

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 568 928**

51 Int. Cl.:

C07D 235/02 (2006.01) **C07C 229/50** (2006.01)

C07D 403/06 (2006.01) **C07C 331/14** (2006.01)

C07D 407/06 (2006.01)

C07C 49/323 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

C07C 255/47 (2006.01)

C07C 313/06 (2006.01)

C07D 405/06 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2013 E 13710937 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **20.01.2016 EP 2822930**

54 Título: **Inhibidores de la beta-secretasa**

30 Prioridad:

05.03.2012 US 201261606786 P

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

05.05.2016

73 Titular/es:

**BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL
GMBH (50.0%)**

Binger Strasse 173

55216 Ingelheim am Rhein, DE y

VITAE PHARMACEUTICALS, INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

BUKHTIYAROV, YURI;

CACATIAN, SALVACION;

DILLARD, LAWRENCE, WAYNE;

DORNER-CIOSSEK, CORNELIA;

FUCHS, KLAUS;

JIA, LANQI;

LALA, DEEPAK, S.;

MORALES-RAMOS, ANGEL;

RAST, GEORG;

REEVES, JONATHAN;

SINGH, SURESH, B.;

VENKATRAMAN, SHANKAR;

XU, ZHENRONG;

YUAN, JING;

ZHAO, YI y

ZHENG, YAJUN

74 Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

ES 2 568 928 T3

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

DESCRIPCIÓN

Inhibidores de la beta-secretasa

Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere a acilguanidinas espirocíclicas y a su uso como inhibidores de la actividad de la enzima β -secretasa (BACE1), a composiciones farmacéuticas que las contienen, y a estos agentes terapéuticos para uso en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos, trastornos caracterizados por un deterioro cognitivo, alteración cognitiva, demencia y enfermedades caracterizadas por la producción de depósitos β -amiloides o de ovillos neurofibrilares.

Antecedentes de la invención

- 10 Los depósitos β -amiloides (también referidos en la presente memoria como "Abeta" o " $A\beta$ ") y los ovillos neurofibrilares son dos caracterizaciones patológicas importantes que están asociadas con la enfermedad de Alzheimer (AD), incluyendo tanto las formas familiares de inicio temprano ligadas genéticamente debidas a mutaciones en la proteína precursora amiloide (APP), presenilina 1 y 2, como la AD esporádica de inicio tardío. Clínicamente, la AD se caracteriza por la pérdida de memoria, de cognición, de razonamiento, de juicio, y de orientación. A medida que la enfermedad progresa, también se ven afectadas las capacidades motrices, sensoriales y lingüísticas, hasta que tiene lugar un deterioro global de múltiples funciones cognitivas. Estas pérdidas cognitivas ocurren de manera gradual, pero típicamente dan como resultado un deterioro severo, y muerte eventual en 4-12 años.

- 20 Los depósitos β -amiloides son predominantemente agregados de péptido Abeta, que a su vez es un producto de la proteólisis de las APP. Más específicamente, el péptido $A\beta$ resulta de la escisión de APP en los extremos C por una o más γ -secretasas, y en el extremo N por la enzima β -secretasa (BACE1), que también se conoce como aspartil proteasa o memapsina 2, como parte de la vía β -amiloidogénica.

La actividad de la BACE está correlacionada de manera directa con la generación de péptido $A\beta$ a partir de las APP, y los estudios indican cada vez más que la inhibición de la BACE inhibe la producción del péptido $A\beta$.

- 25 Las placas amiloidogénicas y la angiopatía amiloide vascular también caracterizan los cerebros de los pacientes con trisomía 21 (síndrome de Down), hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés (HCHWA-D), y otros trastornos neurodegenerativos. Los ovillos neurofibrilares también están presentes en otros trastornos neurodegenerativos incluyendo los trastornos que inducen demencia.

- 30 Recientemente, se ha reportado que Abeta participa en el desarrollo de la apoptosis de las células de los ganglios retinales (RGC) en el glaucoma, con evidencia de procesamiento anormal de la proteína precursora amiloide que está mediado por la caspasa 3, expresión incrementada de Abeta en RGC en glaucoma experimental y niveles disminuidos de $A\beta$ vítreo (consistente con la deposición de $A\beta$ en la retina) en pacientes con glaucoma. Los depósitos amiloides también han sido asociados a la degeneración macular en pacientes que padecen una degeneración macular relacionada con la edad (AMD) seca y en modelos animales de AMD.

- 35 WO 2010/021680, WO2011/106414 y WO 2010/105179 describen acilguanidinas espirocíclicas con un andamiaje espirocíclico como inhibidores de la beta-secretasa.

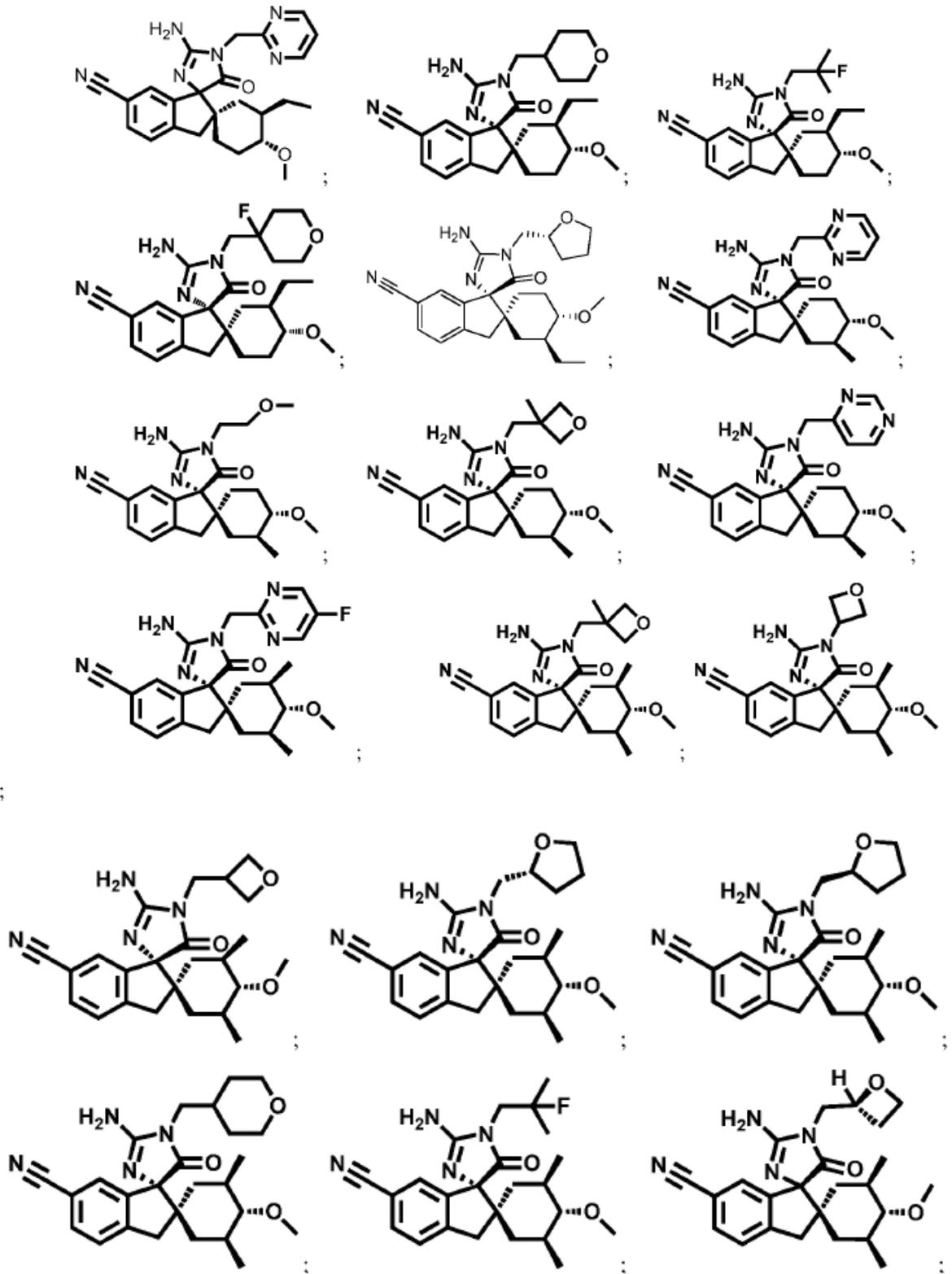
Resumen de la invención

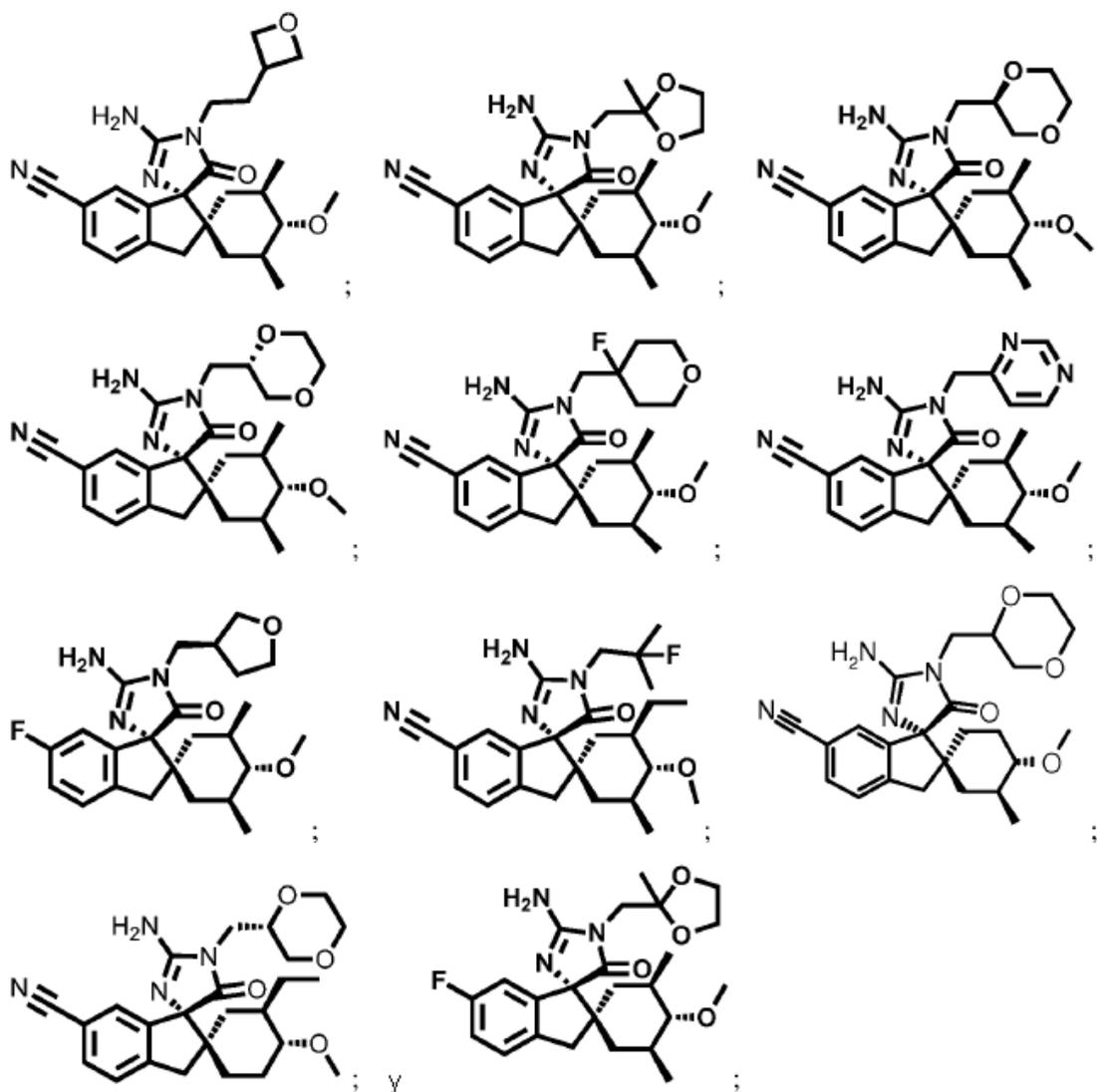
- 40 La presente invención proporciona compuestos que son inhibidores de la BACE1 y que son útiles como agentes terapéuticos en el tratamiento de una enfermedad o un trastorno caracterizado por depósitos de β -amiloide o niveles de β -amiloide elevados en un paciente. Los inhibidores de la BACE1 descritos no solamente son inhibidores muy potentes de la enzima BACE1 (ensayo 1), sino que también muestran:

- (1) una actividad inhibidora altamente potente en el ensayo de Abeta celular (ensayo 2),
- (2) selectividad frente al canal hERG cardiaco en un ensayo celular (ensayo 3), y
- (3) así como una propensión baja a provocar fosfolipidosis en un ensayo de fosfolipidosis celular (ensayo 4).

- 45 De esta manera, la presente invención proporciona compuestos que muestran una combinación de una alta potencia como inhibidores de la BACE1, alta selectividad frente al canal hERG cardiaco, y baja actividad de fosfolipidosis.

Una realización de la invención es un compuesto representado por una fórmula estructural seleccionada de:





o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los compuestos anteriores. Los compuestos inmediatamente anteriores se refieren en la presente memoria como “compuestos de la presente invención”.

5 Otra realización de la invención es un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para uso como un medicamento.

Otra realización de la invención es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de éste mezclado con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

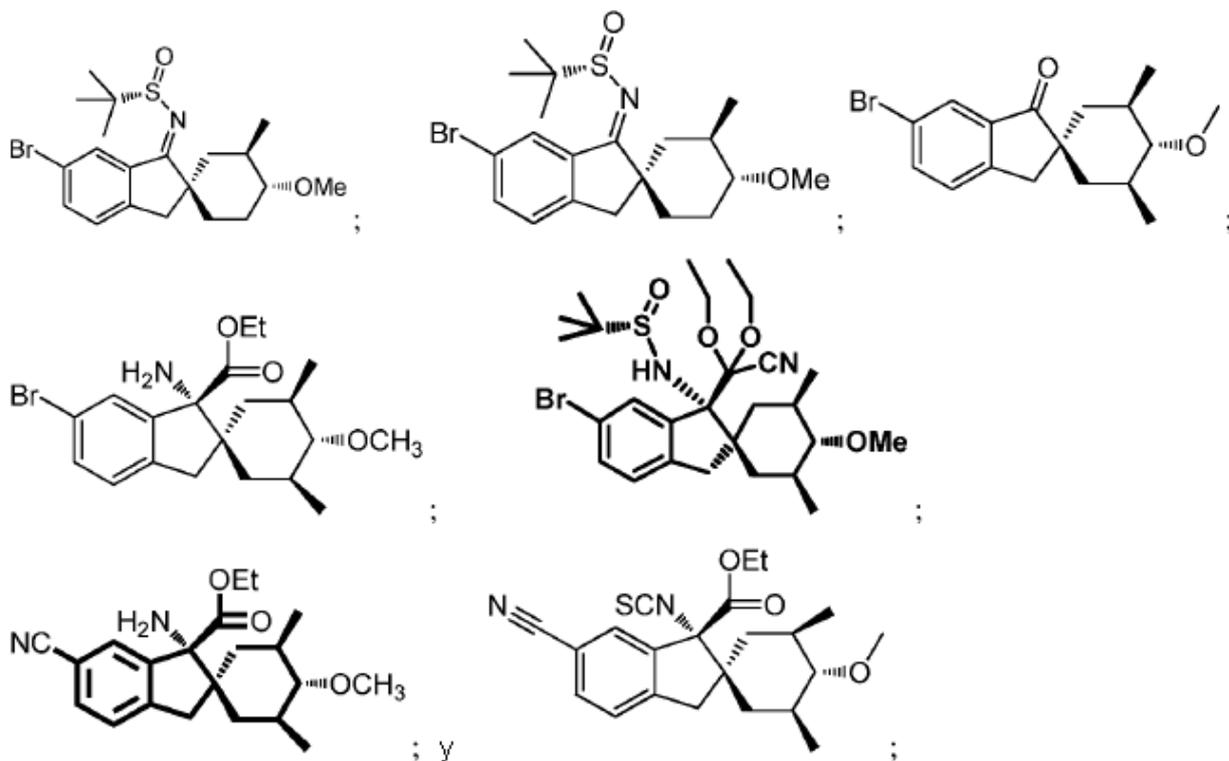
10 Otra realización de la invención es un compuesto de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para uso en el tratamiento de un trastorno o una enfermedad mediado por la BACE1 en un sujeto.

Otra realización de la invención es el uso de un compuesto de la presente invención o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno mediado por la BACE1 en un sujeto.

15 Otra realización de la invención es una composición farmacéutica para el tratamiento de un trastorno o una enfermedad mediado por la BACE1 en un sujeto que comprende un compuesto de la presente invención.

También se describe un método para tratar a un sujeto con una enfermedad o un trastorno mediado por la BACE1, que comprende administrar al sujeto una cantidad efectiva de un compuesto de la presente invención o de una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

20 Otra realización más de la invención es un intermediario usado en la preparación de un compuesto de la presente invención. Estos intermediarios están representados por una fórmula estructural seleccionada de:



o una sal de cualquiera de los compuestos anteriores.

Descripción detallada de la invención

Los compuestos de la presente invención presentan una actividad potente frente a la enzima BACE1 y la formación de Abeta conjuntamente con la selectividad frente al canal hERG y la propensión baja a provocar fosfolipidosis. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención muestran una inhibición de la BACE1 con una $CI_{50} < 15$ nM, una inhibición de la producción de Abeta celular con una CI_{50} de < 2 nM, una inhibición de hERG de $< 50\%$ a 10 μ M y fosfolipidosis con una primera concentración con efecto (FEC) de > 150 μ M. Estas propiedades combinadas hacen que los compuestos de la presente invención sean útiles para el tratamiento de estados patológicos en los seres humanos, en particular, para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer así como otros trastornos y enfermedades mediados por la BACE1.

La inhibición del canal hERG (el gen humano relacionado con Éter-à-go-go) por parte de los xenobióticos y la repolarización cardiaca retardada posterior están asociadas a un riesgo incrementado de que se produzca una taquiarritmia ventricular polimórfica específica, un torsade de pointes, como han establecido Sanguinetti *et al.* (1995, Cell, 21 Abril, 81(2):299-307) y una gran cantidad de evidencias posteriores. Para evitar este riesgo en un punto temprano, suele llevarse a cabo un cribado de la interacción con el canal hERG en un sistema *in vitro* usando la expresión heteróloga del canal hERG y un ensayo de este tipo también es una parte importante del perfilado preclínico ulterior de los candidatos, según la recomendación de la guía de la ICH S7B (Conferencia Internacional sobre la Armonización (2005): Tópico de la ICH S 7 B: Evaluación no clínica del potencial para repolarización ventricular retardada (prolongación del intervalo QT) por Human Pharmaceuticals (www.ich.org/products/guidelines/safety/article/safety-guidelines.html)). Como tal, la inhibición baja del canal hERG, tal como la mostrada por los compuestos de la presente invención, es altamente deseable para terapéuticos.

La fosfolipidosis es un trastorno que del almacenamiento de los lípidos, en el cual se acumula un exceso de fosfolípidos en el interior de las células. La fosfolipidosis inducida por fármacos es una reacción indeseable a los fármacos. Por lo tanto, para evitar que se produzcan efectos secundarios perjudiciales, se prefiere el uso de compuestos con un potencial de fosfolipidosis bajo para el uso terapéutico en los seres humanos.

Los datos proporcionados en la Tabla 1 más adelante muestran que los compuestos de la presente invención tienen esta combinación de una actividad potente sobre la BACE1 celular, selectividad frente al canal hERG cardiaco y una propensión baja a provocar fosfolipidosis. Se cree que los compuestos que se ejemplifican en WO 2010/021680 y WO 2010/105179 no tienen esta combinación de propiedades deseables. Además, la Tabla 2 proporciona datos que muestran que algunos de los compuestos de la presente invención tienen valores inhibidores CI_{50} significativamente menores en un ensayo enzimático de BACE1 y también en un ensayo de Abeta celular respecto a determinados compuestos comparativos descritos en WO 2010/105179.

A los términos no definidos específicamente en la presente memoria se les deben proporcionar los significados que un experto en la técnica les proporcionaría a la vista de la descripción y el contexto. Tal y como se usan en la

especificación, sin embargo, a menos que se especifique lo contrario, los términos siguientes tienen el significado indicado y se siguen las convenciones siguientes.

5 Cuando un compuesto de la presente invención se representa por el nombre o la estructura sin indicar todas las formas tautoméricas, ha de comprenderse que el compuesto y sus sales farmacéuticamente aceptables abarcan todos los tautómeros.

10 Cuando un compuesto de la presente invención se representa por el nombre o la estructura sin indicar la estereoquímica, ha de comprenderse que el compuesto y sus sales farmacéuticamente aceptables engloban todos los estereoisómeros, isómeros ópticos e isómeros geométricos (por ejemplo, enantiómeros, diastereómeros, isómeros E/Z, etc.) y sus racematos, así como las mezclas en proporciones diferentes de los enantiómeros separados, mezclas de diastereómeros, o mezclas de cualquiera de las formas precedentes.

15 Cuando un estereoisómero, isómero óptico o geométrico se representa por el nombre o la estructura, ha de comprenderse que la pureza del estereoisómero, isómero óptico y/o geométrico del estereoisómero, isómero óptico o geométrico nombrado o representado es al menos 60%, 70%, 80%, 90%, 99% ó 99,9% puro en peso. La pureza del estereoisómero, isómero óptico y geométrico se determina dividiendo el peso del estereoisómero, isómero óptico y geométrico nombrado o representado en una mezcla por el peso total de todos los estereoisómeros, isómeros ópticos y geométricos en la mezcla.

20 Cuando un compuesto de la presente invención o su sal farmacéuticamente aceptable se nombra o representa por estructura, ha de comprenderse que los solvatos, hidratos y formas anhidras del compuesto y los solvatos, hidratos y formas anhidras de su sal farmacéuticamente aceptable están incluidos en la invención. El término "solvatos" se refiere a formas cristalinas en la que se han incorporado moléculas del disolvente en la red cristalina durante la cristalización. Un solvato puede incluir agua o disolventes no acuosos tales como etanol, isopropanol, DMSO, ácido acético, etanolamina o EtOAc. Los solvatos, en los que el agua es la molécula de disolvente incorporada en la red cristalina, típicamente se refieren como "hidratos". Los hidratos incluyen los hidratos estequiométricos así como composiciones que contienen cantidades variables de agua. El término "forma anhidra" se refiere a compuestos sin disolvente ni agua o en los que no hay sustancialmente disolvente ni agua incorporados en la estructura cristalina (por ejemplo, una proporción molar de disolvente o agua y el compuesto que es inferior a 1:10, 1:20, 1:100 ó 1:200).

Sales

30 La expresión "farmacéuticamente aceptable" se emplea en la presente memoria para hacer referencia a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del juicio médico reconocido, son adecuados para uso en contacto con los tejidos de los seres humanos y animales, sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica excesiva, u otro problema o complicación, y proporcional a una relación razonable beneficio/riesgo.

