,88           | 230                | 100       | 1      | B                             | -      |
| 4                         | 3,17           | 415                | 100       | 2      | A                             | -      |
| 5                         | 4,17           | 415                | 100       | 2      | B                             | -      |
| 7                         | 1,92           | 372                | 100       | 2      | A                             | -      |
| 8                         | 3,05           | 372                | 100       | 2      | B                             | -      |
| 11                        | 4,95           | 483                | 100       | 3      | B                             | -      |
| 12                        | 4,01           | 483                | 100       | 3      | A                             | -      |
| 15                        | 4,14           | 433                | 100       | 4      | A                             | -      |
| 16                        | 5,17           | 433                | 100       | 4      | B                             | -      |
| 18                        | 3,07           | 432                | 100       | 5      | A                             | -      |
| 19                        | 4,15           | 432                | 100       | 5      | B                             | -      |
| 21                        | 2,81           | 419                | 100       | 3      | A                             | -      |
| 22                        | 4,17           | 419                | 100       | 3      | B                             | -      |

| Comp. N° | R <sub>t</sub> | [M+H] <sup>+</sup> | % Área UV | Método | Orden de Elución de Isómeros* | ee (%) |
|----------|----------------|--------------------|-----------|--------|-------------------------------|--------|
| 27       | 4,37           | 433                | 89,33     | 6      | A                             | 79     |
| 28       | 4,97           | 446                | 70,11     | 7      | A                             | 40     |
| 31       | 3,33           | 446                | 100       | 3      | A                             | -      |
| 32       | 3,90           | 446                | 99,44     | 3      | B                             | -      |
| 39       | 5,20           | 449                | 91,51     | 6      | A                             | 83     |
| 40       | 3,40           | 454                | 93,61     | 7      | A                             | 88     |

\*A significa el primer isómero que se eluye. B significa el segundo isómero que se eluye. El ee se evaluó en el caso de compuestos enantiómeramente no puros.

Rotaciones ópticas:

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

**Tabla 4:** Datos analíticos – Valores de la rotación óptica para compuestos enantiómeramente puros

| Comp. N° | $\alpha_D$ (°) | Longitud de onda (nm) | Concentración p/v% | Disolvente | Temp. (° C) |
|----------|----------------|-----------------------|--------------------|------------|-------------|
| 4        | +20,3          | 589                   | 0,56               | DMF        | 20          |
| 5        | -31,6          | 589                   | 0,5                | DMF        | 20          |
| 7        | -70,7          | 589                   | 0,45               | DMF        | 20          |
| 8        | +45,6          | 589                   | 0,41               | DMF        | 20          |
| 11       | 12,0           | 589                   | 0,50               | MeOH       | 20          |
| 12       | -18,8          | 589                   | 0,50               | MeOH       | 20          |
| 13       | 83,7           | 589                   | 0,55               | DMF        | 20          |
| 18       | 136,8          | 589                   | 0,51               | DMF        | 20          |
| 19       | -140,8         | 589                   | 0,50               | DMF        | 20          |
| 21       | -126,7         | 589                   | 0,51               | DMF        | 20          |
| 22       | 115,2          | 589                   | 0,54               | DMF        | 20          |
| 23       | 144,4          | 589                   | 0,50               | DMF        | 20          |
| 24       | 111,4          | 589                   | 0,51               | DMF        | 20          |
| 25       | 121,1          | 589                   | 0,50               | DMF        | 20          |

| Comp. N° | $\alpha_D$ (°) | Longitud de onda (nm) | Concentración p/v% | Disolvente | Temp. (° C) |
|----------|----------------|-----------------------|--------------------|------------|-------------|
| 29       | 111,0          | 589                   | 0,51               | DMF        | 20          |
| 31       | 17,9           | 589                   | 0,50               | MeOH       | 20          |
| 32       | -26,4          | 589                   | 0,50               | MeOH       | 20          |
| 33       | 56,6           | 589                   | 0,65               | DMF        | 20          |
| 35       | 81,5           | 589                   | 0,50               | DMF        | 20          |
| 37       | 29,2           | 589                   | 0,52               | DMF        | 20          |
| 38       | 14,8           | 589                   | 0,49               | DMF        | 20          |
| 41       | 65,2           | 589                   | 0,50               | DMF        | 20          |
| 42       | 77,1           | 589                   | 0,50               | DMF        | 20          |

