

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 560 788**

51 Int. Cl.:

A61K 31/54	(2006.01)	C07D 495/04	(2006.01)
C07D 285/18	(2006.01)	C07B 59/00	(2006.01)
C07D 401/12	(2006.01)		
C07D 401/14	(2006.01)		
C07D 403/04	(2006.01)		
C07D 403/12	(2006.01)		
C07D 417/04	(2006.01)		
C07D 417/12	(2006.01)		
C07D 417/14	(2006.01)		
C07D 471/04	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.10.2010 E 10822567 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.12.2015 EP 2485736**

54 Título: **Compuestos de dióxido de iminotiadiazina como inhibidores de BACE, composiciones y su uso**

30 Prioridad:

08.10.2009 US 249685 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.02.2016

73 Titular/es:

**MERCK SHARP & DOHME CORP. (100.0%)
126 East Lincoln Avenue
Rahway, NJ 07065-0907, US**

72 Inventor/es:

**SCOTT, JACK, D.;
STAMFORD, ANDREW, W.;
GILBERT, ERIC, J.;
CUMMING, JARED, N.;
ISERLOH, ULRICH;
MISIASZEK, JEFFREY, A. y
LI, GUOQING**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 560 788 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de dióxido de iminotiadiazina como inhibidores de BACE, composiciones y su uso

5 **Solicitudes relacionadas**

La presente solicitud reivindica la prioridad del documento de solicitud provisional de Estados Unidos con número de serie 61/249.685, presentado el 8 de octubre de 2009.

10 **Campo de la invención**

La presente invención proporciona ciertos compuestos del dióxido de iminotiadiazina y composiciones que comprenden estos compuestos. Se ha descubierto sorprendentemente que los nuevos compuestos de dióxido de iminotiadiazina de la invención exhiben propiedades que se espera que los hagan ventajosos como inhibidores de BACE y/o para el tratamiento y la prevención de diversas patologías relacionadas con la producción de β -amiloide ("A β ").

Antecedentes

20 El péptido amiloide beta ("A β ") es un componente principal de las fibrillas y placas de amiloide β , que se considera que desempeñan un papel en un número creciente de patologías. Algunos ejemplos de tales patologías incluyen, pero no se limitan a, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, enfermedad de Parkinson, pérdida de memoria (incluyendo pérdida de memoria asociada a enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson), síntomas de déficit de atención (incluyendo síntomas de déficit de atención asociados a enfermedad de Alzheimer ("AD"), enfermedad de Parkinson, y síndrome de Down), demencia (incluyendo demencia presenil, demencia senil, demencia asociada a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y síndrome de Down), parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal, neurodegeneración, deterioro olfativo (incluyendo deterioro olfativo asociado a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y síndrome de Down), angiopatía por β -amiloide (incluyendo angiopatía amiloide cerebral), hemorragia cerebral hereditaria, deterioro cognitivo leve ("MCI"), glaucoma, amiloidosis, diabetes del tipo II, hemodiálisis (microglobulinas β 2 y complicaciones que surgen de las mismas), enfermedades neurodegenerativas tales como tembladera, encefalitis esponjiforme bovina, enfermedad de Creutzfeld-Jakob, traumatismo craneoencefálico y similares.

35 Los péptidos A β son péptidos cortos que están formados por la descomposición proteolítica de la proteína de transmembrana denominada proteína precursora de amiloide ("APP"). Los péptidos A β están formados por la escisión de APP mediante la actividad de β -secretasa cerca de la posición cercana al extremo N-terminal de A β , y mediante la actividad de gamma-secretasa en una posición cercana al extremo C-terminal de A β (APP también se escinde mediante la actividad de α -secretasa, dando como resultado el fragmento secretado no amiloidogénico conocido como APP α soluble). Se considera la enzima de escisión de APP en el sitio beta ("BACE-1") como la aspartil proteasa principal responsable de la producción de A β mediante la actividad de β -secretasa. Se ha mostrado que la inhibición de BACE-1 inhibe la producción de A β .

45 Se estima que la AD afecta a más de 20 millones de personas en todo el mundo y se cree que es la causa más común de demencia. La AD es una enfermedad caracterizada por la degeneración y pérdida de neuronas y también por la formación de placas y ovillos neurofibrilares seniles. En la actualidad, el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer se limita al tratamiento de sus síntomas en lugar de las causas subyacentes. Los agentes que mejoran los síntomas aprobados para este fin incluyen, por ejemplo, antagonistas del receptor de N-metil-D-aspartato tales como memantina (Namenda[®], Forrest Pharmaceuticals, Inc.), inhibidores de colinesterasa tales como donepezilo (Aricept[®], Pfizer), rivastigmina (Exelon[®], Novartis), galantamina (Razadyne Reminil[®]), y tacrina (Cognex[®]).

50 En la AD, los péptidos A β , formados a través de la actividad de β -secretasa y gamma-secretasa, pueden formar estructuras terciarias que se agregan para formar fibrillas de amiloide. También se ha mostrado que los péptidos A β forman oligómeros de A β (a veces denominados "agregados de A β " u "oligómeros de A β "). Los oligómeros de A β son pequeñas estructuras multiméricas compuestas por 2 a 12 péptidos A β que son estructuralmente distintos de las fibrillas de A β . Las fibrillas de amiloide se pueden depositar en el exterior de las neuronas en densas formaciones conocidas como placas seniles, placas neuríticas, o placas difusas en regiones del cerebro importantes para la memoria y la cognición. Los oligómeros de A β son citotóxicos cuando se inyectan en los cerebros de ratas o en cultivo celular. Esta formación y deposición de placas de A β y/o formación de oligómeros de A β , y la muerte neuronal y el deterioro cognitivo resultantes, están entre los distintivos de la patofisiología de la AD. Otros distintivos de la patofisiología de la AD incluyen ovillos neurofibrilares intracelulares comprendidos por proteína tau anormalmente fosforilada, y neuroinflamación.

65 Las evidencias sugieren que A β , las fibrillas, agregados, oligómeros, y/o placas de A β pueden desempeñar un papel causal en la patofisiología de la AD (Ohno *et al.*, *Neurobiology of Disease*, nº 26 (2007), 134-145). Se conoce que las mutaciones en los genes para APP y presenilinas 1/2 (PS 1/2) causan AD familiar y se considera como causante el aumento en la producción de la forma de aminoácido 42 de A β . Se ha mostrado que A β es neurotóxico en cultivo e

in vivo. Por ejemplo, cuando se inyecta a los cerebros de primates de edad avanzada, A β fibrilar causa la muerte celular neuronal alrededor del sitio de la inyección. También se han publicado otras evidencias directas y circunstanciales del papel de A β en la etiología del Alzheimer.

5 BACE-1 se ha convertido en una diana terapéutica aceptada para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Por ejemplo, McConlogue *et al.*, J. Bio. Chem., Vol. 282, nº 36 (septiembre de 2007), han mostrado que las reducciones parciales de la actividad enzimática de BACE-1 y las reducciones concomitantes de los niveles de A β conducen a una inhibición drástica de la patología de tipo AD dirigida por A β , haciendo la β -secretasa una diana para la intervención terapéutica en AD. Ohno *et al.*, Neurobiology of Disease, No. 26 (2007), 134-145, informan que la supresión genética de BACE-1 en ratones 5XFAD elimina la generación de A β , bloquea la deposición de amiloide, evita la pérdida neuronal descubierta en la corteza y subículo cerebrales (regiones cerebrales que manifiestan la amiloidosis más grave en ratones 5XFAD), y rescata de los déficits de memoria en ratones 5XFAD. El grupo también informa que A β es responsable en última instancia de la muerte neuronal en AD y concluye que la inhibición de BACE-1 se ha validado como un enfoque para el tratamiento de AD. Roberds *et al.*, Human Mol. Genetics, 2001, Vol. 10, nº 12, 1317-1324, establecieron que la inhibición o la pérdida de la actividad de β -secretasa no produce ningún defecto fenotípico profundo mientras que induce una reducción concomitante en A β . Luo *et al.*, Nature Neuroscience, Vol. 4, nº 3, marzo de 2001, informan que los ratones deficientes en BACE-1 tienen un fenotipo normal y supresión de la generación de β -amiloide.

20 BACE-1 también se ha identificado o implicado como diana terapéutica para una número de otras patologías diversas en las que se ha identificado que A β o fragmentos de A β desempeñan un papel causal. Uno de tales ejemplos es en el tratamiento de síntomas de tipo AD de pacientes con síndrome de Down. El gen que codifica APP se encuentra en el cromosoma 21, que es también el cromosoma encontrado como copia extra en el síndrome de Down. Los pacientes con síndrome de Down tienden a adquirir AD a una edad temprana, mostrando casi todos aquéllos con más de 40 años de edad patología de tipo Alzheimer. Se piensa que esto se debe a la copia extra del gen de APP encontrada en estos pacientes, que conduce a la sobreexpresión de APP y por lo tanto a un aumento de los niveles de A β causando la prevalencia de AD observada en esta población. Además, los pacientes de Down que tienen una duplicación de una pequeña región del cromosoma 21 que no incluye el gen de APP no desarrollan patología de AD. De ese modo, se piensa que los inhibidores de BACE-1 podrían ser útiles en la reducción de la patología de tipo Alzheimer en pacientes con síndrome de Down.

Otro ejemplo es en el tratamiento de glaucoma (Guo *et al.*, PNAS, Vol. 104, nº 33, 14 de agosto de 2007). El glaucoma es una enfermedad retiniana del ojo y la causa principal de ceguera irreversible a nivel mundial. Guo *et al.* Informaron que A β se colocaliza en células ganglionares retinianas apoptóticas (RGC) en glaucoma experimental e induce una considerable pérdida de células RGC *in vivo* de forma dependiente de la dosis y el tiempo. El grupo informa que ha demostrado que la fijación como diana de diferentes componentes de la ruta de formación y agregación de A β , incluyendo la inhibición de β -secretasa sola y junto con otros enfoques, puede reducir de forma eficaz la apoptosis de RGC glaucomatosa *in vivo*. De ese modo, la reducción de la producción de A β mediante la inhibición de BACE-1 podría ser útil, sola o junto con otros enfoques, para el tratamiento de glaucoma.

40 Otro ejemplo es en el tratamiento de deterioro olfativo. Getchell *et al.*, Neurobiology of Aging, 24 (2003), 663-673, han observado que el epitelio olfativo, un neuroepitelio que reviste la región dorsal posterior de la cavidad nasal, exhibe muchos de los mismos cambios fisiológicos encontrados en los cerebros de pacientes con AD, incluyendo depósitos de A β , la presencia de proteína tau hiperfosforilada, y neuritis distróficas, entre otros. Se han informado otras evidencias a este respecto por Bacon AW, *et al.*, Ann NY Acad Sci 2002; 855:723-31; Crino PB, Martin JA, Hill WD, *et al.*, Ann Otol Rhinol Laryngol, 1995;104:655-61; Davies DC, *et al.*, Neurobiol Aging, 1993;14:353-7; Devanand DP, *et al.*, Am J Psychiatr, 2000;157:1399-405; y Doty RL, *et al.*, Brain Res Bull, 1987;18:597-600. Es razonable sugerir que abordar tales cambios mediante la reducción de A β por inhibición de BACE-1 podría ayudar a restaurar la sensibilidad olfativa en los pacientes con AD.

50 Para compuestos que son inhibidores de BACE-2, otro ejemplo es el tratamiento de diabetes del tipo II, incluyendo diabetes asociada a amiloidogénesis. BACE-2 se expresa en el páncreas. Se ha informado inmunoreactividad de BACE-2 en gránulos secretores de células beta, almacenada conjuntamente con insulina e IAPP, pero que carece de los demás tipos celulares endocrinos y exocrinos. Stoffel *et al.*, documento de Patente WO2010/063718, desvela el uso de inhibidores de BACE-2 en el tratamiento de enfermedades metabólicas tales como diabetes del tipo II. La presencia de BACE-2 en gránulos secretores de células beta sugiere que puede desempeñar un papel en la amiloidogénesis asociada a diabetes (Finzi, G. Franzi, *et al.*, Ultrastruct Pathol. Nov-Dec 2008;32(6):246-51.)

60 Otras patologías diversas caracterizadas por la formación y deposición de A β o fragmentos del mismo, y/o por la presencia de fibrillas, oligómeros, y/o placas de amiloide, incluyen enfermedades neurodegenerativas tales como tembladera, encefalitis espongiiforme bovina, traumatismo craneoencefálico ("TBI"), enfermedad de Creutzfeld-Jakob y similares, diabetes de tipo II (que se caracteriza por la acumulación localizada de fibrillas de amiloide citotóxicas en las células productoras de insulina del páncreas), y angiopatía amiloide. A este respecto se puede hacer referencia a la bibliografía de patentes. Por ejemplo, Kong *et al.*, documento de Patente US2008/0015180, desvelan métodos y composiciones para tratar amiloidosis con agentes que inhiben la formación del péptido A β . En otro ejemplo, Loane, *et al.* informan de la fijación como diana de secretasas proteicas precursoras de amiloide como dianas terapéuticas

para traumatismo craneoencefálico (Loane *et al.*, "Amyloid precursor protein secretases as therapeutic targets for traumatic brain injury", Nature Medicine, Advance Online Publication, publicado en línea el 15 de marzo de 2009). Aún otras patologías diversas caracterizadas por la formación y deposición inapropiada de A β o fragmentos del mismo, y/o por la presencia de fibrillas de amiloide, y/o para las que se espera que los inhibidores de BACE-1 sean de valor terapéutico, se discuten adicionalmente posteriormente en el presente documento.

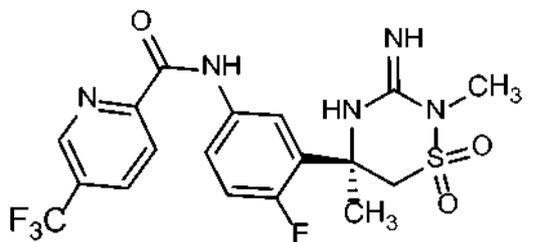
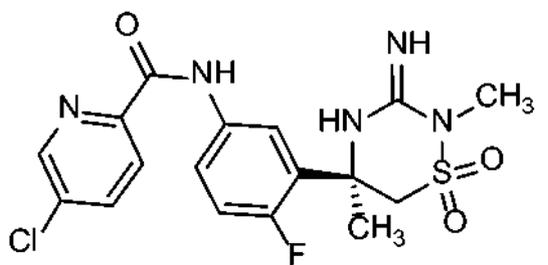
El potencial terapéutico de la inhibición de la deposición de A β ha motivado que numerosos grupos caractericen BACE-1 e identifiquen inhibidores de BACE-1 y otros inhibidores de enzimas secretasas. Los ejemplos en la bibliografía de patentes están en aumento de incluyen los documentos de Patente WO2006009653, WO2007005404, WO2007005366, WO2007038271, WO2007016012, US2005/0282826, US2007072925, WO2007149033, WO2007145568, WO2007145569, WO2007145570, WO2007145571, WO2007114771, US20070299087, WO2005/016876, WO2005/014540, WO2005/058311, WO2006/065277, WO2006/014762, WO2006/014944, WO2006/138195, WO2006/138264, WO2006/138192, WO2006/138217, WO2007/050721, WO2007/053506, WO2007/146225, WO2006/138230, WO2006/138265, WO2006/138266, WO2007/053506, WO2007/146225, WO2008/073365, WO2008/073370, WO2008/103351, US2009/041201, US2009/041202, y WO2010/047372.

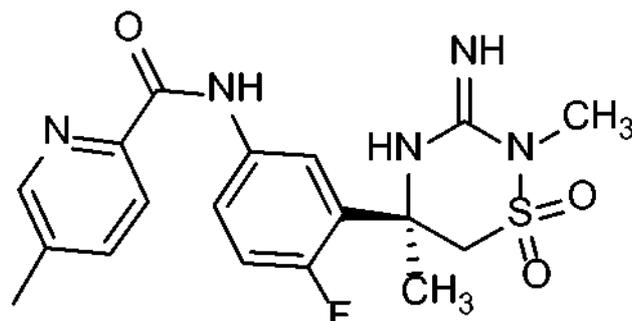
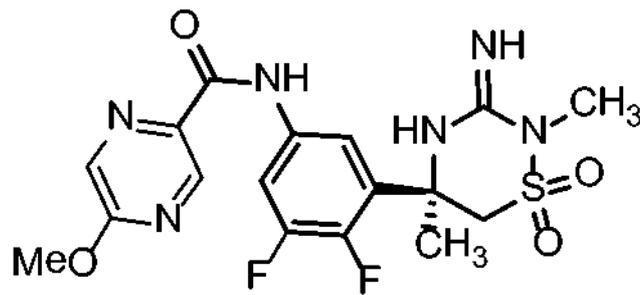
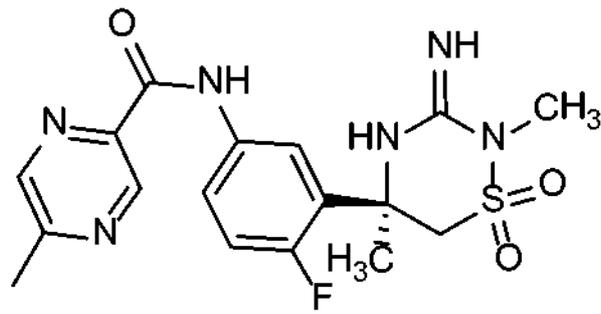
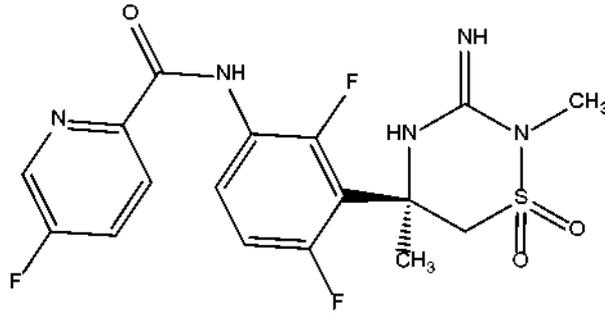
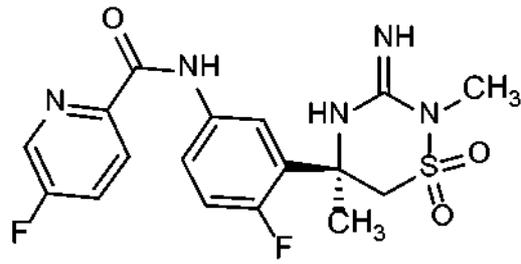
Sumario de la invención

La presente invención proporciona ciertos compuestos de dióxido de iminotiadiazina a los que se denomina colectiva o individualmente en el presente documento "compuestos de la invención", como se describe en el presente documento. Se ha descubierto sorprendentemente que los nuevos compuestos de dióxido de iminotiadiazina de la invención exhiben propiedades que se espera que los haga ventajosos como inhibidores de BACE y/o para el tratamiento y la prevención de las diversas patologías descritas en el presente documento.