35 Tal como se usa en la presente memoria, "sales farmacéuticamente aceptables" hace referencia a derivados de los compuestos descritos en los que el compuesto parental se modifica haciendo sales ácidas o básicas de éste. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no están limitados a, sales de ácidos minerales u orgánicos de residuos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de residuos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y semejantes. Por ejemplo, dichas sales incluyen las sales de amoníaco, L-arginina, betaína, benetamina, benzatina, hidróxido de calcio, colina, deanol, dietanolamina (2,2'-iminobis(etanol)), dietilamina, 2-(dietilamino)-etanol, 2-aminoetanol, etilendiamina, N-etil-glucamina, hidrabamina, 1H-imidazol, lisina, hidróxido de magnesio, 4-(2-hidroxietil)-morfolina, piperazina, hidróxido de potasio, 1-(2-hidroxietil)-pirrolidina, hidróxido de sodio, trietanolamina (2,2',2"-nitrilotris(etanol)), trometamina, hidróxido de cinc, ácido acético, ácido 2,2-dicloro-acético, ácido adípico, ácido alginico, ácido ascórbico, ácido L-aspartico, ácido benzenosulfónico, ácido benzoico, ácido 2,5-dihidroxibenzoico, ácido 4-acetamido-benzoico, ácido (+)-canfórico, ácido (+)-canfor-10-sulfónico, ácido carbónico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido decanoico, ácido dodecilsulfúrico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxi-etanosulfónico, ácido etilendiaminotetraacético, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido D-glucoheptónico, ácido D-glucónico, ácido D-glucurónico, ácido glutámico, ácido glutárico, ácido 2-oxo-glutárico, ácido glicerofosfórico, glicina, ácido glicólico, ácido hexanoico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido isobutírico, ácido DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido láurico, lisina, ácido maleico, ácido (-)-L-málico, ácido malónico, ácido DL-mandélico, ácido metanosulfónico, ácido galactárico, ácido naftalen-1,5-disulfónico, ácido naftalen-2-sulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido octanoico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico (embónico), ácido fosfórico, ácido propiónico, ácido (-)-L-piroglutámico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebáico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiocianico, ácido p-toluenosulfónico y ácido undeculénico. Otras sales farmacéuticamente aceptables pueden formarse con cationes de metales como el aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, cinc y semejantes (véase también *Pharmaceutical salts*, Berge, S.M. *et al.*, J. Pharm. Sci., (1977), 66, 1-19).

60 Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto parental que contiene un resto básico o ácido por métodos químicos convencionales. En general, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad suficiente de la base o el ácido apropiado, en agua o en un diluyente orgánico como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo, o una mezcla de éstos.

Las sales de ácidos distintos de los mencionados anteriormente que, por ejemplo, son útiles para purificar o aislar los compuestos de la presente invención (por ejemplo, las sales de trifluoroacetato) también comprenden una parte de la invención.

Datos biológicos

5 Ensayo de la BACE1 (ensayo 1)

La actividad inhibidora de los compuestos se evaluó por un ensayo de apantallamiento de la fluorescencia de la actividad BACE1 usando el sustrato disponible comercialmente HiLyte Fluor™488-Glu-Val-Asn-Leu-Asp-Ala-Glu-Phe-Lys-(QXL™ 520)-OH (SEQ ID NO: 1) AnaSpec, San Jose, CA), y una beta-secretasa humana truncada, BACE1 (aminoácidos 1-454) fusionada con una etiqueta myc-his y secretada por células HEK293/BACE_{ect.} en OptiMEM™ (Invitrogen). El sustrato se disolvió a 1 mg/ml en DMSO.

El ensayo se realizó en presencia de OptiMEM (sobrenadante recogido durante 24 horas y aclarado de restos celulares por centrifugación) que contenía el ectodominio de la BACE1, 25 µl de agua que contenía el doble de la concentración deseada del compuesto de ensayo y 2% de DMSO, el sustrato peptídico 1 µM, NaOAc 20 mM, pH 4,4, y 0,04% de Tritón-X100 en un volumen total de ensayo de 50 µl en una placa de 384 pocillos. En general, se colocaron 25 µl de la dilución de compuesto en la placa seguido de la adición de 10 µl de OptiMEM™ que contenía la BACE1 diluido 1:10 en agua con 0,2% de Tritón X-100. La reacción se inició con la adición de 15 µl del sustrato en tampón NaOAc. La reacción se incubó a rt (oscuridad) en un lector de marcas múltiples Envision® (Perkin Elmer) y se registró la escisión del sustrato de manera cinética durante 60 min a exc: 485 nm, em: 538 nm. En cada placa, se incluyeron pocillos blanco que no contenían la enzima.

La intensidad de la fluorescencia se sometieron a regresión frente al tiempo para establecer velocidades de la reacción en todos los 384 pocillos. Estas velocidades se usaron para calcular el porcentaje con relación al control usando un control no inhibido que contenía 1% de DMSO como 100%, y un control como blanco realizado en ausencia de la enzima como 0%. Los valores CI_{50} se calcularon ajustando el porcentaje con relación al control en función de la concentración de compuesto de ensayo usando Assay Explorer.

25 Ensayo basado en células H4-APPwt (ensayo 2)

La potencia celular de los compuestos de la invención se evaluó en un ensayo que monitoriza la producción de péptidos Abeta1-x en la línea celular de neuroglioma H4 (ATCC, cat. N° HTB-148) que expresa de manera estable APP humanas, usando un inmunoensayo tal como AlphaLISA (PerkinElmer, cat. N° AL288). Los compuestos de ensayo se disolvieron en DMSO y se sometieron a una dilución preliminar en el medio de cultivo (DMEM que contenía 10% de FBS y 1% de penicilina/estreptomina) para conseguir el doble de la concentración final de los compuestos en el ensayo. Se añadieron volúmenes iguales de las disoluciones 2x de los compuestos de ensayo y de las suspensiones de células a una placa de cultivo de 96 pocillos, de modo que cada pocillo contenía ~10.000 células en un volumen final de 200 µl. La concentración final del DMSO en el ensayo fue de 0,2%. Las placas se incubaron durante 5 horas a 37°C, con 5% de CO₂, para permitir que las células se adhirieran al fondo de los pocillos en presencia de los compuestos de ensayo. Posteriormente, se retiró el medio y se reemplazó con medio fresco que contenía los compuestos de ensayo a la misma concentración final. Las placas se incubaron durante 18 horas a 37°C, con 5% de CO₂. Las concentraciones de Ab1-x se determinaron usando el inmunoensayo AlphaLISA (PerkinElmer, cat. N° AL288) según el protocolo del fabricante. Las concentraciones de Abeta1-x en los pocillos que contenían DMSO ó 10 µM del inhibidor de la beta-secretasa (inhibidor de la BACE IV, EMD Bioscience, cat. N° 565788) se usaron como controles representativos de la ausencia de inhibición y del valor basal, respectivamente, para calcular los valores del porcentaje de inhibición para cada pocillo con los compuestos de ensayo. Estos valores de porcentaje de inhibición se sometieron a una regresión frente a las concentraciones de compuesto usando un ajuste de curva de cuatro parámetros, y se calcularon los valores CI_{50} (concentración de un compuesto a la que se observó el 50% del efecto inhibidor) como la concentración del compuesto correspondiente al punto de inflexión en la curva.

Análisis de los canales hERG (ensayo 3)

Células:

Se transfectaron de manera estable células HEK (de riñón embrionario humano) 293 con ADNc de hERG.

Pipetas y disoluciones:

50 Las células fueron perfundidas con una disolución de baño que contenía (mM): NaCl (137), KCl (4,0), MgCl₂ (1,0), CaCl₂ (1,8), glucosa (10), HEPES (10), pH 7,4 con NaOH. Las pipetas de "patch" se fabricaron con tubos de vidrio de borosilicato usando un dispositivo de tracción horizontal y se llenaron con una disolución de pipeta que contenía (mM): K-aspartato (130), MgCl₂ (5,0), EGTA (5,0), K₂ATP (4,0), HEPES (10,0), pH 7,2 con KOH. La resistencia de los microelectrodos estuvo en el rango de entre 2 y 5 MΩ.

55 Estimulación y registro:

Las corrientes de las membranas se registraron usando un amplificador de registro zonal ("patch clamp") EPC-10 y

el software PatchMaster. Las corrientes de membrana mediadas por hERG se registraron a 35°C, usando la configuración de célula completa de la técnica de registro zonal. Las células HEK293 transfectadas se fijaron a un potencial de retención de -60 mV y las corrientes de cola de inactivación mediadas por hERG se incitaron usando un patrón de pulsos con amplitudes fijas (activación/inactivación: 40 mV durante 2.000 ms; recuperación: -120 mV durante 2 ms; incremento hasta 40 mV en 2 ms; corriente de cola de inactivación: 40 mV durante 50 ms), que se repitió a intervalos de 15 s. Durante cada intervalo entre los pulsos, se registraron 4 pulsos que se redujeron en un factor de 0,2 por un procedimiento de sustracción basado en la disminución de P/n. Se empleó una compensación de R_s hasta un nivel apropiado para poder realizar un registro seguro, sin ruido de fondo.

Preparación y aplicación de los compuestos:

- 10 Las diferentes concentraciones del compuesto de ensayo se aplicaron secuencialmente sobre cada una de las diferentes células investigadas. Se determinó un nivel de estado estacionario de la corriente basal durante al menos 6 barridos antes de aplicar la primera concentración del compuesto de ensayo.

- 15 El compuesto de ensayo se disolvió en DMSO para rendir una disolución madre maestra que se diluyó posteriormente más en DMSO hasta las disoluciones madre necesarias para las concentraciones más bajas. Las diluciones finales en tampón extracelular se prepararon frescas a partir de estas disoluciones madre por una etapa de dilución 1:1.000 cada una antes de empezar los experimentos.

Análisis de los datos:

- 20 Las amplitudes de las corrientes máximas se midieron 3 ms después del incremento hasta +40 mV. Para la línea basal y cada concentración, se promediaron las corrientes máximas de los tres últimos barridos antes de la aplicación de la concentración siguiente. Las corrientes residuales (I/I_0) para cada célula se calcularon como la fracción del promedio de la corriente máxima real y el promedio de la corriente máxima basal. Los resultados se presentan como porcentaje (%) de inhibición $(1-I/I_0) * 100\%$ a 10 μ M.

Ensayo de fosfolipidosis *in vitro* (ensayo 4)

- 25 El potencial fosfolipidogénico de los compuestos de ensayo se ensayó usando la línea celular hematopoyética humana U937. El principio del ensayo fue analizar el contenido de fosfolípidos tiñendo las células con el colorante fluorescente rojo del Nilo.

Las células U937 se sembraron en placas de cultivo celular a $0,5 \times 10^6$ células/ml en medio RPMI que contenía 10% de FBS, 1% de DMSO y 0,005% de gentamicina. Posteriormente, las células se cultivaron con o sin diferentes concentraciones de los compuestos de ensayo durante 48 h en condiciones de cultivo convencionales.

- 30 Para la recogida, las células se centrifugaron a 130x g durante 4 min y se lavaron una vez con PBS. Entonces, se preparó una suspensión celular de 2x 0,5 ml para la medición en las células que no fueron fijadas (0,5 ml para la medición de la viabilidad con yoduro de propidio (PI) y 0,5 ml para la medición con rojo del Nilo).

- 35 Las células remanentes se fijaron con formaldehído al 3,7% durante 30 min. Después de una etapa adicional de centrifugación, las células se resuspendieron con 1,3 mL de disolución de trabajo de rojo del Nilo (1 μ g/mL) y se incubaron durante 5 min a rt. Posteriormente, la suspensión celular se lavó dos veces con 3 mL de PBS y se centrifugó a 130x g durante 4 min. Se descartó el sobrenadante y las células se resuspendieron con 0,5 mL de PBS y se guardaron para la medición por citometría de flujo.

- 40 Para la tinción con rojo del Nilo de las muestras de 0,5 mL de células que no habían sido fijadas, se añadieron 50 μ l de una disolución de rojo del Nilo lista para usar (10 μ g/mL) por muestra. Las muestras se mantuvieron en hielo durante 5 min. Posteriormente a esto, se lavaron una vez con 4 mL de PBS (4°C, 250x g durante 8 min) y finalmente se resuspendieron en 400 μ L de PBS y se guardaron para la medición por citometría de flujo.

Para la medición de la viabilidad, se añadieron 12,5 μ L de la disolución de PI lista para usar (10 μ g/mL) a la suspensión de 0,5 mL de las células que no habían sido fijadas. Después de 15 min de incubación en hielo, las muestras se midieron por citometría de flujo usando un citómetro de flujo Coulter Epics XL/MCL.

- 45 La viabilidad de las células de cada muestra se determinó por medición por citometría de flujo del contenido de PI en el canal 2 (568-590 nm). Las selecciones de punto de corte para la diferenciación dependiente de la fluorescencia entre las células vivas y muertas se definieron sobre la base del análisis de muestras control de medio del cultivo celular.

- 50 La fosfolipidosis solamente se analizó en aquellas muestras con una viabilidad celular de $\geq 90\%$ respecto a las muestras control. Para este propósito, cada muestra de rojo del Nilo (muestras que no habían sido fijadas y fijadas) se midió por citometría de flujo en el canal 1 (504-541 nm) y canal 4 (660-680 nm).

- 55 Para cada canal, se calculó la intensidad relativa de la fluorescencia del rojo del Nilo de una muestra de ensayo comparada con las muestras control y se expresó como porcentaje de intensidad de fluorescencia control. La evaluación del potencial fosfolipidogénico y la primera concentración con efecto (FEC) de un compuesto de ensayo se hizo manualmente sobre la base de las intensidades de fluorescencia a ambas longitudes de onda para las

células fijadas así como para las células que no fueron fijadas.

Ensayo de disminución de Aβ en cerebros de ratas (ensayo 5)

- 5 La eficacia *in vivo* de los compuestos de la invención se demostró en un ensayo de la disminución (reducción) de Aβ en cerebro de rata, y los datos se presentan en la Tabla 3. Se usaron ratas Sprague-Dawley macho, de 5 a 6 semanas de edad, para demostrar la capacidad de los compuestos de la invención de reducir los péptidos amiloides Aβ1-x en el cerebro. Los compuestos se administraron a través de una sonda oral en 1% de polisorbato-80 y 0,5% de Natrosol®, a las dosificaciones únicas indicadas en la Tabla 3. Los animales se sacrificaron 3 horas después de la dosificación, y los cerebros se escindieron, diseccionaron en cerebelo y cerebros izquierdo y derecho y se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido.
- 10 El cerebro se homogenizó (5 volúmenes con relación al peso) en Tris-HCl 20 mM, pH 8,5, 0,2% de Tritón-X100 suplementado con inhibidores de proteasas (cOmplete, Roche Applied Science), a 4°C usando un homogenizador de vidrio de Dounce. El homogenado se centrifugó a 120.000xg durante 60 min a 4°C, y el sobrenadante se recogió y se analizó para Ab1-x usando un inmunoensayo con una detección quimioluminiscente (Meso-Scale Discovery, Rockville, MD (MSD)).
- 15 Se pre-bloquearon placas de 96 pocillos con estreptavidina (MSD) con disolución de bloqueo A al 5% (de MSD), durante 1 hr a rt en un agitador orbital y se lavaron 4 veces con disolución salina tamponada con fosfato (PBS). Los pocillos se pre-recubrieron con 20 ng/pocillo del anticuerpo SIG-39155 biotinilado (Clon M3.2, específico para los aminoácidos 10-15 de Aβ de roedor) durante 1 hr a rt y se lavó 4 veces con PBS. Para el análisis de Aβ1-x, se incubaron 25 µl de los lisados de los cerebros aclarados o estándares de Aβ1-40 (8-500 pg/ml, con incrementos de 2x) durante 1 hr a rt con agitación constante. Los pocillos se lavaron 4 veces con PBS, y se añadieron 25 µl del anticuerpo de detección (anticuerpo anti-Aβ40 marcado con sulfo-TAG, suministrado por MSD) y se incubó durante 1 hr a rt. Después de 4 lavados con PBS, se añadieron 150 µl del reactivo de detección quimioluminiscente (Read Buffer T, MSD), y se leyó la placa en un instrumento Sector Imager 6000, de MSD. La curva de calibración se ajustó en un modelo de regresión no lineal de cuatro parámetros, y se calcularon las concentraciones de Aβ1-x para cada pocillo que contenía los lisados de cerebros aclarados. El porcentaje de disminución de Aβ se calculó sobre la base de la diferencia con el promedio de la concentración de Aβ obtenido para los cerebros de los animales tratados sólo con vehículo.
- 20
- 25

30 La Tabla 1 muestra las siguientes propiedades de los compuestos de la presente invención: potencia inhibidora de la BACE1 según se mide en el ensayo 1, potencia inhibidora celular según se mide en el ensayo 2, inhibición de hERG según se mide en el ensayo 3, y la primera concentración con efecto (FEC) de la fosfolipidosis según se mide en el ensayo 4.

Tabla 1. Propiedades biológicas de los compuestos de la presente invención

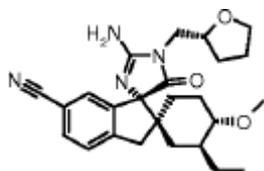
Ejemplo	CI ₅₀ nM sobre la BACE1 (ensayo 1)	CI ₅₀ nM sobre las células H4-APPwt, (ensayo 2)	% de inhibición de hERG a 10 µM (ensayo 3)	CI ₅₀ µM para el FEC con relación a la fosfolipidosis (ensayo 4)
1	11	0,76	8	200
2	8	0,29	22	200
3	10	0,57	9	> 200
4	5	0,28	0	> 400
5	8	0,90	7	200
6	11	1,24	35	200
7	2	1,42	8	400
8	5	0,49	16	> 200
9	9	1,90	16	400
10	9	1,12	38	200
11	4	0,35	6	> 400
12	3	1,10	11	400

Ejemplo	CI ₅₀ nM sobre la BACE1 (ensayo 1)	CI ₅₀ nM sobre las células H4-APPwt, (ensayo 2)	% de inhibición de hERG a 10 µM (ensayo 3)	CI ₅₀ µM para el FEC con relación a la fosfolipidosis (ensayo 4)
13	9	0,92	18	200
14	5	0,12	20	> 200
15	11	0,11	11	200
16	11	0,20	6	200
17	14	0,89	12	> 200
18	9	1,02	17	> 400
19	6	0,40	8	400
20	-	0,28	8	> 400
21	5	0,48	24	400
22	8	0,26	9	> 400
23	12	0,18	16	> 200
24	5	0,65	23	200
25		0,99	10	200
26	9	0,20	8	> 200
27	6	0,95	19	> 200
28		0,5	9	400
29		0,3	7	200

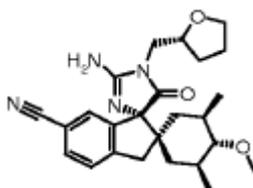
La Tabla 2 proporciona datos que muestran que determinados compuestos de la presente invención tienen valores inhibidores de la CI₅₀ significativamente más bajos en el ensayo enzimático BACE1 (Ensayo 1) y en el ensayo de Abeta celular (Ensayo 2) respecto a determinados compuestos comparativos descritos en WO 2010/105179.

5 **Tabla 2**

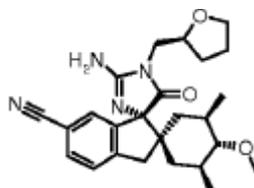
Compuestos de la presente invención



Ejemplo 5

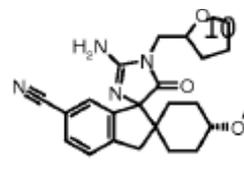


Ejemplo 14



Ejemplo 15

Ejemplos comparativos:

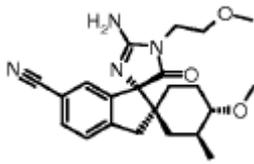


ejemplo 281 en WO 2010/105179

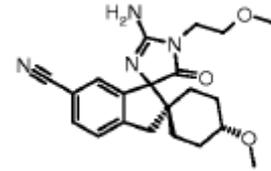
CI₅₀ sobre la BACE (ensayo 1): 35 nM

Ensayo con células H4 (ensayo 2): 7,0 nM

hERG (ensayo 3): 16% a 10 µM



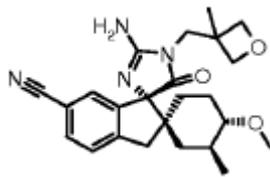
Ejemplo 7



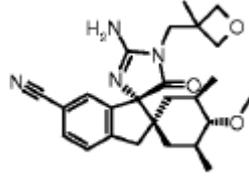
ejemplo 259 en WO 2010/105179

Cl₅₀ sobre la BACE (ensayo 1) 49 nM

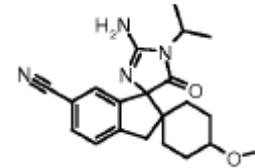
Ensayo con células H4 (ensayo 2) 16 nM



Ejemplo 8



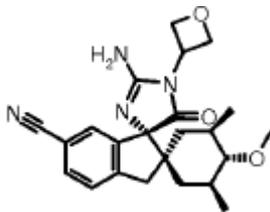
Ejemplo 11



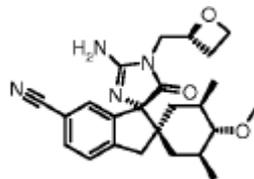
ejemplo 121 en WO 2010/105179

Cl₅₀ sobre la BACE (ensayo 1) 107 nM

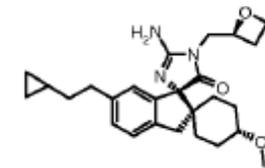
Ensayo con células H4 (ensayo 2) 16 nM



Ejemplo 12



Ejemplo 18



ejemplo 320 en WO 2010/105179

Cl₅₀ sobre la BACE (ensayo 1) 415 nM

Ensayo con células H4 (ensayo 2) 16 nM

La capacidad de los compuestos de la invención de reducir A β en el cerebro se demostró en ratas, como se describe en el ensayo 5, y en los datos de eficacia *in vivo* se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3

Ejemplo	Dosis (mg/kg)	% de reducción de A β
2	30	42
4	25	75
6	50	60
8	25	37
9	25	37

Ejemplo	Dosis (mg/kg)	% de reducción de A β
12	25	39
13	30	47
14	25	67
15	25	62
17	25	70
18	25	56
20	25	73
21	50	59
22	12,5	45
23	25	68
26	25	71
28	12,5	30
29	25	78

Método de tratamiento

5 La presente invención está dirigida a compuestos que son útiles en el tratamiento de los trastornos o las enfermedades caracterizadas por depósitos β -amiloides elevados o niveles elevados de β -amiloides en un sujeto, donde la inhibición de la actividad de la enzima β -secretasa (BACE1) tiene un beneficio terapéutico, incluyendo pero no limitado al tratamiento, la mejora o la prevención de los trastornos neurodegenerativos, trastornos caracterizados por un deterioro cognitivo, alteraciones cognitivas, demencia, y enfermedades caracterizadas por la producción de depósitos β -amiloides o de ovillos neurofibrilares.