n.d. significa no determinado

#### Ejemplos farmacológicos

5 Los compuestos proporcionados en la presente invención son inhibidores de la enzima de escisión de APP en el sitio  $\beta$  1 (BACE1). Se cree que la inhibición de BACE1, una proteasa aspártica, es importante para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (AD). Se cree que la producción y acumulación de péptidos de amiloide  $\beta$  (A $\beta$ ) a partir de la proteína precursora de amiloide  $\beta$  (APP) representa un papel clave en el comienzo y la progresión de la AD. El A $\beta$  se produce a partir de la proteína precursora de amiloide (APP) mediante escisión secuencial del extremo N y C del dominio de A $\beta$  por  $\beta$ -secretasa y  $\gamma$ -secretasa, respectivamente.

10 Se espera que los compuestos de Fórmula (I) tengan su efecto sustancialmente en BACE1 en virtud de su capacidad para inhibir la actividad enzimática. Se muestran en la Tabla 3 el comportamiento de tales inhibidores probado usando un ensayo basado en transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET, por sus siglas en inglés) y un ensayo de olisa celular en células SKNBE2 descritos posteriormente y que son adecuados para la identificación de tales compuestos, y más particularmente los compuestos según la Fórmula (I).

#### Ensayo bioquímico basado en FRET

15 Este ensayo es un ensayo basado en transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET). El sustrato para este ensayo es un péptido de 13 aminoácidos derivado de APP que contiene la mutación "sueca" Lys-Met/Asn-Leu del sitio de escisión de  $\beta$ -secretasa de la proteína precursora de amiloide (APP). Este sustrato también contiene dos fluoróforos: el ácido (7-metoxicumarin-4-il)acético (Mca) es un donante fluorescente con una longitud de onda de excitación a 320 nm y emisión a 405 nm y el 2,4-dinitrofenilo (Dnp) es un aceptor desactivante patentado. La distancia entre esos dos grupos se ha seleccionado de modo que al excitar con luz, la energía de fluorescencia del donante sea desactivada significativamente por el aceptor, a través de transferencia de energía de resonancia. Al escindir mediante BACE1, el fluoróforo Mca se separa del grupo desactivante Dnp, restaurando todo el rendimiento de fluorescencia del donante. El incremento en la fluorescencia está relacionado linealmente con la velocidad de proteólisis (Koike H et al. *J. Biochem.* **1999**, 126, 235-242). Brevemente, en un formato de 384 pocillos se incubaba proteína BACE1 recombinante en una concentración final de 1  $\mu$ g/ml durante 120 min. a temperatura ambiente con 10  $\mu$ m de sustrato en tampón de incubación (tampón de citrato 40 mM pH 5,0, PEG al 0,04%, DMSO al 4%) en ausencia o presencia de compuesto. A continuación, la cantidad de proteólisis se mide directamente mediante medida de la fluorescencia a T=0 y T=120 (excitación a 320 nm y emisión a 405 nm). Los resultados se expresan en RFU, como diferencia entre T120 y T0. Una curva mejor ajustada se ajusta mediante un método de suma mínima de cuadrados a la gráfica de % Control min. frente a concentración de compuesto. A partir de esta, se puede obtener un valor de IC<sub>50</sub> (concentración inhibidora que provoca 50% de inhibición de la actividad).

LC = Mediana de los valores de control bajo

= Control bajo: Reacción sin enzima

HC = Mediana de los valores de control alto

= Control alto: Reacción con enzima

% Efecto =  $100 - [(muestra-LC)/(HC-LC) * 100]$

% Control =  $(muestra(HC)*100)$

5 % Control min =  $(muestra-LC)/(HC-LC)*100$

Los siguientes compuestos ejemplificados se probaron esencialmente como se describe anteriormente y exhibieron la siguiente actividad :