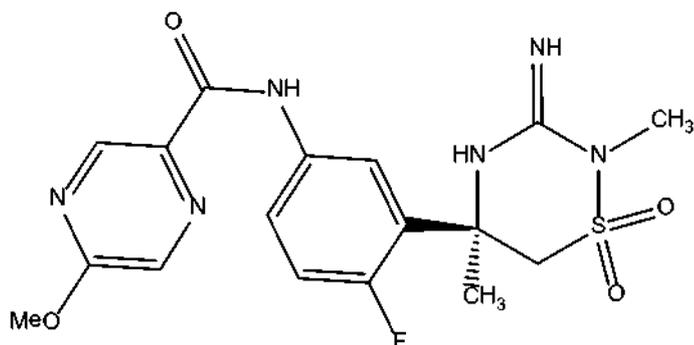
En los compuestos de la invención descritos en el presente documento, se pretende que las fórmulas incluyan todas las formas de los compuestos tales como, por ejemplo, cualquier solvato, hidrato, estereoisómero, y tautómero de dichos compuestos y cualquier sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En una realización de la invención, se proporciona un compuesto, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, teniendo dicho compuesto una estructura seleccionada entre:





y



5 En otras realizaciones, la invención proporciona composiciones, incluyendo composiciones farmacéuticas, que comprenden uno o más compuestos de la invención (por ejemplo, un compuesto de la invención), o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto o compuestos y/o dicho tautómero o tautómeros, opcionalmente junto con uno o más agentes terapéuticos adicionales, opcionalmente en un vehículo o diluyente aceptable (por ejemplo, farmacéuticamente aceptable).

10 También se desvelan métodos de tratamiento, prevención, mejora, y/o retraso del inicio de una patología de amiloide β (patología de A β) y/o un síntoma o síntomas de la misma, que comprenden administrar una composición que comprende una cantidad eficaz de uno o más compuestos de la invención, o un tautómero de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto o compuestos y/o dicho tautómero o tautómeros, a un paciente con necesidad de los mismos. Tales métodos comprenden además opcionalmente administrar una cantidad eficaz de uno o más agentes terapéuticos adicionales adecuados para tratar el paciente que se va a tratar.

Estas y otras realizaciones de la invención, que se describen con detalle posteriormente o serán claramente evidentes para los expertos habituales en la materia, se incluyen dentro del alcance de la invención.

20 Descripción detallada

La presente invención incluye tautómeros y estereoisómeros de cada uno de los compuestos de ejemplo de la invención, y sales farmacéuticamente aceptables y solvatos de dichos compuestos, dichos estereoisómeros, y/o dichos tautómeros. Tales tautómeros y estereoisómeros de cada uno de los compuestos de ejemplo, y sales farmacéuticamente aceptables y solvatos de dichos compuestos, dichos estereoisómeros, y/o dichos tautómeros, representan cada uno realizaciones adicionales de la invención.

30 En otra realización, la invención proporciona una composición que comprende al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, y un vehículo o diluyente adecuado.

En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

35 En otra realización, la invención proporcionó una composición farmacéutica que comprende al menos un solvato de un compuesto de la invención, o un tautómero o isómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto o dicho tautómero, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

40 En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

45 En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un tautómero de un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

50 En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de

dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, junto con al menos un agente terapéutico adicional, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

5 Algunos ejemplos no limitantes de agentes terapéuticos adicionales para su uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen los fármacos seleccionados entre el grupo que consiste en: (a) fármacos útiles para el tratamiento de enfermedad de Alzheimer y/o fármacos útiles para tratar uno o más síntomas de enfermedad de Alzheimer, (b) fármacos útiles para inhibir la síntesis de A β , (c) fármacos útiles para tratar enfermedades neurodegenerativas.

10 Algunos ejemplos no limitantes adicionales de agentes terapéuticos adicionales para su uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen fármacos útiles para el tratamiento, prevención, retraso de la aparición, mejora de cualquier patología asociada a A β y/o un síntoma de la misma. Algunos ejemplos no limitantes de patologías asociadas a A β incluyen: enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, enfermedad de Parkinson, pérdida de memoria, pérdida de memoria asociada a enfermedad de Alzheimer, pérdida de memoria asociada a enfermedad de Parkinson, síntomas de déficit de atención, síntomas de déficit de atención asociados a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y/o síndrome de Down, demencia, ictus, microgliosis e inflamación cerebral, demencia presenil, demencia senil, demencia asociada a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y/o síndrome de Down, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal, neurodegeneración, deterioro olfativo, deterioro olfativo asociado a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y/o síndrome de Down, angiopatía β -amiloide, angiopatía amiloide cerebral, hemorragia cerebral hereditaria, deterioro cognitivo leve ("MCI"), glaucoma, amiloidosis, diabetes del tipo II, complicaciones de hemodiálisis (de microglobulinas β_2 y complicaciones que surgen de las mismas en pacientes de hemodiálisis), tembladera, encefalitis espongiiforme bovina, traumatismo craneoencefálico ("TBI"), y enfermedad de Creutzfeld-Jakob, que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o isómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir dicha patología o patologías.

En realizaciones de la invención que comprenden al menos un agente terapéutico adicional, algunos ejemplos no limitantes adicionales de agentes terapéuticos adicionales para su uso en combinación con los compuestos de la invención incluyen: antagonistas muscarínicos (por ejemplo, agonistas de m_1 (tales como acetilcolina, oxotremorina, carbacol, o McNa343), o antagonistas de m_2 (tales como atropina, dicitloverina, tolterodina, oxibutinina, ipratropio, metoxtramina, tripitamina, o galamina)); inhibidores de colinesterasa (por ejemplo, inhibidores de acetil y/o butirilcolinesterasa tales como donepezilo (Aricept[®]), galantamina (Razadyne[®]), y rivastigimina (Exelon[®]); antagonistas del receptor de N-metil-D-aspartato (por ejemplo, Namenda[®] (memantina HCl, disponible en Forrest Pharmaceuticals, Inc.); combinaciones de inhibidores de colinesterasa y antagonistas del receptor de N-metil-D-aspartato; moduladores de gamma secretasa; inhibidores de gamma secretasa; agentes antiinflamatorios no esteroideos; agentes antiinflamatorios que reducen la neuroinflamación; anticuerpos anti-amiloide (tales como bapineuzemab, Wyeth/Elan); vitamina E; antagonistas del receptor nicotínico de acetilcolina; agonistas inversos del receptor CB1 o antagonistas del receptor CB1; antibióticos; secretágonos de la hormona de crecimiento; antagonistas de histamina H3; agonistas de AMPA; inhibidores de PDE4; agonistas inversos de GABA_A; inhibidores de la agregación de amiloide; inhibidores de glucógeno sintasa quinasa beta; promotores de la actividad de alfa secretasa; inhibidores de PDE-10; inhibidores de Tau quinasa (por ejemplo, inhibidores de GSK3beta, inhibidores de cdk5, o inhibidores de ERK); inhibidores de la agregación de Tau (por ejemplo, Rember[®]); inhibidores de RAGE (por ejemplo, TTP 488 (PF-4494700)); vacuna anti-Abeta; ligandos de APP; agentes que regulan positivamente la insulina, agentes reductores de colesterol tales como inhibidores de HMG-CoA reductasa (por ejemplo, estatinas tales como Atorvastatina, Fluvastatina, Lovastatina, Mevastatina, Pitavastatina, Pravastatina, Rosuvastatina, Simvastatina) y/o inhibidores de la absorción de colesterol (tales como Ezetimiba), o combinaciones de inhibidores de HMG-CoA reductasa e inhibidores de la absorción de colesterol (tales como, por ejemplo, Vytorin[®]); fibratos (tales como, por ejemplo, clofibrato, Clofibrato, Etofibrato, y Clofibrato de Aluminio); combinaciones de fibratos y agentes reductores de colesterol y/o inhibidores de la absorción de colesterol; agonistas de receptores nicotínicos; niacina; combinaciones de niacina e inhibidores de la absorción de colesterol y/o agentes reductores de colesterol (por ejemplo, Simcor[®] (niacina/simvastatina, disponible en Abbott Laboratories, Inc.); agonistas de LXR; miméticos de LRP; antagonistas del receptor H3; inhibidores de histona desacetilasa; inhibidores de hsp90; agonistas de 5-HT4 (por ejemplo, PRX-03140 (Epix Pharmaceuticals)); antagonistas del receptor 5-HT6; moduladores o antagonistas del receptor mGluR1; moduladores o antagonistas del receptor mGluR5; antagonistas de mGluR2/3; antagonistas del receptor EP2 de Prostaglandina; inhibidores de PAI-1; agentes que inducen evacuación de Abeta tales como gelsolina; compuestos atenuadores de metaloproteínas (por ejemplo, PBT2); y moduladores de GPR3; y antihistamínicos tales como Dimebolina (por ejemplo, Dimebon[®], Pfizer).

60 En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención, y una cantidad eficaz de uno o más inhibidores de colinesterasa (por ejemplo, inhibidores de acetil y/o butirilcolinesterasa), y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

65 En otra realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención, y una cantidad eficaz de uno o más agonistas o antagonistas muscarínicos (por ejemplo, agonistas de m_1 o antagonistas de m_2), y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la invención proporciona combinaciones que comprenden una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos de la invención, en combinación con una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en inhibidores de colinesterasa (tales como, por ejemplo, clorhidrato de (6)-2,3-dihidro-5,6-dimetoxi-2-[[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]metil]-1H-inden-1-ona, es decir, clorhidrato de donepezilo, disponible con el nombre comercial Aricept® de clorhidrato de donepezilo), inhibidores del receptor de N-metil-D-aspartato (tales como, por ejemplo, Namenda® (memantina HCl)); anticuerpos anti-amiloide (tales como bapineuzumab, Wyeth/Elan), inhibidores de gamma secretasa, moduladores de gamma secretasa, e inhibidores de beta secretasa distintos de los compuestos de la invención.

En una realización, la invención proporciona combinaciones que comprenden una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos de la invención, en combinación con una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en inhibidores de colinesterasa (tales como, por ejemplo, clorhidrato de (6)-2,3-dihidro-5,6-dimetoxi-2-[[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]metil]-1H-inden-1-ona, es decir, clorhidrato de donepezilo, disponible con el nombre comercial Aricept® de clorhidrato de donepezilo), inhibidores del receptor de N-metil-D-aspartato (tales como, por ejemplo, Namenda® (memantina HCl)).

En una realización, la invención proporciona combinaciones que comprenden una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos de la invención, en combinación con una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más inhibidores de gamma secretasa.

En una realización, la invención proporciona combinaciones que comprenden una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos de la invención, en combinación con una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más moduladores de gamma secretasa.

En una realización, la invención proporciona combinaciones que comprenden una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos de la invención, o un tautómero o estereoisómero de los mismos, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en combinación con una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más inhibidores de gamma secretasa y en combinación adicional con uno o más moduladores de gamma secretasa.

En otra realización, la invención proporciona un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en forma pura, en forma aislada, y/o en forma aislada y pura.

En otra realización, la invención proporciona un método para preparar una composición farmacéutica que comprende la etapa de mezclar al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

También se desvela un método de inhibición de β -secretasa que comprende exponer una población de células que expresan β -secretasa al menos a un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir β -secretasa.

También se desvela un método de inhibición de β -secretasa en un paciente con necesidad del mismo que comprende administrar al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en una cantidad terapéuticamente eficaz para inhibir β -secretasa en dicho paciente.

También se desvela un método de inhibición de BACE-1 que comprende exponer una población de células que expresan BACE-1 al menos a un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir BACE-1 en dichas células. En uno de tales métodos, dicha población de células está *in vivo*. En otro de tales métodos, dicha población de células está *ex vivo*. En otro de tales métodos, dicha población de células está *in vitro*.

También se desvela un método de inhibición de BACE-2 que comprende exponer una población de células que expresan BACE-2 al menos a un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir BACE-2 en dichas células. En uno de tales métodos, dicha población de células está *in vivo*. En otro de tales métodos, dicha población de células está *ex vivo*. En otro de tales métodos, dicha población de células está *in vitro*.

También se desvela un método de inhibición de BACE-1 en un paciente con necesidad del mismo que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en

una cantidad terapéuticamente eficaz para inhibir BACE-1 en dicho paciente.

5 También se desvela un método de inhibición de BACE-2 en un paciente con necesidad del mismo que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en una cantidad terapéuticamente eficaz para inhibir BACE-2 en dicho paciente.

10 También se desvela un método de inhibición de la formación de A β a partir de APP en un paciente con necesidad del mismo, que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir dicha formación de A β .

15 También se desvela un método de inhibición de la formación de placa de A β en un paciente con necesidad del mismo, que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir dicha formación de placa de A β .

20 También se desvela un método de inhibición de la formación de fibrillas de A β en un paciente con necesidad del mismo, que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir dicha formación de fibrillas de A β .

25 También se desvela un método de inhibición de la formación de oligómeros de A β en un paciente con necesidad del mismo, que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir dicha formación de fibrillas de A β .

30 También se desvela un método de inhibición de la formación de fibrillas de A β y oligómeros de A β en un paciente con necesidad del mismo, que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir dicha formación de fibrillas de A β .

35 También se desvela un método de inhibición de la formación de placas seniles y/u ovillos neurofibrilares en un paciente con necesidad del mismo, que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir dicha formación de fibrillas de A β .

40 También se desvela un método de tratamiento, prevención, y/o retraso de la aparición de una patología de amiloide β ("patología de A β ") y/o uno o más síntomas de dicha patología que comprende administrar al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, a un paciente con necesidad del mismo en una cantidad eficaz para tratar dicha patología.

45 También se desvela un método de tratamiento, prevención, y/o retraso de la aparición de una o más patologías asociadas a A β y/o uno o más síntomas de una o más patologías asociadas a A β . Algunos ejemplos no limitantes de patologías asociadas a A β incluyen: enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, enfermedad de Parkinson, pérdida de memoria, pérdida de memoria asociada a enfermedad de Alzheimer, pérdida de memoria asociada a enfermedad de Parkinson, síntomas de déficit de atención, síntomas de déficit de atención asociados a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y/o síndrome de Down, demencia, ictus, microgliosis e inflamación cerebral, demencia presenil, demencia senil, demencia asociada a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y/o síndrome de Down, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal, neurodegeneración, deterioro olfativo, deterioro olfativo asociado a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y/o síndrome de Down, angiopatía β -amiloide, angiopatía amiloide cerebral, hemorragia cerebral hereditaria, deterioro cognitivo leve ("MCI"), glaucoma, amiloidosis, diabetes del tipo II, amiloidogénesis asociada a diabetes, complicaciones de hemodiálisis (de microglobulinas β_2 y complicaciones que surgen de las mismas en pacientes de hemodiálisis), tembladera, encefalitis espongiiforme bovina, traumatismo craneoencefálico ("TBI"), y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, que comprende administrar a dicho paciente al menos un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en una cantidad eficaz para inhibir dicha patología o patologías.

65 También se desvela un método para tratar una o más enfermedades neurodegenerativas, que comprende administrar una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales útiles en el tratamiento de una o más enfermedades neurodegenerativas, a un paciente con necesidad

de tal tratamiento.

5 También se desvela un método de inhibición de la deposición de proteína amiloide (por ejemplo, proteína amiloide beta) en, sobre o alrededor de un tejido neurológico (por ejemplo, el cerebro), que comprende administrar una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales útiles en el tratamiento de una o más enfermedades neurodegenerativas, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

10 También se desvela un método para tratar enfermedad de Alzheimer, que comprende administrar una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales útiles en el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

15 También se desvela un método para tratar síndrome de Down, que comprende administrar una cantidad eficaz (es decir, terapéuticamente eficaz) de uno o más compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con una cantidad eficaz (por ejemplo, terapéuticamente eficaz) de uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de síndrome de Down, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

20 También se desvela un método para tratar deterioro cognitivo leve, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de deterioro cognitivo leve, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

25 También se desvela un método para tratar glaucoma, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de glaucoma, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

30 También se desvela un método para tratar angiopatía amiloide cerebral, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de angiopatía amiloide cerebral, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

35 También se desvela un método para tratar ictus, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de ictus, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

40 También se desvela un método para tratar demencia, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de demencia, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

45 También se desvela un método para tratar microgliosis, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de microgliosis, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

50 También se desvela un método para tratar inflamación cerebral, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de inflamación cerebral, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

65

5 También se desvela un método para tratar traumatismo craneoencefálico, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de traumatismo craneoencefálico, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

10 También se desvela un método para tratar pérdida de función olfativa, que comprende administrar una cantidad eficaz de uno o más (por ejemplo, uno) compuestos de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero), solo u opcionalmente en combinación con uno o más agentes activos adicionales útiles en el tratamiento de pérdida de función olfativa, a un paciente con necesidad de tal tratamiento.

15 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más inhibidores de colinesterasa (tales como, por ejemplo, clorhidrato de (6)-2,3-dihidro-5,6-dimetoxi-2-[[1-(fenilmetil)-4-piperidinil]metil]-1H-inden-1-ona, es decir, clorhidrato de donepezilo, disponible con el nombre comercial de Aricept® diclorhidrato de donepezilo).

20 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre el grupo que consiste en inhibidores de anticuerpo de A β , inhibidores de gamma secretasa, moduladores de gamma secretasa, e inhibidores de beta secretasa distintos de un compuesto de la invención.

25 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dicho uno o más agentes terapéuticos adicionales es Exelon (rivastigmina).

En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre Cognex (tacrina).

30 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre inhibidor de Tau quinasa (por ejemplo, inhibidor de GSK3beta, inhibidor de cdk5, inhibidor de ERK).

35 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre una vacuna anti-A β .

En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre un ligando de APP.

40 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más agentes que regulan positivamente la enzima de degradación de insulina y/o neprilisina.

45 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más agentes reductores de colesterol. Algunos ejemplos no limitantes de dichos agentes reductores de colesterol incluyen: estatinas tales como Atorvastatina, Fluvastatina, Lovastatina, Mevastatina, Pitavastatina, Pravastatina, Rosuvastatina, Simvastatina, e inhibidores de absorción de colesterol tales como Ezetimiba y fitonutrientes.

50 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más fibratos. Algunos ejemplos no limitantes de dichos fibratos incluyen clofibrato, Clofibrida, Etofibrato, y Clofibrato de Aluminio.

55 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más agonistas de LXR.

En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más miméticos de LRP.

60 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más antagonistas del receptor 5-HT₆.

En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más agonistas de receptores nicotínicos.

65 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más antagonistas del receptor H3.

En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más inhibidores de histona desacetilasa.

5 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más inhibidores de hsp90.

En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más agonistas del receptor muscarínico m1.

10 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más antagonistas del receptor 5-HT₆, moduladores alostéricos positivos o agonistas de mGluR1, y mGluR5.

15 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más antagonistas de mGluR2/3.

20 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más agentes antiinflamatorios que pueden reducir la neuroinflamación.

En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más antagonistas del receptor EP2 de prostaglandina.

25 En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más inhibidores de PAI-1.

En una realización, en cada uno de los métodos de tratamiento indicados anteriormente, dichos uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan entre uno o más agentes que inducen evacuación de A β . Un ejemplo no limitante de un agente que puede inducir aflujo de A β es gelsolina.