10 Los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, trisomía 21 (síndrome de Down), hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés (HCHWA-D), demencia senil, angiopatía amiloide cerebral, demencia degenerativa, demencias de origen mixto vascular y degenerativo, demencia asociada a la enfermedad de Parkinson, demencia asociada a la parálisis supranuclear progresiva, demencia asociada a la degeneración cortical basal, enfermedad de Alzheimer difusa del tipo asociado a los cuerpos de Lewy, degeneración macular relacionada con la edad (AMD) seca, y glaucoma. La forma "seca" de la AMD, que también se conoce como "atrofia geográfica central", es el resultado de una atrofia en la capa de pigmentos en el epitelio de la retina que se encuentra debajo de la retina neurosensorial, que causa pérdida de visión a través de la pérdida de fotorreceptores (bastones y conos) en la parte central del ojo. En la actualidad, no hay ningún tratamiento médico o quirúrgico disponible para esta afección. Los tratamientos disponibles hasta el momento (por ejemplo, los que han sido sugeridos por el Instituto Nacional del Ojo) incluyen el uso de suplementos vitamínicos con dosis altas de antioxidantes, luteína y zeaxantina, que pueden retardar la progresión de la degeneración macular seca. El glaucoma es una enfermedad en la que se incrementa la presión del fluido en el interior del ojo, causando daños irreversibles en el nervio óptico y la pérdida de la visión. En el glaucoma experimental, Abeta se colocaliza con las células ganglionares de la retina apoptóticas e induce apoptosis significativa de las células ganglionares de la retina de una manera que depende tanto de la dosis como del tiempo.

25 De acuerdo con esto, la presente invención está relacionada con un compuesto o con una sal farmacéuticamente aceptable de éste para uso como un medicamento.

Además, la presente invención está relacionada con un compuesto para uso en el tratamiento de una enfermedad y/o una afección en la cual puede obtenerse un beneficio terapéutico a través de la inhibición de la actividad de la enzima β -secretasa (BACE1).

30 Además, la presente invención está relacionada con un compuesto para uso en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos, trastornos caracterizados por un deterioro cognitivo, alteraciones cognitivas, demencia y enfermedades caracterizadas por la producción de depósitos β -amiloides u ovillos neurofibrilares.

Por lo tanto, la presente invención está relacionada con un compuesto de la presente invención para uso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, trisomía 21 (síndrome de Down), hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés (HCHWA-D), demencia senil, angiopatía amiloide cerebral, demencia degenerativa, demencias de origen mixto vascular y degenerativo, demencia asociada a la enfermedad de Parkinson, demencia asociada a la parálisis supranuclear progresiva, demencia asociada a la degeneración cortical basal, enfermedad de Alzheimer difusa del tipo asociado a los cuerpos de Lewy, AMD seca, y glaucoma.

También se describe un método para el tratamiento de un trastorno relacionado con o asociado con una actividad excesiva de la BACE1 en un paciente que lo necesita, que comprende administrar a dicho paciente una cantidad efectiva de un compuesto descrito o una sal farmacéuticamente aceptable de éste. Se describen métodos adicionales para inhibir la actividad de la BACE1 en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar a un sujeto y/o poner en contacto un receptor de éste con una cantidad efectiva de al menos un compuesto descrito o una sal farmacéuticamente aceptable de éste. También se describen métodos para mejorar los depósitos β -amiloides en un sujeto que lo necesita, que comprenden administrar a dicho sujeto una cantidad efectiva de al menos un compuesto descrito o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

Se describe un método terapéutico para tratar o mejorar un trastorno mediado por la BACE1 en un sujeto que lo necesita, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad efectiva de un compuesto de la invención descrito en la presente memoria, o sales farmacéuticamente aceptables de éste o composición de éste.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "sujeto" y "paciente" pueden usarse indistintamente, y significa un mamífero que necesita un tratamiento, por ejemplo, animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos, y semejantes), animales de granja (por ejemplo, vacas, cerdos, caballos, ovejas, cabras y semejantes) y animales de laboratorio (por ejemplo, ratas, ratones, cobayas y semejantes). Típicamente, el sujeto es un ser humano que necesita un tratamiento.

Tal y como se usa en la presente memoria, el término "tratar" y "tratamiento" se refiere a obtener un efecto farmacológico y/o fisiológico deseado. El efecto puede ser profiláctico (es decir, reducir la probabilidad de desarrollar el trastorno o enfermedad) o terapéutico, que incluye conseguir, parcialmente o sustancialmente, uno o más de los siguientes resultados: reducir parcialmente o totalmente el grado de la enfermedad, trastorno o síndrome; aliviar o mejorar un síntoma clínico o indicador asociado al trastorno; o retardar, inhibir o disminuir la probabilidad de la progresión de la enfermedad, trastorno o síndrome.

El intervalo de dosis de los compuestos según la presente invención aplicable por día es habitualmente de 0,1 a 3.000 mg, preferiblemente de 1 a 2.000 mg, más preferiblemente de 10 a 1.000 mg, lo más preferiblemente de 50 ó 500 mg. Convenientemente, cada unidad de dosificación puede contener de 0,1 a 1.000 mg, preferiblemente 25 a 250 mg.

La cantidad farmacéuticamente efectiva o dosificación terapéutica real dependerá por supuesto de factores conocidos por los expertos en la técnica tales como la edad y el peso del paciente, la ruta de administración y la gravedad de la enfermedad. En cualquier caso, la combinación será administrada a dosificaciones y de una manera que permita administrar una cantidad farmacéuticamente efectiva en función de la condición única de cada paciente.

Composiciones farmacéuticas

Las preparaciones adecuadas para administrar los compuestos de la presente invención serán evidentes para los expertos en la técnica e incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, supositorios, pastillas, grageas, disoluciones, jarabes, elixires, sobres, inyectables, inhalables y polvos, etc. El contenido del o de los compuestos farmacéuticamente activos debe estar en el intervalo de 0,1 a 95% en peso, preferiblemente 5 a 90% en peso de la composición como un todo.

Los comprimidos adecuados pueden obtenerse, por ejemplo, mezclando uno o más compuestos de la invención con excipientes conocidos, por ejemplo, diluyentes, vehículos, disgregantes, adyuvantes, tensioactivos, aglutinantes y/o lubricantes inertes. Los comprimidos también pueden consistir en varias capas.

Terapia de combinación

En una realización, la presente invención incluye una terapia de combinación para tratar o mejorar una enfermedad o un trastorno descrito en la presente memoria. La terapia de combinación comprende administrar una combinación de al menos un compuesto de la presente invención junto con uno o más agentes seleccionados, por ejemplo, del grupo de inhibidores o moduladores de la gamma-secretasa; inhibidores de la agregación amiloide que bloquean la formación de los oligómeros Abeta o de las fibrillas Abeta (por ejemplo, ELND-005); sustancias neuroprotectoras y/o modificadoras de la enfermedad que actúan de manera directa o indirecta; antioxidantes (por ejemplo, vitamina E o ginkgolide); sustancias antiinflamatorias (por ejemplo, inhibidores de Cox, NSAID que tienen adicionalmente o exclusivamente propiedades de disminución de Abeta); inhibidores de la HMG-CoA reductasa (estatinas); inhibidores de la acetilcolinesterasa (por ejemplo, donepezil, rivastigmina, tacrina, galantamina,; tacrina); antagonistas del receptor de NMDA (por ejemplo, memantina); agonistas del receptor de AMPA; moduladores positivos del receptor de AMPA, AMPAquininas, inhibidores de la recaptación del receptor de monoamina, sustancias que modulan la concentración o liberación de neurotransmisores; sustancias que inducen la secreción de la

hormona del crecimiento (por ejemplo, mesilato de ibutamoreno y capromorelina); antagonistas o agonistas inversos del receptor CB-1; antibióticos (por ejemplo, minociclina o rifampicina); inhibidores de PDE2, PDE4, PDE5, PDE9, PDE10, agonistas inversos del receptor de GABAA, antagonistas del receptor de GABAA, agonistas o agonistas parciales o moduladores positivos del receptor nicotínico, agonistas o agonistas parciales o moduladores positivos del receptor nicotínico alfa4beta2, agonistas, agonistas parciales o moduladores positivos del receptor nicotínico alfa7; antagonistas de la histamina H3, agonistas o agonistas parciales de 5 HT-4, antagonistas de 5HT-6, antagonistas del adrenerreceptor alfa2, antagonistas del calcio, agonistas o agonistas parciales o moduladores positivos del receptor muscarínico M1, antagonistas del receptor muscarínico M2, antagonistas del receptor muscarínico M4, moduladores positivos del receptor de glutamato metabotrópico 5, antidepresivos, tales como citalopram, fluoxetina, paroxetina, sertralina y trazodona; ansiolíticos, tales como lorazepam y oxazepam; antipsicóticos, tales como aripiprazol, clozapina, haloperidol, olanzapina, quetiapina, risperidona y ziprasidona, y otras sustancias que modulan receptores o enzimas de manera tal que se incrementa la eficacia y/o seguridad de los compuestos según la invención y/o se reducen los efectos secundarios indeseables. Los compuestos según la invención también pueden usarse en combinación con inmunoterapias (por ejemplo, inmunización activa con Abeta o partes de éstos o inmunización pasiva con anticuerpos o nanocuerpos anti-Abeta humanizados) para el tratamiento de las enfermedades y las afecciones mencionadas anteriormente.

La terapia de combinación incluye la co-administración del compuesto de la invención con uno o más agentes adicionales, la administración secuencial del compuesto y uno o más agentes adicionales, la administración de una composición que contiene un compuesto y uno o más agentes adicionales, o la administración simultánea de composiciones separadas que contienen el compuesto y uno o más agentes adicionales.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

Métodos para la preparación de los compuestos

Los compuestos de la invención pueden prepararse empleando métodos convencionales que utilizan reactivos y materiales de partida de fácil acceso. Los reactivos usados en la preparación de los compuestos de esta invención pueden obtenerse comercialmente o pueden prepararse por procedimientos convencionales descritos en la bibliografía.

Las reacciones con microondas se llevaron a cabo en un reactor CEM usando un sistema Discovery SP.

Quando se presentan los datos de RMN, los espectros se obtuvieron en Varian -400 (400 MHz), y se reportan como ppm campo abajo del tetrametilsilano con el número de protones, multiplicidad y constantes de acoplamiento indicados entre paréntesis junto con referencia a disolvente deuterado.

Los compuestos se purificaron por un método de HPLC preparativa básico como se describe a continuación.

Método 1:

Fase móvil A: agua con una disolución de amoníaco al 0,05%; Fase móvil B: ACN; Velocidad de flujo: 25 mL/min; Detección: UV 220 nm/254 nm; Columna: Phenomenex Gemini C18 250*30mm*5µm; Temperatura de la columna: 30°C.

Tiempo en min	% de A	% de B
0,0	68	32
12,00	38	62
12,20	0	100
13,5	0	100
13,7	90	10

Método 2:

Fase móvil A: agua con una disolución de amoníaco al 0,05%; Fase móvil B: ACN; Velocidad de flujo: 25 mL/minuto; Detección: UV 220 nm/254 nm; Columna: Durashell C18 250*30mm*5µm; Temperatura de la columna: 30°C.

Tiempo en min	% de A	% de B
0,0	67	33
12,00	47	53
12,20	0	100

ES 2 568 928 T3

13,5	0	100
13,7	90	10

Los datos de LC-MS se obtuvieron utilizando las condiciones cromatográficas siguientes:

Sistema de HPLC: Waters ACQUITY; Columna: Waters ACQUITY CSH™ C18 1,7 μM

Columna de guarda: Waters Assy. Frit, 0,2 μm, 2,1 mm; Temperatura de la columna: 40°C

5 Fase móvil A: TFA:Agua (1:1.000, v:v) Fase móvil B: TFA:ACN (1:1.000, v:v); Velocidad de flujo: 0,65 mL/min; Volumen de inyección: 2 μl; Tiempo de adquisición: aproximadamente 1,5 min.

Programa del gradiente:

Tiempo (min)	% de B
0	10
0,8	90
1;20	90
1,21	10

Parámetros del espectrómetro de masa

10 Espectrómetro de masa: Waters SQD; Ionización: ionización positiva por electropulverización (ESI); Modo de barrido (100-1.400 m/z cada 0,2 segundos), Voltaje capilar ES: 3,5 kv; Voltaje del cono ES: 25 v Temperatura de la fuente: 120°C; Temperatura de la desolvatación: 500°C; Flujo de gas durante la desolvatación: Ajuste de nitrógeno 650 (L/h); Flujo de gas en el cono: Ajuste de nitrógeno 50 (L/h).

Para el ejemplo **10**, etapa 2, y la síntesis alternativa del intermediario **38**, etapa 1 y 2, se usaron las condiciones e instrumentación cromatográficas siguientes:

Los datos de LC-MS se obtuvieron utilizando las condiciones cromatográficas siguientes:

15 Sistema de HPLC: Agilent de la serie 1100

Columna: Zorax Eclipse XDB-C8, 2,1x50mm

Temperatura de la columna: 35°C

Fase móvil A: Ácido fórmico: Agua (1:1.000, v:v)

B: Ácido fórmico: ACN (1:1.000, v:v)

20 Programa del gradiente:

Tiempo (min)	% de B
0	5
3	95
4,5	95
5,0	5

Velocidad de flujo: 0,60 mL/min

Volumen de inyección: 2 μL

Tiempos de retención: Aproximadamente 1-4 min

Tiempo de la adquisición: aproximadamente 5 min

25 Parámetros del espectrómetro de masa

Espectrómetro de masa: Agilent 77

Ionización Ionización positiva por electropulverización (ESI)

Modo Barrido (100-800 m/z cada 0,2 segundos)

ES 2 568 928 T3

Voltaje del capilar ES:	3,5 kv
Voltaje del cono ES:	25 v
Temperatura de la fuente	120°C
Temperatura de la desolvatación:	500°C
5 Flujo de gas durante la desolvatación:	Nitrógeno Ajuste 650 (L/h)
Flujo de gas en el cono:	Nitrógeno Ajuste 50 (L/h)

Para el ejemplo **27** se usaron las condiciones e instrumentación cromatográficas siguientes:

Sistema de HPLC:	Waters Alliance / detector DA y MS
Columna:	Waters XBridge C18, 4,6 x 30 mm, 3,5 µm

Programa del gradiente: Tiempo [min]	% Disol. [H ₂ O, 0,1% TFA]	% Disol. [Metanol]	Flujo [ml/min]	Temp. [°C]
0,0	95	5	4	60
1,6	0	100	4	60
1,85	0	100	4	60
1,9	95	5	4	60

La separación SFC y la caracterización de los compuestos se llevaron a cabo con el método siguiente.

10 Método A:

Instrumento: Thar SFC 80; Columna: AD 250mm*30mm, 5µm; Fase móvil: A: CO₂ supercrítico, B: IPA (0,05% DEA), A:B= 80/20 a 60 ml/min; Temperatura de la columna: 38°C; Presión en la tobera: 100 bares; Temperatura de la tobera: 60°C; Temperatura del evaporador: 20°C; Temperatura del calibrador: 25°C; Longitud de onda: 220nm.

Método B:

15 Instrumento: SFC MG2; Columna: OJ 250mm*30mm, 5µm; Fase móvil: A: CO₂ supercrítico, B: MeOH (0,05% DEA), A:B= 90/20 a 70 ml/min; Temperatura de la columna: 38°C; Presión en la tobera: 100 bares; Temperatura de la tobera: 60°C; Temperatura del evaporador: 20°C; Temperatura del calibrador: 25°C; Longitud de onda: 220nm.

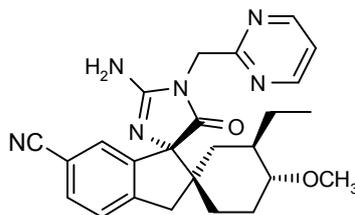
Las técnicas, disolventes y reactivos siguientes pueden referirse por sus abreviaturas siguientes.

Abreviatura	Significado
ACN	acetonitrilo
Boc	<i>tert</i> -butoxi carbonilo o <i>t</i> -butoxi carbonilo
disolución salina concentrada	NaCl acuoso saturado
DCM	cloruro de metileno
DIEA	diisopropil etil amina
DMF	dimetil formamida
DMSO	dimetil sulfóxido
dppf	1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno
EDCI	hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
Etl	yoduro de etilo

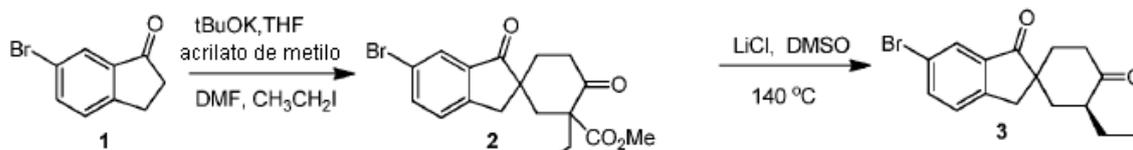
ES 2 568 928 T3

Abreviatura	Significado
Et	etilo
Et ₂ O	éter etílico
EtOAc	acetato de etilo
EtOH	etanol
HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
LDA	diisopropilamida de litio
MeOH	metanol
MeI	yoduro de metilo
Me	metilo
Me ₂ S	sulfuro de dimetilo
MsCl	cloruro de metanosulfonilo
NaOMe	metóxido de sodio
PdCl ₂ dppf	[1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno] dicloropaladio(II)
Pd ₂ (dba) ₃	tris(dibencilidenacetona)dipaladio(0)
PE	éter de petróleo
rt	temperatura ambiente
SFC	cromatografía con fluido supercrítico
<i>t</i> -BuOK	<i>tert</i> butóxido de potasio
<i>t</i> -BuLi	<i>tert</i> butil litio
<i>t</i> -BuNH ₂ -BH ₃	complejo de <i>tert</i> butilamina-borano
<i>t</i> -BuOOH	peróxido de <i>tert</i> butilo
TFA	ácido trifluoroacético
TFAA	anhídrido de ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TLC	cromatografía en capa fina
Ti(OEt) ₄	tetraetóxido de titanio

Ejemplo 1



Etapa 1: Síntesis del intermediario 3

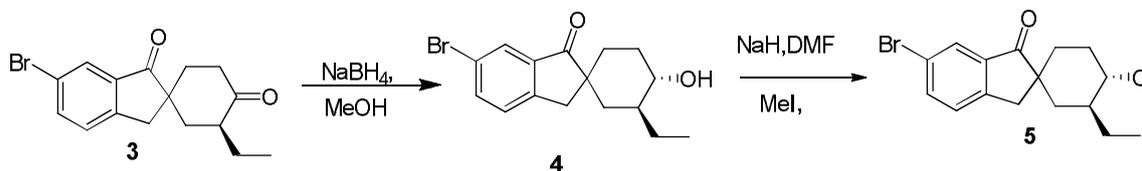


- 5 Una mezcla del compuesto **1** (50,0 g, 236 mmoles) y acrilato de metilo (42,0 g, 472 mmoles) en THF anhidro (900 mL) se pre-enfrió a 0°C y se añadió *t*-BuOK (31,8 g, 284 mmoles, 1,1 eq) en porciones iguales a lo largo de 30 min, la mezcla luego se calentó hasta rt durante 1 h y se agitó durante 40 min a rt. Se añadieron DMF (200mL) y EtI (74 g, 472 mmoles) a esta mezcla de reacción, y se agitó a rt durante la noche. El THF se retiró bajo presión reducida. El residuo se diluyó con H₂O (300 mL) y se extrajo con EtOAc, se concentró para dar el compuesto crudo **2** (120,0 g). Este producto se usó como tal en la etapa siguiente.

Una mezcla del compuesto **2** (120,0 g, 310 mmoles) y LiCl (130,0 g, 3.100 mmoles) en DMSO (900 mL) se sometió a reflujo durante la noche. La mezcla se detuvo con agua (3L) y se extrajo con EtOAc (3 × 400 mL). La fase orgánica separada se secó y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc = 20:1) para dar el intermediario **3** (15 g, 20%).

- 15 ¹H RMN: (CDCl₃): δ 7,91 (s, 1H), 7,74 (dd, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,41 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,80 (s, 2H), 2,48-2,53 (m, 2H), 2,33-2,49 (m, 1H), 2,15-2,23 (m, 1H), 1,75-1,95 (m, 4H), 1,21-1,40 (m, 1H), 0,88 (t, *J* = 8,0 Hz, 3H).

Etapa 2: Síntesis del intermediario 5



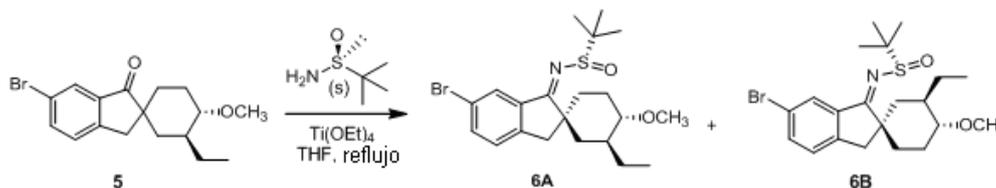
- 20 A una mezcla de THF (20 mL) y MeOH (5 mL) a -78 °C se añadió el intermediario **3** (6,0 g, 18,7 mmoles), NaBH₄ (355 mg, 9,3 mmoles) y CeCl₃·7H₂O (70 mg, 0,19 mmoles). La mezcla se agitó a -78 °C durante 20 min, se detuvo con disolución saturada de NH₄Cl (30 mL), y se extrajo con EtOAc (400 mL X 4). Las fases de EtOAc se combinaron y se concentraron para dar un compuesto crudo **4** (6,5 g, crudo).

- 25 A una mezcla del compuesto **4** (6,5 g, 20,0 mmoles) y NaH (3,2 g, 80,0 mmoles) en DMF (100 mL) a 0°C se añadió MeI (11,4 g, 80,0 mmoles). La mezcla se agitó a rt durante la noche. La mezcla se detuvo con H₂O, se extrajo con EtOAc, se concentró para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante columna en gel de sílice (eluyente: éter de petróleo: acetato de etilo desde 20: 1 hasta 15: 1) para dar el intermediario **5** (3,5 g, 56%).

LC-MS: t_R = 1,315 min, MS (ESI) m/z 339,1 [M+H]⁺.

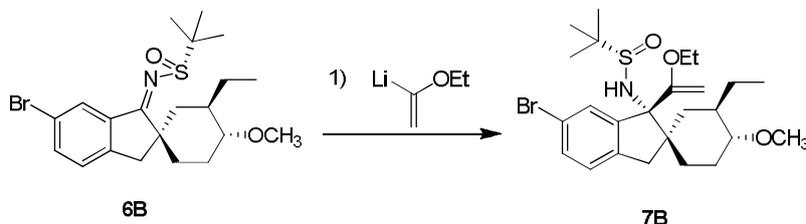
- 30 ¹H RMN: (CDCl₃): δ 7,88 (s, 1H), 7,69 (dd, *J* = 8,4, 2,0 Hz, 1H), 7,31 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H), 3,39 (s, 3H), 2,97 (s, 2H), 2,88-2,94 (m, 1H), 2,21-2,26 (m, 1H), 1,81-1,87 (m, 1H), 1,70-1,78 (m, 1H), 1,40-1,59 (m, 4H), 1,12-1,39 (m, 2H), 0,88 (t, *J* = 8,0 Hz, 3H).