Tabla 5

| Comp. N° | Ensayo bioquímico basado en FRET |
|----------|----------------------------------|
|          | pIC <sub>50</sub>                |
| 1        | 6,28                             |
| 2        | 7,08                             |
| 3        | 7,33                             |
| 4        | 4,67                             |
| 5        | 7,43                             |
| 6        | 7,25                             |
| 7        | 7,75                             |
| 8        | 4,86                             |
| 9        | 5,1                              |
| 10       | 7,2                              |
| 11       | 7,55                             |
| 12       | 5,06                             |
| 13       | 7,14                             |
| 14       | 7,45                             |
| 15       | 7,73                             |
| 16       | 5,98                             |
| 17       | 7,24                             |
| 18       | 7,65                             |
| 19       | 5,01                             |

| Comp. N° | Ensayo bioquímico basado en FRET |
|----------|----------------------------------|
|          | pIC <sub>50</sub>                |
| 20       | 7,18                             |
| 21       | <4,52                            |
| 22       | 7,59                             |
| 23       | 7,4                              |
| 24       | 7,49                             |
| 25       | 7,56                             |
| 26       | 7,31                             |
| 27       | 7,22                             |
| 28       | 7,16                             |
| 29       | 7,09                             |
| 30       | 6,77                             |
| 31       | 4,97                             |
| 32       | 7,20                             |
| 33       | 7,19                             |
| 34       | 7,23                             |
| 35       | 6,91                             |
| 36       | 7,04                             |
| 37       | 5,86                             |
| 38       | 6,03                             |
| 39       | 7,39                             |
| 40       | 7,28                             |
| 41       | 6,93                             |
| 42       | 7,12                             |
| 43       | 7,53                             |

## Ensayo celular de alisa en células SKNBE2

En dos ensayos de alisa, se cuantifican los niveles de A $\beta$  total y A $\beta$ 42 producidos y secretados al medio de células SKNBE2 de neuroblastoma humano. El ensayo se basa en las SKNBE2 de neuroblastoma humano que expresan la proteína precursora de amiloide natural (hAPP695). Los compuestos se diluyen y se añaden a estas células, se incuban durante 18 horas y a continuación se toman medidas de A $\beta$ 42 y A $\beta$ total. A $\beta$ total y A $\beta$ 42 se miden mediante alisa tipo sándwich. Alisa es un ensayo tipo sándwich que usa anticuerpo AbN/25 biotinilado empalmado a cuentas revestidas con estreptavidina y cuentas aceptoras conjugadas a anticuerpo Ab4G8 o cAb42/26 para la detección de A $\beta$ total y A $\beta$ 42, respectivamente. En presencia de A $\beta$ total o A $\beta$ 42, las cuentas se aproximan mucho. La excitación de las cuentas donantes provoca la liberación de moléculas de oxígeno singlete, lo que desencadena una cascada de transferencia de energía en las cuentas aceptoras, dando como resultado emisión de luz. La emisión de luz se mide después de 1 hora de incubación (excitación a 650nm y emisión a 615nm).

Una curva mejor ajustada se ajusta mediante un método de suma mínima de cuadrados a la gráfica de % Control min. frente a concentración de compuesto. A partir de esta, se puede obtener un valor de IC<sub>50</sub> (concentración inhibidora que provoca 50% de inhibición de la actividad).

15 LC = Mediana de los valores de control bajo

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

HC = Mediana de los valores de control alto

= Control alto: células preincubadas sin compuesto

% Efecto =  $100 - [(muestra - LC) / (HC - LC) * 100]$

20 % Control =  $(muestra(HC) * 100)$

% Control min =  $(muestra - LC) / (HC - LC) * 100$

Los siguientes compuestos ejemplificados se probaron esencialmente como se describe anteriormente y exhibieron la siguiente actividad :

Tabla 6

| Comp. N° | Ensayo celular de alisa en células SKNBE2 | Ensayo celular de alisa en células SKNBE2 |
|----------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|
|          | A $\beta$ 42<br>pIC <sub>50</sub>         | A $\beta$ total<br>pIC <sub>50</sub>      |
| 1        | 7,03                                      | 7                                         |
| 2        | 8,49                                      | 8,61                                      |
| 3        | 8,49                                      | 8,47                                      |
| 4        | 5,84                                      | 5,84                                      |
| 5        | 8,59                                      | 8,55                                      |
| 6        | 8,24                                      | 8,29                                      |
| 7        | 8,66                                      | 8,69                                      |
| 8        | 6,13                                      | 6,13                                      |
| 9        | 6,00                                      | 6,06                                      |

