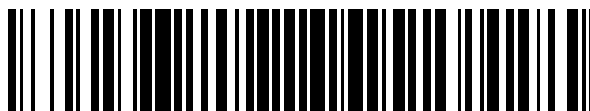


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 623 900**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.04.2014 PCT/US2014/032946**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.10.2014 WO14168824**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.04.2014 E 14722495 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.03.2017 EP 2984091**

54 Título: **Compuestos de dihidropirido pirimidina como inhibidores de autotaxina**

30 Prioridad:

12.04.2013 US 201361811280 P

12.04.2013 US 201361811290 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.07.2017

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

72 Inventor/es:

BLEISCH, THOMAS JOHN;
DOTI, ROBERT ANTHONY;
PFEIFER, LANCE ALLEN y
NORMAN, BRYAN HURST

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 623 900 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).

DESCRIPCION

Compuestos de dihidropirido pirimidina como inhibidores de autotaxina

La presente invención se refiere a compuestos de dihidropirido pirimidina, o sales aceptables farmacéuticamente de los mismos, y usos terapéuticos de los mismos. Los compuestos de la presente invención son inhibidores de autotaxina.

La autotaxina es una enzima de la que se ha informado que es la fuente primaria de ácido lisofosfatídico (LPA) extracelular, el cual sobre-regula las proteínas relacionadas con el dolor a través de uno de sus receptores cognados, LPA₁. El LPA es un mediador lípido intracelular que influye en una multiplicidad de procesos biológicos y bioquímicos. La inhibición dirigida de la biosíntesis de LPA medida por autotaxina puede proporcionar un nuevo mecanismo para prevenir el dolor. Los compuestos que inhiben la autotaxina son deseables.

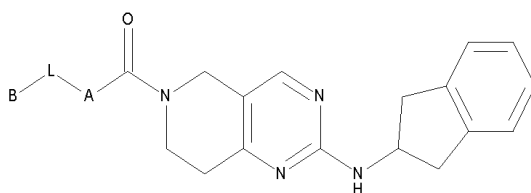
El dolor asociado con la osteoartritis (OA) se ha informado que es el síntoma primario que conduce a invalidez de las extremidades inferiores en pacientes con OA. Más de 20 millones de estadounidenses han sido diagnosticados con OA, la más común de las artropatías. Existe un deseo de opciones de tratamiento para pacientes que sufren de dolor asociado con la OA.

La Patente WO 2012/085167 divulga ciertos derivados de pirimidina bicíclicos como moduladores del receptor glutamato metabotrópico para el tratamiento de trastornos neurológicos. La Patente de EE.UU. 7.524.852 ('852) divulga ciertos derivados de pirimidina bicíclicos sustituidos como agentes anti-inflamatorios.

En la Patente PCT/US2011/048477, se divulgan ciertos compuestos de indol que tienen actividad autotaxina.

La presente invención proporciona nuevos compuestos que son inhibidores de autotaxina. La presente invención proporciona ciertos nuevos compuestos que inhiben la producción mediada por autotaxina de LPA. Los compuestos de inhibición de autotaxina son deseables para proporcionar tratamientos para estados mediados por autotaxina, como dolor asociado con la OA.

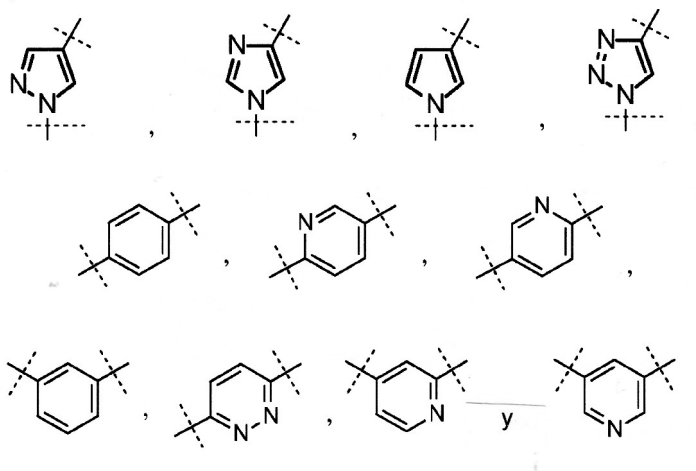
La presente invención proporciona compuestos de Fórmula I



I

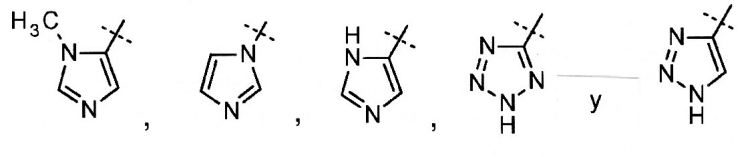
en la que

A está seleccionada entre el grupo que consiste en



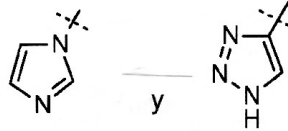
L es un enlace o alquilo de C₁-C₃; y

B está seleccionada entre el grupo que consiste en H,

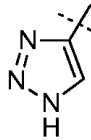


o una sal aceptable farmacéuticamente de los mismos.

Se prefiere que B esté seleccionada entre el grupo que consiste en

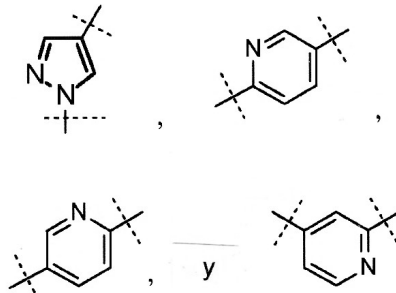


5 Un compuesto de la invención, en el que B es

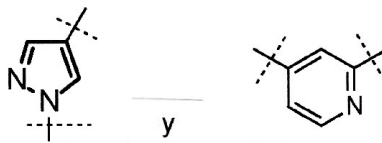


es además preferido.

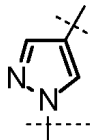
En un aspecto preferido de la presente invención, A está seleccionada entre el grupo que consiste en



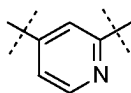
10 Se prefiere que A esté seleccionada entre el grupo que consiste en



Se prefiere que A sea

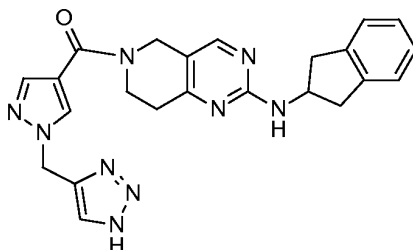


En otra realización A es



Es un aspecto preferido de la presente invención el que L esté seleccionada entre el grupo que consiste en un enlace y CH₂. Se prefiere que L sea un enlace. Se prefiere que L sea CH₂-

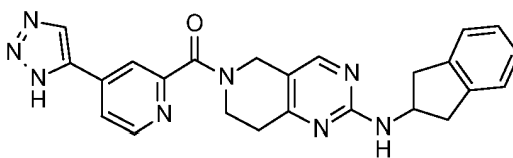
La presente invención proporciona un compuesto de Fórmula II



II

o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo.