Etapa 3: Síntesis del intermediario 6A y 6B



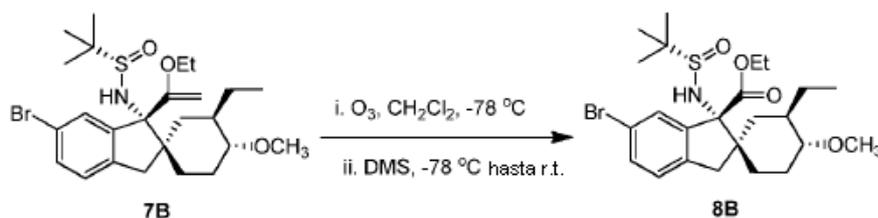
La mezcla del intermediario **5** (3,5 g, 10,4 mmoles) y etóxido de titanio (IV) (23,7 g, 104 mmoles) en THF seco (40 mL) se agitó a rt durante 1 h. Se añadió (*S*)-*N*-*tert*-butilsulfonamida (1,6 g, 11,6 mmoles) y la mezcla resultante se agitó a 80°C bajo atmósfera de N₂ durante la noche. La mezcla de reacción luego se enfrió y se añadió agua (400 mL) y se filtró. La fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 × 400 mL). Las fases orgánicas separadas se combinaron y se secaron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc = 20:1) y los compuestos se eluyeron en el siguiente orden para dar los intermediarios **6A** (1,5 g, 33%) y **6B** (1,5 g, 33%).

Etapa 4: Síntesis del intermediario **7B**



A una mezcla de etoxi-eteno (1,3 g, 17,0 mmoles) en THF anhidro (20 mL) a -78°C bajo una atmósfera de N₂, se añadió *t*-BuLi (13,0 mL, 17,0 mmoles, 1,3 M en hexano) gota a gota y se agitó durante 20 min. La mezcla resultante luego se agitó a 0°C durante otros 45 min. A esta mezcla a -78°C, se añadió el intermediario **6B** (1,5 g, 3,4 mmoles) gota a gota en THF anhidro (20 mL) y se agitó durante 2,5 h. La reacción se detuvo con NH₄Cl sat. (50 mL) y se extrajo con EtOAc (3 × 300 mL). Las fases orgánicas se combinaron y se concentraron para dar el residuo que se purificó mediante columna en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc = 20: 1) para dar el intermediario **7B** (1,2 g, 69%).

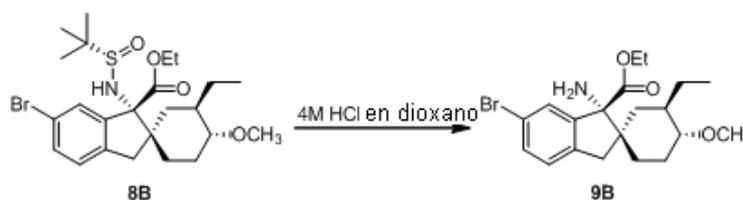
Etapa 5: Síntesis del intermediario **8B**



El Intermediario **7B** (1,2 g, 2,4 mmoles) se añadió a DCM: MeOH (5:1, 20 mL), la mezcla se enfrió hasta -78°C y se burbujeó ozono a través de la mezcla durante 20 min. La mezcla luego se purgó con N₂ y se trató con Me₂S a -78°C. La reacción luego se dejó calentar hasta rt y se agitó durante 3 h. El disolvente se eliminó bajo vacío, el residuo se purificó mediante TLC preparativa (éter de petróleo: EtOAc = 3: 1) para dar el compuesto **8B** (860 mg, 70%).

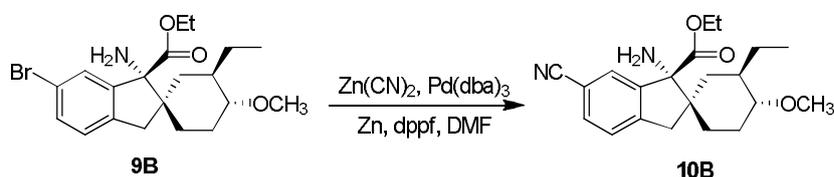
LC-MS: t_R = 1,351 min, MS (ESI) m/z 516,1 [M+H]⁺.

Etapa 6: Síntesis del intermediario **9B**



Al compuesto **8B** (860 mg, 1,7 mmoles) en MeOH (10 mL) se añadió una disolución de HCl 4 M en dioxano (2 mL). La mezcla resultante se agitó durante 30 min. El disolvente se eliminó bajo presión reducida para dar el compuesto **9B** crudo (800 mg). El residuo se usó para la etapa siguiente sin purificación adicional.

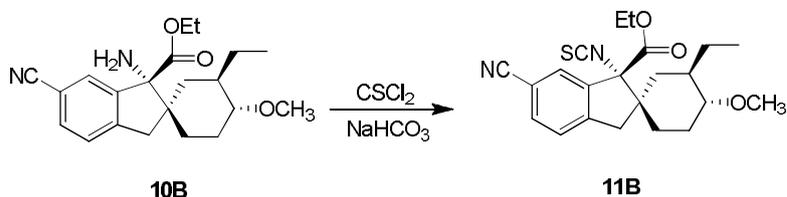
Etapa 7: Síntesis del intermediario **10B**



30

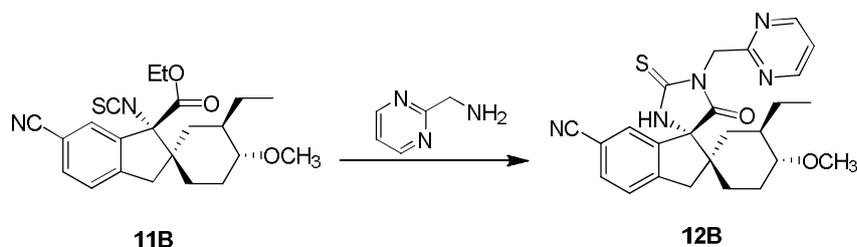
Una suspensión del intermediario **9B** (500 mg, 1,9 mmoles), $Zn(CN)_2$ (300 mg, 2,6 mmoles), $Pd_2(dba)_3$ (150 mg, 0,16 mmoles), dppf (160 mg, 0,32 mmoles) y polvo de Zn (60 mg, 0,9 mmoles) en DMF (15 mL) se calentó bajo $120^\circ C$ durante 3 h en un reactor de microondas CEM. La mezcla se concentró bajo vacío y el residuo se purificó mediante columna en gel de sílice (eluyente: éter de petróleo: EtOAc desde 20: 1 hasta 8: 1) para dar el compuesto **10B** (150 mg, 40%).

Etapa 8: Síntesis del intermediario 11B



El Intermediario **10B** (150 mg, 0,42 mmoles) se añadió a DCM (10 mL), H_2O (10 mL) y $NaHCO_3$ (350 mg, 4,2 mmoles). A esta mezcla se añadió tiosfogeno (100 mg, 0,84 mmoles) bajo agitación vigorosa, y se agitó durante 50 min a rt y se extrajo con DCM (3×40 mL). La capa orgánica se lavó con disolución salina concentrada (2×40 mL), se secó y el disolvente se eliminó bajo presión reducida para dar el compuesto crudo **11B** (150 g, 93%), que se usó para la etapa siguiente sin purificación adicional.

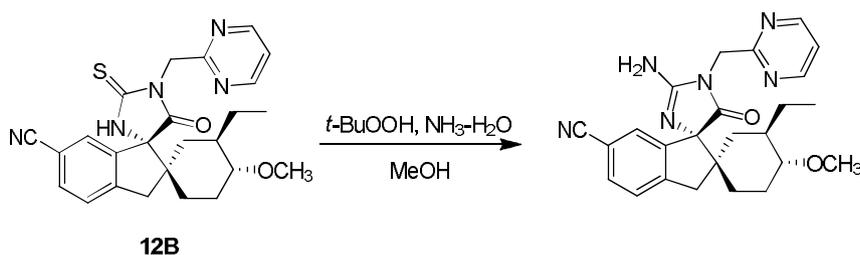
Etapa 9: Síntesis del intermediario 12B



A una mezcla del compuesto **11B** (150 mg, 0,39 mmoles) en THF (5 mL) se añadió 2-aminometilpirimidina (67 mg, 0,78 mmoles) y TEA (395 mg, 3,90 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche a rt. La reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (30 mL). El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo: acetato de etilo = 10: 1) para dar **12B** (100 mg, 70%).

LC-MS: $t_R = 1,204$ min MS (ESI) m/z 462,2 $[M+H]^+$.

Etapa 1: Síntesis del Ejemplo 1

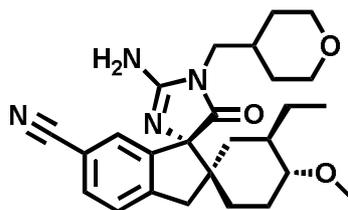


Se añadió el Compuesto **12B** (100 mg, 0,22 mmoles) en MeOH (10 mL) y NH_4OH (3 mL) seguido por $t-BuO_2H$ (1 mL). Después de la adición, la mezcla se agitó a rt durante 24 h. La mezcla se detuvo con disolución saturada de $Na_2S_2O_3$ (0,5 mL). El residuo se repartió entre EtOAc (20 mL) y H_2O (10 mL). La capa orgánica se separó y se lavó con disolución salina concentrada (10 mL), se secó, se filtró y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante HPLC (método 1) para dar el compuesto del **Ejemplo 1** (14,60 mg, 15%).

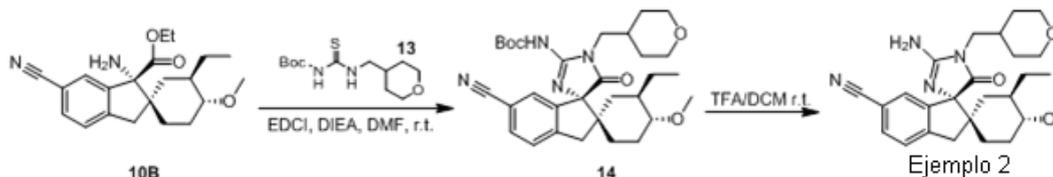
LC-MS: $t_R = 0,933$ min, MS (ESI) m/z 445,2 $[M+H]^+$.

1H RMN: (CD_3OD): δ 8,74 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H), 7,61 (dd, $J = 7,6, 1,6$ Hz, 1H), 7,52 (s, 1H), 7,45 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,35 (t, $J = 5,2$ Hz, 1H), 4,94 (s, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,17 (s, 2H), 2,80-2,87 (m, 1H), 2,08-2,13 (m, 1H), 1,90-1,94 (m, 1H), 1,38-1,85 (m, 2H), 1,22-1,39 (m, 3H), 1,12-1,18 (m, 2H), 0,76 (t, $J = 8,0$ Hz, 3H).

Ejemplo 2



Este compuesto se sintetizó a partir del intermediario **10B** del Ejemplo 1 como se muestra en el esquema a continuación.



5

Etapa 1: Síntesis del intermediario 13

A una disolución agitada de tiourea (23 g, 302 mmoles) en THF (5,0 L) bajo argón a 0°C se añadió hidruro de sodio (29,9 g, 755 mmoles, 60% en aceite mineral). Después de 5 min, el baño de hielo se retiró, y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. La mezcla se enfrió hasta 0°C nuevamente, se añadió dicarbonato de di-terc-butilo (138 g, 635 mmoles), y el baño de hielo se retiró después de 30 min de agitación a esa temperatura. La suspensión de sólidos resultante se agitó durante otras 2 h a rt. Luego, la reacción se detuvo con una disolución acuosa de NaHCO₃ saturado (500 mL). La mezcla de reacción se vertió sobre agua (5,0 L) y se extrajo con EtOAc (3 × 2,0 L). La capa orgánica combinada se secó, se filtró, y se concentró en vacío para dar el intermediario **13** (80 g, 96%) como un sólido blanco, que se usó para la etapa siguiente sin purificación adicional.

A una mezcla del intermediario **13** (4,14 g, 15,0 mmoles) y THF anhidro (300 mL) se añadió NaH (60% en aceite mineral, 720 mg, 18,0 mmoles) a 0°C. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 h, luego se añadió TFAA (3,47 g/2,33 mL, 16,5 mmoles) y se continuó la agitación durante 1 h adicional. Luego, se añadió 4-(aminometil)tetrahidropirano (2,5 g, 16,5 mmoles) y Et₃N (3,03 g/4,16 mL, 30,0 mmoles) en THF anhidro (130 mL) y la reacción resultante se agitó a rt durante la noche. Se añadió H₂O (150 mL) para detener la reacción y la mezcla se extrajo con EtOAc (3 × 200 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron, y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en columna para dar el compuesto **13** (3,54 g, 86%) como un sólido blanco.

LCMS: t_R = 0,973 min; MS (ESI) m/z 219 [M-t-Bu]⁺.

Etapa 2: Síntesis del intermediario 14

A una mezcla del compuesto **10B** (2,5 g, 7,0 mmoles) en 30 mL de DMF se añadió el compuesto **13** (2,3 g, 8,4 mmoles), EDCI (2,5 g, 14,0 mmoles) y DIEA (1,7 g, 14,0 mmoles). La mezcla se agitó a rt durante la noche. Se extrajo con EtOAc (3 × 80 mL), se lavó con disolución salina concentrada (3 × 50 mL), se secó y el disolvente se eliminó bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo: acetato de etilo = 5: 1) para dar **14** (2,7 g, 75%).

LC-MS: t_R = 0,972 min, MS (ESI) m/z 495,3 [M-t-Bu]⁺.

Etapa 3: Síntesis del Ejemplo 2

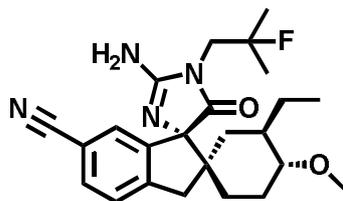
A una mezcla del intermediario **14** (2,7 g, 4,9 mmoles) en DCM (30 mL) se añadió TFA (6 mL). Después de la adición, la mezcla se agitó a rt durante 1 h. La mezcla de reacción se ajustó por medio de disolución de NaHCO₃ hasta pH 8,0-9,0. La capa orgánica se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo: acetato de etilo = 1: 1) para dar el compuesto del **Ejemplo 2** (1,83 g, 83%) como un sólido blanco.

LC-MS: t_R = 0,897 min, MS (ESI) m/z 451,2 [M+H]⁺.

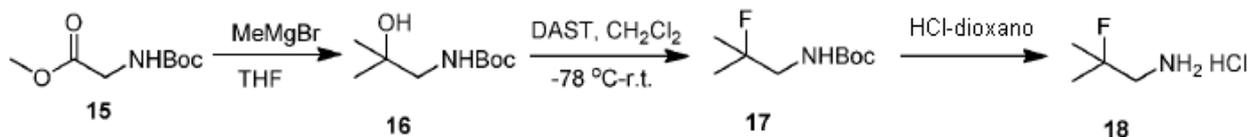
¹H-RMN: (CD₃OD): δ 7,66 (dd, J = 8,0, 1,6 Hz, 1H), 7,51 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,33 (s, 1H), 3,92-3,98 (m, 2H), 3,37-3,43 (m, 7H), 3,20 (m, 2H), 2,78-2,83 (m, 1H), 2,16-2,20 (m, 1H), 1,87-2,03 (m, 1H), 1,71-1,77 (m, 1H), 1,58-1,62 (m, 1H), 1,51-1,54 (m, 2H), 1,28-1,37 (m, 7H), 1,09-1,10 (m, 1H), 0,76 (t, J = 7,6 Hz, 3H).

40

Ejemplo 3



Síntesis del intermediario 18

5 **Etapa 1: Síntesis del Intermediario 16**

Una mezcla del compuesto **15** (2,0 g, 10,6 mmoles) en THF anhidro (20 mL) se añadió a una disolución de bromuro de metil magnesio (14 mL, 42 mmoles, 3,0 M en Et₂O) a -30°C bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a -30°C durante 4 h, y luego se detuvo mediante la adición de agua (40 mL) y HCl acuoso (50 mL, 1 M) con agitación a 0°C. La mezcla se separó, y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (2 × 50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución salina concentrada (2 × 50 mL), se secaron, se filtraron y se concentraron bajo vacío para dar el intermediario **16** crudo (2,1 g, 100% crudo) como un aceite incoloro, que se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación.

¹H RMN: (CDCl₃): δ 4,97 (br, 1H), 3,10 (s, 2H), 2,17 (br, 1H), 1,44 (s, 9H), 1,20 (s, 6H).

15 **Etapa 2: Síntesis del intermediario 17**

A una mezcla del intermediario **16** (3,0 g, 15,9 mmoles, crudo) en DCM anhidro (50 mL) se añadió DAST (2,3 mL, 17,4 mmoles) a -78°C bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se agitó a -78°C durante 1 h, y se dejó calentar hasta rt durante la noche. La mezcla luego se enfrió hasta 0°C, y se detuvo mediante la adición de NaHCO₃ acuoso saturado (30 mL) con agitación a 0°C lentamente. La mezcla se separó, y la capa acuosa se extrajo con DCM (2 × 20 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución salina concentrada (2 × 30 mL), se secaron, se filtraron y se concentraron bajo vacío para dar el intermediario **17** crudo (2,5 g, 76% crudo), que se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación.

¹H RMN: (CDCl₃): δ 4,82 (br, 1H), 3,30-3,35 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 3,24-3,26 (d, *J* = 6,0 Hz, 1H), 1,44 (s, 9H), 1,37 (s, 3H), 1,35 (s, 3H).

¹⁹F RMN: (CDCl₃ 400 MHz): δ -144,93.

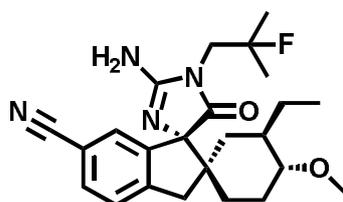
25 **Etapa 3: Síntesis del intermediario 18**

A una mezcla del intermediario **17** (2,0 g, 10,5 mmoles, crudo) en DCM anhidro (10 mL) se añadió una mezcla de HCl-dioxano (10 mL, 40 mmoles, 4 M en dioxano) con agitación. La mezcla se agitó a rt durante 2 h y después de este tiempo el disolvente se concentró bajo vacío. El residuo se lavó con una mezcla de DCM: éter de petróleo (1:1) (3 × 10 mL), y el precipitado se recogió y se secó bajo vacío para dar el compuesto crudo **18** (1,1 g), que se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación.

¹H RMN: (CD₃OD): δ 3,15-3,25 (d, *J* = 20,0 Hz, 2H), 1,51 (s, 3H), 1,48 (s, 3H).

¹⁹F RMN: (CDCl₃ 400 MHz): δ -147,59.

Ejemplo 3

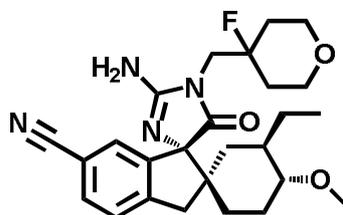


35 El Ejemplo 3 se sintetizó a partir del intermediario **11B** del Ejemplo 1 siguiendo el mismo procedimiento que en el Ejemplo 1 y utilizando el intermediario **18** en la etapa 9 del Ejemplo 1.

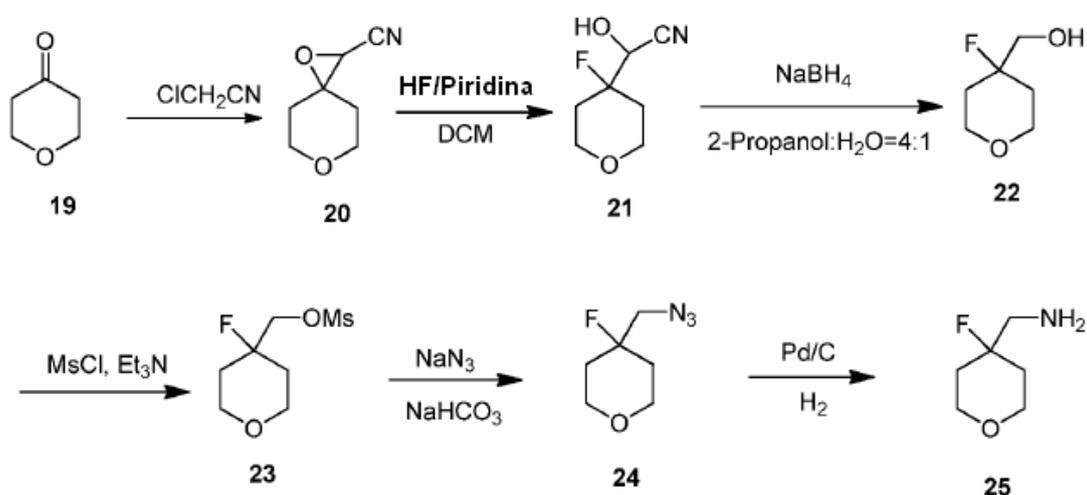
LC-MS: $t_R = 1,12$ min, MS (ESI) m/z 427 $[M+H]^+$.

1H -RMN: (CD_3OD) δ 7,65 (dd, 1H, $J = 8, 2$ Hz), 7,51 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,31 (s, 1H), 3,72 (dd, 2H, $J = 22, 4$ Hz), 3,37 (s, 3H), 3,20 (ap q, 2H, $J = 16$ Hz), 2,82 (m, 1H), 2,18 (m, 1H), 1,90 (m, 1H), 1,79-1,70 (m, 1H), 1,52-11,22 (m, 10H), 1,21-1,09 (m, 1H), 0,77 (t, 3H, $J = 7$ Hz).

5 Ejemplo 4



Síntesis del intermediario 25



Etapa 1: Síntesis del intermediario 20

10 Una mezcla de dihidro-2H-piran-4(3H)-ona (**19**, 50,0 g, 500 mmoles) y 2-cloroacetnitrilo (35,0 g, 350 mmoles) en terc-butanol (50 mL) se agitó durante 30 min. A esta mezcla se añadió una disolución de *t*-BuOK (60 g, 550 mmoles) en terc-butanol (500 mL) a lo largo de 40 min. La mezcla de reacción se agitó a rt durante 16 h. Se diluyó con agua y se detuvo con HCl 10%. La mezcla de reacción se concentró hasta un tercio de su volumen original, y se extrajo con éter dietílico cuatro veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución salina concentrada, se
15 se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron, y se concentraron para dar el intermediario **20** (57 g), que se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación.