| Comp. N° | Ensayo celular de alisa en células SKNBE2 | Ensayo celular de alisa en células SKNBE2 |
|----------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|
|          | A $\beta$ 42<br>pIC <sub>50</sub>         | A $\beta$ total<br>pIC <sub>50</sub>      |
| 10       | 7,78                                      | 7,81                                      |
| 11       | 7,94                                      | 8,01                                      |
| 12       | 5,64                                      | 5,75                                      |
| 13       | 8,17                                      | 8,26                                      |
| 14       | 8,87                                      | 8,93                                      |
| 15       | 9,33                                      | 9,37                                      |
| 16       | 7,66                                      | 7,74                                      |
| 17       | 7,40                                      | 7,48                                      |
| 18       | 7,52                                      | 7,54                                      |
| 19       | 5,28                                      | 5,13                                      |
| 20       | 7,07                                      | 7,18                                      |
| 21       | <5                                        | <5                                        |
| 22       | 7,17                                      | 7,21                                      |
| 23       | 8,75                                      | 8,71                                      |
| 24       | 8,48                                      | 8,41                                      |
| 25       | 8,88                                      | 8,87                                      |
| 26       | 8,83                                      | 8,84                                      |
| 27       | 8,15                                      | 8,17                                      |
| 28       | 8,28                                      | 8,20                                      |
| 29       | 7,79                                      | 7,77                                      |
| 30       | 7,43                                      | 7,45                                      |
| 31       | 5,58                                      | 5,61                                      |
| 32       | 7,76                                      | 7,84                                      |
| 33       | 8,09                                      | 8,14                                      |

| Comp. N° | Ensayo celular de alisa en células SKNBE2 | Ensayo celular de alisa en células SKNBE2 |
|----------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|
|          | A $\beta$ 42<br>pIC <sub>50</sub>         | A $\beta$ total<br>pIC <sub>50</sub>      |
| 34       | 7,83                                      | 7,78                                      |
| 35       | 7,33                                      | 7,30                                      |
| 36       | 7,56                                      | 7,53                                      |
| 37       | 6,03                                      | 6,07                                      |
| 38       | 6,16                                      | 6,22                                      |
| 39       | 8,61                                      | 8,59                                      |
| 40       | 8,42                                      | 8,37                                      |
| 41       | 7,69                                      | 7,67                                      |
| 42       | 8,02                                      | 7,99                                      |
| 43       | 8,72                                      | 8,70                                      |

n.t. significa no probado

#### Demostración de la eficacia in vivo

- Los agentes de disminución del péptido A $\beta$  de la invención se pueden usar para tratar la AD en mamíferos tales como seres humanos o alternatively demostrar eficacia en modelos en animales tales como, pero no limitados a, el ratón, la rata o la cobaya. El mamífero puede no estar diagnosticado de AD, o pueden no tener una predisposición genética a la AD, pero puede ser transgénico de modo que sobreproduzca y finalmente deposite A $\beta$  de un modo similar al observado en seres humanos afectados de AD
- Los agentes de disminución del péptido A $\beta$  se pueden administrar en cualquier forma estándar usando cualquier método estándar. Por ejemplo, pero no limitado a, los agentes de disminución del péptido A $\beta$  pueden estar en la forma de un líquido, comprimidos o cápsulas que se toman oralmente o mediante inyección. Los agentes de disminución del péptido A $\beta$  se pueden administrar en cualquier dosis que sea suficiente para reducir significativamente los niveles de A $\beta$  en la sangre, el plasma sanguíneo, el suero, el fluido cerebroespinal (CSF) o el cerebro.
- Para determinar si una administración aguda de un agente de disminución del péptido A $\beta$ 42 reducía los niveles de péptido A $\beta$  in vivo, se usaron roedores, p. ej. ratones o ratas, no transgénicos. Los animales tratados con el agente de disminución del péptido A $\beta$  fueron examinados y comparados con los no tratados o tratados con vehículo y los niveles cerebrales de A $\beta$ 42 soluble y A $\beta$  total se cuantificaron mediante técnicas estándar, por ejemplo, usando ELISA. Los períodos de tratamiento variaron de horas (h) a días y se ajustaron basándose en los resultados de la disminución de A $\beta$ 42 una vez que se pudiera establecer un transcurso del tiempo de comienzo del efecto.
- Se muestra un protocolo típico para medir la disminución de A $\beta$ 42 in vivo, pero sólo es una de muchas variaciones que se podrían usar para optimizar los niveles de A $\beta$  detectable. Por ejemplo, los compuestos de disminución del péptido A $\beta$  se formularon en hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina al 20%. Los agentes de disminución del péptido A $\beta$  se administraron como una sola dosis oral (p.o.) o una sola dosis subcutánea (s.c.) a animales mantenidos en ayunas durante la noche. Después de un cierto tiempo, habitualmente 2 o 4 h (como se indica en la Tabla 7), los animales fueron sacrificados y se analizaron los niveles de A $\beta$ 42.
- Se recogió sangre mediante decapitación y exsanguinaciones en tubos de recogida tratados con EDTA. La sangre se centrifugó a 1.900 g durante 10 minutos (min.) a 4°C y el plasma se recuperó y se congeló instantáneamente para el análisis posterior. El cerebro se extirpó del cráneo y el rombencéfalo. El cerebelo se extirpó y el hemisferio izquierdo y derecho se separaron. El hemisferio izquierdo se almacenó a -18°C para el análisis cuantitativo de los niveles de compuesto de prueba. El hemisferio derecho se enjuagó con tampón de solución salina tamponada con