La presente invención proporciona un compuesto de Fórmula III



III

o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo.

Se da por entendido que los compuestos de la presente invención pueden existir como formas tautómeras. Cuando existen las formas tautómeras, cada forma y mezcla de las mismas, están contempladas en la presente invención.

La presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I, o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo, para uso en terapia.

La presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I, o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo, para uso en el tratamiento de dolor asociado con la OA. Incluso además, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I, o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor asociado con la OA.

La invención proporciona además una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de Fórmula I, o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo, y uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes aceptables farmacéuticamente. En una realización, la composición comprende además uno o más de otros agentes terapéuticos. La divulgación abarca también nuevos compuestos intermedios y procedimientos para la síntesis de los compuestos de Fórmula I.

El término "sal aceptable farmacéuticamente" se refiere a una sal del compuesto de la invención que se considera que es aceptable para uso clínico y/o veterinario. Las sales aceptables farmacéuticamente y la metodología común para la preparación de las mismas son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, P. Stahl, y otros, Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use. (VCH/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, y otros, "Pharmaceutical Salts", Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 66, No. 1, Enero 1977.

El término "tratamiento" (o "tratar" o "trato"), como se usa en la presente invención, se refiere a la restricción, retraso, detención o reversión de la progresión o severidad de un síntoma, estado o trastorno existente. Los síntomas, estados o trastornos pueden presentarse como episodios "agudos" o "cónicos". En un episodio agudo, se administra un compuesto al inicio del síntoma, estado, o trastorno y se interrumpe cuando el episodio desaparece. Un episodio crónico se trata durante el curso del trastorno o estado asociado con el síntoma o episodio, en el que el tratamiento crónico no depende de una manifestación particular del síntoma o episodio. La presente invención contempla tanto el tratamiento agudo como crónico.

Los compuestos de la presente invención inhiben la autotaxina, y son útiles para el tratamiento de una enfermedad o estado asociado con un incremento en autotaxina. Los compuestos de la presente invención inhiben la producción mediada por autotaxina de LPA y son útiles para el tratamiento de una enfermedad o estado acompañado por un incremento en LPA. Los compuestos de la presente invención inhiben la biosíntesis de LPA mediada por autotaxina, cuando se compara con otros mediadores lípidos de LPA. Los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de una enfermedad o estado asociado con un incremento en LPA.

Como se usa en la presente invención, "paciente" se refiere a un animal que necesite de tratamiento. Una realización preferible es un paciente que es un mamífero, el cual es preferiblemente un humano. Otra realización preferible es un paciente que es un animal de compañía como un perro, gato, o un ave.

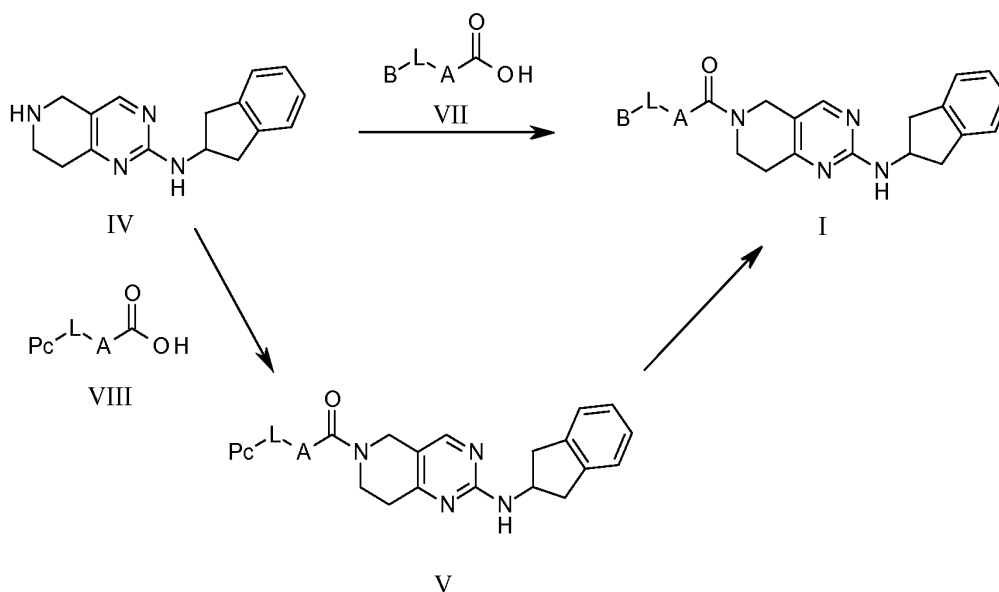
Como se usa en la presente invención, el término "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o dosis de compuesto de la invención o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo, la cual, tras administración de dosis única o múltiple al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente bajo diagnóstico o tratamiento. Se da por entendido que la cantidad de agente activo realmente administrado será determinada por un médico, a la vista de las circunstancias relevantes, incluyendo el estado a tratar, la vía elegida de administración, el agente activo real administrado, la edad, peso, y respuesta del paciente individual, y la severidad de los síntomas del paciente y otras circunstancias relevantes.

Un compuesto de la presente invención está preferiblemente formulado como composiciones farmacéuticas administradas por cualquier vía que haga biodisponible al compuesto. Lo más preferiblemente, dichas composiciones son para administración oral. Dichas composiciones farmacéuticas y procedimientos para la preparación de los mismos son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy, Editor, 21st Edition, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

Generalmente, un compuesto de Fórmula I puede prepararse a partir de un compuesto de Fórmula IV. Más específicamente en el Esquema A, un compuesto de Fórmula IV se asocia con un compuesto de Fórmula VII en la presencia de tetrafluoroborato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio y una base como diisopropiletilamina para proporcionar un compuesto de Fórmula I. Los disolventes adecuados incluyen dimetil sulfóxido.