30 En una realización, la invención proporciona un kit que comprende, en recipientes separados, en un envase individual, composiciones farmacéuticas para su uso en combinación, en el que un recipiente comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la invención (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero) en un
35 vehículo farmacéuticamente aceptable y, opcionalmente, otro recipiente (es decir, un segundo recipiente) comprende una cantidad eficaz de otro ingrediente farmacéuticamente activo (como se describe posteriormente), siendo eficaces las cantidades combinadas del compuesto de la invención y el otro ingrediente farmacéuticamente activo para: (a) tratar enfermedad de Alzheimer, o (b) inhibir la deposición de proteína amiloide (por ejemplo, proteína amiloide beta) en, sobre o alrededor de tejido neurológico (por ejemplo, cerebro), o (c) tratar enfermedades
40 neurodegenerativas, o (d) inhibir BACE.

En sus diversas realizaciones, la invención proporciona uno cualquiera de los métodos desvelados anteriormente y posteriormente en el que el compuesto o compuestos de la invención es un compuesto o compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en los compuestos a modo de ejemplo de la invención descritos posteriormente.

45 En sus diversas realizaciones, la invención proporciona una cualquiera de las composiciones farmacéuticas desveladas anteriormente y posteriormente en el que el compuesto o compuestos de la invención es un compuesto o compuestos seleccionados entre el grupo que consiste en los compuestos a modo de ejemplo de la invención descritos posteriormente.
50

Otras realizaciones de la presente invención se dirigen a una cualquiera de las realizaciones anteriores o posteriores que se dirigen a compuestos de la invención, o al uso de compuestos de la invención (por ejemplo, las realizaciones dirigidas a métodos de tratamiento, composiciones farmacéuticas y kits).

55 En otra realización, la invención proporciona el uso de un compuesto de la invención, o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero, en la preparación de un medicamento para su uso en el tratamiento, el retraso de la aparición, y/o la prevención de una o más patologías de A β y/o en el tratamiento, el retraso de la aparición, y/o la prevención de uno o más síntomas de una o más patologías de A β .
60

Definiciones

65 Los términos usados en el presente documento tiene su significado ordinario y el significado de tales términos es independiente en cada aparición del mismo. Pese a ello y excepto cuando se indique otra cosa, se aplican las siguientes definiciones en la memoria descriptiva y las reivindicaciones. Los nombres químicos, los nombres comunes y las estructuras químicas se pueden usar de forma intercambiable para describir la misma estructura.

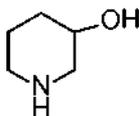
Estas definiciones se aplican independientemente de si el término se usa por sí mismo o en combinación con otros términos, a menos que se indique otra cosa.

5 Cualquier carbono así como cualquier heteroátomo con valencias sin satisfacer en el texto, esquemas, ejemplos y Tablas en el presente documento se supone que tiene el número suficiente de átomos de hidrógeno para satisfacer las valencias.

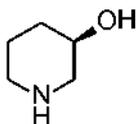
10 Como se describe en el presente documento, los "compuestos de ejemplo de la invención" (o "compuestos de ejemplo" o "ejemplos") incluyen, colectiva e individualmente, cada uno de los compuestos expuestos con los números de ejemplo en los ejemplos preparativos.

Con respecto a las composiciones y métodos que comprenden el uso de "al menos un compuesto de la invención", se pueden administrar de uno a tres compuestos de la invención al mismo tiempo, preferentemente uno.

15 La línea - como enlace indica generalmente una mezcla de, o cualquiera de, los posibles isómeros, por ejemplo, que contienen una estereoquímica (R) y (S). Por ejemplo:

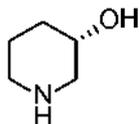


20 indica una mezcla de, o cualquiera de,



y/o

25



30 La línea ondulada , como se usa en el presente documento, indica un punto de unión al resto del compuesto.

35 El término "purificado", o las expresiones "en forma purificada" o "en forma aislada y purificada" para un compuesto se refieren al estado físico de dicho compuesto después de aislarse a partir de un proceso sintético (por ejemplo, a partir de una mezcla de reacción), o una fuente natural o una combinación de los mismos. De ese modo, el término "purificado", o las expresiones "en forma purificada" o "en forma aislada y purificada" para un compuesto se refieren al estado físico de dicho compuesto (o un tautómero o estereoisómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto, dicho estereoisómero, o dicho tautómero) después de obtenerse a partir de un proceso o procesos de purificación descritos en el presente documento o bien conocidos por los expertos en la materia (por ejemplo, cromatografía, recristalización y similares), con la suficiente pureza para ser adecuados para uso *in vivo* o medicinal y/o caracterizados mediante técnicas analíticas convencionales descritas en el presente documento o bien conocidas por los expertos en la materia.

45 Cuando un grupo funcional de un compuesto se denomina "protegido", esto significa que el grupo está en una forma modificada para evitar reacciones secundarias no deseadas en el sitio protegido cuando el compuesto se somete a una reacción. Los grupos protectores adecuados se reconocerán por los expertos habituales en la materia así como por referencia a libros de texto convencionales tales como, por ejemplo, T. W. Greene *et al.*, *Protective Groups in Organic Synthesis* (1991), Wiley, Nueva York.

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

Uno o más compuestos de la invención pueden existir en formas sin solvatar así como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol, y similares, y se pretende que la invención incluya las formas tanto solvatadas como sin solvatar. "Solvato" significa una asociación física de un compuesto de la presente invención con una o más moléculas de disolvente. Esta asociación física implica grados variables de enlace iónico y covalente, incluyendo enlace de hidrógeno. En ciertos casos, el solvato se podrá aislar, por ejemplo cuando una o más moléculas del disolvente se incorporen a la red cristalina del sólido cristalino. "Solvato" incluye solvatos tanto en fase de solución como aislables. Algunos ejemplos no limitantes de solvatos adecuados incluyen etanolatos, metanolatos, y similares. "Hidrato" es un solvato en el que la molécula de disolvente es H₂O.

5 "Cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" pretende describir una cantidad de compuesto o de una composición de la presente invención eficaz en la inhibición de las enfermedades indicadas anteriormente y que produce de ese modo el efecto terapéutico, de mejoría, inhibidor o preventivo deseado.

10 Los compuestos de la invención pueden formar sales que también están dentro del alcance de la presente invención. La referencia a un compuesto de la invención en el presente documento se entiende que incluye la referencia a las sales del mismo, a menos que se indique otra cosa. El término "sal(es)", como se emplea en el presente documento, representa sales ácidas formadas con ácidos inorgánicos y/u orgánicos, así como sales básicas formadas con bases inorgánicas y/u orgánicas. Además, cuando un compuesto de la invención contiene tanto un resto básico, tal como, pero sin limitarse a, piridina o imidazol, como un resto ácido, tal como, pero sin limitarse a, ácido carboxílico, se pueden formar zwitteriones ("sales internas") y se incluyen dentro del término "sal(es)" como se usa en el presente documento. Son preferentes las sales farmacéuticamente aceptables (es decir, no tóxicas, fisiológicamente aceptables), aunque también pueden ser útiles otras sales. Las sales de los compuestos de la invención se pueden formar, por ejemplo, haciendo reaccionar un compuesto de la invención con una cantidad de ácido o base, tal como una cantidad equivalente, en un medio tal como uno en el que la sal precipitada o en un medio acuoso seguido de liofilización.

15 Algunas sales de adición de ácido a modo de ejemplo incluyen acetatos, ascorbatos, benzoatos, bencenosulfonatos, bisulfatos, boratos, butiratos, citratos, canforatos, canforsulfonatos, fumaratos, clorhidratos, bromhidratos, yodhidratos, lactatos, maleatos, metanosulfonatos, naftalenosulfonatos, nitratos, oxalatos, fosfatos, propionatos, salicilatos, succinatos, sulfatos, tartratos, tiocianatos, toluenosulfonatos (también conocidos como tosilatos,) y similares. Además, se discuten ácidos que se consideran generalmente adecuados para la formación de sales útiles farmacéuticamente a partir de compuestos farmacéuticos básicos, por ejemplo, en P. Stahl *et al.*, Camille G. (eds.) Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use. (2002) Zurich: Wiley-VCH; S. Berge *et al.*, Journal of Pharmaceutical Sciences (1977) 66(1) 1-19; P. Gould, International J. of Pharmaceutics (1986) 33 201-217; Anderson *et al.*, The Practice of Medicinal Chemistry (1996), Academic Press, Nueva York; y en The Orange Book (Food & Drug Administration, Washington, D.C. en su página web). Estas divulgaciones se incorporan en el presente documento por referencia a las mismas.

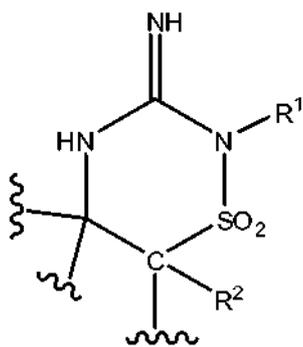
20 Algunas sales básicas a modo de ejemplo incluyen sales de amonio, sales de metales alcalinos, tales como sales de sodio, litio y potasio, sales de metales alcalinotérreos, tales como sales de calcio y magnesio, sales con bases orgánicas (por ejemplo, aminas orgánicas) tales como diciclohexilaminas, t-butilaminas, y sales con aminoácidos tales como arginina, lisina y similares. Los grupos básicos que contienen nitrógeno se pueden cuaternarizar con agentes tales como haluros que alquilo inferior (por ejemplo, cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, y butilo), sulfatos de dialquilo (por ejemplo, sulfatos de dimetilo, dietilo, y dibutilo), haluros de cadena larga (por ejemplo cloruros, bromuros y yoduros de decilo, laurilo, y estearilo), haluros de aralquilo (por ejemplo, bromuros de bencilo y fenetilo), y otros.

25 Se pretende que la totalidad de tales sales de ácidos y sales de bases sean sales farmacéuticamente aceptables dentro del alcance de la invención y todas las sales de ácidos y de bases se consideran equivalentes a las formas libres de los correspondientes compuestos para los fines de la invención.

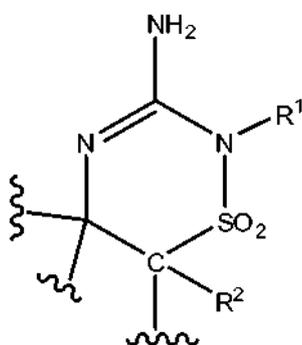
30 Las mezclas diastereoméricas se pueden separar en sus diastereómeros individuales basándose en sus diferencias físicas y químicas mediante métodos bien conocidos por los expertos en la materia, tales como, por ejemplo, mediante cromatografía y/o cristalización fraccionada. Los enantiómeros se pueden separar por conversión de la mezcla enantiomérica en una mezcla diastereomérica por reacción con un compuesto ópticamente activo apropiado (por ejemplo, un auxiliar quiral tal como un alcohol quiral o cloruro de ácido de Mosher), separación de los diastereómeros y conversión de los diastereómeros individuales (por ejemplo, mediante hidrólisis) en los enantiómeros puros correspondientes. Los enantiómeros también se pueden separar mediante el uso de una columna de HPLC quiral.

35 También es posible que los compuestos de la invención puedan existir en diferentes formas tautoméricas, y se incluye la totalidad de tales formas dentro del alcance de la invención. Además, por ejemplo, se incluyen todas las formas ceto-enol e imina-enamina de los compuestos de la invención. De ese modo, por ejemplo, los compuestos de la invención que conforman la fórmula:

65



y sus tautómeros:



5

se contempla que están ambos dentro del alcance de los compuestos de la invención.

10 Los estereoisómeros individuales de los compuestos de la invención pueden estar, por ejemplo, básicamente libres de otros isómeros, o pueden estar mezclados, por ejemplo, en forma de racematos o con todos los demás estereoisómeros, u otros estereoisómeros seleccionados. Los centros quirales de la presente invención pueden tener la configuración S o R como definen las Recomendaciones de la IUPAC de 1974. La presente invención también incluyen los compuestos de la presente invención marcados isotópicamente que son idénticos a los indicados en el presente documento, pero en los que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra normalmente en la naturaleza. Algunos ejemplos de isótopos que se pueden incorporar a los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{18}F , y ^{36}Cl , respectivamente.

20 Ciertos compuestos de la invención marcados isotópicamente (por ejemplo, los marcados con pH y ^{14}C) son útiles en ensayos de distribución tisular de compuesto y/o sustrato. Los isótopos tritados (es decir, ^3H) y de carbono-14 (es decir, ^{14}C) son particularmente preferentes por su facilidad de preparación y capacidad de detección. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio (es decir, ^2H o D) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, mayor semivida *in vivo* o menores requisitos de dosificación) y, por lo tanto, pueden ser preferentes en algunas circunstancias. Los compuestos de la invención marcados isotópicamente se pueden preparar generalmente siguiendo procedimientos análogos a los desvelados en los Esquemas y/o en los Ejemplos posteriormente en el presente documento, por sustitución de un reactivo marcado isotópicamente apropiado por un reactivo no marcado isotópicamente. Se pretende que las formas polimórficas de los compuestos de invención, y de las sales y solvatos de los compuestos de la invención, estén incluidas en la presente invención.

35 Las dosis adecuadas para la administración de los compuestos de invención a pacientes se pueden terminar fácilmente por los expertos en la materia, por ejemplo, por un médico asistente, farmacéutico, u otro trabajador experto, y pueden variar de acuerdo con la salud, edad, y peso del paciente, la frecuencia administración, el uso con otros ingredientes activos, y/o la indicación para la que se administran los compuestos. Las dosis pueden variar de aproximadamente 0,001 a 500 mg/kg de peso corporal/día de compuesto de la invención. En una realización, la dosificación es de aproximadamente 0,01 aproximadamente 25 mg/kg de peso corporal/día de un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato de dicho compuesto. En otra realización, la cantidad de compuesto activo en una dosis unitaria de preparación se puede variar o ajustar de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg, preferentemente de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 50 mg, más

preferentemente de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 25 mg, de acuerdo con la aplicación particular. En otra realización, un régimen de dosificación diario recomendado habitual para la administración oral puede variar de aproximadamente 1 mg/día a aproximadamente 500 mg/día, preferentemente de 1 mg/día a 200 mg/día, en dos a cuatro dosis divididas.

5 Como se ha discutido anteriormente, la cantidad y la frecuencia de administración de los compuestos de la invención y/o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos se regularán de acuerdo con el juicio del médico asistente considerando factores tales como la edad, condición y tamaño del paciente así como la gravedad de los síntomas que se tratan.

10 Cuando se usan en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, los compuestos de la presente invención se pueden administrar conjuntamente o secuencialmente. Cuando se administran secuencialmente, los compuestos de la invención se pueden administrar antes o después de uno o más agentes terapéuticos adicionales, según determina el experto en la materia o la preferencia del paciente.

15 Si se formulan en forma de una dosis fija, tales productos de combinación emplean los compuestos de la presente invención dentro del intervalo de dosificación descrito en el presente documento y el otro agente farmacéuticamente activo o tratamiento dentro de su intervalo de dosificación.

20 Por lo tanto, en un aspecto, la presente invención incluye combinaciones que comprenden una cantidad de al menos un compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable, solvato, éster o profármaco del mismo, y una cantidad eficaz de uno o más agentes adicionales descritos anteriormente.

25 Las propiedades farmacológicas de los compuestos de la presente invención se pueden confirmar mediante cierto número de ensayos farmacológicos. Ciertos ensayos se muestran a modo de ejemplo en otra parte en el presente documento.

30 Para preparar composiciones farmacéuticas a partir de los compuestos descritos por la presente invención, los vehículos inertes farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, gránulos dispersables, cápsulas, obleas y supositorios. Los polvos y los comprimidos pueden estar compuestos por aproximadamente un 5 a aproximadamente un 95 por ciento de ingrediente activo. Los vehículos sólidos adecuados se conocen en la técnica, por ejemplo, carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar o lactosa. Los comprimidos, polvos, obleas y cápsulas se pueden usar en formas de dosificación sólidas para la administración oral. Se pueden encontrar ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables y métodos de fabricación de diversas composiciones en A. Gennaro (ed.), Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª edición, (1990), Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania.

40 Las preparaciones en forma líquida incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones. A modo de ejemplo se pueden mencionar soluciones de agua o agua-propilenglicol para inyección parenteral o la adición de edulcorantes y opacificantes para soluciones suspensiones, y emulsiones orales. Las preparaciones en forma líquida también pueden incluir soluciones para administración intranasal.

45 Las preparaciones de aerosol adecuadas para inhalación pueden incluir soluciones y sólidos en forma de polvo, que pueden estar en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un gas comprimido inerte, por ejemplo nitrógeno.

50 También se incluyen preparaciones en forma sólida que se pretende que se conviertan, poco antes de su uso, en preparaciones en forma líquida para administración oral o parenteral. Tales formas líquidas incluyen soluciones, suspensiones y emulsiones.

Los compuestos de la invención también se pueden suministrar por vía transdérmica. Las composiciones transdérmicas pueden tomar la forma de cremas, lociones, aerosoles y/o emulsiones y se pueden incluir en un parche transdérmico de tipo matriz o depósito que son convencionales en la técnica para este fin.

55 Los compuestos de la presente invención también se pueden suministrar por vía subcutánea.

En una realización, el compuesto se administra por vía oral.

60 En algunas realizaciones, puede ser ventajoso para la preparación farmacéutica que comprende uno o más compuestos de la invención prepararse en una forma de dosificación unitaria. En tales formas, la preparación se subdivide en dosis unitarias de tamaño adecuado que contienen las cantidades apropiadas del componente activo, por ejemplo, una cantidad eficaz para conseguir un fin deseado.

Ejemplos preparativos

Los compuestos de la invención se pueden preparar usando procedimientos conocidos en la técnica. Los siguientes esquemas de reacción muestran procedimientos habituales, pero los expertos en la materia reconocerán que también pueden ser adecuados otros procedimientos.