Etapa 2: Síntesis del intermediario 21

20 El Intermediario **20** (57 g) se mezcló con diclorometano (200 mL) en una botella de polipropileno. La botella se enfrió hasta $0^\circ C$ y se añadió fluoruro de hidrógeno-piridina 70% (50 mL) lentamente. La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (500 mL) y se vertió sobre $NaHCO_3$ acuoso saturado. Se usó $NaHCO_3$ sólido adicional para neutralizar la mezcla cuidadosamente hasta haberse detenido el burbujeo. La capa orgánica se aisló, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3×500 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución acuosa de HCl 1%, disolución salina concentrada, se
25 se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron para dar el intermediario crudo **21** (54 g), que se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación.

1H RMN: ($CDCl_3$): δ 4,37 (m, 2H), 3,96-2,70 (m, 4H), 1,97 – 1,81 (m, 4H).

Etapa 3: Síntesis del intermediario 22

30 A una mezcla del intermediario **21** (54 g; 340 mmoles) en 2-propanol (1.000 mL) y agua (250 mL) a $0^\circ C$ se añadió borohidruro de sodio (20 g, 509 mmoles). La mezcla se agitó y se dejó calentar hasta rt durante 3 h. La reacción se detuvo con acetona, y se agitó durante 1 h adicional. El líquido transparente se separó del sólido por decantación. Se usó EtOAc adicional para lavar el sólido, y se decantó. La disolución orgánica combinada se concentró. El residuo se purificó con cromatografía flash en columna en gel de sílice eluyendo con EtOAc 5-20% en hexanos para dar el intermediario **22** (22 g, 40% para las 3 etapas) como un líquido.

^1H RMN: (CDCl_3): δ : 3,82–3,77 (m, 4H), 3,72-3,52 (dd, $J = 20,8, 6,4$ Hz, 2H), 2,69 (s, 1H), 1,82-1,60 (m, 4H).

Etapa 4: Síntesis del intermediario 23

A una mezcla del intermediario **22** (20 g, 150 mmoles) y trietilamina (22,7 g, 225 mmoles) en DCM (200 mL) se añadió MsCl (25,8 g, 225 mmoles) a 0°C . La mezcla se agitó a rt durante 2 h, y luego se añadió agua. La capa acuosa se extrajo con DCM (2×200 mL). El disolvente se secó y se eliminó para dar el intermediario **23** crudo (30 g, 100%), que se usó para la etapa siguiente sin purificación adicional.

^1H RMN: (CDCl_3): δ : 4,22 (d, $J = 20,0$ Hz, 2H), 3,87-3,82 (m, 4H), 3,06 (s, 3H), 1,88-1,68 (m, 4H).

Etapa 5: Síntesis del intermediario 24

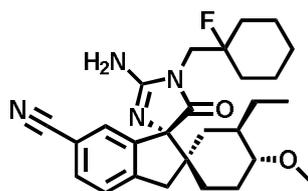
A una mezcla del intermediario **23** (10 g, 47 mmoles) con DMF (150 mL) se añadió NaN_3 (16 g, 250 mmoles) y NaHCO_3 (9,3 mg, 100 mmoles) a 120°C . La mezcla se agitó a 120°C durante 20 h, la reacción se detuvo con agua, se extrajo con EtOAc (2×300 mL). El disolvente se secó y se eliminó bajo vacío para dar el intermediario crudo **24** (8 g), que se usó para la etapa siguiente sin purificación adicional.

Etapa 6: Síntesis del intermediario 25

A una mezcla del intermediario **24** (8 g, 50 mmoles) en acetato de etilo (100 mL) se añadió Pd/C (0,8 g, contenido 10%) bajo una atmósfera de nitrógeno, la mezcla se desgasificó y se intercambiò con hidrógeno 3 veces. La mezcla final se agitó a temperatura ambiente bajo 1 atm. de hidrógeno durante 24 h. El catalizador se retiró por filtración a través de una almohadilla de Celite® y se lavó con EtOAc (2×50 mL). El filtrado combinado se concentró bajo presión reducida para dar el intermediario **25** (5,3 g, 80%). ^1H RMN: (CD_3OD): δ 3,83-3,79 (m, 4H), 2,76-2,71 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 1,83-1,65 (m, 4H).

^{19}F RMN: (CD_3OD , 400 MHz) δ : -169,66.

Ejemplo 4

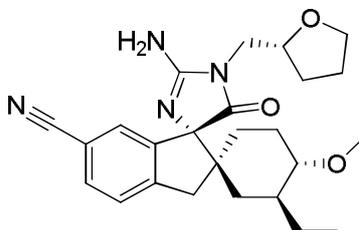


El Ejemplo 4 se sintetizó a partir del intermediario **11B** siguiendo el mismo procedimiento que el descrito para el Ejemplo 1 utilizando el intermediario **25** en lugar de 2-pirimidilmetanamina en la etapa 9.

LC-MS: $t_R = 0,98$ min, MS (ESI) m/z 469 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

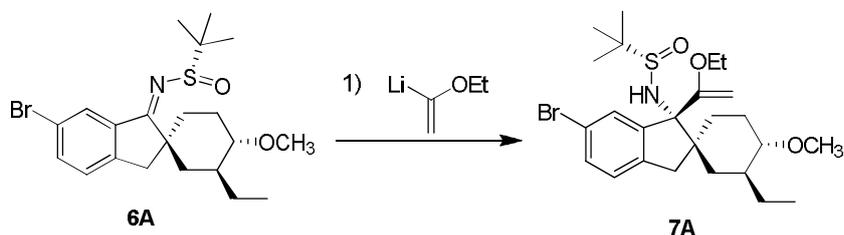
^1H -RMN: (CD_3OD) δ 7,64 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,50 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,31 (s, 1H), 3,84-3,65 (m, 6H), 3,36 (s, 3H), 3,19 (ap q, 2H, $J = 16$ Hz), 2,81 (m, 1H), 2,17 (m, 1H), 1,89-1,66 (m, 6H), 1,50-1,37 (m, 3H), 1,34 (m, 2H), 1,20-1,11 (m, 1H), 0,76 (t, 3H, $J = 8$ Hz).

Ejemplo 5



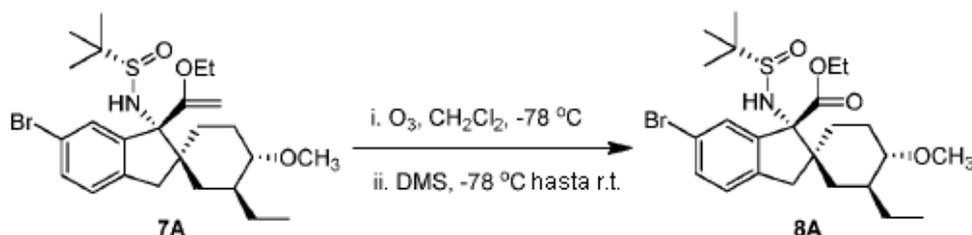
30

Etapa 4: Síntesis del intermediario 7A



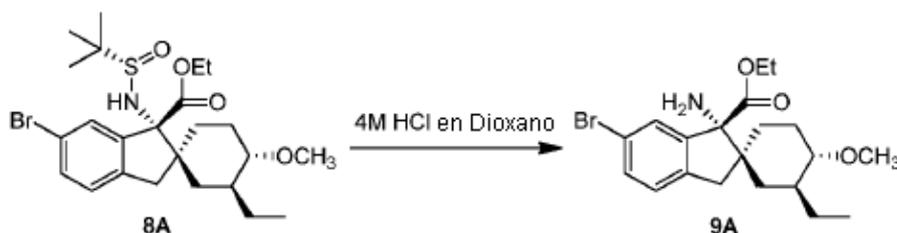
5 A una mezcla de etoxieteno (1,3 g, 17,0 mmoles) en THF anhidro (20 mL) a -78°C bajo una atmósfera de N_2 se añadió gota a gota $t\text{-BuLi}$ (13,0 mL, 17,0 mmoles, 1,3 M en hexano) y la mezcla se agitó durante 20 min. La mezcla resultante luego se agitó a 0°C durante otros 45 min y se añadió el compuesto **6A** (1,5 g, 3,4 mmoles) en THF anhidro (20 mL) y se agitó durante 2,5 h. La reacción se detuvo con NH_4Cl sat. (50 mL) y se extrajo con EtOAc (3×300 mL). Las fases orgánicas se combinaron y se concentraron para dar un producto crudo. Se purificó mediante columna en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc= 20: 1) para dar el compuesto **7A** (1,2 g, 69%) que se usó como tal en la etapa siguiente.

Etapa 5: Síntesis del intermediario 8A



10 Una mezcla del compuesto **7A** (1,2 g, 2,4 mmoles) en DCM: MeOH = 5:1 (20 mL), se enfrió hasta -78°C y se burbujeó ozono a través de la mezcla durante 20 min. La mezcla se purgó con N_2 y se trató con Me_2S (5 mL) a -78°C , luego se dejó calentar hasta rt y se agitó durante 3 h. El disolvente se eliminó bajo vacío, el residuo se purificó mediante TLC preparativa (éter de petróleo: EtOAc= 3: 1) para dar el compuesto **8A** (860 mg, 70%). LC-MS: t_{R} = 1,333 min; MS (ESI) m/z 516,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

15 **Etapa 6: Síntesis del intermediario 9A**



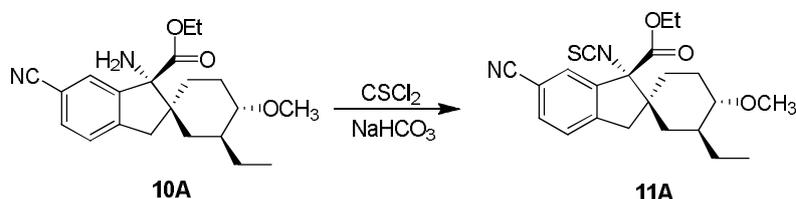
20 A una mezcla del compuesto **8A** (860 mg, 1,7 mmoles) en MeOH (10 mL) se añadió una disolución de HCl 4 M en dioxano (2 mL). La mezcla resultante se agitó durante 30 min a rt. El disolvente se eliminó bajo presión reducida para dar el compuesto crudo **9A** (800 mg) que se usó para la etapa siguiente sin purificación adicional. LC-MS: t_{R} = 0,976 min; MS (ESI) m/z 361,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Etapa 7: Síntesis del intermediario 10A



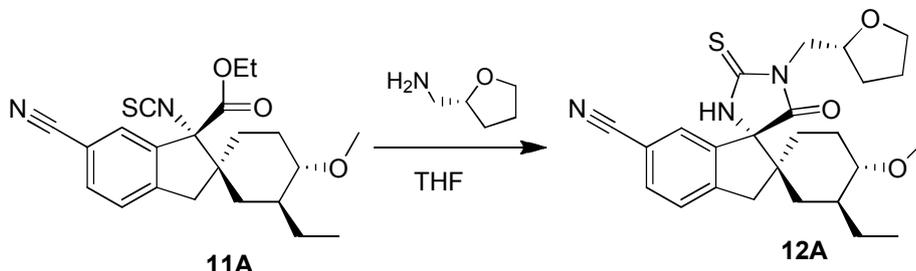
25 Una mezcla del compuesto **9A** (500 mg, 1,9 mmoles), Zn(CN)_2 (300 mg, 2,6 mmoles), $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ (150 mg, 0,16 mmoles), dppf (160 mg, 0,32 mmoles) y polvo de Zn (60 mg, 0,9 mmoles) en DMF (15 mL) se calentó hasta 120°C durante 3 h en un reactor de microondas CEM. La mezcla se concentró bajo vacío y el residuo se purificó mediante columna en gel de sílice (eluyente: éter de petróleo: EtOAc desde 20: 1 hasta 8: 1) para dar el compuesto **10A** (300 mg, 40%). LC-MS: t_{R} = 0,880; MS (ESI) m/z 308,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Etapa 8: Síntesis del intermediario 11A



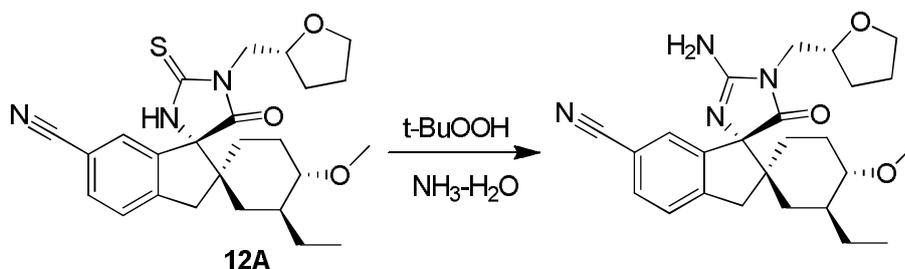
A una mezcla de **10A** (300 mg, 0,84 mmoles) en DCM (10 mL), H₂O (10 mL) y NaHCO₃ (655 mg, 8,4 mmoles) se añadió tiosfogeno (180 mg, 1,68 mmoles). La mezcla se agitó durante 50 min, luego se extrajo con DCM (3 × 40 mL), se lavó con disolución salina concentrada (2 × 40 mL), se secó y el disolvente se eliminó bajo presión reducida para dar el compuesto crudo **11A** (300 g.), que se usó para la etapa siguiente sin purificación adicional.

5 **Etapa 9: Síntesis del intermediario 12A**



Al compuesto **11A** (200 mg, 0,50 mmoles) en THF (10 mL) se añadió *R*-(2-aminometil)tetrahidrofurano (61mg, 0,6 mmoles) y trietilamina (2 mL, 5,0 mmoles). La mezcla se agitó a rt durante la noche. La reacción se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (30 mL). El residuo se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo: EtOAc= 10: 1) para dar **12A** (180 mg, 79%).

10 **Etapa 10: Síntesis del Ejemplo 5**

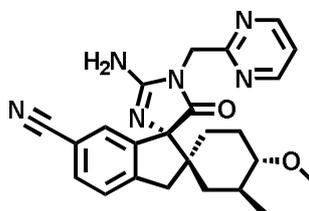


A una mezcla del intermediario **12A** (250 mg, 0,54 mmoles) en MeOH (10 mL) y NH₄OH (3 mL) se añadió una disolución de *t*-BuO₂H (1 mL, 9M en hexano) y se agitó a rt durante 24 h. La reacción se detuvo mediante Na₂S₂O₃ saturado (0,5 mL). El residuo se repartió entre EtOAc (20 mL) y H₂O (10 mL). La capa orgánica se separó y se lavó con disolución salina concentrada (10 mL), se secó, se filtró y se concentró bajo vacío. El residuo se purificó mediante HPLC (método 1) para dar el Ejemplo 5 (89,10 mg, 52%).

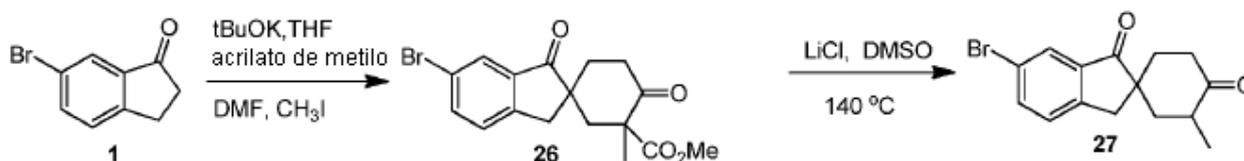
LC-MS: tR = 0,971 min, MS (ESI) m/z 437,2 [M+H]⁺.

¹H RMN: (CD₃OD): δ 7,60 (dd, *J* = 8,0, 1,6 Hz, 1H), 7,46 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,28 (s, 1H), 4,08-4,01 (m, 1H), 3,63-3,90 (m, 4H), 3,33 (s, 3H), 3,09-3,20 (m, 2H), 2,74-2,79 (m, 1H), 1,80-2,06 (m, 5H), 1,65-1,78 (m, 1H), 1,55-1,64 (m, 2H), 1,29-1,35 (m, 3H), 1,07-1,29 (m, 1H), 0,89-0,96 (m, 1H), 0,85 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H).

Ejemplo 6

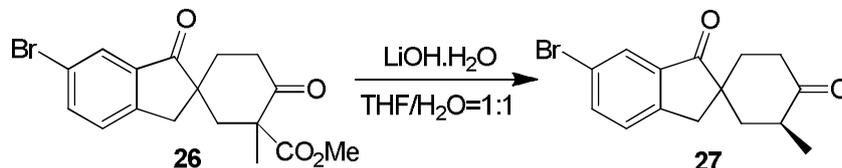


Etapa 1: Síntesis del intermediario 27



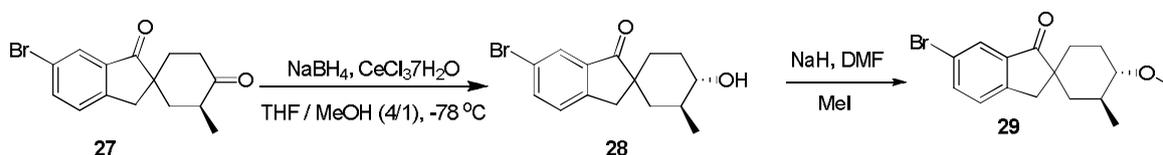
Un matraz de 3 L secado al horno se cargó con 6-bromo-1-indanona (100 g, 473,8 mmoles), acrilato de metilo (86,4 g, 90 mL, 995 mmoles, 2,1 eq) y THF anhidro (800 mL), el matraz se sumergió en un baño de enfriamiento de agua-

hielo y se agitó. Inicialmente, se añadió tBuOK (0,5 g) cuidadosamente, después de 2 min, se añadió una segunda porción de tBuOK (0,5 g). El baño de enfriamiento se retiró y se añadió el resto del tBuOK (63 g) en porciones iguales durante 20 min (total 64 g, 568,6 mmoles, 1,2 eq). La mezcla se agitó durante otras 2 h a rt. Se añadió DMF (240 mL) a la mezcla de reacción, seguida por MeI (134,6 g, 60 mL, 947,6 mmoles, 2,0 eq) y la mezcla se agitó durante otras 2 h. La reacción se detuvo con disolución de ácido cítrico 10%. Luego, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para eliminar la mayor parte del disolvente antes de filtrarla. La torta se lavó con agua, seguida por MeOH para dar el intermediario crudo **26** (200 g) que se usó en la etapa siguiente directamente.



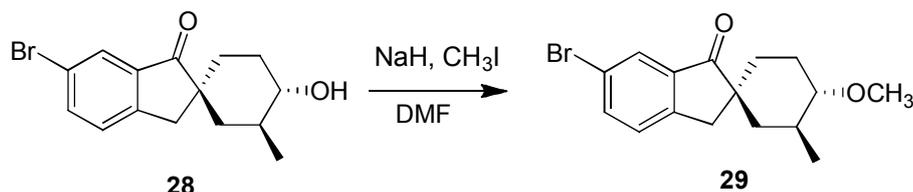
A una disolución del compuesto **26** (200 g, 547,6 mmoles, crudo) en THF/H₂O (1,8 L/1,8 L) se añadió LiOH.H₂O (92 g, 2.190 mmoles, 4,0 eq). La mezcla se agitó durante 16 h a rt y luego durante 12 h a 70°C. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para eliminar el THF y se filtró. La torta se lavó con H₂O, y luego se agitó con MeOH (50 mL) durante algunos minutos y se filtró nuevamente, y se lavó con una cantidad adicional de MeOH (50 mL). El sólido se recogió para dar el intermediario **27** (75 g, 51,7%).

Etapa 2: Síntesis del intermediario 29



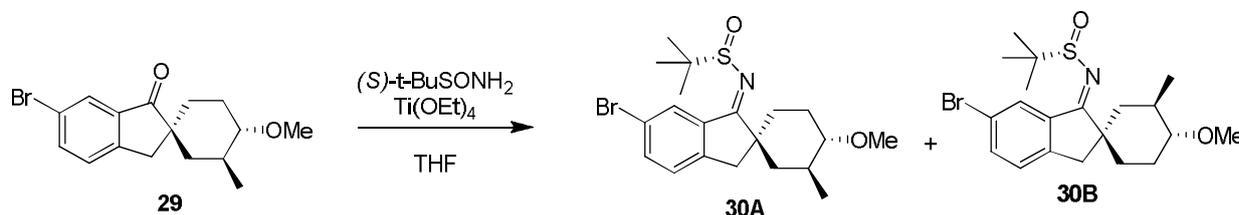
Un matraz de tres bocas se cargó con CeCl₃·7H₂O (1,2 g, 3,3 mmoles) y MeOH anhidro (60 mL) bajo una atmósfera de nitrógeno y se agitó para dar una disolución transparente. El compuesto **27** (10,0 g, 32,6 mmoles) y THF anhidro (240 mL) se añadieron bajo una atmósfera de nitrógeno, la mezcla se enfrió hasta -78°C. Se añadió NaBH₄ (0,4 g, 13,0 mmoles) a -78°C bajo una atmósfera de nitrógeno con agitación vigorosa. La mezcla se agitó a -78°C durante 20 min. La mezcla de reacción se detuvo mediante la adición de NH₄Cl acuoso saturado (100 mL) y H₂O (200 mL) a -78°C con agitación. La mezcla se dejó calentar lentamente hasta temperatura ambiente. La mezcla se extrajo con EtOAc (3 × 150 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (2 × 200 mL), disolución salina concentrada (2 × 200 mL), se secaron, se filtraron y se concentraron bajo vacío, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice eluyendo con éter de petróleo: EtOAc (20: 1 a 3: 1) para dar el intermediario **28** (7,5 g, 75%). LC-MS: t_R = 3,195 min: MS (ESI) m/z 311,0 [M+H]⁺.

¹H RMN: (CDCl₃): δ 7,59 (s, 1H), 7,22-7,25 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,88-6,91 (dd, J = 2,4, 8,4 Hz, 1H), 6,80-6,81 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 5,84 (s, 1H), 4,87 (s, 2H), 4,31-4,36 (m, 2H), 3,50-3,55 (q, J = 6,8 Hz, 2H), 3,15-3,25 (m, 1H), 3,09-3,14 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 3,00-3,06 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 1,90-2,10 (m, 3H), 1,25-1,50 (m, 5H), 1,15-1,25 (t, J = 6,4 Hz, 3H).



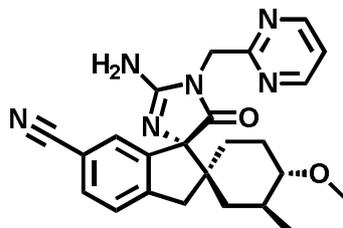
A una mezcla del compuesto **28** (6,18 g, 20 mmoles) en DMF (20 mL) se añadió NaH (60% en aceite mineral, 0,96 g, 40 mmoles) a 0°C. Luego, la mezcla se agitó durante 2 h, luego se añadió MeI (3,5 mL) a la mezcla y se agitó durante la noche. La mezcla se diluyó con EtOAc (40 mL) y H₂O (40 mL), se extrajo con EtOAc (2 × 60 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron y el disolvente se eliminó para dar el intermediario **29** (5,0 g).