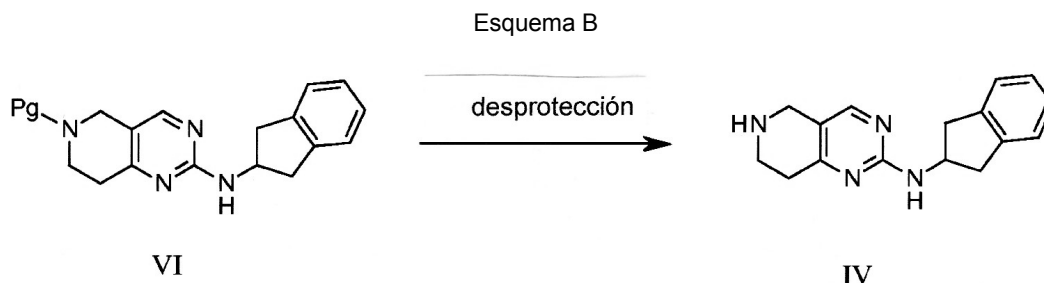
Como alternativa en el Esquema A, un compuesto de Fórmula i puede prepararse a partir de un compuesto de Fórmula V. Más específicamente un compuesto de Fórmula IV se asocia con un compuesto de Fórmula VIII en la que Pc es un precursor adecuado para el grupo B en la presencia de hidrocloreuro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida y una base como N,N-dimetil-4-piridinamina para proporcionar un compuesto de Fórmula V. Los disolventes adecuados incluyen diclorometano. Un compuesto de Fórmula V en el que Pc es un precursor adecuado del grupo B, se hace reaccionar bajo condiciones como se describen en los Ejemplos y Preparaciones, para proporcionar un compuesto de Fórmula I. Los químicos expertos en medicinas seleccionarán un valor de Pc apropiado para la conversión del grupo B. Un compuesto de Fórmula VIII en el que Pc es un precursor adecuado para el grupo B puede prepararse como se describe en los Ejemplos y Preparaciones.

Esquema A

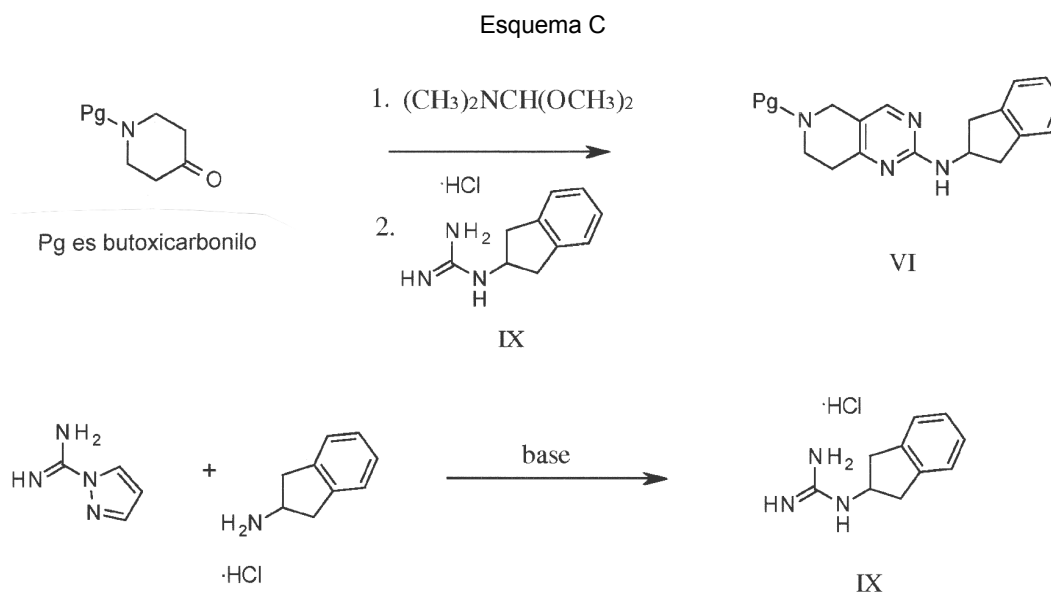


Como se muestra en el Esquema B, puede prepararse un compuesto de Fórmula IV a partir de un compuesto de Fórmula VI en el que Pg es un grupo de protección de amina. Más específicamente, un compuesto de Fórmula VI en

el que Pg es terc-butoxicarbonilo se hace reaccionar con un ácido como ácido clorhídrico en un disolvente como tetrahidrofurano, para proporcionar un compuesto de Fórmula IV.



5 En el Esquema C, puede prepararse un compuesto de Fórmula VI en el que Pg es terc-butoxicarbonilo a partir de un compuesto de Fórmula IX. Más específicamente, se hace reaccionar secuencialmente N-terc-butoxicarbonil-4-piperidona con $(\text{CH}_3)_2\text{NCH}(\text{OCH}_3)_2$ en un disolvente como dimetilformamida y, a continuación, con un compuesto de Fórmula IX, una base como carbonato potásico en un co-disolvente como etanol, para proporcionar un compuesto de Fórmula VI en el que Pg es terc-butoxicarbonilo. Un compuesto de Fórmula IX puede prepararse haciendo reaccionar hidrocloreto de 2,3-dihidro-1H-inden-2-amina e hidrocloreto de 1H-pirazol-1-carboximidamida con una base como diisopropiltilamina en un disolvente como acetonitrilo.



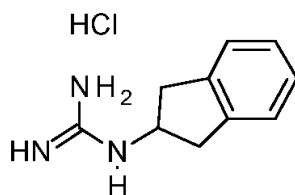
15 Preparaciones y Ejemplos

Las Preparaciones y Ejemplos siguientes ilustran adicionalmente la invención y representan una síntesis típica de los compuestos de la invención. Se da por entendido que las Preparaciones y Ejemplos se establecen a modo de ilustración y no de limitación, y que pueden ser llevadas a cabo varias modificaciones por un experto normal en la técnica. Los reactivos y materiales de partida están generalmente disponibles para un experto normal en la técnica. Otros pueden prepararse mediante técnicas convencionales de química orgánica y de heterocíclicos que son análogos a las síntesis de compuestos y procedimientos estructuralmente similares conocidos descritos por las Preparaciones y Ejemplos que siguen, incluyendo cualquier nuevo procedimiento.

Salvo que se indique lo contrario, los compuestos ilustrados en la presente invención están denominados y numerados usando o bien ACDLABS o bien Symx Draw 3.2.

25 Preparación 1

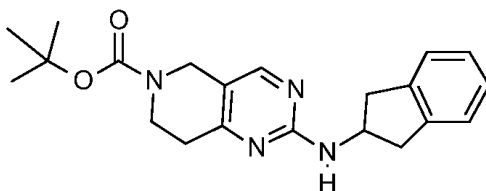
Síntesis de hidrocloreto de 1-indan-2-ilguanidina.