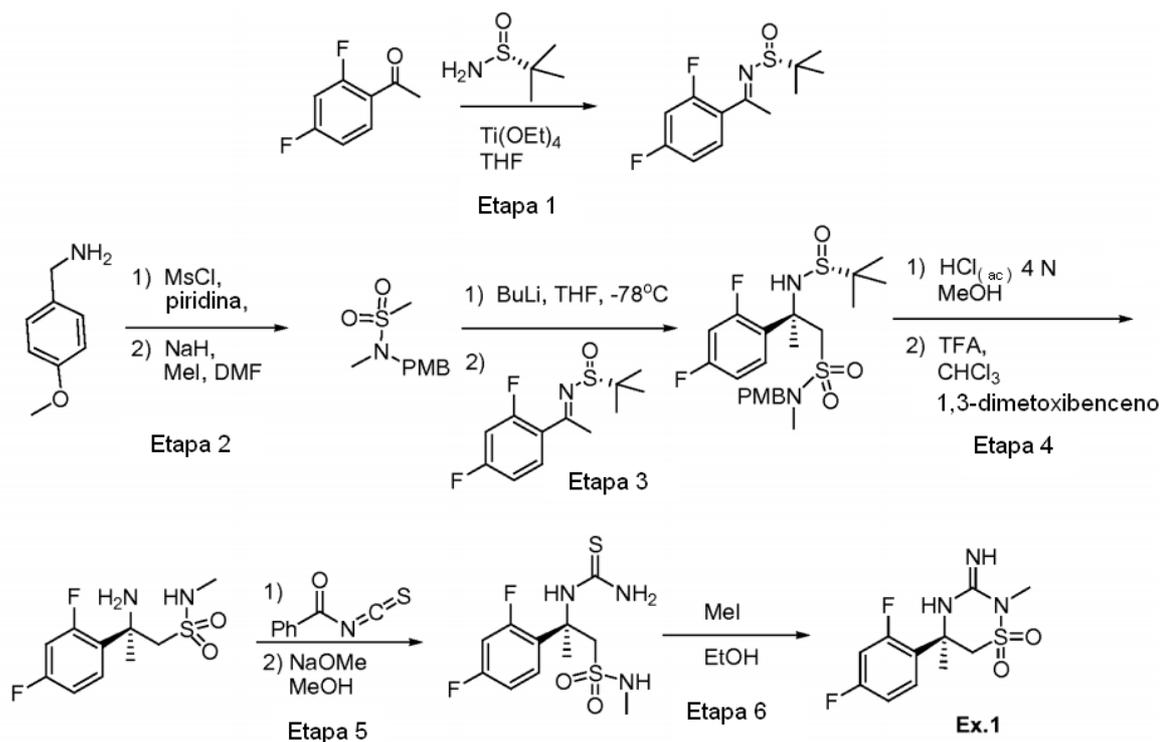
Las técnicas, disolventes y reactivos se pueden referir a las siguientes abreviaturas:

10	Cromatografía en capa fina: TLC Cromatografía líquida de alto rendimiento: HPLC Acetato de etilo: AcOEt o EtOAc Metanol: MeOH Éter o éter dietílico: Et ₂ O Tetrahidrofurano: THF
15	Acetonitrilo: MeCN o ACN 1,2-Dimetoxietano: DME Ácido trifluoroacético: TFA Dimetilacetamida: DMA Dimetilformamida: DMF
20	Dimetilsulfóxido: DMSO Trietilamina: Et ₃ N o TEA <i>tert</i> -Butoxicarbonilo: t-Boc o Boc 2-(Trimetilsilil)etoxicarbonilo: Teoc Espectrometría de masas acoplada a cromatografía líquida: LCMS
25	Mililitros: ml Milimoles: mmol Micromoles: μmol Microlitros: μl Gramos: g
30	Miligramos: μg N-yodosuccinimida: NIS Temperatura ambiente (ambiente, aproximadamente 25 °C): ta (o TA) Tiempo de retención: t _R N-bromosuccinimida: NBS
35	Bromuro de metil magnesio: MeMgBr Acetilacetato de hierro(III): Fe(acac) ₃ Difenilfosforil azida: DPPA Clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida: EDCI Diisopropiletilamina: DIEA o iPr ₂ NEt
40	Diisopropilamina: iPr ₂ NH 2-(Trimetilsilil)etanol: TMSetanol Ácido 3-cloroperoxibenzoico: mCPBA n-Butil litio: nBuLi Diisopropilamida de litio: LDA
45	[1,1'Bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio(II): PdCl ₂ dppf Acetato de paladio(II): Pd(OAc) ₂ Cloruro de metanosulfonilo: MeSO ₂ Cl Bencilo: Bn 4-Metoxi bencilo: PMB
50	Fenilo: Ph Etanol: EtOH Litro: l Minutos: min Fase inversa: RP
55	Hexanos: Hex Cloruro de metileno: DCM Ácido acético: HOAc o AcOH Saturado: Sat (o sat) Cloruro bis(2-oxo-3-oxazolidinil) fosfínico: BOPCl
60	4-(Dimetilamino)piridina: DMAP Molar: M 2-((Trimetilsilil)etoxi)metil: SEM Azodicarboxilato de diisopropilo: DIAD Trietilborano: Et ₃ B
65	Tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0): Pd ₂ dba ₃ Piridina: Pyr

(2-Bifenil)di-*tert*-butilfosfina: John-Phos
 2-Diciclohexilfosfino-2',4',6'-triiisopropil bifenilo: X-Phos
 Hexafluorofosfato de 2-(1H-7-azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametil uronio: HATU
 Concentrado: conc.
 5 Fluoruro de tetrabutil amonio: TBAF
 2-Diciclohexilfosfino-2',6'-diisopropoxi-1,1'-bifenilo: RuPhos
 Tetraquis(trifenilfosfina)paladio: Pd(PPh₃)₄

Esquema 1a (referencia):

10



15

Etapa 1: A una solución de 2,4-difluoroacetofenona (15,0 g, 96 mmol) en THF (100 ml) se añadieron (R)-2-metil-2-propanosulfonamida (12,8 g, 106 mmol) y Ti(OEt)₄ (32,0 g, 120 mmol). La solución resultante se calentó a reflujo durante una noche. Después ese tiempo, la solución se enfrió a TA y se vertió sobre hielo. A esta mezcla se añadió CH₂Cl₂ y la mezcla resultante se agitó a TA durante 10 min. A continuación, la mezcla se filtró a través de Celite. La torta de filtro se lavó con CH₂Cl₂. Las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (2 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂: elución en gradiente de 100:0 a 45:55 de hexanos:EtOAc) para proporcionar la cetimina (12,3 g).

20

Etapa 2: A una solución en agitación de 4-metoxibencilamina (198,9 g, 1,45 mol) en piridina anhidra (400 ml) a 0 °C se añadió gota a gota mediante un embudo de adición cloruro de metanosulfonilo (116 ml, 1,45 mol) durante 45 min. Después de completar la adición, el baño de refrigeración se retiró y la solución resultante se agitó a TA durante una noche. La reacción se concentró al vacío (baño de agua a 60-65 °C) para retirar la mayoría de la piridina. El residuo se recogió en CH₂Cl₂ (1 l). La solución orgánica se lavó con HCl(ac) 1 N (2 x 1 l), NaHCO₃ sat. (ac.) (2 x 1 l) y solución salina saturada (1 x 500 ml). La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró para proporcionar un sólido en bruto. Este sólido se disolvió en EtOH al 95 % (430 ml) usando un baño de vapor para calentar la solución. La solución se dejó enfriar, haciendo que el producto precipitara de la solución. El producto se retiró por filtración y el sólido se lavó con EtOH frío (3 x 150 ml). Se obtuvo una segunda cosecha manteniendo en agitación de las aguas madre a TA durante una noche. El rendimiento global del producto fue 246,5 g (79 % de rendimiento).

30

35

Este producto se disolvió en DMF anhidra (3,0 l), se enfrió a 0 °C y se puso en una atmósfera de N₂. A esta solución se añadió en pequeñas porciones hidruro sódico (al 60 % en aceite mineral, 60,2 g, 1,51 mol, 1,3 equiv.). Después de que se completara la adición, la mezcla se agitó durante un período adicional de 10 min. A esta mezcla se añadió gota a gota mediante un embudo de adición yoduro de metilo (250 g, 1,76 mol, 1,5 equiv.). Después de que se completara la adición, el baño de refrigeración se retiró y la mezcla se mantuvo en agitación a TA durante una noche. A continuación, la mezcla se concentró al vacío (p = 10 torr, temperatura del baño = 55-60 °C) para retirar aproximadamente 2,5 l de DMF. Algunos sólidos precipitaron de la solución. La mezcla restante se repartió entre 5 l

de agua en hielo, 5 l de Et₂O y 500 ml de EtOAc. La fase orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con Et₂O (2 x 1 l). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución salina saturada (2 x 1 l), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El sólido se agitó con hexanos usando una cuchilla de agitación de alambre para pulverizar el sólido. El sólido se retiró por filtración y se lavó con hexanos (2 x 250 ml). El sólido se disolvió en hexanos/EtOAc (1:1, 450 ml) usando un baño de vapor para calentar la mezcla. Se formó un precipitado de color blanquecino después de la refrigeración y se retiró por filtración (182 g). Las aguas madre remanentes se purificaron por cromatografía ultrarrápida (SiO₂: 1:1 de hexanos:EtOAc) para proporcionar una cantidad adicional de producto (51,8 g) para un rendimiento global de 233,8 g (89 % de rendimiento).

Etapa 3: A una solución de la sulfonamida de la etapa 2 (4,18 g, 18,2 mmol) en THF anhidro (50 ml) a -78 °C en una atmósfera de N₂ se añadió gota a gota una solución de *n*-BuLi (1,6 M en hexanos, 11,4 ml, 18,2 mmol). La solución resultante se agitó a -78 °C durante 30 min. Después de ese tiempo, una solución de la cetimina de la etapa 1 (3,15 g, 12,1 mmol) en THF (50 ml) enfriada previamente a -78 °C en un matraz de fondo redondo distinto se transfirió mediante una cánula a la solución anterior. La solución resultante se agitó a -78 °C durante 3,5 horas. Se añadió agua y la mezcla se dejó calentar a TA. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución salina saturada, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂: elución en gradiente de 100:0 a 40:60 de hexanos:EtOAc) para proporcionar la sulfonamida (3,95 g, 67 % de rendimiento).

Etapa 4: A una solución de la sulfonamida de la etapa 3 (3,80 g, 7,6 mmol) en CH₂Cl₂/MeOH (3:1 80 ml) se añadió una solución de HCl 4 M (dioxano) (11,4 ml, 45,4 mmol). La solución resultante se agitó a TA durante 1,5 horas. La solución se concentró. El residuo se reconcentró a partir de tolueno (1 x). A continuación se recogió el residuo en CHCl₃ y TFA (26 ml, 1:1). A esta solución se añadió 1,3-dimetoxibenceno (6,5 ml, 50 mmol). La solución resultante se agitó a TA durante una noche. La solución resultante se concentró. En aceite resultante se repartió entre Et₂O y HCl (ac.) 1 M. La fase acuosa se extrajo con Et₂O (2 x). La fase acuosa se ajustó a continuación a pH 10 mediante la adición de Na₂CO₃ (ac.) sat. La fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x). Las fases orgánicas se extrajeron de la fase acuosa básica, se combinaron, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar la amina (1,88 g, 85 %).

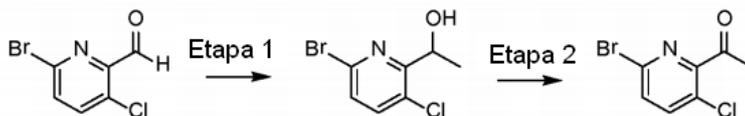
Etapa 5: A una solución de la amina de la etapa 4 (1,80 g, 6,8 mmol) en CH₂Cl₂ (30 ml) se añadió isotiocianato de benzóilo (1,01 ml, 7,49 mmol). La solución resultante se agitó a TA durante una noche. La solución se concentró a continuación. El residuo se disolvió de nuevo en MeOH (20 ml). A esta solución se añadió una solución de NaOMe en MeOH (25 %, 3,9 ml). La solución resultante se agitó a TA durante 45 min. La solución se concentró al vacío. El residuo se repartió a continuación entre CH₂Cl₂ y agua. El pH de la fase acuosa se ajustó a aproximadamente 11 mediante la adición de NaHCO₃ (ac.). La fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar la tiourea (1,90 g, 86 %).

Etapa 6: A la tiourea de la etapa 5 (1,90 g, 5,88 mmol) en EtOH (40 ml) se añadió yoduro de metilo (0,42 ml, 6,7 mmol). La solución resultante se calentó a reflujo durante 3 horas. La solución se enfrió a TA y se concentró al vacío. El residuo se repartió entre EtOAc y Na₂CO₃ (ac.). La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución salina saturada, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂: elución en gradiente de 100:0 a 92:8 de CH₂Cl₂:MeOH) para proporcionar el **Ej. 1** (1,12 g, 66 % de rendimiento). LCMS (condiciones D): t_R = 1,73 min, m/e = 290,2 (M+H).

Tabla I (referencia): las siguientes sulfonamidas se prepararon usando un procedimiento similar al descrito en la etapa 2 del Esquema 1a.

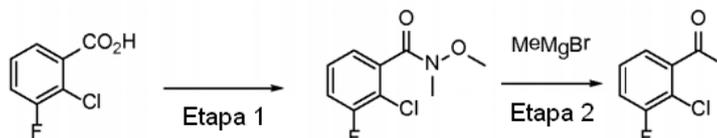
Entrada	Amina	Haluro de alquilo	sulfonamida	
1			MeO	N SO ₂ Me
2			MeO	N SO ₂ Me
3*		CD ₃ I	MeO	CD ₃ N SO ₂ Me
4*		Br	MeO	N SO ₂ Me

* Se usó carbonato de cesio como base en lugar de NaH para las entradas 3 y 4.

Esquema 2b (referencia):

5 **Etapa 1:** A una solución de 6-bromo-3-cloropicolinaldehído (10,0 g, 45,45 mmol) en 200 ml de THF con agitación a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ en atmósfera de N_2 se añadió lentamente bromuro de metilmagnesio (3,0 M en éter dietílico, 16,63 ml, 50 mmol). La reacción se agitó a esta temperatura durante 3 horas, y a continuación se añadió cloruro de amonio saturado. La mezcla se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se secaron (MgSO_4), filtraron, y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (0-10 % de EtOAc/hexanos durante 20 minutos) para proporcionar 1-(6-bromo-3-cloropiridin-2-il)etanol (8,4 g, 78 %).

10 **Etapa 2:** El material preparado anteriormente (8,4 g, 35,5 mmol) se agitó durante una noche a temperatura ambiente en 100 ml de DCM junto con clorocromato de piridinio (15 g, 71 mmol) y aproximadamente 5 g de Celite. La reacción se filtró a través de Celite y se lavó con DCM. El filtrado se concentró hasta sequedad al vacío y el residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (0-10 % de EtOAc/hexanos durante 22 minutos) para proporcionar 1-(6-bromo-3-cloropiridin-2-il)etanona (6,85 g, 82 %).

Esquema 2c (referencia):

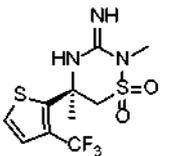
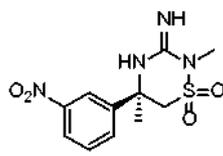
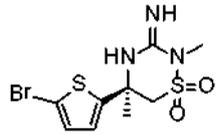
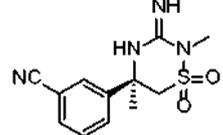
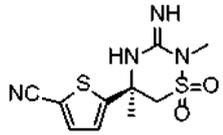
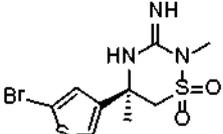
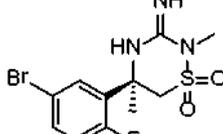
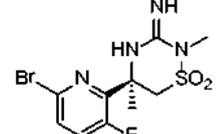
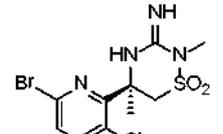
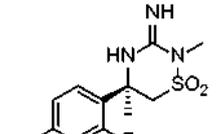
20 **Etapa 1:** A una solución de ácido 2-cloro-3-fluorobenzoico (30 g, 172 mmol) en 300 ml de DCM se añadió carbonildiimidazol (CDI) (32,0 g, 198 mmol) en porciones. Después de la adición y a continuación agitación a TA durante 1 h, se añadió sal de HCl de N,O-dimetilhidroxilamina (18,5 g, 189 mmol) a la mezcla seguido de Et_3N (20 ml). La mezcla se agitó a TA durante una noche. Después de que se interrumpiera la reacción con agua, la fase acuosa se extrajo con DCM (2 x). Las fases orgánicas se lavaron con HCl (ac.) 2 N, agua, NaHCO_3 (ac.) sat. y solución salina saturada. La solución se secó (MgSO_4) y se concentró. El producto 2-cloro-3-fluoro-N-metoxi-N-metilbenzamida (32,0 g) se obtuvo por cromatografía sobre gel de sílice (elución con 0-30 % de EtOAc/Hex).

25 **Etapa 2:** El material anterior se trató de acuerdo con el Esquema 2, Etapa 3 para proporcionar el producto de cetona (89 % de rendimiento).

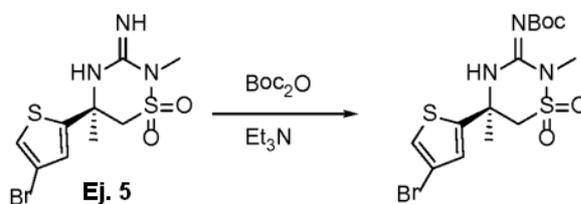
30

Tabla II: los siguientes ejemplos se prepararon usando procedimientos similares a los descritos en el Esquema 1a usando los materiales de partida apropiados.

Ejemplos de referencia					
(datos de LCMS listados con cada compuesto: MH^+ observado, tiempo de retención de HPLC y método de LCMS)					
2		3		4	
	MH^+ : 308,2, 1,64 min, D		MH^+ : 290,0, 1,99 min, B		MH^+ : 294,2, 1,43 min, A
5		6		7	
	MH^+ : 340,2, 2,64 min, A		MH^+ : 331,9, 1,95 min, B		MH^+ : 340,2, 2,19 min, A

8		9		10	
11	 MH ⁺ : 339,8, 1,87 min, A	12	 MH ⁺ : 278,9, 1,73 min, B	13	 MH ⁺ : 285,0, 1,54 min, B
14	 MH ⁺ : 340,2, 2,44 min, A	14a	 MH ⁺ : 350,0, 1,72 min, D	14b	
14c		14d			

Esquema 3 (referencia):

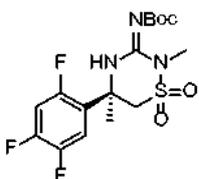
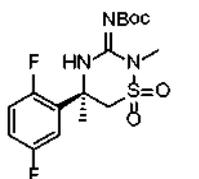
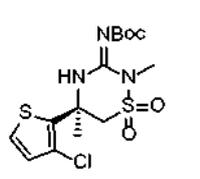


5

A una solución del **Ej. 5** (1,60 g, 5,53 mmol) en CH₂Cl₂ se añadieron Boc₂O (1,24 g, 5,68 mmol) y Et₃N (0,82 ml, 5,91 mmol). La solución resultante se agitó a TA durante una noche. La solución se lavó con NaHCO₃ (ac.) 1/2 saturado. La fase acuosa se extrajo de nuevo con CH₂Cl₂ (2 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂: elución en gradiente de 100:0 a 70:30 de hexanos:EtOAc) para proporcionar el carbamato de *tert*-butilo (1,74 g, 84 % de rendimiento).

10

Tabla IIb: los siguientes carbamatos se prepararon usando procedimientos similares a los descritos en el Esquema 3 usando los materiales de partida apropiados.

Entradas (referencia)					
1		2		3	

4		5		6	
7		8		9	
10		11		12	
13		14		15	
16					

Tabla IIc (referencia): el siguiente ejemplo se preparó usando un procedimiento similar al descrito en el Esquema 1b, usando el siguiente perfil de temperatura modificado: adición de ácido nítrico -40 grados C, a continuación calentamiento a 0 grados C.