Etapa 2: Síntesis del intermediario 30A y 30B



- 5 A una disolución del intermediario **29** (5,0 g, 15,3 mmoles) en THF (100 mL) se añadió $\text{Ti}(\text{OEt})_4$ (35,0 g, 153 mmoles). Después de agitar a rt durante 1 h, se añadió (*S*)-*N*-*tert*-butil-sulfonamida (7,4 g, 61,2 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a reflujo durante la noche y la mezcla se repartió entre H_2O (80 mL) y EtOAc (80 mL). La mezcla se filtró y el filtrado se extrajo con EtOAc (3 × 80 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con disolución salina concentrada (50 mL), se secaron y se concentraron hasta el residuo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc = 20:1) eluyendo en el siguiente orden para dar los intermediarios **30A** (1,6 g, 35%) y **30B** (1,4 g, 33%).

Síntesis del Ejemplo 6

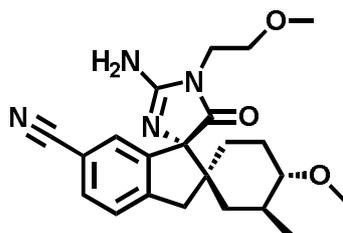


- 10 El Intermediario **30A** se elaboró adicionalmente como se ilustra en las etapas 4 a 10 en el Ejemplo 5. En la etapa 9, se usó 2-aminometilpirimidina en lugar de *R*-(2-aminometil)tetrahydrofurano.

LC-MS: tR = 1,05 MS (ESI) m/z 431,4 [M+H]⁺.

- 15 ¹H RMN: (CD₃OD): δ 8,78 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 7,76 (s, 1H), 7,75 (dd, *J* = 6,0, 1,6 Hz, 1H), 7,56 (d, *J* = 8,4 Hz, 1H) 7,44 (t, *J* = 5,2 Hz 1H), 5,16 (m, 2H), 3,38 (s, 3H), 3,24 (m, 2H), 2,79 (m, 1H), 2,15 (m, 1H), 1,74 (m, 1H), 1,65 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 1,39-1,57 (m, 4H), 0,99 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H).

Ejemplo 7

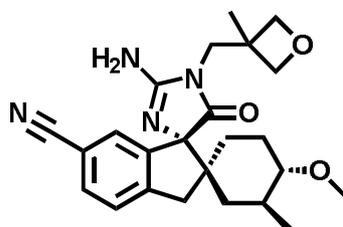


- 20 Éste se sintetizó mediante un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 6. El Intermediario **30A** se elaboró adicionalmente como se describe en el Ejemplo 1 a través de las etapas 4-10. Se usó (2-metoxi) etilamina en la etapa 9 seguido de oxidación como se describe en la etapa 10 para dar el Ejemplo 7.

LC-MS: tR = 1,08 min, MS (ESI) m/z 397 [M+H]⁺.

- 25 ¹H RMN: (CD₃OD) δ 7,74 (d, 1H, *J* = 8 Hz), 7,63 (d, 1H, *J* = 1 Hz), 7,57 (d, 1H, *J* = 8 Hz), 4,02-3,95 (m, 1H), 3,89-3,83 (m, 1H), 3,54 (m, 2H), 3,36 (s, 3H), 3,35 (s, 3H), 3,24 (ap q, 2H, *J* = 16 Hz), 2,75 (m, 1H), 2,10 (m, 1H), 1,79 (dt, 1H, *J* = 13, 2 Hz), 1,56 (m, 1H), 1,41 (m, 3H), 1,14 (t, 1H, *J* = 13 Hz), 1,01 (d, 3H, *J* = 6 Hz).

Ejemplo 8



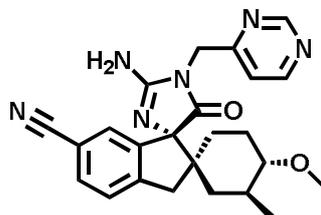
- 30 Éste se sintetizó mediante un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 6. Se usó (3-metiloxetan-3-il)metanamina como se describe en el Ejemplo 1 en la etapa 9 seguido de oxidación como se describe en la etapa 10 para dar el Ejemplo 8.

- LC-MS: tR = 0,930 min, MS (ESI) m/z 423,0 [M+H]⁺.

¹H RMN: (CD₃OD): δ 7,66-7,64 (d, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,51-7,49 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,34 (s, 1H), 4,72-4,67 (m, 2H), 4,29-4,25 (m, 2H), 3,74-3,59 (m, 2H), 3,37 (s, 3H), 3,25-3,14 (m, 2H), 2,74-2,67 (m, 1H), 2,08-2,03 (m, 1H), 1,80-1,53

(m, 3H), 1,30 (m, 5H), 1,08 (m, 1H), 0,90 (m, 3H).

Ejemplo 9

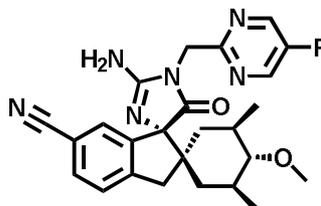


5 Éste se sintetizó mediante un procedimiento similar al descrito en el Ejemplo 6. Se usó 4-(aminometil)pirimidina como se describe en el Ejemplo 1 en la etapa 9, seguido de oxidación como se describe en la etapa 10 en el Ejemplo 6 para dar el Ejemplo 9.

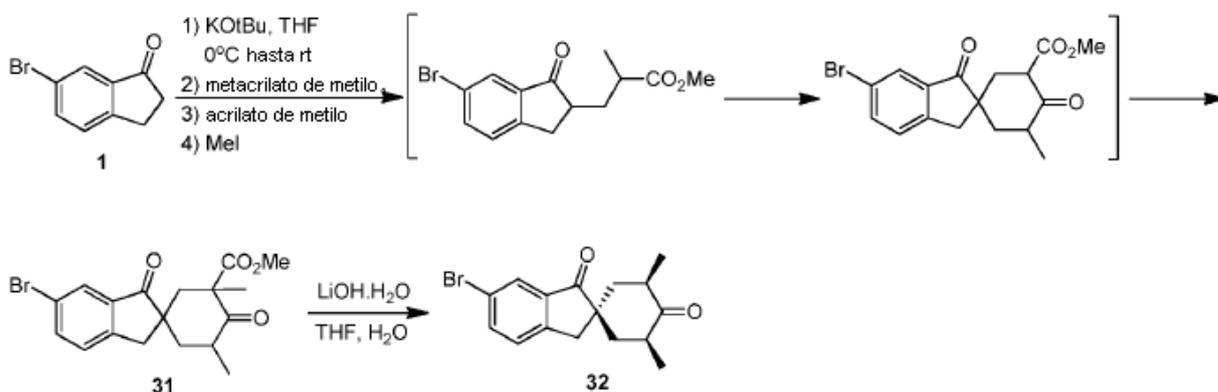
LCMS: $t_R = 0,88$ min, MS (ESI) m/z 431,2 $[M+H]^+$.

10 1H RMN: (CD_3OD): δ 9,05 (s, 1H), 8,70-8,71 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 7,60-7,62 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,44-7,47 (m, 3H), 4,86 (s, 2H), 3,35 (s, 3H), 3,10-3,20 (q, 2H), 2,70-2,71 (m, 1H), 2,04-2,06 (m, 1H), 1,70 (m, 2H), 1,491 (m, 1H), 1,30-1,33 (m, 2H), 1,15-1,18 (m, 1H), 0,95-0,96 (d, $J = 6,0$ Hz, 3H).

Ejemplo 10



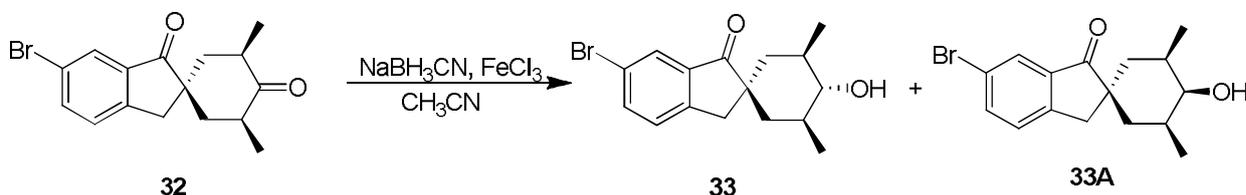
Etapa 1: Síntesis del intermediario 32



15 A una mezcla de 6-bromo-indan-1-ona (100,00 g, 473,8 mmoles) en THF anhidro (1 L) a 0°C se añadió *t*-BuOK (58,5 g, 521,2 mmoles, 1,1 eq), 2 min después la mezcla se calentó hasta rt y se agitó durante otros 10 min antes de añadir metacrilato de metilo (49,8 g, 53,2 mL, 497,5 mmoles, 1,05 eq) en una porción. Después de 2h, se añadió acrilato de metilo (49,0 g, 51,2 mL, 568,6 mmoles, 1,2 eq) a la mezcla de reacción. Después de 3 h a rt, se añadió Mel (101 g, 44,3 mL, 710,7 mmoles, 1,5 eq) a la mezcla de reacción, y se agitó durante 16 h. Se añadió H₂O (1 L) seguida por LiOH·H₂O (79,5 g, 1.895,2 mmoles, 4,0 eq), la mezcla se agitó durante 28 h a temperatura ambiente. El THF se retiró bajo presión reducida. El residuo se diluyó con H₂O (1 L) y se filtró, se lavó con H₂O hasta que el filtrado fue neutro. El producto se lavó con MeOH para dar 50 g del intermediario 32.

20

Etapa 2: Síntesis del intermediario 33

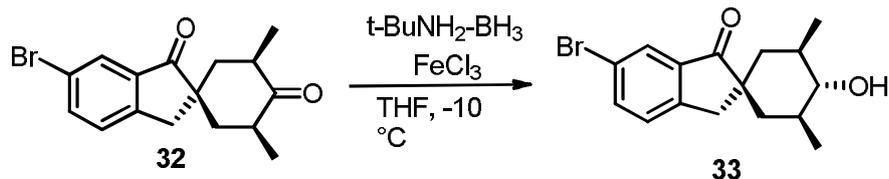


A una mezcla del intermediario **32** (60,0 g, 186,9 mmoles) y FeCl_3 (33,0 g, 205,5 mmoles, 1,1 eq) en THF (600 mL) se añadió NaBH_3CN (29,4 g, 367,1 mmoles, 2,5 eq) a 0°C . La mezcla se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h a rt. La reacción se detuvo mediante la adición de agua y el THF se retiró bajo vacío. Se extrajo con DCM (3 x 200 mL). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con H_2O y disolución salina concentrada, se secaron, y se concentraron bajo vacío para dar el producto crudo, el cual se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice para dar el compuesto **33** (25,2 g, 42%) y **33A** (12,0 g).

LC-MS: tR = 1,239 min, MS (ESI) m/z 323,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H -RMN (CDCl_3): δ : 7,889-7,894 (s, 1H), 7,671-7,696 (d, 1H), 7,311-7,332 (d, 1H), 3,605 (s, 1H), 2,981 (s, 2H), 1,769-1,797 (m, 4H), 1,072-1,082 (m, 2H), 1,019-1,056 (m, 6H).

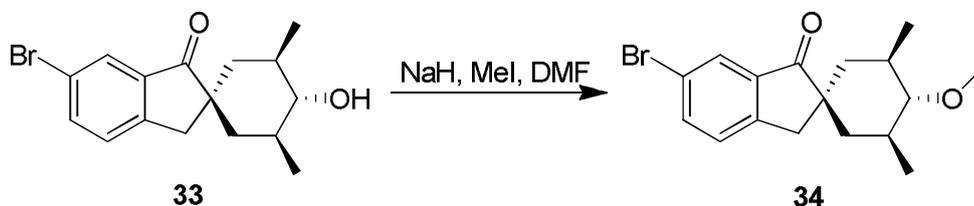
10 **Etapa 2: Síntesis alternativa del intermediario 33**



Una mezcla de FeCl_3 (6,0 g, 37,0 mmoles) con tolueno (60 mL) se enfrió hasta 0°C . Una mezcla del compuesto **32** (11,9 g, 37,0 mmoles) en THF (48 mL) se añadió a la mezcla. La mezcla se agitó durante 5 min a 0°C y luego se enfrió hasta -10°C . Se añadió una disolución de $t\text{-BuNH}_2\text{-BH}_3$ (3,5 g, 40,7 mmoles) en THF (12 mL) gota a gota a la mezcla de reacción a -10°C . La mezcla de reacción se agitó a aproximadamente -10°C durante 30 min, se detuvo con disolución acuosa de HCl 6N (10 mL), se agitó a aproximadamente 0°C durante 30 min, y luego se dejó calentar hasta temperatura ambiente. La mezcla se concentró para eliminar el THF, y se añadió tolueno (60 mL). La capa acuosa se retiró, y la fase orgánica se lavó con agua (3 x 60 mL). La fase orgánica se concentró hasta la mitad del volumen, se calentó hasta 50°C para obtener una disolución, y luego se enfrió hasta 0°C a lo largo de 1 h y se mantuvo a 0°C durante 1 h. El sólido se filtró y se lavó con tolueno frío (0°C) (12 mL), y se secó bajo vacío para dar el compuesto **33** (9,93 g, 83%).

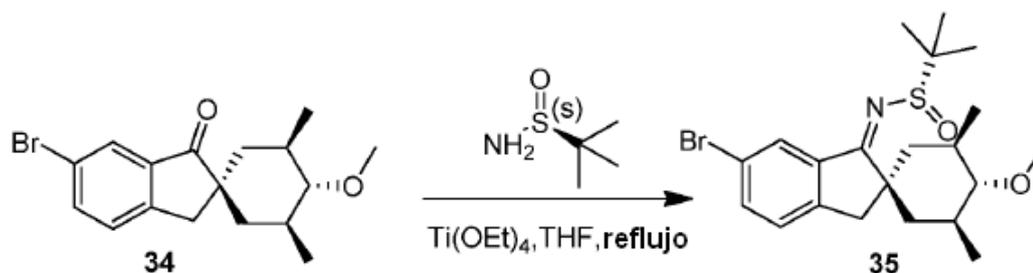
LC-MS: tR = 2,36 min, MS (ESI) m/z 323,0/325,0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

15 **Etapa 3: Síntesis del intermediario 34**



A una mezcla del compuesto **33** (20,0 g, 61,9 mmoles) con DMF (200 mL) se añadió NaH (5,0 g, 123,8 mmoles, 2,0 eq) a 0°C . Luego se agitó durante 15 min a 0°C y se añadió MeI (17,6 g, 123,8 mmoles, 2,0 eq) a 0°C . Luego se calentó hasta rt y se agitó durante 1,5 h a rt. La mezcla se detuvo con H_2O y se extrajo con EtOAc. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con H_2O y disolución salina concentrada, se secaron, se concentraron para dar un producto crudo, el cual se purificó mediante columna en gel de sílice (eluyente: éter de petróleo: EtOAc desde 100/1 hasta 5/1) para dar el intermediario **34** (20 g, 96,2%).

20 **Etapa 4: Síntesis del intermediario 35**

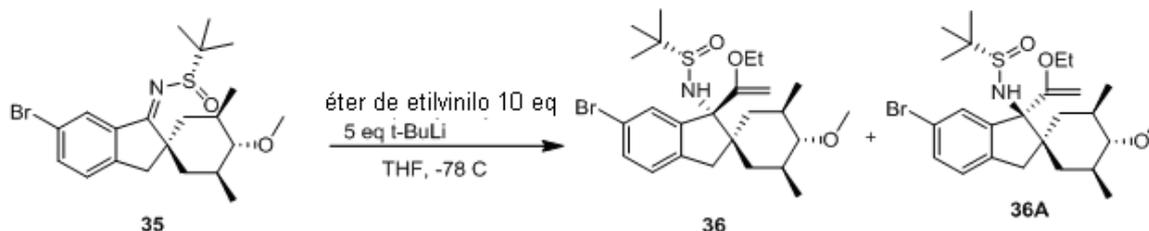


La mezcla del compuesto **34** (20,0 g, 59,3 mmoles) y etóxido de titanio (IV) (108,2 g, 474,4 mmoles) en THF seco (200 ml) se agitó a rt durante 1 h. Se añadió (*S*)-*N*-*tert*-butilsulfonamida (29 g, 237,2 mmoles). La mezcla resultante se agitó a 80°C bajo atmósfera de N_2 durante la noche. La mezcla de reacción luego se enfrió y se añadió agua (400

35

ml). La mezcla se filtró y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 × 400 mL). La fase orgánica separada se secó y se concentró bajo presión reducida para dar un producto crudo. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc= 20:1) para dar el intermediario **35** (18,4 g, 70,5%).

Etapa 5: Síntesis del intermediario 36

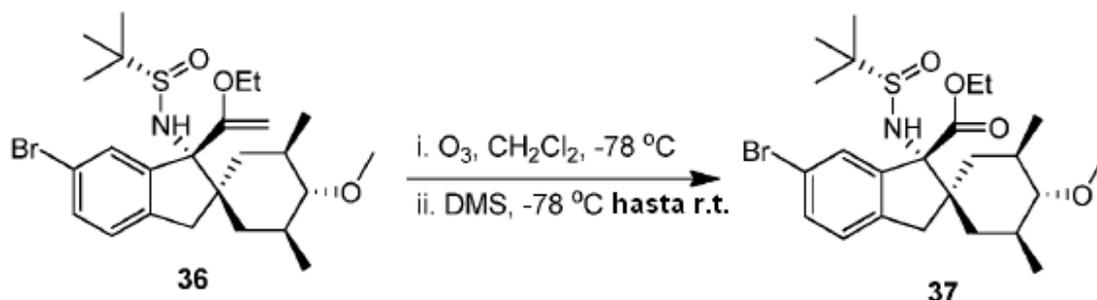


Se añadió *t*-BuLi (131 mL, 170,3 mmoles, 1,3 M en hexano) gota a gota a una disolución de éter de etilvinilo (12,3 g, 170,3 mmoles, 5,0 eq) en THF anhidro (100 mL) a -78°C bajo N_2 y se agitó durante 20 min. La mezcla resultante luego se agitó a 0°C durante otros 45 min. La disolución se enfrió nuevamente hasta -78°C y se añadió el compuesto **35** (15,0 g, 34,1 mmoles) en THF anhidro (50 mL) gota a gota y la mezcla se agitó durante 2 h a -78°C . La mezcla de reacción se detuvo con NH_4Cl sat. (50 mL) y se extrajo con EtOAc (3 × 300 mL). La fase orgánica se concentró para dar el residuo, que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice para dar el intermediario **36** (11 g, 64,7%) y **36A** (1,441 g, 100% de pureza).

LC-MS tR = 5,676 min; MS (ESI) m/z 514,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H -RMN (CD_3OD): δ 7,546 (s, 1H), 7,454-7,479 (d, 1H), 7,208-7,228 (d, 1H), 4,620-4,755 (d, 1H), 4,373-4,381 (m, 1H), 4,048-4,055 (m, 1H), 3,844-3,903 (m, 2H), 3,458-3,474 (s, 3H), 2,986-3,000 (m, 2H), 2,326-2,377 (m, 1H), 1,969-2,001 (m, 1H), 1,671 (s, 1H), 1,457-1,520 (t, J = 12 Hz, 3H), 1,373-1,408 (m, 2H), 1,328 (s, 9H), 1,169-1,278 (m, 5H), 1,073-1,106 (d, 3H).

Etapa 5: Síntesis del intermediario 37

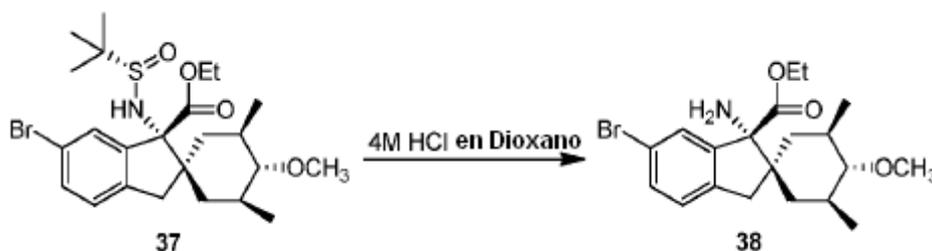


Una mezcla del intermediario **36** (4,8 g, 9,37 mmoles) en $\text{DCM}:\text{MeOH} = 5:1$ (40 mL), se enfrió hasta -78°C y se burbujeó ozono a través de la mezcla durante 20 min. La mezcla luego se purgó con N_2 y se trató con Me_2S (10 mL) a -78°C , luego se dejó calentar hasta rt y se agitó durante 3 h. El disolvente se eliminó bajo vacío, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: EtOAc= 20:1 a 8:1) para dar el intermediario **37** (3,5 g, 72,9%).

LC-MS tR = 1,297 min; MS (ESI) m/z 516,1 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

^1H RMN (CDCl_3): δ 7,84 (s, 1H), 7,42-7,44 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,09-7,11 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 4,40 (s, 1H), 4,26-4,39 (m, 2H), 3,44 (s, 3H), 2,93-2,97 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 2,70-2,74 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 2,22-2,30 (t, J = 10,0 Hz, 1H), 1,75-1,79 (m, 1H), 1,61-1,66 (m, 1H), 1,54-1,57 (m, 2H), 1,32-1,38 (m, 4H), 1,14 (s, 9H), 1,06-1,08 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,89-0,91 (d, J = 6,0 Hz, 3H), 0,67-0,74 (m, 1H).

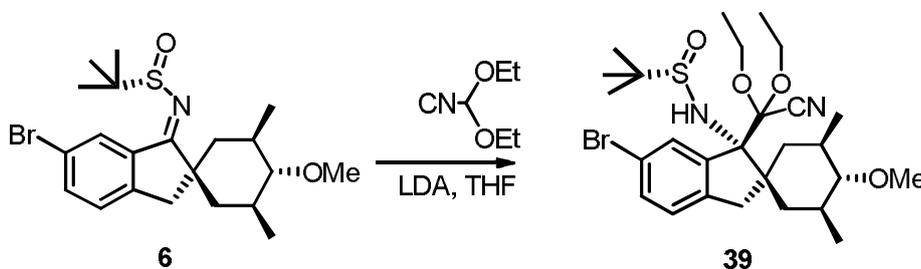
Etapa 6: Síntesis del intermediario 38



Al compuesto **37** (860 mg, 1,7 mmoles) en MeOH (10 mL) se añadió una disolución de HCl 4 M en dioxano (2 mL). La mezcla resultante se agitó durante 30 min. El disolvente se eliminó bajo presión reducida para dar el intermediario crudo **38** (800 mg). El residuo se usó para la etapa siguiente sin purificación adicional.