5 Se agitó una solución de hidrocloreto de 2,3-dihidro-1*H*-inden-2-amina (197 g, 1,08 equiv., 1,16 moles), hidrocloreto de 1*H*-pirazol-1-carboximidamida (158 g, 1,00 equiv., 1,08 moles) y diisopropiletamina (400 g, 2,87 equiv., 3,09 moles, 539,74 ml) en acetonitrilo (2 litros) a 62°C durante 2 horas, durante cuyo tiempo precipitó un sólido de color blanco. La mezcla se enfrió a 25°C y, a continuación, se filtró y lavó con 300 ml de acetonitrilo y 300 ml de metil terc-butil éter. El producto se secó al aire a 25°C durante 1 hora, proporcionando el compuesto del epígrafe (200 mg, 87%) en forma de un sólido de color blanco. MS (m/z): 176 (M+1).

Preparación 2

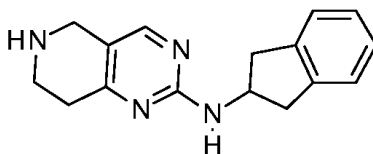
Síntesis de 2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5*H*-pirido[4,3-*d*]pirimidino-6-carboxilato de terc-butilo.



10 Se agitó una solución de 1,1-dimetoxi-*N,N*-dimetil-metanamina (224 g, 2,15 equiv., 1,88 moles, 250,98 ml) y *N*-*t*-butoxicarbonil-4-piperidona (250 g, 1,44 equiv., 1,25 moles) en dimetilformamida (1,2 litros) a 109°C bajo N₂ durante 4 horas. La mezcla se enfrió a 25°C y, a continuación, se agregó etanol (700 ml, 12,02 moles, 553,91 g). Se agregó hidrocloreto de 1-indan-2-ilguanidina (185 g, 1,00 equiv., 873,90 mmoles) y carbonato potásico (475 g, 3,44 moles) a esta mezcla a 25°C en una sola porción para formar una suspensión de color blanca. La mezcla se agitó a 80-90°C durante 24 horas y, a continuación, se enfrió a 25°C y la mezcla se vertió en 5 litros de agua/hielo, obteniéndose una suspensión de color amarillo. Se extrajo con acetato de etilo (3 x 3 litros), y la capa orgánica se lavó con solución de cloruro de litio al 10% (3 litros), agua (3 litros), y solución de cloruro sódico saturada (3 litros). Se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró, obteniéndose aproximadamente 300 ml de una solución de color rojo. La solución se filtró a través de un tapón de gel de sílice (10 cm de altura, 5 cm de diámetro) y, a continuación, se concentró hasta sequedad, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un gel de color rojo (320 g, 100%). MS (m/z): 367 (M+1).

Preparación 3

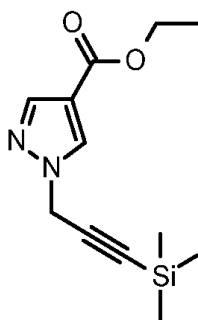
Síntesis de *N*-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropiridino[4,3-*d*]pirimidin-2-amina.



25 Se agregó en porciones ácido clorhídrico (900 ml; 5 M en agua, 5,17 equiv., 4,50 moles, 1,08 kg) a una solución de 2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5*H*-pirido[4,3-*d*]pirimidino-6-carboxilato de terc-butilo (319 g, 1,00 equiv., 870,48 mmoles) en tetrahidrofurano (1,5 litros). Una vez completada la adición, la solución se agitó a 50°C durante 1 hora. La mezcla se enfrió a 25°C y, a continuación, se agregaron 3 litros de metil terc-butil éter y 1 litro de agua. La solución se dejó reposar a 20°C durante 16 horas. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (2 litros). Los extractos orgánicos se descartaron y la fase acuosa se ajustó a pH 10 usando hidróxido sódico 4 M. Se extrajo con acetato de etilo (3 x 3 litros), y los extractos orgánicos combinados se lavaron con cloruro sódico saturado (2 litros). Se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron hasta sequedad, obteniéndose un gel de color rojo. La sustancia se re-disolvió en acetato de etilo (300 ml) y éter de petróleo (200 ml) a 50°C y se dejó en reposo para precipitación durante 24 horas. Se filtró y secó, proporcionando el compuesto del epígrafe (85 g, 37%). MS (m/z): 267 (M+1).

Preparación 4

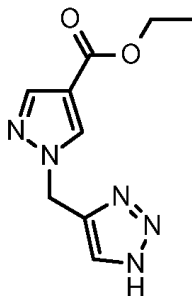
Síntesis de 1-(3-trimetilsililprop-2-inil)pirazol-4-carboxilato de etilo.



Se introdujo 1H-pirazolo-4-carboxilato de etilo (700,7 mg, 5 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 50 ml y se disolvió en dimetilformamida (11 ml). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C. Se agregó hidróxido sódico (180,0 mg, 4,5 mmoles) en porciones durante 20 minutos. La mezcla de reacción se agitó durante 20 minutos y, a continuación, se agregó 3-bromoprop-1-inoil(trimetil)silano (0,92 ml, 6,5 mmoles) y se agitó durante un tiempo adicional de 30 minutos. La mezcla de reacción se interrumpió con agua (20 ml) y se extrajo tres veces con acetato de etilo y se descartó la fase acuosa. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice ultrarrápida con acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,75 g, 60%). LCMS (m/z): 251,0 (M+1).

Preparación 5

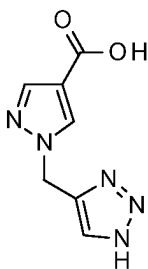
Síntesis de 1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirazol-4-carboxilato de etilo.



Se introdujo 1-(3-trimetilsililprop-2-inoil)pirazol-4-carboxilato de etilo (0,751 g, 3,00 mmoles) en un vial de microondas y se disolvió en dimetilformamida (12,00 ml) y agua (18 ml). Se agregó sulfato de cobre(II) pentahidrato (149,78 mg, 0,6 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (1,19 g, 6,00 mmoles) y dimetilformamida (2 ml). La mezcla de reacción se desgasificó tres veces. Se agregó azidotrimetilsilano (1,60 ml, 12,00 mmoles) y se calentó a 90°C durante 15 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se extrajo tres veces con acetato de etilo y se descartó la fase acuosa. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice ultrarrápida con metanol/acetoneitrilo, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,5 g, 75%). LCMS (m/z): 222,0 (M+1).

Preparación 6

Síntesis de ácido 1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirazol-4-carboxílico.