Ejemplo	Material de partida	Producto
14e		

5

Tabla IIId (referencia): los siguientes dióxidos de tiadiazina se prepararon de acuerdo con métodos similares a los de los Esquemas 1a y 3, con las excepciones indicadas:

Entradas							
1 ^{a,b}		2 ^{a,b}		3 ^c		Ej. 14 ^{f,d,e}	

a: se usó (S)-2-metil-2-propanosulfonamida en la Etapa 1 del Esquema 1a en lugar de (R)-2-metil-2-propanosulfonamida.

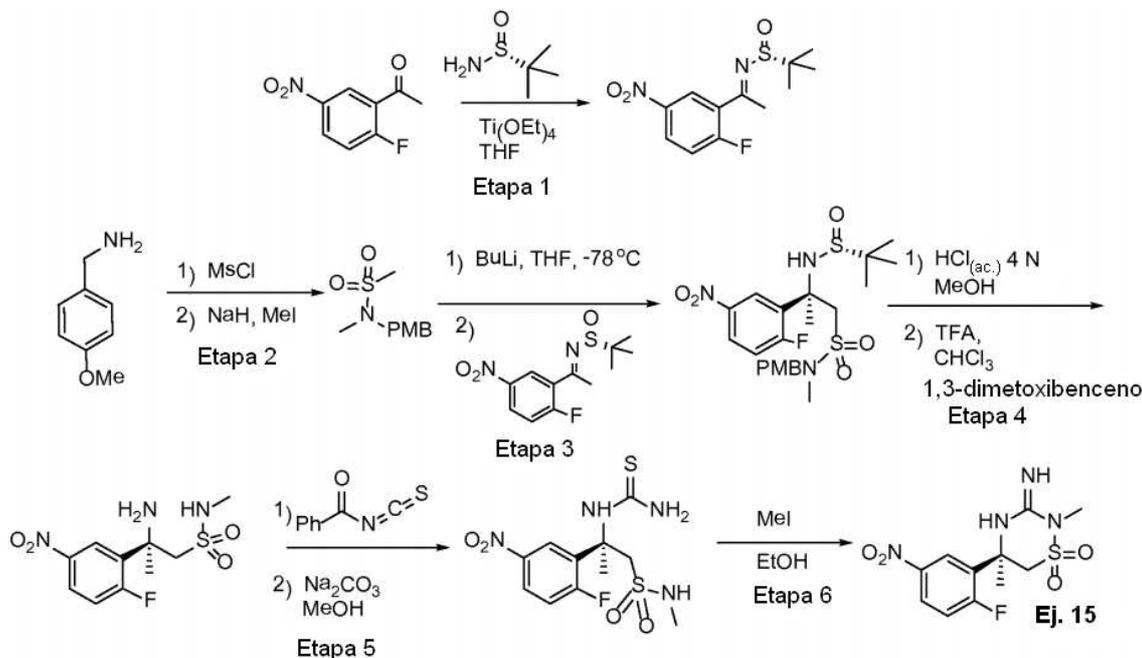
b: se usó recristalización en 95 % de MeOH / 5 % de agua para retirar un producto diastereomérico después de la purificación sobre gel de sílice de la Etapa 3 del Esquema 1a.

c: se usó cromatografía SFC (TharSFC80, Chiralpak OD-H, 50 x 250 mm, 5 μ m, 150 bar con 30 % de iPrOH, 250 g/min, 40 $^{\circ}$ C) para retirar un producto diastereomérico después de la purificación sobre gel de sílice de la Etapa 3 del Esquema 1a.

d: se usó cromatografía SFC (TharSFC80, Chiralpak OJ-H, 50 x 250 mm, 5 μ m, 150 bar con 25 % de iPrOH, 250 g/min, 40 $^{\circ}$ C) para retirar un producto diastereomérico después de la purificación sobre gel de sílice de la Etapa 3 del Esquema 1a.

e: el producto de la Etapa 4 del Esquema 1a se trató de acuerdo con el Esquema 3b para proporcionar directamente el Ejemplo 14f, en lugar de emplear el Esquema 1a, Etapas 5 y 6.

Esquema 3a:



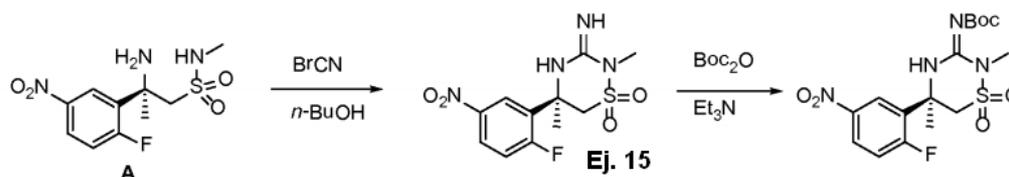
5 **Etapas 1-4:** Estas etapas se llevaron a cabo usando procedimientos similares a los descritos en las etapas 1-4 del Esquema 1a.

10 **Etapa 5:** A una solución de la amina de la etapa 4 (10,5 g, 36 mmol) en CH_2Cl_2 (200 ml) se añadió isotiocianato de benzoilo (4,3 ml, 1,1 equiv.). La solución resultante se agitó a TA durante 2,5 días. Se añadió una cantidad adicional de isotiocianato de benzoilo (0,86 ml, 0,2 equiv.) y la solución se agitó a TA durante un periodo adicional de 2 horas. A continuación la solución se concentró al vacío.

15 Una porción de este material (6,5 g, ~14 mmol) se disolvió en MeOH (200 ml). A esta solución se añadió Na_2CO_3 (s) (1,52 g, 14 mmol). La mezcla resultante se agitó a TA durante 45 min. Después de ese tiempo, se añadió un ligero exceso de HOAc a la solución. A continuación, la mezcla se concentró. El residuo se repartió entre CH_2Cl_2 y NaHCO_3 (ac.) $\frac{1}{2}$ sat. La fase acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron. La tiourea (~ 4,9 g) se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

20 **Etapa 6:** El **Ejemplo 15** se preparó usando un método similar al descrito en la etapa 6 del Esquema 1a.

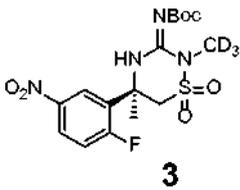
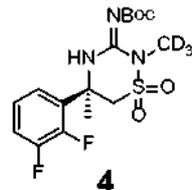
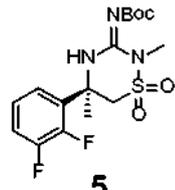
Esquema 3b:



25 A una suspensión de la amina **A** (etapa 4 del Esquema 3a) (13,7 gramos) en n-butanol (150 ml) se añadió una solución de bromuro de cianógeno (5 M en MeCN). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 4 horas. La

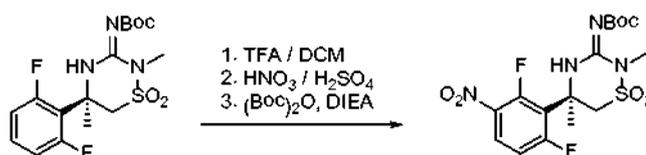
mezcla se concentró hasta 1/3 del volumen original. Se añadió a la mezcla Et₂O (200 ml). El sólido resultante se retiró por filtración y el sólido se lavó con Et₂O (2 x). El sólido se repartió entre EtOAc y Na₂CO₃ (ac.) sat. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución salina saturada, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar 10,6 gramos del **Ej. 15**. Este material se convirtió en el carbamato de t-butilo usando un procedimiento similar al descrito en el Esquema 3.

Tabla IIe: los siguientes dióxidos de tiadiazina se prepararon usando procedimientos similares a los descritos en los Esquemas 3a (entrada 1), 3b (entradas 2-5) y 3 usando las sulfonamidas mostradas en la Tabla I y el Esquema 1a.

Entradas			
			
	3	4	5

10

Esquema 7c (referencia):

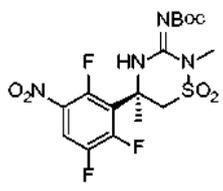
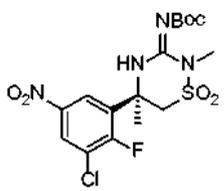
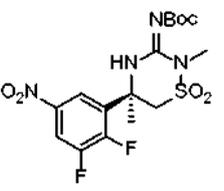
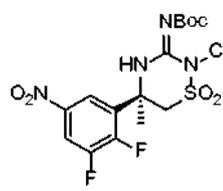


15 A una solución de una halofenil tiadiazina (Tabla IIe, entrada 1: 2,31 g, 5,9 mmol) en 5 ml de DCM se añadió 1 ml de TFA. La mezcla se agitó durante 4 h y a continuación se concentró. A 0 °C, a una solución de este residuo en bruto en 4 ml de ácido sulfúrico se añadió cuidadosamente una mezcla de 0,5 ml de ácido nítrico fumante y 1,2 ml de ácido sulfúrico. La mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h y a continuación se vertió en 150 ml de hielo. La mezcla se neutralizó mediante adición cuidadosa de una solución saturada de bicarbonato sódico e hidróxido sódico sólido.

20 La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron. Este residuo en bruto se disolvió en 20 ml de DCM, y se añadieron (Boc)₂O (1,29 g, 5,9 mmol) y DIEA (2,56 ml, 14,75 mmol). La reacción se agitó durante una noche, y a continuación se interrumpió con HCl 1 N. La mezcla se extrajo con DCM, las porciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, y se concentraron. El residuo en bruto se purificó mediante una columna de gel de sílice ultrarrápida

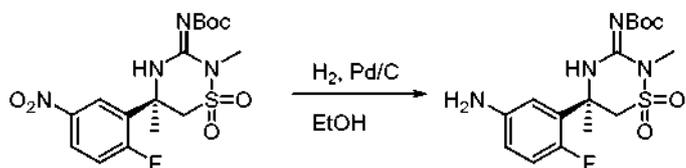
25 (25 % de acetato de etilo/hexano) para dar un producto de nitrofenil tiadiazina (1,93 g, 76 % de rendimiento).

Tabla IIc: los siguientes compuestos se prepararon usando métodos similares a los descritos en el Esquema 7c partiendo de los materiales de partida apropiados mostrados en la Tabla IIb:

Entradas			
			
1	2	3	4

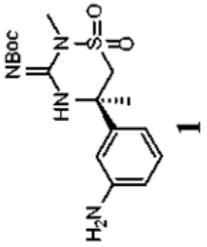
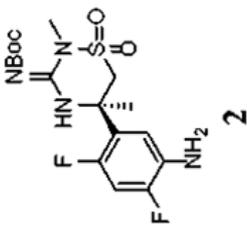
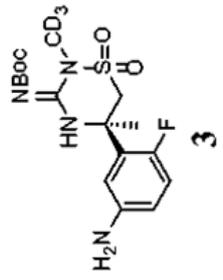
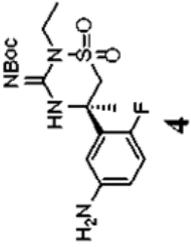
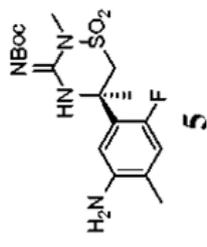
30

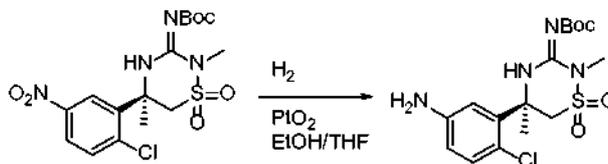
Esquema 10 (referencia):



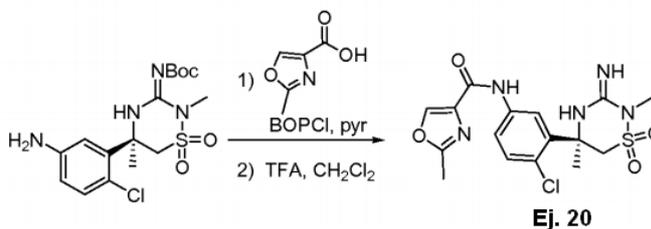
- 5 Una solución del nitrocompuesto (Esquema 3b) (2,50 g, 6,0 mmol) en EtOH (150 ml) se desgasificó por burbujeo de N_2 a través de la solución durante 3 min. A esta solución se añadió Pd/C (10 % p/p, 50 % de H_2O , 698 mg.). La mezcla se puso en una atmósfera de N_2 . La atmósfera se evacuó y se rellenó con H_2 (3 x). La mezcla resultante se agitó a TA con un globo de H_2 durante 2 h. La mezcla se purgó por burbujeo de N_2 a través de la misma, se filtró a través de Celite y se concentró. El producto se purificó por filtración a través de un pequeño lecho de columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc para proporcionar la anilina (2,2 g, 97 %).
- 10

Tabla IV (referencia): las siguientes anilinas se prepararon a partir de los correspondientes nitrocompuestos usando un procedimiento similar al descrito en el Esquema 10.

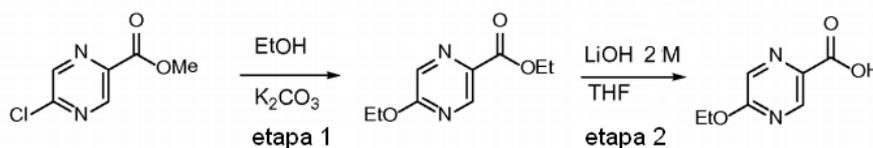
Entradas				
				

Esquema 11a (referencia):

- 5 Una solución del nitrocompuesto (Entrada 9, Tabla IIb) (515 mg, 1,19 mmol) en EtOH:THF 1:1 (24 ml) en un recipiente de presión se desgasificó por burbujeo de N₂ a través del mismo durante 5 min. A esta solución se añadió PtO₂ (27 mg, 0,12 mmol). El recipiente se cerró herméticamente. A continuación, el recipiente se evacuó y se relleno con N₂ (3 x). A continuación, el recipiente se evacuó y se purgó con H₂ (3 x). El recipiente se presurizó a 60 psi con H₂ y se agitó a TA durante una noche. Después de ese tiempo, el recipiente se purgó con N₂. A continuación, la
 10 mezcla se filtró a través de Celite. El disolvente se retiró al vacío para proporcionar la anilina (500 mg, 100 %).

Esquema 11b (referencia):

- 15 **Etapa 1:** A un matraz que contenía la anilina (Esquema 11a) (100 mg, 0,25 mmol) y ácido 2-metil-1,3-oxazol-4-carboxílico (47 mg, 0,37 mmol) se añadió BOPCl (145 mg, 0,57 mmol). El matraz se cerró herméticamente y se purgó con N₂. Se añadió al matraz piridina (1,0 ml). La solución resultante se agitó a TA durante 1 hora. Después de ese tiempo, la solución se repartió entre EtOAc y agua. La mezcla se filtró a través de Celite para retirar los
 20 sólidos. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con solución salina saturada, se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂: elución en gradiente de 100:0 a 65:35 de hexanos:EtOAc) para proporcionar la amida (81 mg, 64 %).
- 25 **Etapa 2:** A una solución de la amida de la etapa 1 (81 mg, 0,16 mmol) en CH₂Cl₂ (1,5 ml) se añadió TFA (1,5 ml). La solución resultante se agitó a TA durante 2 horas. La solución se concentró al vacío para proporcionar el **Ej. 20** (83 mg) en forma de la sal trifluoroacetato. Datos de LCMS: (método D): t_r = 1,75 min, m/e = 412,0 (M+H).

Esquema 11c (referencia):

- 30 **Etapa 1:** A una suspensión de 5-cloropirazina-2-carboxilato de metilo (250 mg, 1,45 mmol) en EtOH (5 ml) se añadió carbonato potásico (300 mg, 2,18 mmol). La solución resultante se agitó a TA durante 2 horas. La mezcla se concentró. El residuo se repartió entre agua y CH₂Cl₂. La fase acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar 5-etoxipirazina-2-carboxilato de etilo (110 mg, 39 %) en forma de un sólido de color amarillo.
- 35 **Etapa 2:** A una solución del material de la etapa 1 (110 mg, 0,60 mmol) en THF (3 ml) se añadió una solución de LiOH (2 M en agua, 0,90 ml, 1,8 mmol). La solución se agitó a TA durante 1 h. La solución se ajustó a pH 1 usando HCl (ac.) 1 M. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar el ácido (75 mg, 74 %).
- 40

Tabla IVb (referencia): los siguientes ácidos pirazinacarboxílicos se prepararon usando un procedimiento similar al descrito en el Esquema 11c usando el alcohol apropiado en la etapa 1. Las modificaciones para los ejemplos específicos se enumeran a continuación de la tabla.

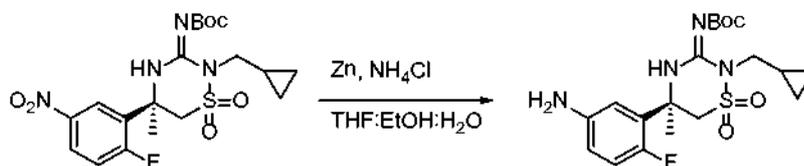
Entradas					
1		2 ^a		3 ^b	
4 ^a		5 ^b		6 ^c	
7					

^a Modificación de la etapa 1: el éter se purificó por cromatografía ultrarrápida (SiO₂; elución en gradiente de 100:0 a 70:30 de hexanos:EtOAc).

^b Modificación de la etapa 1: el éter se purificó por cromatografía ultrarrápida (C₁₈; elución en gradiente de 90:10:0,1 a 0:100:0,1 de agua:MeCN: ácido fórmico).

^c Modificación de la etapa 2: el ácido de pirazina se purificó por cromatografía ultrarrápida (C₁₈; elución en gradiente de 90:10:0,1 a 0:100:0,1 de agua:MeCN: ácido fórmico).

5 **Esquema 11f (referencia):**



Una solución del nitrocompuesto (Tabla IIe, entrada 1, 1,70 gramos, 3,7 mmol) en THF:EtOH:H₂O (30 ml, 3:1:0,3) se desgasificó por burbujeo de N₂ a través de la solución durante 3 min. A la solución se añadieron Zn (2,4 g, 37 mmol) y NH₄Cl (996 mg, 18 mmol). La mezcla resultante se calentó a reflujo en una atmósfera de N₂ durante 3 horas. La mezcla se filtró a través de Celite y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida en fase inversa (C₁₈, elución en gradiente de 90:10:0,1 a 0:100:0,1 de H₂O:MeCN:ácido fórmico). La sal de formiato resultante se repartió entre EtOAc y NaHCO₃ (ac.) sat. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron para proporcionar la anilina (847 mg, 54 %).