fosfato (PBS) e inmediatamente se congeló sobre hielo seco y se almacenó a -80°C hasta la homogeneización para los ensayos bioquímicos.

5 Cerebros de ratones de animales no transgénicos se resuspendieron en 8 volúmenes de DEA (dietilamina) al 04%/NaCl 50 mM que contenían inhibidores de proteasa (Roche-11873580001 o 04693159001) por gramo de tejido, p. ej., para 0,158 g de cerebro, añádanse 1,264 ml de DEA al 0,4%. Todas las muestras se homogeneizaron en el sistema FastPrep-24 (MP Biomedicals) usando una matriz de lisis D (MPBio #6913-100) a 6 m/s durante 20 segundos. Los homogenados se centrifugaron 221.300 x g durante 50 min. Los sobrenadantes de alta velocidad resultantes se transfirieron a continuación a tubos de Eppendorf recientes. Nueve partes de sobrenadante se neutralizaron con 1 parte de Tris-HCl 0,5 M pH 6,8 y se usaron para cuantificar A $\beta$ total y A $\beta$ 42.

10 Para cuantificar la cantidad de A $\beta$ total y A $\beta$ 42 en la fracción soluble de los homogenados de cerebro, se usaron ensayos de inmunoabsorción con enzimas ligadas. Brevemente, los patrones (una dilución de A $\beta$ 1-40 y A $\beta$ 1-42 sintéticos, Bachem) se prepararon en un tubo de Eppendorf de 1,5 ml en Ultraculture, con concentraciones finales que variaban de 10.000 a 0,3 pg/ml. Las muestras y los patrones se coincubaron con anticuerpo N-terminal marcado con HRPO para la detección de A $\beta$ 42 y con el anticuerpo de dominio medio biotinilado 4G8 para la detección de A $\beta$ total. A continuación, se añadieron 50  $\mu$ l de mezclas de conjugado/muestra o conjugado/patrones a la placa  
15 revestida con anticuerpo (los anticuerpos de captura reconocen selectivamente el extremo C-terminal de A $\beta$ 42, anticuerpo JRF/cA $\beta$ 42/26, para la detección de A $\beta$ 42, y el extremo N de A $\beta$ , anticuerpo JRF/rA $\beta$ /2, para la detección de A $\beta$ total). La placa se dejó incubar durante la noche a 4°C a fin de permitir la formación del complejo anticuerpo-amiloide. Después de esta incubación y las etapas de lavado posteriores, el ELISA para la cuantificación de A $\beta$ 42 se  
20 acabó mediante la adición de sustrato de peroxidasa fluorogénico Quanta Blu según las instrucciones del fabricante (Pierce Corp., Rockford, IL). Se realizó una lectura después de 10 a 15 min. (excitación 320 nm/emisión 420 nm).

Para la detección de A $\beta$ total, se añadió un conjugado de estreptavidina-peroxidasa, seguido 60 min. después por una etapa de lavado adicional y la adición de sustrato de peroxidasa fluorogénico Quanta Blu según las instrucciones del fabricante (Pierce Corp., Rockford, IL). Se realizó una lectura después de 10 a 15 min. (excitación  
25 320 nm/emisión 420 nm).

En este modelo, sería ventajoso al menos 20% de disminución de A $\beta$ 42 en comparación con animales no tratados.