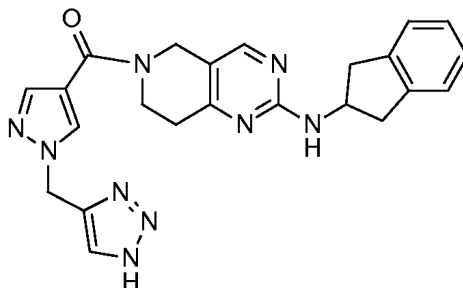


Se introdujo 1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirazol-4-carboxilato de etilo (2,1 g, 7,16 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 100 ml y se disolvió en tetrahidrofurano (30 ml) y agua (15 ml). Se agregó hidróxido de litio (1,50 g, 35,79 mmoles) y se calentó a 55°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se diluyó con ácido clorhídrico 5 N a pH 1-2. El disolvente se eliminó bajo presión reducida. Se agregó etanol y el sólido se separó por filtración. El filtrado se concentró bajo presión reducida, proporcionando el compuesto del epígrafe (3,01 g, 105%). LCMS (m/z): 194,0 (M+1).

Ejemplo 1

Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirazol-4-il]metanona.

Un nombre químico alternativo para el compuesto del Ejemplo 1 es [2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il][1-(1H-1,2,3-triazol-4-ilmetil)-1H-pirazol-4-il]metanona.

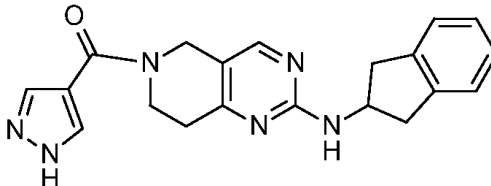


5

Se introdujo ácido 1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirazol-4-carboxílico (2,28 g, 5,70 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 100 ml y se disolvió en dimetil sulfóxido (28,5 ml). Se agregó diisopropiletilamina (6,8 ml, 39,2 mmoles) y tetrafluoborato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio (3,5 g, 11,00 mmoles) y se agitó durante 10 minutos. Se agregó N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (1,52 g, 5,70 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó durante 90 minutos. La reacción se interrumpió con agua (40 ml) y se extrajo tres veces con metanol al 10%/acetato de etilo y la fase acuosa se descartó. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa y se cristalizó con metanol/acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,45 g, 18%). LCMS (m/z): 442,2 (M+1).

Preparación 7

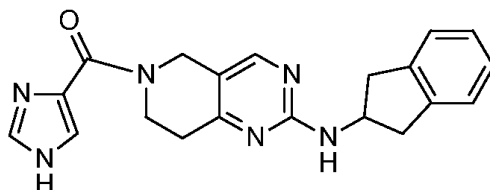
Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-1H-pirazol-4-il]metanona.



Se introdujo ácido 4-pirazolocarboxílico (700,7 mg, 5 mmoles), N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (2,00 g, 7,51 mmoles), hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (2,16 g, 11,26 mmoles) y 4-piridinamina, N,N-dimetil (45,9 mg, 0,3 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 250 ml y se disolvió en diclorometano (60 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas a 25°C. La reacción se interrumpió con bicarbonato sódico saturado (50 ml) y se extrajo dos veces con diclorometano. Se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se recristalizó a partir de metanol/acetato de etilo, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,98 g, 28%). LCMS (m/z): 361,2 (M+1).

Preparación 8

Síntesis de 1H-imidazol-4-il-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.

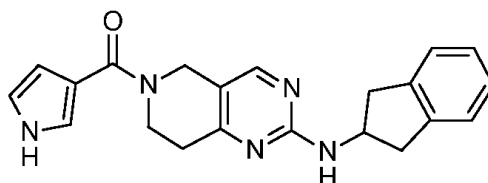


Se introdujo ácido 1H-imidazol-4-carboxílico (1,26 g, 11,21 mmoles), 1-hidrobentriazol monohidrato (1,14 g, 7,45 mmoles), N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (1,82 g, 6,83 mmoles), trietilamina (2,84 ml, 20,36 mmoles), e hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (1,43 g, 7,45 mmoles) en un matraz de fondo redondo. Se agregó dimetilformamida (22 ml) y se agitó durante una noche a 25°C. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo con diclorometano/metanol 9:1. Se lavó una vez con agua y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal, proporcionando el compuesto del epígrafe (1,2 g, 49%). LCMS (m/z): 361,2 (M+1).

30

Preparación 9

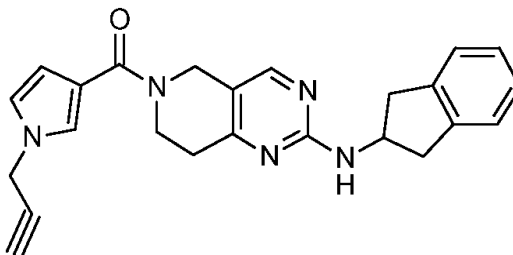
Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-(1H-pirrol-3-il)metanona.



5 Se introdujo N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2.amina (1,08 g, 4,05 mmoles) y ácido 1H-pirrol-3-carboxílico (500,00 mg, 4,50 mmoles) en un matraz de fondo redondo. Se agregó dimetilformamida (15 ml) y diisopropildietilamina (3,14 ml, 18,00 mmoles). Se enfrió a 0°C y se agregó anhídrido cíclico de ácido 1-propanofosónico (3,45 ml, 5,85 mmoles), gota a gota. Se agitó a 0°C y se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó a 25°C durante 18 horas. Se vertió en agua-hielo y se agitó durante 15 minutos. El sólido se filtró, se lavó con agua, y el sólido se secó en estufa de vacío a 40°C, proporcionando el compuesto del epígrafe (1,62 g, 31%). LCMS (m/z): 360,2 (M+1).

Preparación 10

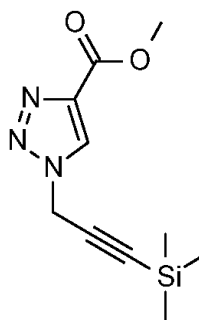
Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-(1-prop-2-inilpirrol-3-il)metanona.



15 Se introdujo [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-(1H-pirrol-3-il)metanona (500 mg, 1,39 mmoles) y dimetilformamida (3 ml) en un matraz de fondo redondo y se enfrió a 0°C. Se agregó bis(trimetilsilil)amida sódica (1,61 ml, 1,81 mmoles) y se agitó durante 40 minutos. Se agregó 3-bromoprop-1-inil(trimetil)silano (216,50 µl, 1,53 mmoles). La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/diclorometano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,56 g, 25%). LCMS (m/z): 398,0 (M+1).

Preparación 11

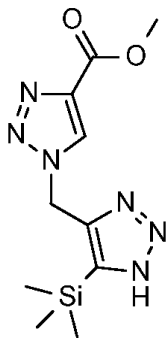
Síntesis de 1-(3-trimetilsililprop-2-inil)triazol-4-carboxilato de metilo.