Tabla IVd (referencia): los siguientes compuestos se prepararon de acuerdo con los métodos descritos en el Esquema 11 excepto por que se purificaron mediante cromatografía ultrarrápida sobre SiO_2 :

Entradas				
<p style="text-align: center;">1</p>	<p style="text-align: center;">2</p>	<p style="text-align: center;">3</p>	<p style="text-align: center;">4</p>	<p style="text-align: center;">5</p>

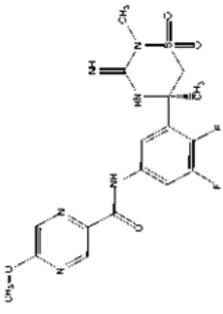
Esquema 11o (referencia):



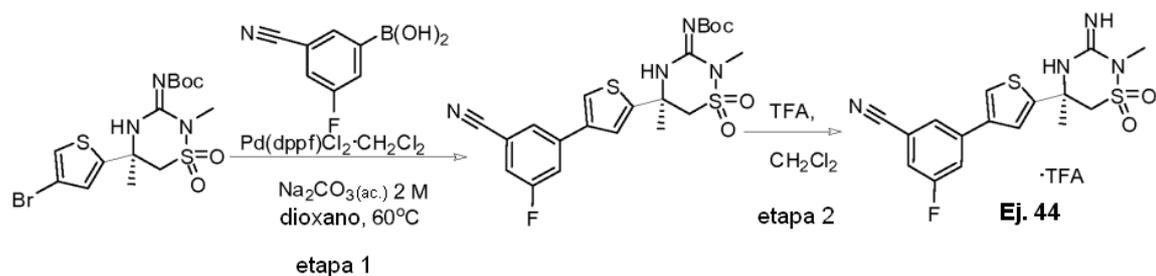
- 5 A 2-bromo-5-(metil-D₃)-pirazina (400 mg, 2,27 mmol) en agitación en 8 ml de THF anhidro a - 78 °C en atmósfera de N₂ se añadió lentamente *n*-BuLi (2,5 M en hexanos, 1,14 ml, 2,85 mmol). La reacción se agitó durante 30 minutos a esta temperatura, después de lo cual se burbujeó dióxido de carbono a través de la solución durante 15 minutos mediante una aguja en una cánula. Se retiró el baño de refrigeración y se dejó que la reacción alcanzara la temperatura ambiente lentamente durante 1 hora. A continuación, se añadió agua y la reacción se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se combinaron, se secaron (MgSO₄), y se concentraron al vacío para proporcionar un aceite (120 mg, 38 %) que se usó sin purificación adicional.
- 10

Tabla V: los siguientes ejemplos se prepararon usando un procedimiento similar al descrito en el Esquema 11b usando las aril aminas y los ácidos carboxílicos apropiados.

		Ejemplos			
		(datos de LCMS listados en cada compuesto: MH ⁺ observado, tiempo de retención de HPLC y método de LCMS)			
		25	26	35	36
		 MH ⁺ : 410,0, 1,79 min, D	 MH ⁺ : 460,0, 1,90 min, D	 MH ⁺ : 406,2, 1,8 min, D	 MH ⁺ : 407,2, 1,71 min, D
		34			40ai
		 MH ⁺ : 426,2, 3,25 min, A			 MH ⁺ : 423,2, 1,76 min, D

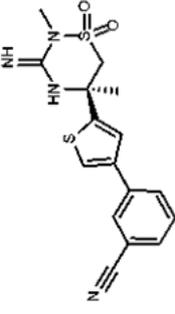
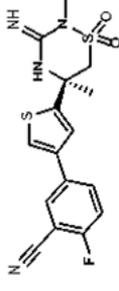
Ejemplos				
(datos de LCMS listados en cada compuesto: MH ⁺ observado, tiempo de retención de HPLC y método de LCMS)				
40di		<p>MH⁺: 441.0, 1.85 min, D</p>		

Esquema 15 (referencia):

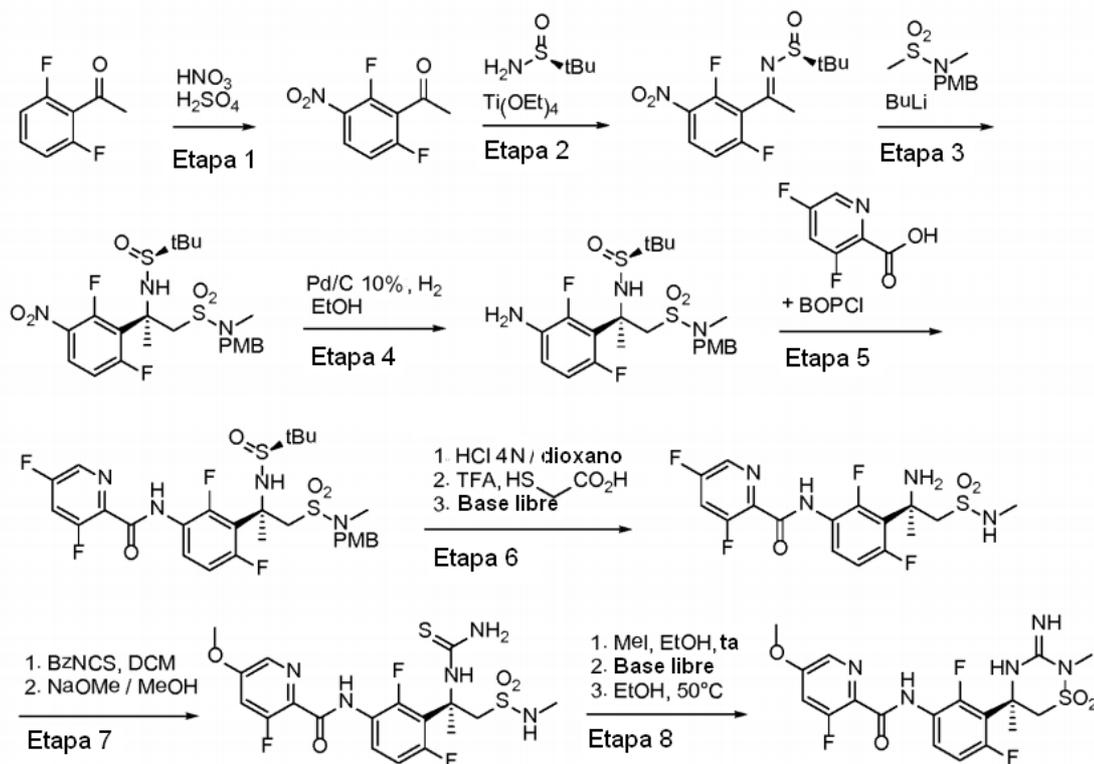


- 5 **Etapa 1:** A un vial de microondas que contenía el bromuro de tiofeno (Esquema 3) (149 mg, 0,34 mmol) se añadieron ácido 3-ciano-5-fluorofenil borónico (146 mg, 0,88 mmol), Na_2CO_3 (ac.) 2 M (0,31 ml) y dioxano (2,5 ml). La mezcla se desgasificó por burbujeo de N_2 a través de la misma durante 5 min. A esta mezcla se añadió complejo de [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio(II) con CH_2Cl_2 (60 mg, 0,074 mmol). El vial se tapó y la atmósfera se purgó con nitrógeno. La mezcla se calentó a 60 °C con agitación durante 2 horas. La mezcla se enfrió a TA y se diluyó con EtOAc. A continuación, la mezcla se filtró a través de Celite. La fase orgánica se lavó con solución salina saturada. La fase acuosa se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron. El producto en bruto se purificó mediante el TLC preparativa (SiO_2 : hexanos:EtOAc 3:1) para proporcionar el compuesto de biarilo (105 mg).
- 10 **Etapa 2:** A una solución el compuesto de biarilo de la etapa 1 en CH_2Cl_2 (1,0 ml) se añadió TFA (1,0 ml). La solución resultante se agitó a TA durante 1,5 horas. El disolvente se retiró al vacío para proporcionar el **Ejemplo 44** en forma de la sal trifluoroacetato. Datos de LCMS: (método A): $t_R = 2,96$ min, $m/e = 379,2$ (M+H).
- 15

Tabla VIII: los siguientes ejemplos se prepararon usando un procedimiento similar al descrito en el Esquema 15 usando el bromuro de ailo y el ácido/éster borónico apropiado.

Ejemplos (referencia)					
(datos de LCMS listados con cada compuesto: MH ⁺ observado, tiempo de retención de HPLC y método de LCMS)					
45		46		47	
	MH ⁺ : 361,2, 2,66 min, A		MH ⁺ : 379,2, 2, 43 min, A	MH ⁺ : 375,2, 2,90 min, A	

Esquema 43 (referencia):



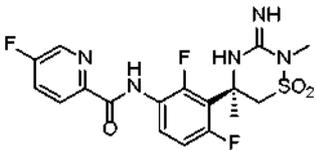
Ej. 172

- 5 **Etapa 1:** A una mezcla a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ mezcla de H_2SO_4 concentrado (100 ml) y HNO_3 fumante (100 ml) se añadió 1-(2,6-difluorofenil)etanona (20 g, 128 mmol) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 2 h y a continuación se vertió lentamente sobre hielo. Esa mezcla se diluyó con DCM y las fases se separaron. La fase acuosa se neutralizó con NaHCO_3 sat. ac. y a continuación se extrajo con DCM. Todas las porciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron, y se concentraron para dar 1-(2,6-difluoro-3-nitrofenil)etanona (26,3 g, 131 mmol, > teórico) que se usó sin purificación adicional.
- 10 **Etapa 2:** La nitrofenil cetona de la etapa previa se trató de acuerdo con el Esquema 1a, Etapa 1 [sustituyendo (S)-2-metil-2-propanosulfonamida por (R)-2-metil-2-propanosulfonamida] para dar un producto de cetimina (17,1 g, 44 % basado en 1-(2,6-difluorofenil)etanona de la Etapa 1).
- 15 **Etapa 3:** La cetimina de la etapa 2 (17,1 g, 56,2 mmol) se trató de acuerdo con el Esquema 1a, Etapa 3 para dar el producto de adición syn deseado (6 g, 20 %) así como una mezcla de diastereómeros syn y anti (6 g, 3:1, 20 %).
- 20 **Etapa 4:** A una solución del producto de adición syn de la Etapa 3 (2,71 g, 5,1 mmol) en 25 ml de etanol se añadió Pd al 10 %/C (298 mg). La mezcla se puso en atmósfera de globo de H_2 durante una noche. Después de filtración a través de Celite, el filtrado se concentró. El residuo en bruto se purificó por columna ultrarrápida sobre gel de sílice (60 %-100 % de EtOAc/hexanos) para dar el producto de anilina (1,75 g, 68 % de rendimiento).
- 25 **Etapa 5:** Una mezcla de la anilina de la Etapa 4 (453 mg, 0,9 mmol), ácido 3,5-difluoropicolínico (215 mg, 1,4 mmol) y BOPCI (527 mg, 2,07 mmol) en 4 ml de piridina se agitó durante una noche. Después de que se inactivara con HCl (ac.) 1 N, la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Las porciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron. El residuo en bruto se purificó por columna ultrarrápida sobre gel de sílice (40 % de EtOAc/hexano) para dar un producto de amida (431 mg, 74 % de rendimiento).
- 30 **Etapa 6:** A una solución del material anterior (431 mg, 0,67 mmol) en 3 ml de DCM y 1 ml de metanol se añadió HCl 4 N en dioxano (1 ml, 4,0 mmol). Después de que la mezcla se agitara durante 1 h, esta se concentró. Esta muestra se trató con una mezcla de TFA (4 ml) y ácido tioglicólico (0,46 ml, 6,7 mmol). Después de que la mezcla se agitara durante 4 h, esta se concentró. El residuo en bruto se neutralizó mediante la adición cuidadosa de una solución saturada de bicarbonato sódico. La mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo, las porciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, y se concentraron hasta un producto de amina que se usó en la etapa posterior sin purificación adicional.
- 35 **Etapa 7:** Al material de la etapa 6 (supuesto que era 0,67 mmol) en 5 ml de DCM se añadió isotiocianato de benzóilo (0,12 ml, 0,87 mmol). La mezcla se agitó durante una noche a TA. Después de esto se concentró, el residuo se disolvió en 5 ml de metanol, y se añadió metóxido sódico (25 % en metanol, 0,37 ml). La mezcla se agitó durante 2 h a TA. Se inactivó con 2 gotas de ácido acético. Después de que la mezcla se concentrara, el material en bruto se diluyó con carbonato sódico saturado, y se extrajo con DCM. Las porciones orgánicas

combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron para dar un producto de isotiourea que se usó en la etapa posterior sin purificación.

Etapla 8: A una solución del material de la etapa 7 (supuesto que era 0,67 mmol) en 5 ml de etanol se añadió yoduro de metilo (0,05 ml, 0,8 mmol). La mezcla se agitó durante una noche a temperatura ambiente y a continuación se diluyó con bicarbonato sódico saturado. Después de que la mezcla se extrajera con acetato de etilo, las fases orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, y se concentraron. El residuo en bruto se disolvió en 5 ml de etanol, y la mezcla se calentó a 50 °C durante 2 h. A continuación, la mezcla se diluyó con bicarbonato sódico saturado, y se extrajo con acetato de etilo. Las porciones orgánicas se combinaron, se secaron sobre sulfato de magnesio, y se concentraron. El residuo en bruto se purificó por HPLC en fase inversa (C18 de compresión radial, 10 % a 100 % de MeCN/agua con 0,1 % de TFA) para dar el **Ejemplo 172** en forma de una sal de TFA (40,3 mg, 14 % a partir del producto de la Etapa 5). LCMS (condiciones A): $t_R = 2,43$ min, $m/e = 458,3$ (M+H).

Tabla XXII: el siguiente ejemplo se preparó a partir de 1-(2,6-difluorofenil)etanona usando métodos similares a los descritos en el Esquema 43, sustituyendo el ácido apropiado en la Etapa 5:

Ejemplos (datos de LCMS: MH ⁺ observado, tiempo de retención de HPLC y método de LCMS)			
173			
	MH ⁺ : 428,2, 2,46 min, A		

Condiciones de LC/MS

Método A:

Columna: Gemini C-18, 50 x 4,6 mm, 5 micrómetros, obtenida en Phenomenex.

Fase móvil:

A: 0,05 % de ácido trifluoroacético en agua
B: 0,05 % de ácido trifluoroacético en acetonitrilo

Gradiente: 90:10 a 5:95 (A:B) durante 5 min.

Caudal: 1,0 ml/min

Detección UV: 254 nm

ESI-MS: la cromatografía líquida-espectrometría de masas con ionización por electronebulización (ESI-LC/MS) se llevó a cabo en un espectrómetro de masas de cuadrupolo individual PE SCIEX API-150EX.

Método B:

Columna: Waters SunFire C-18 4,6 mm x 50 mm

Fase móvil:

A: 0,05 % de ácido trifluoroacético en agua
B: 0,05 % de ácido trifluoroacético en acetonitrilo

Gradiente: 90:10 (A:B) durante 1 min, 90:10 a 0:100 (A:B) durante 4 min, 0:100 (A:B) durante 2 min.

Caudal: 1,0 ml/min

Detección UV: 254 nm

Espectrómetro de masas: Finnigan LCQ Duo electronebulización.

Método D:

Columna: Agilent Zorbax SB-C18 (3,0 x 50 mm) 1,8 μ M

Fase móvil:

A: 0,05 % de ácido trifluoroacético en agua
B: 0,05 % de ácido trifluoroacético en acetonitrilo

Gradiente: 90:10 (A:B) durante 0,3 min, 90:10 a 5:95 (A:B) durante 1,2 min, 5:95 (A:B) durante 1,2 min.
 Caudal: 1,0 ml/min
 Detección UV: 254 y 220 nm
 5 Espectrómetro de masas: Agilent 6140 cuadrupolo.

Ensayos

El protocolo que se usó para determinar los valores indicados se describe a continuación.

Ensayo de BACE1 HTRF FRET

Reactivos

15 Na⁺-Acetato pH 5,0
 Brij-35 al 1 %
 Glicerol
 Dimetilsulfóxido (DMSO)
 Dominio catalítico de BACE1 soluble humano recombinante (> 95 % puro)
 20 Sustrato peptídico mutante de APP Swedish (QSY7-APP^{swe}-Eu): QSY7-EISEVNLDAEFC-Europio-amida

Se usó un ensayo FRET resuelto en el tiempo homogéneo para determinar los valores de CI_{50} para los inhibidores del dominio catalítico de BACE1 humano soluble. Este ensayo monitorizó el aumento de fluorescencia a 620 nm que resultó de la escisión de BACE1 de un sustrato FRET peptídico mutante APP^{swedish} APP^{swe} (QSY7-EISEVNLDAEFC-Europio-amida). Este sustrato contenía un resto QSY7 N-terminal que sirvió como inactivador del fluoróforo Europio C-terminal (620 nm Em). En ausencia de actividad enzimática, la fluorescencia a 620 nm fue baja en el ensayo y aumentó linealmente durante 3 horas en presencia de enzima BACE1 sin inhibir. La inhibición de la escisión de BACE1 del sustrato QSY7-APP^{swe}-Eu por los inhibidores se manifestó como una supresión de la fluorescencia a 620 nm.

Se preincubaron concentraciones variables de inhibidores a 3 x la concentración final deseada en un volumen de 10 μ l con dominio catalítico de BACE1 humano purificado (3 nM en 10 μ l) durante 30 minutos a 30 °C en tampón de reacción que contenía Na-Acetato 20 mM a pH 5,0, 10 % de glicerol, 0,1 % de Brij-35 y 7,5 % de DMSO. Las reacciones se iniciaron mediante la adición de 10 μ l de sustrato QSY7-APP^{swe}-Eu 600 nM (200 nM final) para dar un volumen final de reacción de 30 μ l en una placa de 384 pocillos Nunc HTRF. Las reacciones se incubaron a 30 °C durante 1,5 horas. A continuación se leyó la fluorescencia a 620 nm en un lector de placas Rubystar HTRF (BMG Labtechnologies) usando un retraso de 50 μ s seguido de una ventana del tiempo de adquisición de 400 milisegundos. Los valores de CI_{50} del inhibidor derivaron de un análisis de regresión no lineal de curvas de respuesta a concentración. A continuación se calcularon los valores de K_i a partir de los valores de CI_{50} usando la ecuación de Cheng-Prusoff usando un valor μ m determinado previamente de 8 μ M para el sustrato QSY7-APP^{swe}-Eu en BACE1.

Todos los compuestos de ejemplo de la invención se sometieron a este ensayo de BACE-1 y exhibieron los valores de K_i que se registran en la tabla posterior.