Síntesis alternativa del intermediario 38

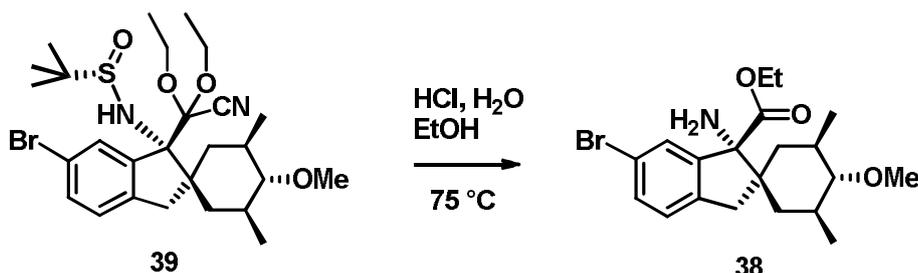
5 **Etapa 1: Síntesis del intermediario 39**



Una mezcla del intermediario **6** (5,00 g, 11,4 mmoles), dietoxiacetonitrilo (3,5 mL, 24,4 mmoles) y THF (50 mL) se enfrió hasta -7°C y se trató gota a gota con LDA (25,0 mL, 45,0 mmoles, 1,8M en THF/heptano/etilbenceno). La mezcla se agitó a -7 a -2°C durante 2 h, y luego se detuvo con agua (50 mL) y NH_4Cl acuoso saturado (25 mL). Se añadió hexano (100 mL), y las capas se separaron. La capa orgánica se lavó con agua, disolución salina concentrada, y se concentró para dar el intermediario crudo **39** (9,00 g, 139%) que se usó directamente en la etapa siguiente.

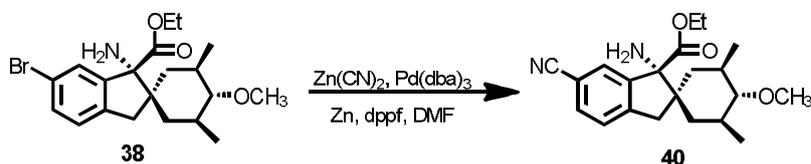
LC-MS: tR = 3,74 min, MS (ESI) m/z 523,2/525,2 $[\text{M}-\text{OEt}+\text{H}]^+$

15 **Etapa 2: Síntesis del intermediario 38**



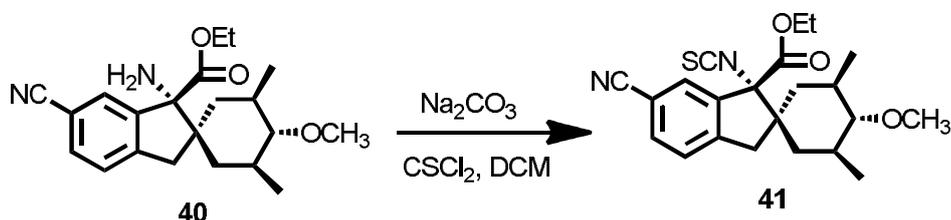
Una mezcla de intermediario **39** anterior (9,00 g, 11,4 mmoles) en EtOH (30 mL) se trató con HCl acuoso 6N (20 mL). La mezcla de reacción se calentó a 75°C durante 24 h y se enfrió hasta rt. La reacción se extrajo con tolueno (50 mL), y la fase acuosa se basificó hasta pH = 8 con NaOH acuoso 2N (~60 mL). Se añadió tolueno (100 mL), y las capas se agitaron y se separaron. La capa orgánica se lavó con NaHCO_3 acuoso y disolución salina concentrada y se concentró. Se añadió hexano y la disolución se concentró nuevamente para dar el intermediario **38** crudo (3,47 g, 74%) que se usó directamente en la etapa siguiente. LC-MS: tR = 0,86 min, MS (ESI) m/z 410,2/412,2 $[\text{M}+\text{H}]^+$

25 **Etapa 7: Síntesis del intermediario 40**



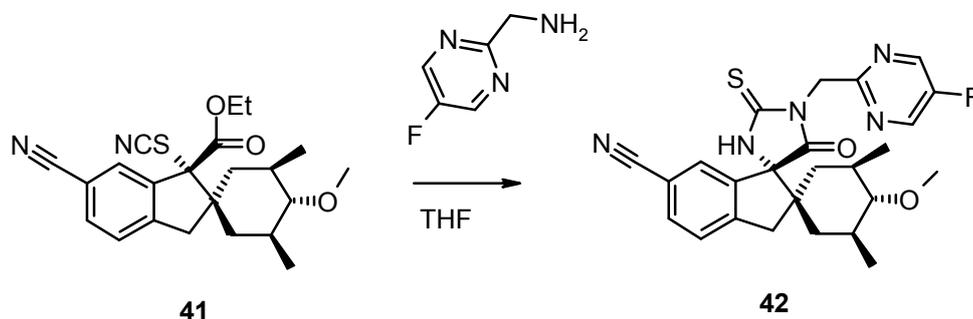
El Intermediario **40** se sintetizó de manera análoga a la descrita en la etapa 7 del intermediario **10A**. Se usó directamente en la etapa siguiente.

Etapa 8: Síntesis del intermediario 41



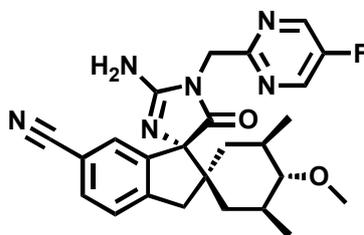
El Intermediario **41** se sintetizó de manera análoga a la descrita en la etapa 8 del intermediario **11A**. El intermediario crudo **41** se usó directamente en la etapa siguiente.

Etapa 9: Síntesis del intermediario 42



- 5 El Intermediario **42** se sintetizó de manera análoga a la descrita en la etapa 9 del intermediario **12A**. El intermediario crudo **42** se usó directamente en la etapa siguiente.

Etapa 10: Síntesis del Ejemplo 10



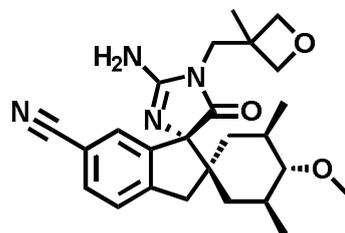
- 10 A una disolución del intermediario **42** (400 mg, 0,8 mmoles) en EtOH (8 mL) se añadió NH₃-H₂O (1 mL) e hidropéroxido de *tert*-butilo (1 mL). Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. El disolvente se eliminó mediante evaporación bajo vacío. El residuo se purificó mediante HPLC preparativa, método 1, para dar el Ejemplo **6** (65,0 mg, rendimiento 20%).

LC-MS: t_R = 0,945 min, MS (ESI) m/z 463,2 [M+H]⁺.

- 15 ¹H RMN: (CD₃OD) δ 8,65-8,70 (s, 2H), 7,60-7,65 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 7,45-7,55 (m, 2H), 4,95-5,00 (s, 2H), 3,40-3,45 (s, 3H), 3,10-3,20 (m, 2H), 2,30-2,40 (m, 1H), 1,70-1,80 (m, 3H), 1,45-1,55 (m, 1H), 1,25-1,35 (m, 2H), 0,90-1,00 (m, 6H).

¹⁹F RMN (400 MHz, MeOD): -141,57

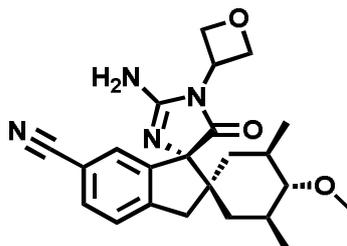
Ejemplo 11



- 20 El Ejemplo **11** se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo **10**. En la etapa 9, se usó (3-metiloxetan-3-il)metanamina en lugar de (5-fluoropirimidin)-2-metilamina para dar el Ejemplo **11**

LC-MS: t_R = 0,96 min, MS (ESI) m/z 437 [M+H]⁺.

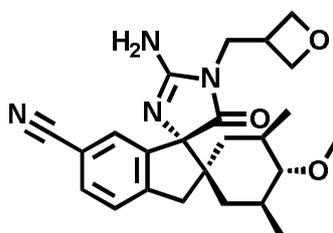
- 25 ¹H RMN: (CD₃OD) δ 7,75 (dd, J = 7,6, 1,6 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 1,6 Hz, 1H), 7,56 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,60 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 4,32 (dd, J = 8,0, 6,4 Hz, 2H), 3,97 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 3,69 (d, J = 15,6 Hz, 1H), 3,44 (s, 3H), 3,25 (m, 2H), 2,44 (t, J = 10,0 Hz, 1H), 1,81-1,75 (m, 2H), 1,67 (m, 1H), 1,41 (s, 3H), 1,36 (m, 1H), 1,30-1,21 (m, 2H), 1,07 (d, J = 6,4 Hz, 3H), 0,98 (d, J = 6,4 Hz, 3H).

Ejemplo 12

El Ejemplo 12 se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. En la etapa 9, se usó 2-aminooxetano en lugar de (5-fluoropirimidin)-2-metilamina para dar el Ejemplo 12.

5 LC-MS: $t_R = 0,91$ min, MS (ESI) m/z 409 $[M+H]^+$.

1H RMN: (CD_3OD): δ 7,75 (dd, $J = 7,6, 1,2$ Hz, 1H), 7,71 (d, $J = 1,2$ Hz, 1H), 7,56 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 5,28 (m, 1H), 5,13 (dd, $J = 14,0, 6,8$ Hz, 2H), 4,87 (dd, $J = 8,0, 6,4$ Hz, 2H), 3,44 (s, 3H), 3,26 (m, 2H), 2,43 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,85-1,77 (m, 2H), 1,68 (m, 1H), 1,35-1,18 (m, 3H), 1,03 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,97 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H).

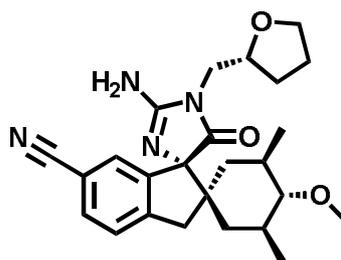
Ejemplo 13

10

El Ejemplo 13 se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. En la etapa 9, se usó oxetan-3-ilmelanamina en lugar de (5-fluoropirimidin)-2-metilamina para dar el Ejemplo 13.

LC-MS: $t_R = 0,904$ min; MS (ESI) m/z 423,3 $[M+H]^+$.

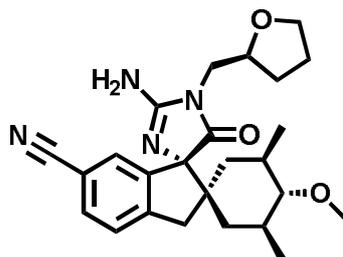
15 1H RMN: (CD_3OD): δ 7,60-7,62 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,45-7,47 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,27 (s, 1H), 4,69-4,73 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 4,44-4,49 (d, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,85-3,91 (m, 1H), 3,74-3,80 (m, 1H), 3,42 (s, 3H), 3,34-3,38 (m, 1H), 3,08-3,22 (m, 2H), 2,32-2,37 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,61-1,71 (m, 3H), 1,38 (m, 1H), 1,19-1,23 (m, 1H), 0,92-0,99 (m, 7H).

Ejemplo 14

20 El Ejemplo 14 se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. En la etapa 9, se usó (S)-2-(aminometil)-tetrahidrofurano en lugar de (5-fluoropirimidin)-2-metilamina para dar el Ejemplo 14. LC-MS: $t_R = 1,02$ min, MS (ESI) m/z 437 $[M+H]^+$.

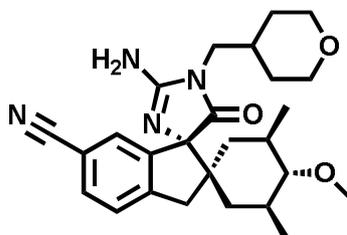
1H RMN: (CD_3OD): δ 7,75 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,53 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,35 (s, 1H), 4,16 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 3,83 (m, 1H), 3,70 (m, 2H), 3,50 (s, 3H), 3,30 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 3,19 (d, $J = 15,6$ Hz, 1H), 2,42 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 2,08-1,95 (m, 3H), 1,88-1,1,63 (m, 4H), 1,55 (m, 1H), 1,40-1,30 (m, 2H), 1,05 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 1,01 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H).

25

Ejemplo 15

El Ejemplo 15 se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. En la etapa 9, se usó (*R*)-2-(aminometil)-tetrahidrofurano en lugar de (5-fluoropirimidin)-2-metilamina para dar el Ejemplo 15. LC-MS: $t_R = 1,02$ min, MS (ESI) m/z 437 $[M+H]^+$.

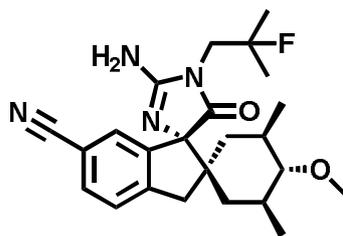
1H RMN: (CD_3OD): δ 7,61 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,46 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,25 (s, 1H), 4,07 (m, 1H), 3,88 (m, 1H), 3,73 (m, 1H), 3,66 (dd, $J = 14,8, 3,2$ Hz, 1H), 3,57 (dd, $J = 14,8, 6,8$ Hz, 1H), 3,42 (s, 3H), 3,23 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 3,10 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 2,35 (t, $J = 10,4$ Hz, 1H), 2,01-1,86 (m, 3H), 1,76-1,50 (m, 4H), 1,44 (t, $J = 13,2$ Hz, 1H), 1,24 (m, 1H), 1,03 (t, $J = 12,8$ Hz, 1H), 0,98 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,93 (d, $J = 6,4$ Hz, 1H).

Ejemplo 16

El Ejemplo 16 se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. En la etapa 9, se usó 2-(aminometil)-tetrahidropirano en lugar de (5-fluoropirimidin)-2-metilamina para dar el Ejemplo 16.

LC-MS: $t_R = 0,958$ min, MS (ESI) m/z 451,3 $[M+H]^+$.

1H RMN (CD_3OD): δ 7,62-7,65 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,48-7,50 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 3,93-3,96 (m, 2H), 3,37-3,45 (m, 7H), 3,23-3,27 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 3,11-3,15 (d, $J = 16,0$ Hz, 1H), 2,35-2,40 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,96-2,03 (m, 1H), 1,53-1,80 (m, 5H), 1,23-1,46 (m, 4H), 0,92-1,08 (m, 7H).

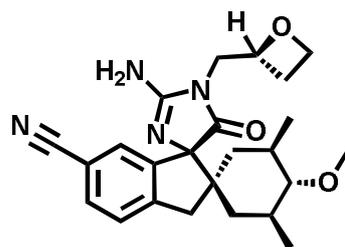
Ejemplo 17

El Ejemplo 17 se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. En la etapa 9, se usó el intermediario 18 en lugar de (5-fluoropirimidin)-2-metilamina para dar el Ejemplo 17.

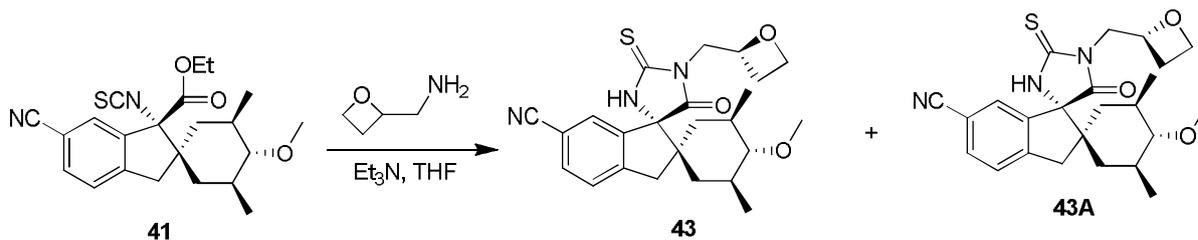
LC-MS: $t_R = 0,969$ min, MS (ESI) m/z 427,2 $[M+H]^+$.

1H RMN: (CD_3OD): δ 7,63-7,65 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,49-7,51 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 3,70-3,76 (m, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,13-3,28 (m, 2H), 2,36-2,41 (t, $J = 10,0$ Hz, 1H), 1,65-1,84 (m, 3H), 1,48-1,51 (m, 1H), 1,37-1,42 (m, 6H), 1,26-1,33 (m, 1H), 1,02-1,09 (m, 1H), 0,92-1,00 (m, 6H). ^{19}F RMN: (CD_3OD): δ -139,58.

Ejemplo 18



Etapa 9: Síntesis del intermediario 43

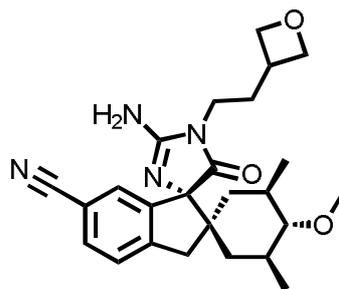


- 5 A una disolución del compuesto **41** (1 g, 2,51 mmoles) en THF (25 mL) se añadió el compuesto 2-(2-aminometil)oxetano (262 mg, 3,01 mmoles) y trietilamina (760 mg, 7,53 mmoles). La mezcla se agitó a rt durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (45 mL), seguido por NaHCO₃ acuoso saturado (2 × 35 mL) y disolución salina concentrada (2 × 35 mL). El disolvente se eliminó después de secarse para dar los compuestos **43** y **43A** crudos que se purificaron por SFC-método A. Los diastereómeros se separaron por un SFC-método B. El diastereómero deseado **43** se aisló como un segundo pico bajo estas condiciones. Éste se elaboró adicionalmente
- 10 como se describe en la etapa 10 del Ejemplo **10** para dar el Ejemplo **18**.

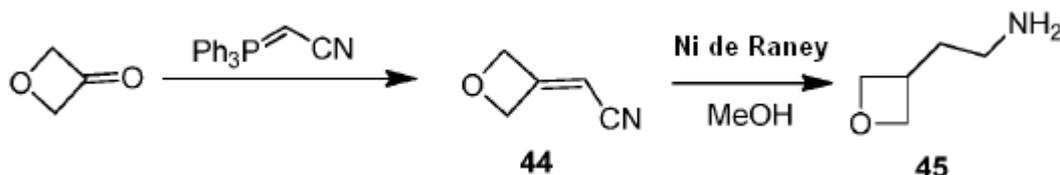
LC-MS: t_R = 0,863 min, MS (ESI) m/z 423,1 [M+H]⁺.

- 15 ¹H RMN: (CD₃OD): δ 7,61-7,63 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,47-7,49 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,30 (s, 1H), 4,95-5,01 (m, 1H), 4,65-4,70 (m, 1H), 4,52-4,58 (m, 1H), 3,73-3,85 (m, 2H), 3,43 (s, 3H), 3,22-3,26 (d, J = 16,0 Hz, 1H), 3,10-3,14 (d, J = 16,4 Hz, 1H), 2,64-2,72 (m, 1H), 2,33-2,45 (m, 2H), 1,59-1,76 (m, 3H), 1,40-1,49 (m, 1H), 1,22-1,27 (m, 1H), 0,93-1,07 (m, 7H).

Ejemplo 19



Síntesis de 3-((2-amino)etil)oxetano



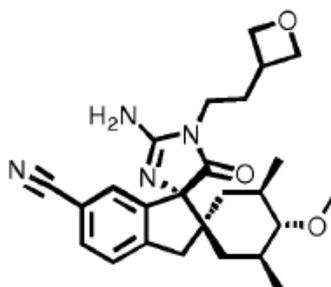
20

Etapa 1: Síntesis del intermediario 44

- 25 A 3-oxanona (0,42 g, 6 mmoles) en DCM (20 mL) se añadió 2-(trifenilfosforaniliden) acetonitrilo (1,8 g, 6 mmoles) y se agitó durante la noche a rt. Después de este tiempo, el disolvente se eliminó bajo presión reducida para dar un producto crudo (260 mg, crudo), que se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (petróleo: EtOAc, 3:1) para dar el intermediario **44** (260 mg, rendimiento 46%) como un sólido blanco.

Etapa 2: Síntesis del intermediario 45

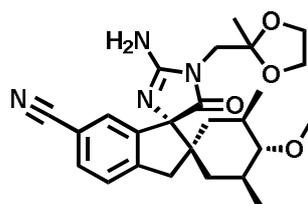
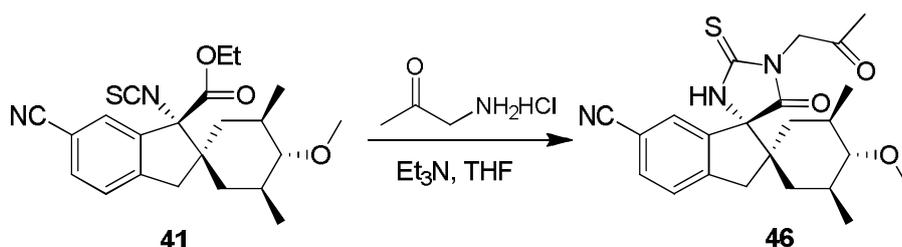
A una mezcla del intermediario **44** (260 mg, 2,74 mmoles) en MeOH (10 mL) se añadió Ni de Raney (100 mg) y se agitó a rt bajo atmósfera de hidrógeno durante 12 h. La mezcla luego se filtró a través de una almohadilla de Celite®. El filtrado se concentró para dar el intermediario **45** (200 mg, crudo).

5 Ejemplo 19

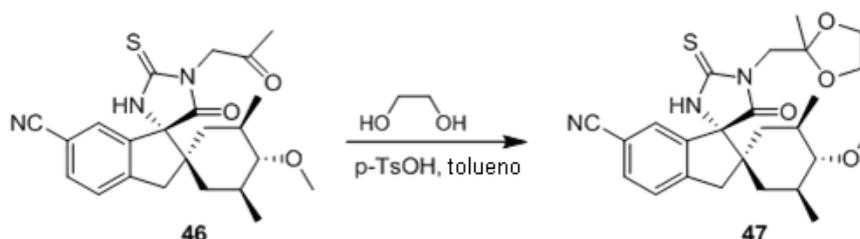
El Ejemplo **19** se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo **10**. En la etapa 9, se usó el intermediario **45** para dar el Ejemplo **19**.

LCMS: tR = 2,358 min, MS (ESI) m/z 437,3 [M+H]⁺.

- 10 ¹H RMN: (CD₃OD): δ 7,64-7,66 (d, 1H), 7,49-7,51 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,31 (s, 1H), 4,74-4,79 (d, 2H), 4,40-4,43 (d, 2H), 3,49-3,52 (m, 2H), 3,45 (s, 3H), 2,95-3,27 (m, 3H), 2,36-2,41 (m, 1H), 1,97-2,05 (m, 2H), 1,21-1,80 (m, 5H), 1,01-1,09 (m, 4H), 0,92-0,99 (m, 3H).

Ejemplo 20**15 Etapa 1: Síntesis del intermediario 46**

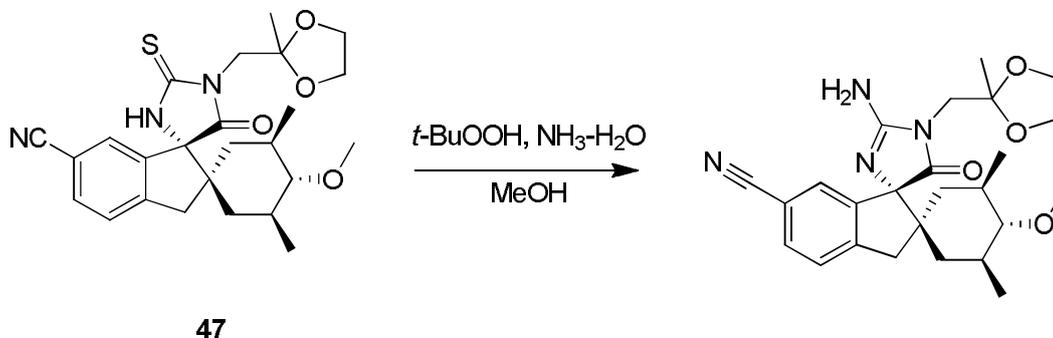
- 20 A una disolución del compuesto **41** (100 mg, 0,25 mmoles) en THF seco (3 mL) se añadió hidrocloreuro de 2-aminoacetona (41 mg, 0,377 mmoles) y trietilamina (76 mg, 0,754 mmoles). La mezcla se agitó durante la noche a rt. La reacción se detuvo añadiendo agua (3 mL) y se extrajo con EtOAc (2 × 5 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron y se evaporaron bajo vacío. El material crudo se purificó mediante TLC preparativa para dar el compuesto **46** (50 mg, 24%).