25 Se introdujo 1H-triazol-5-carboxilato de metilo (400,00 mg, 3,15 mmoles) y dimetilformamida (6,84 ml) en un matraz de fondo redondo. La mezcla se enfrió a 0°C. Se agregó hidruro sódico (120,00 mg, 3,0 mmoles), en porciones durante 20 minutos y, a continuación, se agitó durante 20 minutos. Se agregó 3-bromoprop-1-inil(trimetil)silano (578,83 µl, 4,09 mmoles). La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,25 g, 33%). LCMS (m/z): 238,0 (M+1).

Preparación 12

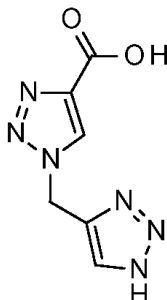
Síntesis de 1-[(5-trimetilsilil-1H-triazol-4-il)metil]triazol-4-carboxilato de metilo.



5 Se introdujo 1-(3-trimetilsililprop-2-ynil)triazol-4-carboxilato de metilo (240 mg, 1,01 mmoles) en un recipiente de reacción de microondas y se agregó dimetilformamida (6 ml) y agua (6 ml). Se agregó sulfato de cobre(II) pentahidrato (50,50 mg, 0,202 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (400,67 mg, 2,02 mmoles). El sistema se desgasificó borboteando nitrógeno y purgándolo tres veces. Se agregó azidotrimetilsilano (540,00 μ l, 4,04 mmoles) y se calentó a 90°C durante 18 horas. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/acetonitrilo, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,28 g, 39%). LCMS (m/z): 281,0 (M+1).

Preparación 13

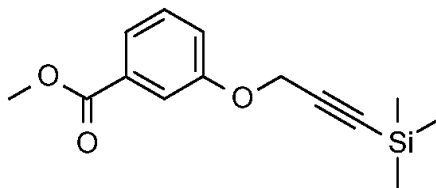
Síntesis de ácido 1-(1H-triazol-4-il)metil]triazol-4-carboxílico.



15 Se introdujo 1-[(5-trimetilsilil-1H-triazol-4-il)metil]triazol-4-carboxilato de metilo (0,28 g, 1,00 mmoles), tetrahidrofurano (5,00 ml), hidróxido de litio (209,55 mg, 4,99 mmoles) y agua (2,38 ml) en un matraz de fondo redondo y se calentó a 55°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se acidificó con ácido clorhídrico 1 N y se concentró bajo presión reducida hasta sequedad, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un sólido de color blanco (0,47 g, >100%). LCMS (m/z): 234,0 (M+1). RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) ppm: 5,75 (s, 1H), 7,94 (s ancho, 1H), 8,67 (s, 1H), 15,33 (s ancho, 1H).

20 Preparación 14

Síntesis de 3-(3-trimetilsililprop-2-inoxi)benzoato de metilo.

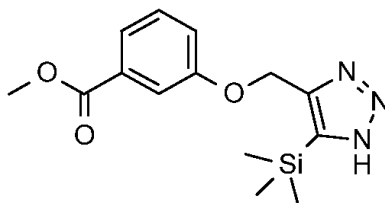


25 Se introdujo 3-hidroxibenzoato de metilo (502,10 mg, 3,3 mmoles) y dimetilformamida (7,00 ml) en un matraz de fondo redondo. La mezcla se enfrió a 0°C. Se agregó hidruro sódico (171,58 mg, 4,29 mmoles), en porciones y se agitó durante 15 minutos. Se agregó 3-bromoprop-1-ynil(trimetilsilano) (700,34 μ g, 4,95 mmoles) y se agitó durante 18 horas. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó median-

te cromatografía de fase normal usando acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,24 g, 28%). LCMS (m/z): 263,0 (M+1).

Preparación 15

Síntesis de 3-[(5-trimetilsilil-1H-triazol-4-il)metoxi]benzoato de metilo.



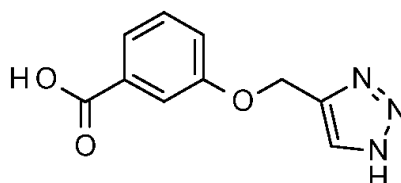
5

Se introdujo 3-(3-trimetilsililprop-2-inoxi)benzoato de metilo (234 mg, 0,89 mmoles) en un matraz de fondo redondo y se agregó dimetilformamida (5,6 ml) y agua (5 ml). Se agregó sulfato de cobre(II) pentahidrato (44 mg, 0,18 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (353 mg, 1,78 mmoles). El sistema se desgasificó borboteando nitrógeno y purgándolo tres veces. Se agregó azidotrimetilsilano (0,475 ml, 3,57 mmoles) y se calentó a 90°C durante 18 horas. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/acetonitrilo, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,27 g, 55%). LCMS (m/z): 306,0 (M+1).

10

Preparación 16

15 Síntesis de ácido 3-(1H-triazol-4-ilmetoxi)benzoico.

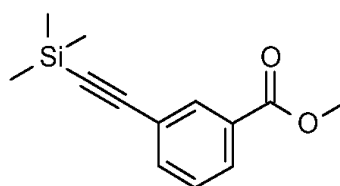


20

Se introdujo 3-[(4-trimetilsilil-1H-triazol-5-il)metoxi]benzoato de metilo (0,15 g, 0,49 mmoles), tetrahidrofurano (2 ml), hidróxido de litio (206 mg, 4,91 mmoles) y agua (1 ml) en un matraz de fondo redondo y se calentó a 55°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se acidificó con ácido clorhídrico 1 N y se concentró bajo presión reducida hasta sequedad, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un sólido de color blanco (0,14 g, 70%). LCMS (m/z): 220,0 (M+40).

Preparación 17

Síntesis de 3-(2-trimetilsililetinil)benzoato de metilo.

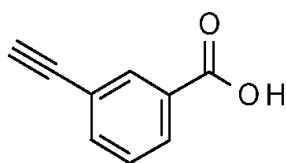


25 En un matraz de fondo redondo se introdujo 3-bromobenzoato de metilo (1,88 g, 8,73 mmoles), trietilamina (10,00 ml, 71,74 mmoles), (trimetilsilil)acetileno (1,48 ml, 10,49 mmoles), cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (0,146 g, 0,205 mmoles), y yoduro de cobre(I) (23 mg, 0,121 mmoles). La mezcla de reacción se calentó a 90°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se desgasificó y se agregó más (trimetilsilil)acetileno (1,48 ml, 10,49 mmoles), 3-bromobenzoato de metilo (1,88 g, 8,73 mmoles) y yoduro de cobre(I) (23 mg, 0,121 mmoles) y la mezcla se calentó a 90°C durante 18 horas. La reacción se interrumpió con 75 ml de ácido clorhídrico 1 N y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (1,4 g, 69%). LCMS (m/z): 233,0 (M+1).