Ensayo de BACE-2

Se determinaron los valores de CI_{50} de inhibidor en autoBACE-2 purificada humana en un ensayo de proteólisis de punto final resuelto en el tiempo que mide la hidrólisis del sustrato peptídico QSY7-EISEVNLDAEFC-Eu-amida FRET (ensayo de BACE-HTRF). La hidrólisis mediada por BACE de este péptido da como resultado un aumento de la fluorescencia relativa (RFU) a 620 nm después de excitación con luz a 320 nm. Los compuestos inhibidores, preparados a 3 x la concentración final deseada en tampón de ensayo de BACE 1 x (acetato sódico 20 mM a pH 5,0, 10 % de glicerol, 0,1 % de Brij-35) complementado con 7,5 % de DMSO se preincubaron con un volumen igual de enzima autoBACE-2 diluida en tampón de ensayo de BACE 1 x (concentración final de enzima 1 nM) en placas de color negro de 384 pocillos NUNC durante 30 minutos a 30 °C. El ensayo se inició mediante la adición de un volumen igual del sustrato QSY7-EISEVNLDAEFC-Eu-amida (concentración final 200 nM, $K_m = 8 \mu$ M para 4 μ M para autoBACE-2) preparado en tampón de ensayo de BACE 1 x complementado con 7,5 % de DMSO y se incubó durante 90 minutos a 30 °C. DMSO estaba presente a una concentración final de un 5 % en el ensayo. Después de la excitación con láser de los pocillos de muestra a 320 nm, se recogió la señal de fluorescencia a 620 nm durante 400 ms siguiendo un retraso de 50 μ s en un lector de placas RUBYstar HTRF (BMG Labtechnologies). Los datos RFU sin procesar se normalizaron a los valores de RFU máximo (BACE/DMSO 1,0 nM) y mínimo (ninguna enzima/DMSO). Los valores de CI_{50} se determinaron mediante análisis de regresión no lineal (respuesta a dosis sigmoidea, pendiente variable) de los datos de inhibición porcentuales con los valores mínimos y máximos establecidos en un 0 y un 100 por ciento respectivamente. Se obtuvieron valores de CI_{50} similares usando los datos de RFU sin procesar. Los valores de K_i se calculan a partir de los valores de CI_{50} usando la ecuación de Cheng-Prusoff.

Todos los compuestos de ejemplo de la invención se sometieron a este ensayo de BACE-2, y sus valores de K_i se registran en la tabla posterior.

- 5 Se ha descubierto sorprendentemente que los nuevos compuestos de dióxido de iminotiadiazina de la invención exhiben propiedades que se espera que los hagan ventajosos como inhibidores de BACE y/o para los diversos métodos usados en el presente documento.

A β ₄₀ cortical

- 10 Se ha descubierto, sorprendente y ventajosamente, que los compuestos de dióxido de iminotiadiazina de la invención exhiben una eficacia mejorada en la reducción de la producción de A β ₄₀ en la corteza cerebral con respecto a sus análogos de iminopirimidona. Se usaron los siguientes procedimientos. Los resultados se muestran en la tabla posterior.

15 Recogida de tejido de rata

- Se alojaron en grupo ratas CD macho (~100 g; Crl:CD(SD); Charles River Laboratories, Kingston, NY) y se aclimataron al vivario durante 5-7 días antes de su uso en el estudio. Los compuestos se formularon en un 20 % de hidroxipropil- β -ciclodextrina y se administraron por vía oral con un volumen de dosificación de 5 ml/kg para las ratas. 20 Tres h después de la administración del fármaco, se realizó la eutanasia a las ratas con un exceso de CO₂. El cerebro se retiró del cráneo y se congeló inmediatamente en hielo seco. Todos los tejidos se almacenaron a -70 °C hasta la cuantificación de A β .

Determinación de los niveles de A β ₄₀ en Corteza Cerebral de Rata mediante ELISA

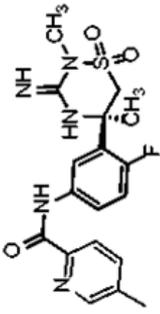
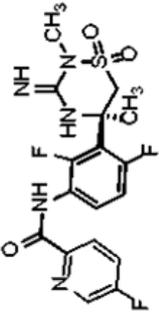
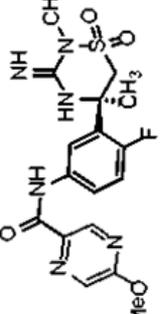
- 25 La medida de A β -40 (A β ₄₀) endógeno de rata en la corteza cerebral se basó en el anticuerpo 585 (Ab585, BioSource), n° de catálogo NONO585), que reconoce específicamente la secuencia N-terminal de A β ₄₀ de roedor, y el anticuerpo monoclonal, G2-10, que reconoce específicamente el extremo C-terminal libre de A β ₄₀. Ab585 se marcó con biotina (b-Ab585) mediante una primera dialización de la muestra de anticuerpo exhaustivamente frente a PBS (pH 7,8) para retirar impurezas, seguido de dilución hasta 1 y 2 mg/ml de concentración de proteína. Se disolvió EZ-Link Sulfo-NHS-LC-Biotina (Pierce) en PBS (pH 7,8) a una concentración de 1 mg/ml inmediatamente antes de su uso. Ab585 se marcó con EZ-Link Sulfo-NHS-LC-biotina usando una proporción de biotina:anticuerpo de 10:1 por incubación a temperatura ambiente durante 1 hora. La reacción de marcaje se interrumpió mediante la adición de glicina 1,0 M para una concentración final de 0,1 M seguido de incubación de 10 minutos a temperatura ambiente. 35 Se retiró la glicina mediante diálisis exhaustiva frente a PBS.

- El uso del inmunoensayo basado en Luminex para la medida de A β ₄₀ cortical de rata requirió que el anticuerpo G2-10 se marcara con Bio-Plex COOH Bead 25 (laboratorios Bio-Rad, n° de catálogo 171506025). El anticuerpo se acopló a las perlas usando el Kit de Acoplamiento de Amina Bio-Plex (Bio-Rad) según las recomendaciones del fabricante. 40

- Los niveles de corteza de rata A β ₄₀ de corteza cerebral de rata se midieron a partir de extractos de guanidina HCl de las cortezas cerebrales de rata individuales usando un ensayo de inmunodetección basado en Luminex. Los cerebros de rata se descongelaron brevemente a 37 °C y se retiraron las regiones cerebral media y del rombencéfalo. El material remanente, que consistía principalmente en la corteza cerebral (~800 mg) se sometió al procedimiento de extracción de guanidina. Las cortezas cerebrales se añadieron a un tubo BioPur de 2 ml (Eppendorf) junto con una bola de acero revestida de cromo de 6,35 mm y 1,0 ml de tampón de homogeneización de sacarosa (HEPES 20 mM [pH 7,5], KCl 50 mM, sacarosa 50 mM, EDTA 2 mM, EGTA 2 mM complementado con inhibidores de proteasa completos [Roche, exentos de EDTA]). A continuación las muestras se homogeneizaron por agitación durante 1,5 min a 30 ciclos/s en una mezcladora de tejidos MM300 (Retsch®). El homogenato cortical resultante se extrajo con guanidina-HCl por mezcla de 67 μ l de homogenato con 133 μ l de Guanidina HCl 5 M, Tris HCl 50 mM (pH 8,0). Para maximizar la eficacia de la extracción de A β , las muestras se agitaron vorticialmente y a continuación se sonicaron durante 2 minutos en un baño de hielo usando un sonicador de cuerno de copa Ultrasonics XL con un ajuste de potencia de 8 (Heat Systems, Inc.). El material insoluble se retiró por ultracentrifugación usando un rotor TLA-55 en una centrífuga de sobremesa TL-100 (Beckman) a 100.000 x g durante 30 minutos. A continuación, el sobrenadante resultante se diluyó 1:10 en guanidina HCl 5 M, Tris HCl 0,05 M (pH 8,0) para análisis de proteínas (ensayo de proteínas BCA, Pierce Biochemicals) o se sometió a ensayo puro para los niveles de A β ₄₀. El ensayo Luminex de A β ₄₀ de roedor se llevó a cabo como sigue a continuación. En primer lugar, se humedecieron placas de unión de filtro de 96 pocillos (Millipore, n° de catálogo MSBVN12) con 100 μ l de tampón LA β ₄₀ 1 x (HEPES 0,05 M [pH 7,5], 0,2 % de BSA, 0,2 % de Tween-20, NaCl 0,15 M) por filtración al vacío en un colector de 96 pocillos de Millipore. El fondo de la placa se cerró herméticamente y se añadieron 100 μ l de tampón LA β ₄₀ 1 x a cada pocillo seguido de la adición de 50 μ l a cada uno de perlas G2-10:COOH (1000 perlas/pocillo) y 50 μ l de b-Ab585 a 0,5 μ g/ml en tampón LA β ₄₀ 1 x. Se añadió Guanidina HCl a los estándares sintéticos de A β ₄₀ de roedor con el fin de controlar el efecto de la guanidina en los extractos cerebrales en el rendimiento del ensayo. Se añadieron a cada pocillo diez microlitros de extracto cortical, estándares de A β ₄₀ de roedor o extracto cortical de proteína precursora amiloide de ratones *knockout* (para definir la inmunorreactividad de 65

fondo). Las placas se cubrieron y se incubaron durante una noche a 4 °C. Después de la incubación, los pocillos se despejaron al vacío y se lavaron dos veces con 100 µl de tampón LAβ40 1 x en un colector de Millipore. Se diluyó 100 veces estreptavidina conjugada con ficoeritrina (PE-estreptavidina, BioRad) para la detección de la unión de b-Ab585 en tampón LAβ40 1 x y se añadieron 50 µl a cada pocillo y se incubó durante 1 hora a temperatura ambiente con agitación. Se retiró la PE-estreptavidina sin unir mediante tres lavados de 100 µl con tampón de ensayo de citoquina (BioRad). Las perlas lavadas se resuspendieron en 125 µl de tampón de ensayo de citoquina por agitación en un agitador de microplacas. Las perlas se leyeron en un sistema de conjunto de suspensión BioPlex (BioRad) con el número de perlas de la región diana establecido en 40 perlas/región y el extremo superior de la puerta DD establecido en 10.000. Los datos de fluorescencia sin procesar se analizaron usando análisis de regresión no lineal y se extrapolaron los niveles absolutos de Aβ40 a partir de la curva estándar usando GraphPad Prism 4.0.2. Las cantidades absolutas de Aβ₁₋₄₀ se expresan en picogramos por microgramos de proteína. Se calcularon los valores porcentuales de cambio para cada compuesto mediante la normalización del nivel cortical absoluto promedio de Aβ₁₋₄₀ en cada grupo de edad tratado con compuesto con respecto a los niveles corticales absolutos promedio de Aβ₁₋₄₀ en el control del vehículo. Los resultados comparativos se muestran en la tabla posterior. "NT" significa no sometido a ensayo.

Cambio en Aβ ₄₀ cortical en ratas 3 h después de una dosis oral de 10 mg/kg de compuesto					
Dióxido de iminotiazina			Iminopirimidinona		
Ej. n°	Estructura	KI BACE-1 (nM) ----- KI BACE-2 (nM)	Cambio en Aβ ₄₀ de corteza cerebral de rata	Estructura	Cambio en Aβ ₄₀ de corteza cerebral de rata
34		0,949 ----- 0,22	-51 %		-19 %
26		1,261 ----- 2,46	-33 %		0 %
25		1,753 ----- 0,37	-49 %		-11 %
36		10 ----- 4,85	-25 %		NT
40di		1,05 ----- 2,15	-38 %		+5 %

Cambio en $A\beta_{40}$ cortical en ratas 3 h después de una dosis oral de 10 mg/kg de compuesto			
Dióxido de iminotiazina		Iminopirimidiona	
Ej. n°	Estructura	Ki BACE-1 (nM) ----- Ki BACE-2 (nM)	Cambio en $A\beta_{40}$ de corteza cerebral de rata
35		3,0 ----- 0,45	NT
173		4,88 ----- 0,47	-27 %
40ai		1,64 ----- 1,99	-51 %
			NT
			-3 %

Permeabilidad bidireccional de Caco-2

Se ha descubierto que los compuestos de la invención exhiben inesperadamente una susceptibilidad reducida a la evacuación mediante glicoproteína P (P-gp) frente a los compuestos que tienen un resto de iminopirimidinona que son de otro modo estructuralmente idénticos. Pgp se encuentra, entre otras ubicaciones, en la barrera hematoencefálica, y la susceptibilidad reducida a la evacuación mediante esta proteína es una característica deseable de los compuestos que actúan centralmente (A. Schinkel *Advanced Drug Delivery Reviews* **1999**, 36, 179-194). Se usaron los siguientes procedimientos. Los resultados se muestran en la tabla posterior.

10 Permeabilidad bidireccional de Caco-2

La permeabilidad bidireccional con potencial de evacuación de compuestos seleccionados de la invención frente a iminopirimidinonas de otro modo estructuralmente idénticas (denominados colectivamente compuestos de ensayo, mostrados en la tabla posterior) se evaluaron usando la línea celular Caco-2. Las células de Caco-2 se mantuvieron en DMEM (Medio Eagle Modificado por Dulbecco) que contenía un 10 % de suero bovino fetal, un 1 % de aminoácidos no esenciales, L-glutamina 2 mM, y un 1 % de penicilina-estreptomicina en una incubadora a ~37 °C en una atmósfera de un 5 % de CO₂ y aproximadamente un 90 % de humedad relativa. El medio de cultivo celular se cambió tres veces cada semana. Las monocapas de células Caco-2 se hicieron crecer en filtros de tereftalato de polietileno usando Placas de Inserción de Cultivo Celular de 24 pocillos BD Falcon™ (0,33 cm² de área de inserción, tamaño de poro de 1 μm; BD BioSciences, Bedford, MA). El medio de cultivo de la placa se cambió cada dos días hasta que se usó para el experimento de transporte (21-28 días después de la siembra).

El tampón de transporte (TM) fue solución salina de Hank equilibrada (HBSS) con HEPES 10 mM y glucosa 25 mM (pH 7,4) para dosificación y TM con un 4 % de albúmina de suero bovino para receptor (pH 7,4). La permeabilidad bidireccional de los compuestos de ensayo se sometió a ensayo a concentraciones de 1, 10 y 100 μM y se midió por triplicado con una incubación de 2 h. La integridad de la monocapa de células se monitorizó con resistencia eléctrica transepitelial pre y post-experimental y permeabilidad de Amarillo Lucifer (LY) post-experimental con 1 h de incubación. Las muestras de artículo de ensayo se analizaron usando LC-MS/MS y la concentración de LY se midió usando un Lector de Bio Ensayo Perkin Elmer HTS 7000 Plus (Waltham, MA) con una longitud de onda de excitación y emisión de 485 nm y 538 nm, respectivamente.

Los valores de permeabilidad aparente, recuperación y relación de evacuación se calcularon usando las siguientes ecuaciones:

$$P_{app} \text{ (nm/s)} = \frac{dM/dt}{S * C_0} = \frac{dC_R/dt * V_R}{S * C_0} * 10^7$$

$$\text{Relación de evacuación} = \frac{P_{app_BL \rightarrow AP}}{P_{app_AP \rightarrow BL}}$$

$$\text{Recuperación total (\%)} = \frac{C_{D, final}}{C_0} \times 100 + \frac{\text{Cantidad acumulada de receptor}}{C_0 * V_D} \times 100$$

donde,

dC_R/dt: pendiente de la concentración acumulada en el compartimento receptor frente al tiempo de incubación (μM·s⁻¹)

C_{0hr}: concentración de donador (μM) inmediatamente después de la dosificación

C_{D, final}: concentración de donador (μM) al final de incubación

S: área superficial de membrana (cm²)

V_D: volumen del compartimento donador (ml)

V_R: volumen del compartimento receptor (ml)

$$P_{app_BL \rightarrow AP}$$

Permeabilidad de transporte desde basolateral (BL) a apical (AP)

P_{app_APaBL}: permeabilidad de transporte desde AP a BL

Evaluación de la inhibición de evacuación de P-gp usando el ensayo de permeabilidad bidireccional de Caco-2

Se llevó a cabo un estudio preliminar para evaluar los compuestos de la tabla posterior como sustratos potenciales de P-gp usando el ensayo de transporte bidireccional de Caco-2. Se usó digoxina como sonda de sustrato de P-gp.

5 La solución de dosificación de ³H-digoxina se preparó por dilución de una solución de trabajo de digoxina en DMSO con TM y/o las soluciones de inhibidor y valoración con ³H-digoxina (la concentración final de digoxina fue 5 μM con radiactividad de 0,5 μCi/ml). Se prepararon dos concentraciones de los compuestos de ensayo (5 y 50 μM) por dilución de una solución de trabajo de DMSO con TM (pH 7,4). Se midió la permeabilidad bidireccional de Caco-2 de ³H-digoxina con o sin compuesto de ensayo como inhibidor como se describe en la sección de permeabilidad bidireccional de Caco-2. La radiactividad total para cada muestra se contó usando un Analizador de Centelleo Líquido Packard 2250CA Tri-Carb.

El porcentaje de inhibición de evacuación de digoxina se calculó usando la siguiente ecuación:

$$15 \quad \% \text{ _Inhibición} = \left(1 - \frac{P_{app_BL a AP}^{inhibidor} - P_{app_AP a BL}^{inhibidor}}{P_{app_BL a AP} - P_{app_AP a BL}} \right) * 100$$

donde,

$$20 \quad P_{app_BL a AP} :$$

Permeabilidad digoxina de transporte desde BL a AP

$P_{app_AP a BL}$: permeabilidad de digoxina de transporte desde AP a BL

$$25 \quad P_{app_BL a AP}^{inhibidor} :$$

Permeabilidad de digoxina con inhibidor de transporte desde BL a AP: permeabilidad de digoxina con inhibidor de transporte desde BL a AP

Permeabilidad (AP→BL) y relación de evacuación en células Caco-2 (AP = apical, BL = basolateral)						
Dióxido de iminotiazina			Iminopirimidinona			
Ej. n°	Estructura	AP→BL en Caco-2 (nm/s)	Relación de evacuación en Caco-2	Comp. n°	AP→BL en Caco-2 (nm/s)	Relación de evacuación en Caco-2
34		118	3,1		0	NA
26		89	2,9		17	11,3
25		128	2,4		22	10,6
36		54	3,3		11	12,9
40di		136	2,0		65	3,2

Permeabilidad (AP→BL) y relación de evacuación en células Caco-2 (AP = apical, BL = basolateral)						
Dióxido de iminotiazina			Iminopirimidinona			
Ej. n°	Estructura	AP→BL en Caco-2 (nm/s)	Relación de evacuación en Caco-2	Comp. n°	AP→BL en Caco-2 (nm/s)	Relación de evacuación en Caco-2
35		151	2.1		0	NA
173		126	2.2		25	6,1
40ai		133	1,8	NA		

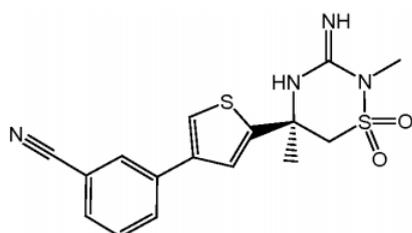
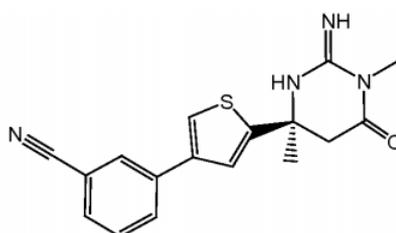
Estabilidad de solución

Se ha descubierto, sorprendente y ventajosamente, que los compuestos de dióxido de iminotiadiazina de la invención exhiben una estabilidad de solución mejorada (por ejemplo, por resistencia a la hidrólisis) en comparación con las iminopirimidinonas estructuralmente similares. Se usaron los siguientes procedimientos comparativos. Los resultados se informan como los Ejemplos A y B posteriores.