Etapa 2: Síntesis del intermediario 47

A una disolución del compuesto **46** (50 mg, 0,118 mmoles) en tolueno (3 mL) se añadió etilen glicol (0,03 mL) y

ácido *p*-tolueno sulfónico (1,1 mg, 0,0068 mmoles). La disolución se calentó hasta reflujo durante 2 días. La mezcla de reacción se enfrió hasta rt y se añadió disolución salina concentrada (3 mL). La mezcla se extrajo con EtOAc (2 × 5 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron y se evaporaron bajo vacío. El material crudo se purificó mediante TLC preparativa para dar el compuesto **47** (51 mg, %).

5 **Etapa 3: Síntesis del Ejemplo 20**

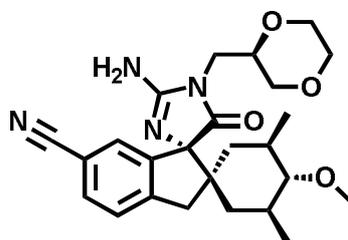


10 A una mezcla del compuesto **47** (51 mg, 0,113 mmoles) en MeOH (2,5 mL) se añadió amoníaco acuoso (0,8 mL), *t*-BuOOH (2,5 mL). La mezcla se agitó durante la noche a rt. Después, se añadió Na₂S₂O₃ sat. (2,5 mL) para detener la reacción. La mezcla se extrajo con EtOAc (2 × 5 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron y se evaporaron bajo vacío. El material crudo se purificó mediante HPLC preparativa básica para dar el Ejemplo **20** (12,8 mg, 25%) como un sólido blanco.

1H-RMN (CD₃OD): δ 7,60 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,50 (d, *J* = 8,1 Hz, 1H), 7,22 (s, 1H), 3,86-4,01 (m, 4H), 3,64-3,75 (m, 2H), 3,42 (s, 3H), 3,03-3,23 (m, 2H), 2,34 (t, 1H), 1,61-1,84 (m, 3H), 1,43 (s, 1H), 1,20-1,37 (m, 4H), 0,89-1,08 (m, 7H).

15 LC-MS t_R = 0,891 min, MS (ESI) *m/z* 453,3 [M+H]⁺

Ejemplo 21

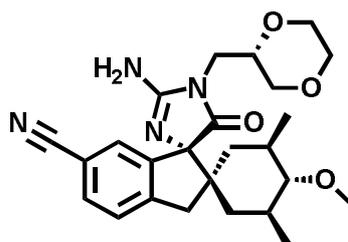


El Ejemplo **21** se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo **10**. En la etapa 9, se usó (R)-(1,4-dioxan-2-il)metanamina para dar el Ejemplo **21**.

20 LC-MS: t_R = 0,928 min, MS (ESI) *m/z* 453,3 [M+H]⁺.

¹H RMN: (CD₃OD): δ 7,63-7,61 (dd, *J* = 1,6 Hz, 4,0 Hz, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,3 (s, 1H), 3,6-3,8 (m, 6H), 3,6-3,5 (m, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,3-3,1 (m, 3H), 2,4 (m, 1H), 1,8-1,6 (m, 3H), 1,6-1,4 (m, 1H), 1,3-1,2 (m, 1H), 1,1 (m, 1H), 0,9-1,01 (m, 6H).

Ejemplo 22

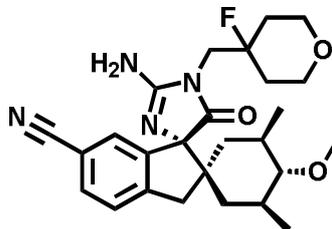


25 El Ejemplo **22** se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo **10**. En la etapa 9, se usó (S)-(1,4-dioxan-2-il)metanamina en lugar de (5-fluoropirimidin)-2-metilamina para dar el Ejemplo **22**.

LC-MS: t_R = 0,928 min, MS (ESI) *m/z* 453,3 [M+H]⁺.

^1H RMN: (CD_3OD): δ 7,63-7,61 (dd, $J = 1,6$ Hz, 4,0 Hz, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,3 (s, 1H), 3,6-3,8 (m, 6H), 3,6-3,5 (m, 2H), 3,45 (s, 3H), 3,3-3,1 (m, 3H), 2,4 (m, 1H), 1,8-1,6 (m, 3H), 1,6-1,4 (m, 1H), 1,3-1,2 (m, 1H), 1,1 (m, 1H), 0,9-1,01 (m, 6H).

Ejemplo 23



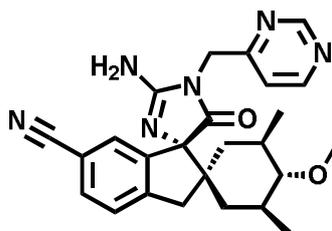
5

El Ejemplo 23 se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. En la etapa 9, se usó el intermediario 25 para dar el Ejemplo 23.

LC-MS: $t_R = 0,918$ min, MS (ESI) m/z 469,2[M+H] $^+$.

10 ^1H RMN: (CD_3OD): δ 7,62 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,48 (d, $J = 8,0$ Hz, 1H), 7,27 (s, 1H), 3,88-3,79 (m, 3H), 3,73-3,62 (m, 3H), 3,43 (s, 3H), 3,25-3,09 (m, 2H), 2,36 (t, 1H), 1,81-1,60 (m, 7H), 1,46 (m, 1H), 1,23 (m, 1H), 1,06 (m, 1H), 0,99-0,92 (m, 6H). ^{19}F RMN: (CD_3OD 400 MHz): δ -160,19.

Ejemplo 24

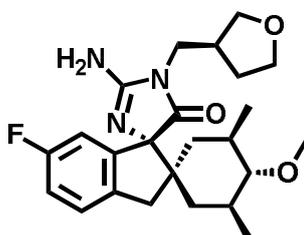


15 El Ejemplo 24 se sintetizó según el procedimiento descrito en el Ejemplo 10. En la etapa 9, se usó 3-pirimidilmetanamina en lugar de (5-fluoropirimidin)-2-metilamina para dar el Ejemplo 24.

LC-MS: $t_R = 0,867$ min, MS (ESI) m/z 445,1 [M+H] $^+$.

^1H RMN: (CD_3OD): δ 9,08 (s, 1H), 8,74 (d, $J = 5,2$ Hz, 1H), 7,65 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,48 (m, 3H), 4,90 (s, 2H), 3,46 (s, 3H), 3,12-3,24 (m, 2H), 2,41 (m, 1H), 1,63-1,75 (m, 3H), 1,49 (m, 1H), 1,28 (m, 2H), 1,02 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H), 0,96 (d, $J = 6,4$ Hz, 3H).

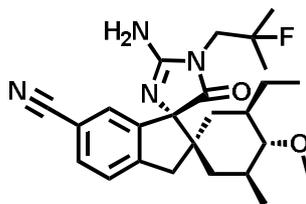
20 Ejemplo 25



El Ejemplo 25 se sintetizó en un método similar al del Ejemplo 18. En la etapa 9, se utilizó (tetrahidrofurano-3-il)metanamina y los dos diastereómeros se separaron por SFC-Método B. La elaboración adicional del intermediario proveniente del segundo pico de SFC-Método B dio el Ejemplo 26.

25 LCMS: $t_R = 0,845$ min; m/z 430,3[M+H] $^+$.

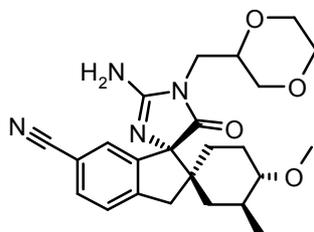
^1H RMN: (CD_3OD): δ 7,63-7,66 (m, 1H), 7,49-7,51 (m, 1H), 7,31 (s, 1H), 3,84-3,93 (m, 1H), 3,71-3,81 (m, 2H), 3,48-3,63 (m, 3H), 3,43 (s, 3H), 3,11-3,31 (m, 2H), 2,51-2,78 (m, 2H), 1,22-2,09 (m, 7H), 1,00-1,06 (m, 4H), 0,93-0,99 (m, 3H).

Ejemplo 26

El Ejemplo 26 se sintetizó en un método similar al del Ejemplo 1. En la síntesis del Ejemplo 28, en la etapa 1 del Ejemplo 1, se usó metacrilato de metilo en lugar de acrilato de metilo. En la etapa 3, se aisló el isómero polar correspondiente 6B y se elaboró adicionalmente como se describe en el Ejemplo 1. En la etapa 9, se utilizó el intermediario 17 para dar el Ejemplo 28.

LC-MS: $t_R = 1,16$ min, MS (ESI) m/z 441 $[M+H]^+$.

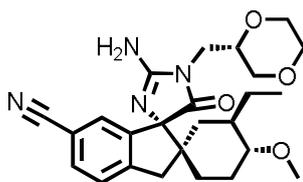
1H RMN (CD_3OD): δ 7,64 (dd, 1H, $J = 8, 2$ Hz), 7,50 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 7,30 (s, 1H), 3,73 (dd, 2H, $J = 22, 4$ Hz), 3,44 (s, 3H), 3,19 (ap q, 2H, $J = 16$ Hz), 2,49 (t, 1H, $J = 10$ Hz), 1,82-1,72 (m, 2H), 1,71 -1,63 (m, 1H), 1,55 (m, 1H), 1,42-1,33 (m, 8H), 1,22-1,12 (m, 1H), 1,08 (t, 1H, $J = 13$ Hz), 1,01 (d, 3H, $J = 6$ Hz), 0,79 (t, 3H, $J = 7$ Hz).

Ejemplo 27

El Ejemplo 27 se sintetizó mediante un método como se describe en el Ejemplo 6. Se usó (1,4-dioxan-2-il)metanamina en la etapa 9 seguido de oxidación como se describe en la etapa 10 para dar el Ejemplo 27.

LC-MS: $t_R = 0,68$ min, MS (ESI) m/z 439 $[M+H]^+$

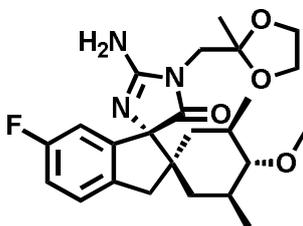
1H RMN: (CD_3OD , 400 MHz) δ 7,67 (no resuelto, 1H), 7,48 (d, 1H), 7,20 (no resuelto, 1H), 6,66 (s, 2H), 3,78 – 2,97 (m, 14H), 2,59 (m, 1H), 1,92 (m, 1H), 1,66 (m, 2H), 1,42 (m, 1H), 1,28 – 1,03 (m, 2H), 0,89 (d, 3H), 0,88 (m, 1H).

Ejemplo 28

El Ejemplo 28 se sintetizó a partir del intermediario 11B del Ejemplo 1 siguiendo el mismo procedimiento que en el ejemplo 1 y utilizando -S-2-(aminometil)dioxano en la etapa 9 del Ejemplo 1.

LC-MS: $t_R = 0,894$ min, MS (ESI) m/z 453,2 $[M+H]^+$

1H RMN: (CD_3OD): δ 7,63 (dd, $J = 7,6, 1,2$ Hz, 1H), 7,48 (d, $J = 7,6$ Hz, 1H), 7,28 (s, 1H), 3,61-3,85 (m, 8H), 3,58 (s, 3H), 3,56 (s, 1H), 3,17 (m, 2H), 2,77-2,82 (m, 1H), 2,10 -2,17 (m, 1H), 1,85-1,88 (m, 1H), 1,69-1,75 (m, 1H), 1,37-1,45 (m, 3H), 1,24-1,34 (m, 2H), 1,09-1,15 (m, 1H), 0,75 (t, $J = 7,6$ Hz, 3H).

Ejemplo 29

ES 2 568 928 T3

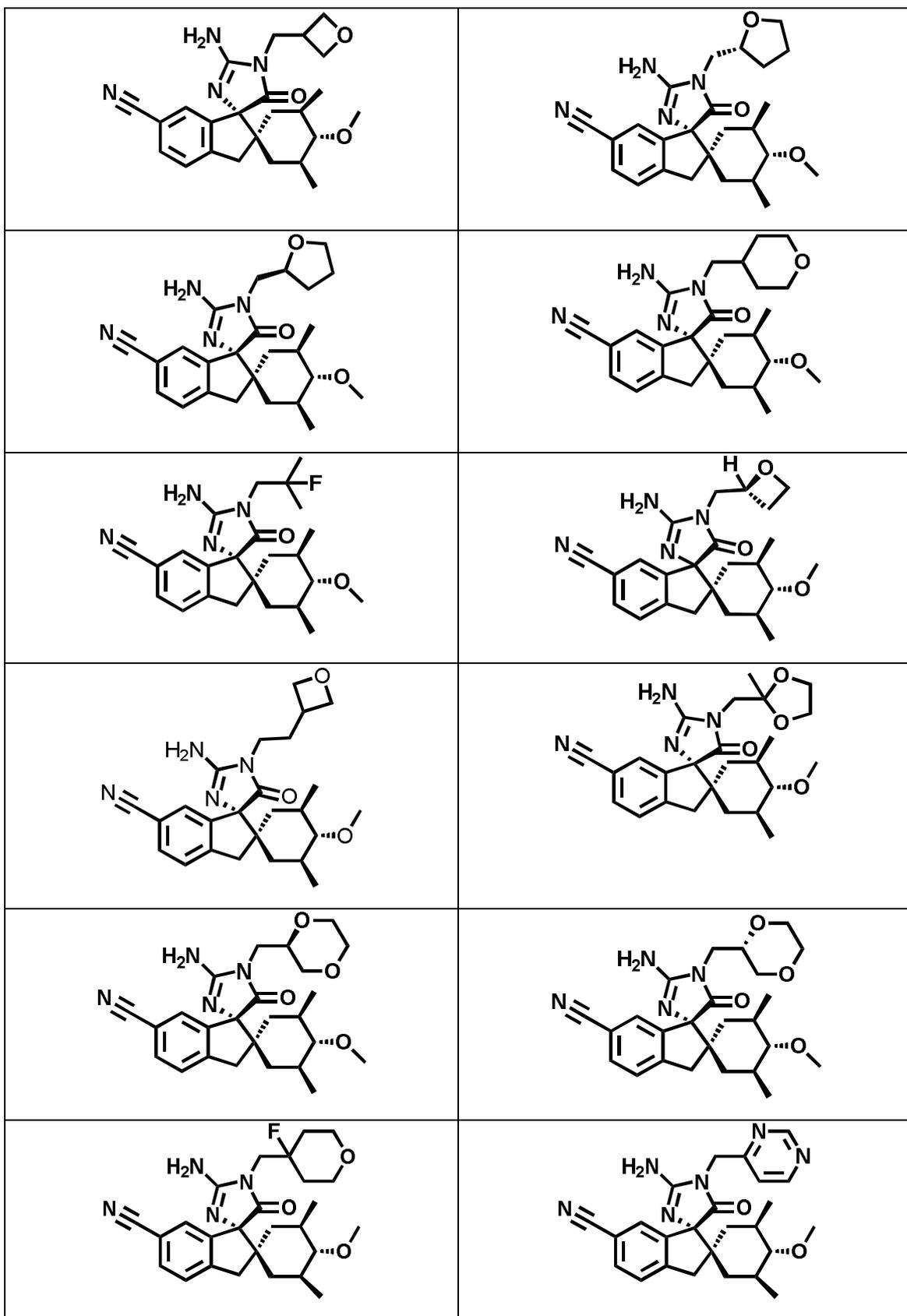
Comenzando con 6-fluoro-3-indanona, se sintetizó el Ejemplo **29** en un método similar al del Ejemplo **20**.

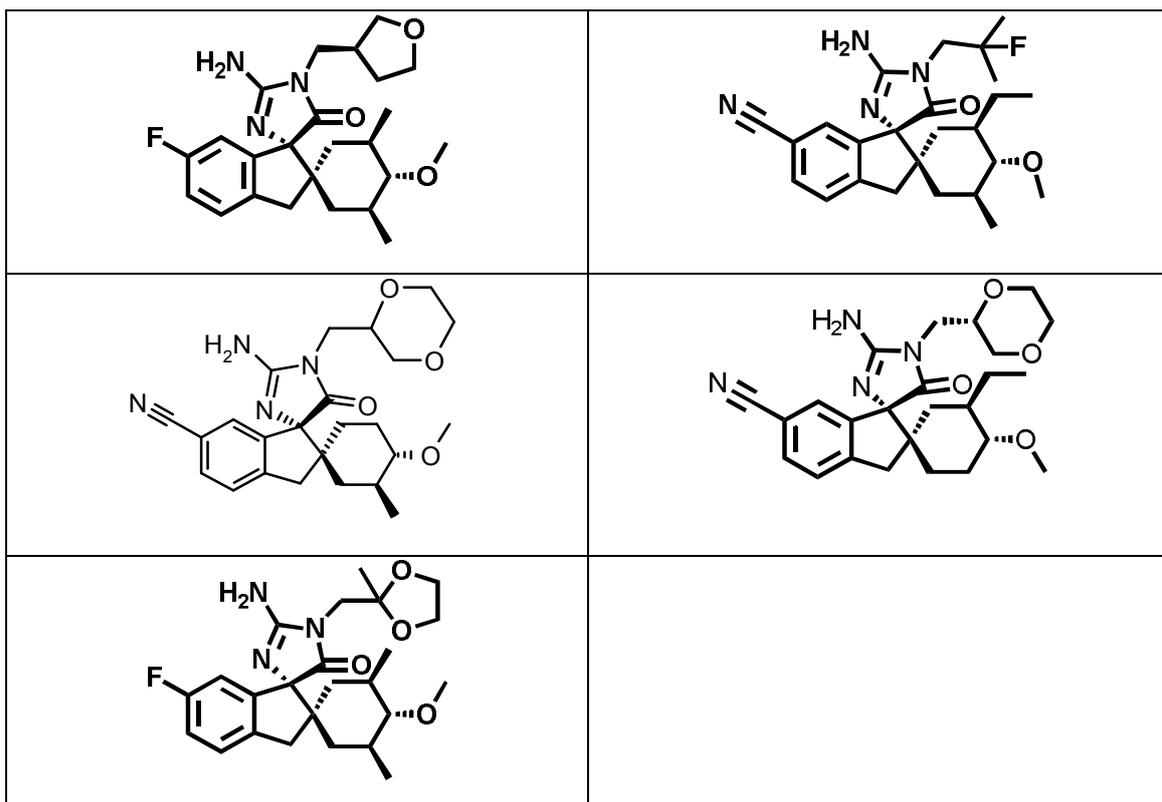
LC-MS t_R = 1,02 min; MS (ESI) m/z 446 $[M+H]^+$.

1H RMN (CD_3OD): δ 7,26 (dd, J = 8,4, 5,2 Hz, 1H), 6,95 (m, 1H), 6,62 (dd, J = 8,4, 2,4 Hz, 1H), 4,02-3,89 (m, 4H), 3,70 (d, J = 14,8 Hz, 1H), 3,65 (d, J = 14,8 Hz, 1H), 3,42 (s, 3H), 3,12 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 2,98 (d, J = 15,2 Hz, 1H), 2,34 (t, J = 10,0 Hz, 1H), 1,79-1,60 (m, 3H), 1,43 (m, 1H), 1,34 (m, 1H), 1,32 (m, 1H), 1,30 (s, 3H), 1,00 (m, 1H), 0,99 (d, J = 6,8 Hz, 3H), 0,94 (d, J = 6,0 Hz, 3H).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado por una fórmula estructural seleccionada de:





o una sal farmacéuticamente aceptable de éste.

2. Un compuesto según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para uso como un medicamento.
3. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste mezclado con un adyuvante, diluyente y/o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 5 4. Un compuesto según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para uso en el tratamiento de un trastorno o enfermedad mediado por la BACE1.
- 10 5. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para uso según la reivindicación 4, en el que el trastorno o enfermedad mediado por la BACE1 se selecciona del grupo que consiste en un trastorno neurodegenerativo, deterioro cognitivo, alteración cognitiva, demencia, y enfermedad caracterizada por la producción de depósitos β -amiloides o de ovillos neurofibrilares.
- 15 6. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para uso según la reivindicación 5, en el que el trastorno o enfermedad se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, trisomía 21 (síndrome de Down), hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés (HCHWA-D), demencia senil, angiopatía amiloide cerebral, demencia degenerativa, demencias de origen mixto vascular y degenerativo, demencia asociada a la enfermedad de Parkinson, demencia asociada a la parálisis supranuclear progresiva, demencia asociada a la degeneración cortical basal, enfermedad de Alzheimer difusa del tipo asociado a los cuerpos de Lewy, degeneración macular relacionada con la edad (AMD) seca y glaucoma.
- 20 7. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para uso según la reivindicación 6, en el que el trastorno o enfermedad es la enfermedad de Alzheimer.
8. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para uso según la reivindicación 6, en el que el trastorno o enfermedad es glaucoma.
- 25 9. Uso de un compuesto según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno mediado por la BACE1 en un sujeto.
10. Uso de un compuesto según la reivindicación 9 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste, en el que la enfermedad o trastorno mediado por la BACE1 se selecciona del grupo que consiste en un trastorno neurodegenerativo, deterioro cognitivo, alteración cognitiva, demencia, y enfermedad caracterizada por la producción de depósitos β -amiloides o de ovillos neurofibrilares.
- 30 11. Uso de un compuesto según la reivindicación 10 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste, en el que el

trastorno o enfermedad se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, trisomía 21 (síndrome de Down), hemorragia cerebral hereditaria con amiloidosis del tipo holandés (HCHWA-D), demencia senil, angiopatía amiloide cerebral, demencia degenerativa, demencias de origen mixto vascular y degenerativo, demencia asociada a la enfermedad de Parkinson, demencia asociada a la parálisis supranuclear progresiva, demencia asociada a la degeneración cortical basal, enfermedad de Alzheimer difusa del tipo asociado a los cuerpos de Lewy, degeneración macular relacionada con la edad (AMD) seca y glaucoma.

5

12. Uso de un compuesto según la reivindicación 11 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste, en el que la enfermedad o trastorno es la enfermedad de Alzheimer.

10

13. Uso de un compuesto según la reivindicación 11 o una sal farmacéuticamente aceptable de éste, en el que la enfermedad o trastorno es glaucoma.

14. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