30

Preparación 18

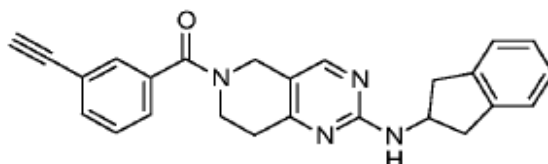
35 Síntesis de ácido 3-etenilbenzoico.



5 Se introdujo 3-(2-trimetilsililetinil)benzoato de metilo (0,399 g, 1,55 mmoles) y tetrahidrofurano (3,68 ml) en un matraz de fondo redondo. Se agregó hidróxido de litio (0,162 g, 3,86 mmoles) y agua (3,68 ml) y se calentó a 50°C. La reacción se interrumpió con 1,3 ml de ácido clorhídrico 5 N y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,26 g, >100%). RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) ppm: 4,39 (s, 3H), 7,50 (m, 2H), 7,70 (m, 1H), 7,94 (m, 1H), 13,22 (s, 1H).

Preparación 19

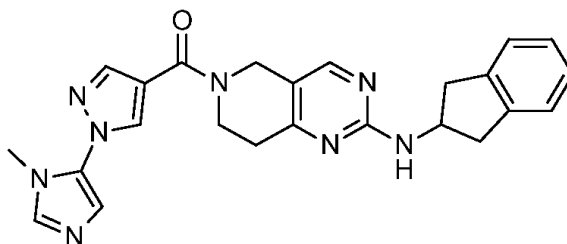
Síntesis de (3-etenilfenil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



10 Se introdujo ácido 3-etenilbenzoico (259 mg, 1,78 mmoles), N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (430 mg, 1,78 mmoles), hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (464 mg, 2,42 mmoles) y 4-piridinamina, N,N-dimetil (9,86 mg, 0,080 mmoles) en un matraz de fondo redondo y se disolvió en diclorometano (13 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a 25°C. Se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/diclorometano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,64 g, 91%). LCMS (m/z): 395,2 (M+1).

Ejemplo 2

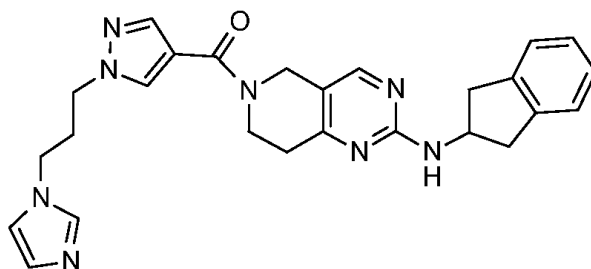
Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[1-(3-metilimidazol-4-il)pirazol-4-il]metanona.



20 Se introdujo [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-(1H-pirazol-4-il)metanona (0,142 g, 0,40 mmoles), 5-bromo-1-metilimidazol (89 mg, 0,56 mmoles), carbonato de cesio (257 mg, 0,79 mmoles), (1R,2R)-diaminometilciclohexano (16 mg, 0,12 mmoles), y yoduro de cobre(I) (7,50 mg, 0,039 mmoles) en un recipiente de reacción de microondas. Se agregó tolueno (2 ml) y dimetilformamida (2 ml). El recipiente se selló y se purgó tres veces y se calentó a 110°C durante 48 horas. La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se interrumpió con agua (2 ml). Se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,078 g, 0,42%). LCMS (m/z): 441,2 (M+1).

Ejemplo 3

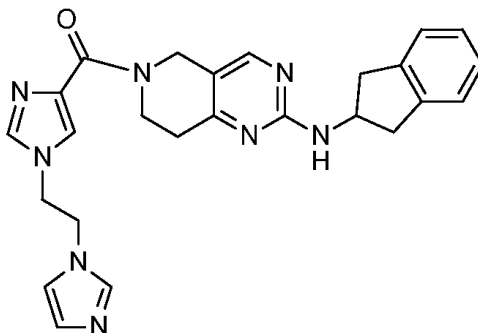
30 Síntesis de [1-(3-imidazol-1-ilpropil)pirazol-4-il]-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



- 5 Se introdujo [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-(1H-pirazol-4-il)metanona (180 mg, 0,50 mmoles), carbonato de cesio (507 mg, 1,56 mmoles) y yoduro sódico (12,5 mg, 0,083 mmoles) en un matraz de fondo redondo. Se agregó dimetilformamida (2,5 ml) y se agitó durante 20 minutos. Se agregó hidrobromuro de 1-(3-bromopropil)imidazol (150,00 mg, 0,56 mmoles) disuelto en 2 ml de dimetilformamida. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/diclorometano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,073 g, 28%). LCMS (m/z): 469,0 (M+1).

Ejemplo 4

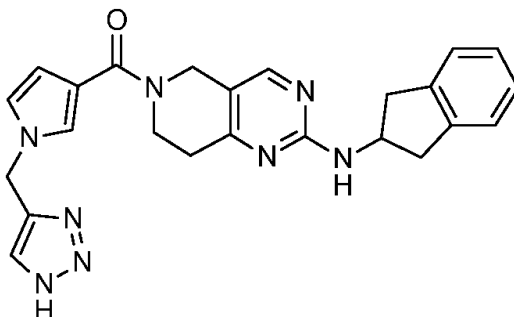
- 10 Síntesis de [1-(2-imidazol-1-ilet)imidazol-4-il]-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



- 15 Se introdujo 1H-imidazol-4-il-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (200 mg, 0,55 mmoles) y carbonato de cesio (506 mg, 1,55 mmoles) en un matraz de fondo redondo. Se agregó dimetilformamida (2,5 ml) y se agitó durante 20 minutos. Se agregó bromuro de (2-bromoetil)-1H-imidazol-1-ilo (156 mg, 0,61 mmoles) y se agitó durante 20 minutos. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con diclorometano/metanol 9:1. Se lavó una vez con salmuera y secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa usando, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,058 g, 23%). LCMS (m/z): 455,2 (M+1).

Ejemplo 5

- 20 Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirrol-1-il]metanona.

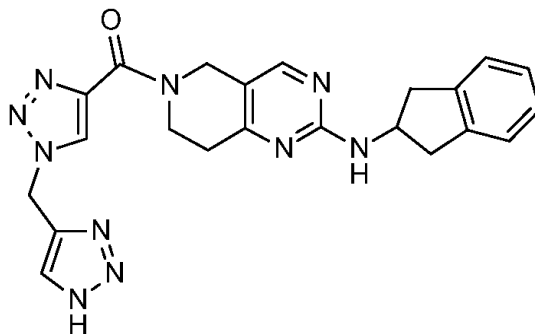


- 25 Se introdujo [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-(1-prop-2-ynilpirrol-3-il)metanona (140 mg, 0,35 mmoles) en un recipiente de reacción de microondas y se agregó dimetilformamida (3 ml) y agua (4 ml). Se agregó sulfato de cobre(II) pentahidrato (35 mg, 0,141 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (279 mg, 1,41 mmoles). El sistema se degasificó borboteando nitrógeno y purgándolo tres veces. Se agregó azidotrimetilsilano (0,188 ml, 1,41 mmoles) y se calentó a 90°C durante una noche. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró

bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/diclorometano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,083 g, 3%). LCMS (m/z): 441,2 (M+1).