Se preparó una solución de trabajo de 1,05 mg/ml (5 ml) del **Ej. 45** (estructura mostrada posteriormente) en MeOH se preparó. Se tomaron 1,25 ml de la solución de trabajo y se diluyeron hasta 25 ml con la adición de 23,75 ml de tampón fosfato 10 mM (pH 7,4)/MeOH (70/30 v/v). Esta nueva solución se dividió en tres. Una solución se incubó a 4 °C, otras se incubó a 25 °C y la tercera se incubó a 40 °C. Cada solución se analizó por LC/MS después del día 1, día 2 y día 6 y se compararon con una curva de calibración estándar para el **Ej. 45**.

Ejemplo A: estudios de estabilidad que comparan el Ejemplo 45 con el Compuesto Z (referencia)

En el siguiente estudio, se midió la estabilidad de solución del compuesto del Ejemplo 45 y se comparó con la del compuesto Z. El compuesto del Ejemplo 45 es un compuesto de dióxido de iminotiadiazina. El compuesto Z es el compuesto de iminopirimidinona correspondiente. Las estructuras del compuesto del Ejemplo 45 y del Compuesto Z se muestran a continuación. Se realizaron estudios en tampón acuoso a pH 7,4 que contenía metanol a 4 °C, 25 °C y 40 °C. A 4 °C, el compuesto del Ejemplo 45 mostró un 0,93 % de degradación después de 6 días mientras que el Compuesto Z mostró un 18,3 % de degradación después de 1 día. A 25 °C, el compuesto del Ejemplo 45 mostró un 7,4 % de degradación después de 6 días mientras que el Compuesto Z mostró un 53,87 % de degradación. A 40 °C, el compuesto del Ejemplo 45 mostró un 30,71 % de degradación después de 6 días mientras que el Compuesto Z mostró un 79,93 % de degradación después de 1 día.

**Ejemplo 45****Compuesto Z**
(US20060111370)

Estabilidad de solución para el Ej. 45 a pH 7,4					
Condiciones	4 °C				
Número de lote	7				
Tiempo, días	Inicial	1	2	6	
Ensayo (% área)	99,82	99,69	99,04	98,89	
Condiciones	25 °C				
Ensayo (% área)	99,82	98,45	96,07	92,43	
Condiciones	40 °C				
Ensayo (% área)	99,82	96,32	89,70	69,11	-
a: resultados mediante normalización del área ND = no detectado. (-) representa > 20 % de degradación					

Estabilidad de solución para el Compuesto Z a pH 7,4					
Condiciones	4 °C				
Número de lote	7				
Tiempo, días	Inicial	1	2	6	
Ensayo (% área)	88,15	69,84	-	-	-
Condiciones	25 °C				
Ensayo (% área)	88,15	34,28	-	-	-
Condiciones	40 °C				
Ensayo (% área)	88,15	8,22	-	-	-
a: RRT aproximado para compuestos relacionados. Resultados mediante normalización del área ND = no detectado. (-) representa > 20 % de degradación					

5 Las soluciones de trabajo de los compuestos ensayados se prepararon por disolución de aproximadamente 3 mg de cada compuesto en 3 ml de acetonitrilo. Los estándares para los compuestos de ensayo se prepararon por disolución de 1 ml de la solución de trabajo con una cantidad adicional de 4 ml de acetonitrilo. Estos estándares se almacenaron a 4 °C. Las muestras se prepararon por dilución de 1 ml de la solución de trabajo con 4 ml de tampón fosfato 50 mM a pH 7,4. Estas muestras se almacenaron a 25 °C en ausencia de luz. Los estándares y las muestras se realizaron por LC/MS inicialmente y en el día 1, el día 4, y el día 6.

10 Condiciones de HPLC:

Fase móvil A: tampón acetato amónico 10 mM a pH 5: metanol (90 : 10)

Fase móvil B: tampón acetato amónico 10 mM a pH 5: metanol (10 : 90)

Columna: Zorbax SB-Fenil 4,6 x 50 mm, 1,8 µm

15 Temperatura de columna: 40 °C

Flujo: 0,8 ml/min.

Gradiente:

Tiempo (min.)	% B
0	40
9	100
11	100

20 Detectores: UV a 220 nm y 236 nm

MS, ionización ES, modo positivo, para identificación solo en el punto de tiempo final.

Los términos indicados en las tablas posteriores tienen los siguientes significados:

25

% área es la integración del pico de HPLC que indica el software Waters Empower II.

RRT es el tiempo de retención relativo del nuevo producto comparado con el estándar del compuesto de ensayo.

30 La fórmula para RRT es:

$$\frac{\text{Tiempo de retención del nuevo producto}}{\text{Tiempo de retención del estándar}}$$

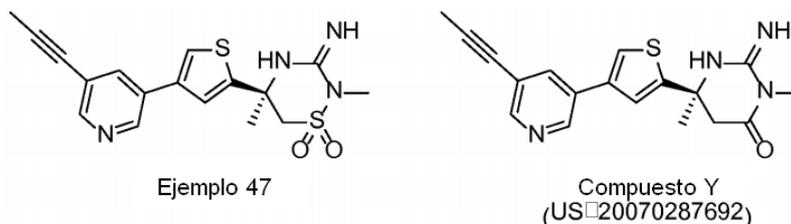
35 M + 1 es la masa observada incluyendo la protonación (+ 1 unidad de masa).

ND representa ningún pico detectado por el detector de UV.

* representa ningún ion detectado por espectrómetro de masas.

Ejemplo B: estudios de estabilidad que comparan el Ejemplo 47 con el Compuesto Y (referencia):

5 En el siguiente estudio, se midió la estabilidad de solución del compuesto del Ejemplo 47 y se comparó con la del Compuesto Y. El compuesto del Ejemplo 47 es un compuesto de dióxido de iminotiazina. El Compuesto Y es el correspondiente compuesto de iminopirimidinona. Las estructuras del compuesto del Ejemplo 47 y del Compuesto Y se muestran a continuación. Se realizaron estudios en tampón a pH 7,4 a 25 °C. En estas condiciones, el compuesto del Ejemplo 47 mostró un 0 % de producto de hidrólisis después de 6 días mientras que Compuesto Y mostró un 12,45 % de producto de hidrólisis.



10

Ejemplo 47: PM de la base libre = 374,09

	Descripción del pico	RRT	M + 1	% área, inicial	% área, Día 1	% área, Día 4	% área, Día 6
Estándar	Ejemplo 47	1,00	375,10	98,53	98,55	98,52	98,52
	Desconocido	1,49	*	1,47	1,45	1,48	1,48
Muestra a pH 7,4	Ejemplo 47	1,00	375,10	98,55	98,56	98,53	98,53
	Desconocido	1,49	*	1,45	1,44	1,47	1,47

15 **Compuesto Y:** PM de la base libre = 338,12

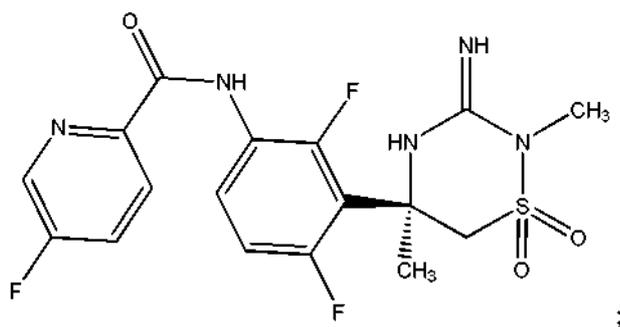
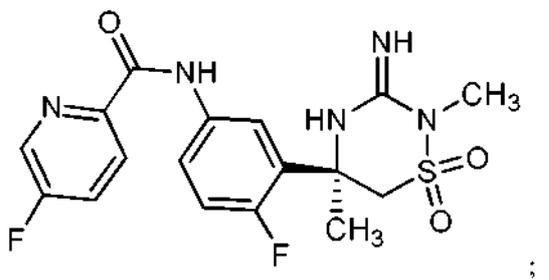
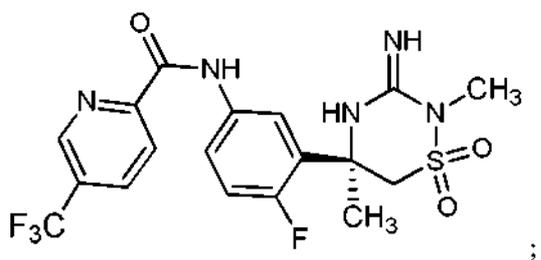
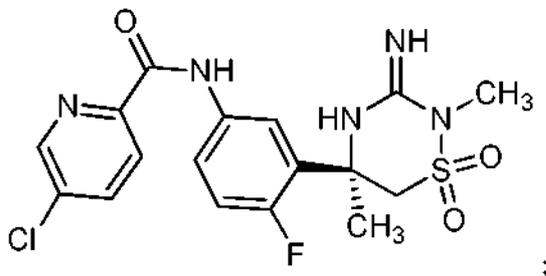
	Descripción del pico	RRT	M + 1	% área, inicial	% área, Día 1	% área, Día 4	% área, Día 6
Estándar	Compuesto Y	1,00	339,15	100,0	100,0	100,0	100,0
Muestra a pH 7,4	Compuesto Y	1,00	339,10	99,36	96,89	93,02	87,55
	Producto de hidrólisis	0,76	357,10	0,64	3,11	6,98	12,45

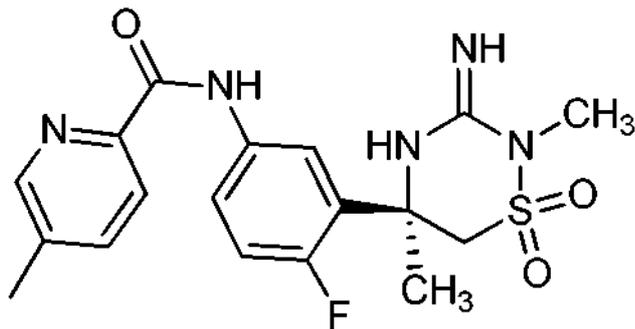
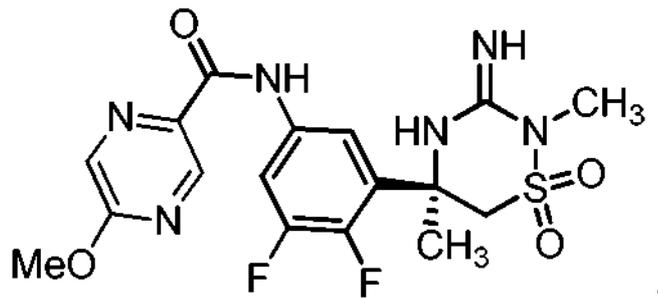
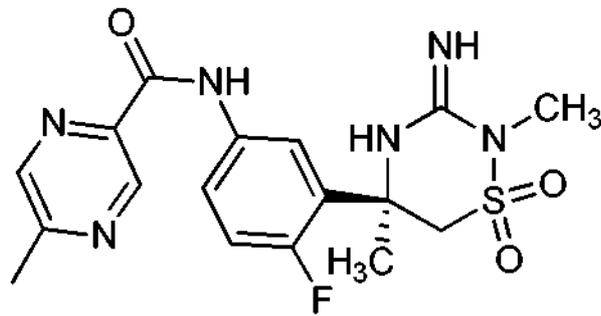
20 Aunque la presente invención se ha descrito en vista de las realizaciones específicas expuestas anteriormente, serán evidentes numerosas alternativas, modificaciones y otras variaciones de las mismas para los expertos habituales en la materia.

REIVINDICACIONES

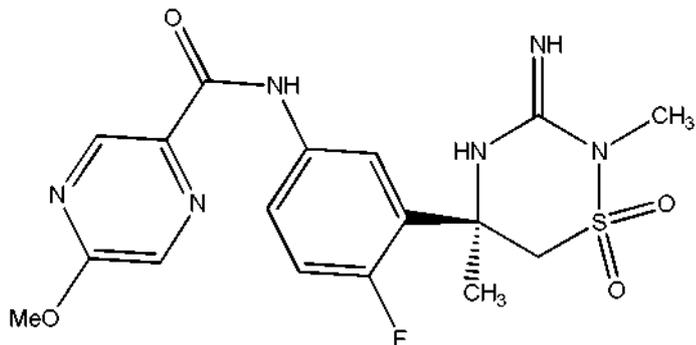
1. Un compuesto, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, teniendo dicho compuesto una estructura seleccionada entre:

5

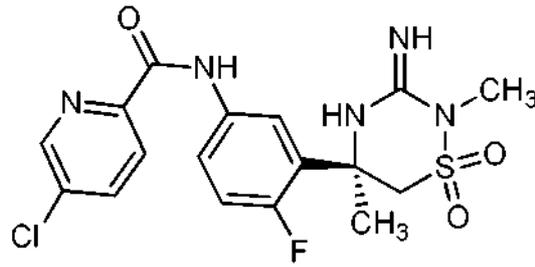




y

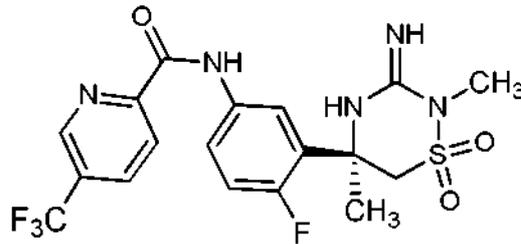


- 5
2. Un compuesto de la reivindicación 1, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, teniendo dicho compuesto la estructura:



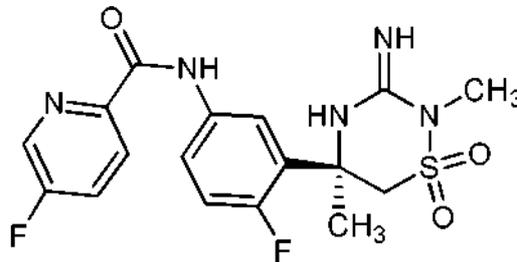
3. Un compuesto de la reivindicación 1, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, teniendo dicho compuesto la estructura:

5



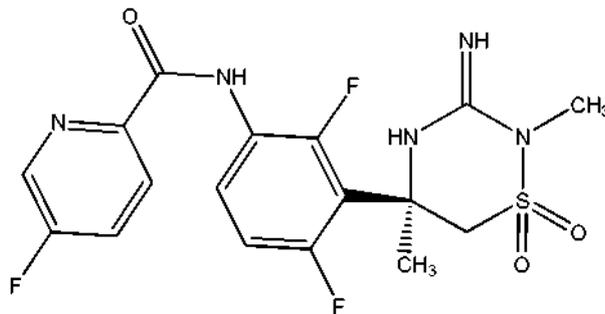
4. Un compuesto de la reivindicación 1, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, teniendo dicho compuesto la estructura:

10



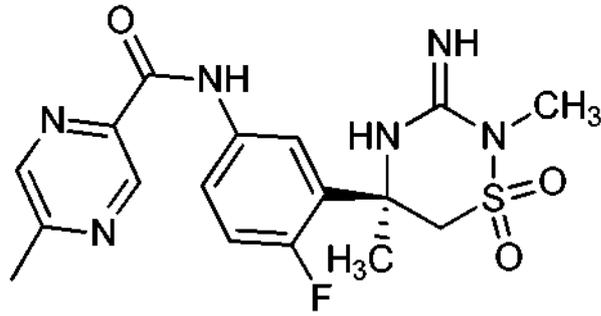
5. Un compuesto de la reivindicación 1, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, teniendo dicho compuesto la estructura:

15



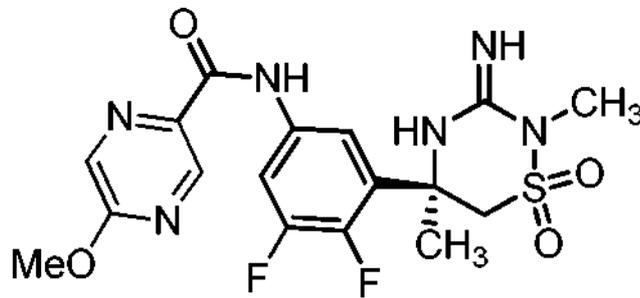
6. Un compuesto de la reivindicación 1, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, teniendo dicho compuesto la estructura:

20



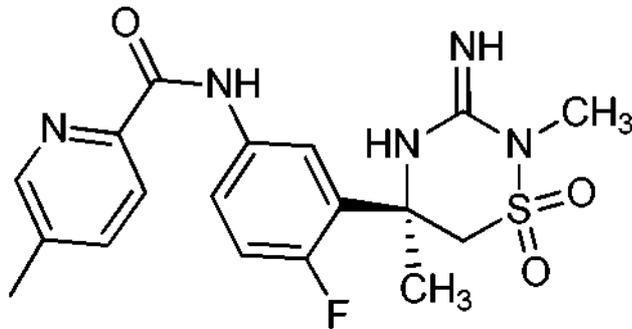
7. Un compuesto de la reivindicación 1, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, teniendo dicho compuesto la estructura:

5



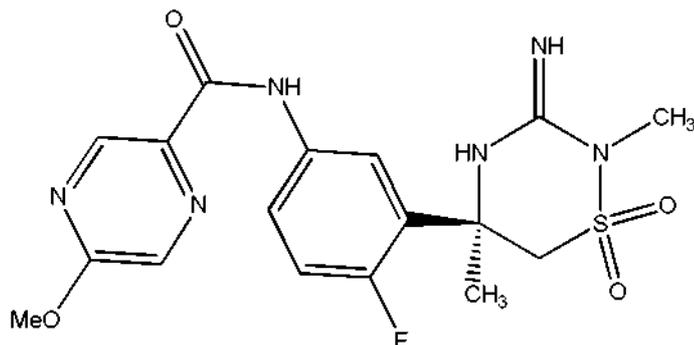
8. Un compuesto de la reivindicación 1, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, teniendo dicho compuesto la estructura:

10



9. Un compuesto de la reivindicación 1, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, teniendo dicho compuesto la estructura:

15



10. Un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación anterior que está en forma de la base libre.
11. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9 que está en forma de una sal de adición de ácido.
- 5 12. Un compuesto, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, de acuerdo con cualquier reivindicación anterior para su uso en medicina.
- 10 13. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-11, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, y un vehículo o un diluyente farmacéuticamente aceptables.
- 15 14. Un compuesto, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para su uso en el tratamiento, la prevención y/o el retraso de la aparición de una patología seleccionada entre: enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down, enfermedad de Parkinson, ictus, microgliosis, inflamación cerebral, demencia presenil, demencia senil, parálisis supranuclear progresiva, degeneración corticobasal, deterioro olfativo asociado a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson y/o síndrome de Down, angiopatía β -amiloide, angiopatía amiloide cerebral, hemorragia cerebral hereditaria, deterioro cognitivo leve, glaucoma, amiloidosis, diabetes de tipo II, amiloidogénesis asociada con diabetes, tembladera, encefalitis espongiiforme bovina, enfermedad de Creutzfeld-Jakob y traumatismo craneoencefálico.
- 20 15. El compuesto, o un tautómero del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable de dicho compuesto o dicho tautómero, para su uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde dicha patología es enfermedad de Alzheimer.