Los siguientes compuestos ejemplificados se probaron esencialmente como se describe anteriormente y exhibían la siguiente actividad:

Tabla 7:

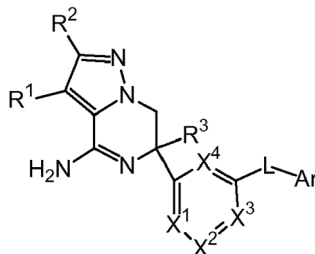
| Comp. N° | A $\beta$ 42 (%Ctrl)_Media | A $\beta$ total (%Ctrl)_Media | Dosis    | Vía de administración | Tiempo después de la administración |
|----------|----------------------------|-------------------------------|----------|-----------------------|-------------------------------------|
| 7        | 88                         | 101                           | 30 mg/kg | p.o.                  | 4 h                                 |
| 11       | 89                         | 84                            | 30 mg/kg | p.o.                  | 4 h                                 |
| 23       | 45                         | 39                            | 10 mg/kg | p.o.                  | 4 h                                 |
| 24       | 16                         | 31                            | 30 mg/kg | p.o.                  | 4 h                                 |
| 24       | 66                         | 59                            | 5 mg/kg  | p.o.                  | 4 h                                 |
| 27       | 55                         | 61                            | 10 mg/kg | p.o.                  | 4 h                                 |
| 28       | 39                         | 50                            | 10 mg/kg | p.o.                  | 4 h                                 |
| 29       | 59                         | 58                            | 10 mg/kg | p.o.                  | 4 h                                 |

| <b>Comp.<br/>Nº</b> | <b>A<math>\beta</math>42<br/>(%Ctrl)_Media</b> | <b>A<math>\beta</math>total<br/>(%Ctrl)_Media</b> | <b>Dosis</b> | <b>Vía de<br/>administración</b> | <b>Tiempo después de la<br/>administración</b> |
|---------------------|------------------------------------------------|---------------------------------------------------|--------------|----------------------------------|------------------------------------------------|
| 32                  | 53                                             | 58                                                | 30<br>mg/kg  | p.o.                             | 2 h                                            |
| 33                  | 49                                             | 20                                                | 100<br>mg/kg | s.c.                             | 4 h                                            |

n.t. significa no probado; s.c. significa subcutánea ; p.o. significa oral

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I)



o uno de sus tautómeros o una de sus formas estereoisómeras, en donde

5  $R^1$  y  $R^2$  se seleccionan independientemente del grupo que consiste en hidrógeno, halo, ciano, alquilo  $C_{1-3}$ , mono- y polihalo-alquilo( $C_{1-3}$ ) y cicloalquilo  $C_{3-6}$ ;

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

10  $X^1$ ,  $X^2$ ,  $X^3$ ,  $X^4$  son independientemente  $C(R^4)$  o N, con la condición de que no más de dos de ellos representen N; cada  $R^4$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, halo, alquilo  $C_{1-3}$ , mono- y polihalo-alquilo( $C_{1-3}$ ), ciano, alquiloxi  $C_{1-3}$ , mono- y polihalo-alquiloxi( $C_{1-3}$ );

L es un enlace o  $-N(R^5)CO-$ , en donde  $R^5$  es hidrógeno o alquilo  $C_{1-3}$ ;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

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

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

20 una de sus sales por adición o uno de sus solvatos.

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

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

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

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

25 Ar es homoarilo o heteroarilo;

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

heteroarilo se selecciona del grupo que consiste en piridilo, pirimidilo y piracilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, ciano, alquilo  $C_{1-3}$ , alquiloxi  $C_{1-3}$  y polihalo-alquiloxi( $C_{1-3}$ ); o

30

una de sus sales por adición de ácido o uno de sus solvatos.

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

$R^1$  y  $R^2$  son hidrógeno;

$X^1$ ,  $X^2$ ,  $X^3$ ,  $X^4$  son  $CH_3$ ;

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

Ar es homoarilo o heteroarilo;

5 en donde el homoarilo es fenilo sustituido con cloro;

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

una de sus sales por adición o uno de sus solvatos.

4. El compuesto según la reivindicación 1, en el que el átomo de carbono sustituido con  $R^3$  tiene la configuración R.

10 5. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como el definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

6. Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica como la definida en la reivindicación 5, caracterizado por que un excipiente farmacéuticamente aceptable se mezcla íntimamente con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como el definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

15 7. Un compuesto como el definido en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, para el uso en el tratamiento, la prevención o la profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (AD), el deterioro cognitivo leve, la senilidad, la demencia, la demencia con cuerpos de Lewy, el síndrome de Down, la demencia asociada con apoplejía, la demencia asociada con enfermedad de Parkinson o la demencia asociada con amiloide  $\beta$ .