Ejemplo 6

Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[1-(1H-triazol-4-ilmetil)triazol-4-il]metanona.



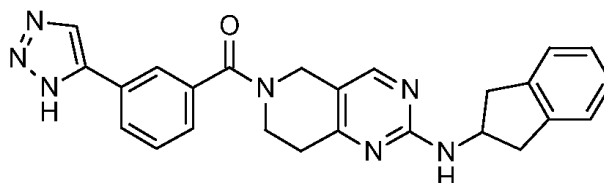
5

Se introdujo ácido 1-(1H-triazol-4-ilmetil)triazol-4-carboxílico (97 mg, 375 mmoles) y dimetil sulfóxido (2 ml) en un matraz de fondo redondo. Se agregó tetrafluoroborato de O-benzo-triazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio (240 mg, 0,726 mmoles) y diisopropiletamida (450 μ l, 2,58 mmoles) y se agitó durante 15 minutos. Se agregó N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (0,100 g, 0,375 mmoles) y se agitó a 25°C durante 18 horas. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,014 g, 8,4%). LCMS (m/z): 443,2 (M+1).

10

Ejemplo 7

Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[3-(1H-triazol-5-il)fenil]metanona.



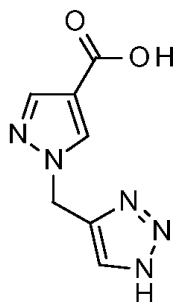
15

Se introdujo (3-etinilfenil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (243 mg, 0,616 mmoles) en un recipiente de reacción de microondas y se agregó dimetilformamida (1,2 ml) y agua (3,7 ml). Se agregó sulfato de cobre(II) pentahidrato (31 mg, 0,123 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (244 mg, 1,23 mmoles). El sistema se desgasificó borboteando nitrógeno y purgándolo tres veces. Se agregó azidotrimetilsilano (0,33 ml, 2,46 mmoles) y se calentó a 90°C durante 2 horas. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces acetato de etilo/metanol 9:1. Se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,27 g, 33,0%). LCMS (m/z): 438,2 (M+1).

20

Preparación 20

25 Síntesis de ácido 1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirazol-4-carboxílico.

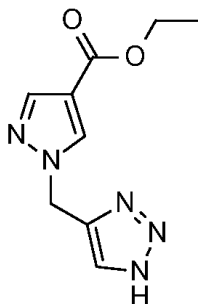


Se introdujo 1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirazol-4-carboxilato de etilo (2,1 g, 7,16 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 100 ml y se disolvió en tetrahidrofurano (30 ml) y agua (15 ml). Se agregó hidróxido de litio (1,50 g, 35,79 mmoles) y se calentó a 55°C durante 18 horas. La mezcla de reacción se diluyó con ácido clorhídrico 5 N hasta pH 1-2. El

disolvente se eliminó bajo presión reducida. Se agregó etanol y el sólido se separó por filtración. El filtrado se concentró bajo presión reducida, proporcionando el compuesto del epígrafe (3,01 g, >100%). LCMS (m/z): 194,0 (M+1).

Preparación 21

Síntesis de 1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirazol-4-carboxilato de etilo.



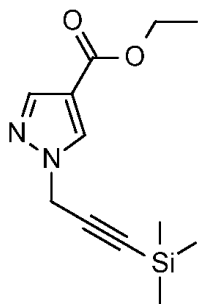
5

Se introdujo 1-(3-trimetilsililprop-2-inil)pirazol-4-carboxilato de etilo (0,751 g, 3,00 mmoles) en un recipiente de reacción de microondas y se disolvió en dimetilformamida (12,00 ml) y agua (18 ml). Se agregó sulfato de cobre(II) pentahidrato (150 mg, 0,6 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (1,19 g, 6,06 mmoles). La mezcla de reacción se desgasificó tres veces. Se agregó azidotrimetilsilano (1,60 ml, 12,00 mmoles) y se calentó a 90°C durante 15 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se extrajo tres veces con acetato de etilo y la fase acuosa se descartó. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice ultrarrápida con metanol/acetatonitrilo, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,5 g, 75%). LCMS (m/z): 222,0 (M+1).

10

Preparación 22

15 Síntesis de 1-(3-trimetilsililprop-2-inil)pirazol-4-carboxilato de etilo.



20

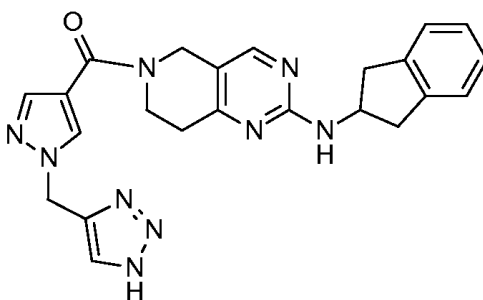
25

Se introdujo 1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (700,7 mg, 5 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 50 ml y se disolvió en dimetilformamida (11 ml). La mezcla de reacción se enfrió a 0°C. Se agregó hidruro sódico (180 mg, 4,5 mmoles) en porciones durante 20 minutos. La mezcla de reacción se agitó durante 20 minutos y, a continuación, se agregó 3-bromoprop-1-inil(trimetil)silano (0,92 ml, 6,5 mmoles) y se agitó durante un tiempo adicional de 30 minutos. La mezcla de reacción se interrumpió con agua (20 ml) y se extrajo tres veces con acetato de etilo y la fase acuosa se descartó. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice ultrarrápida con acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,75 g, 60%). LCMS (m/z): 251,0 (M+1).

Ejemplo 8

Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirazol-4-il]metanona.

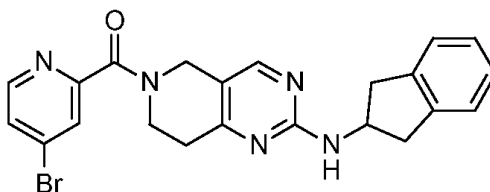
Un nombre químico alternativo para el compuesto del Ejemplo 8 es [2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidro-pirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il]-[1-(1H-1,2,3-triazol-4-ilmetil)-1H-pirazol-4-il]metanona.



5 Se introdujo ácido 1-(1H-triazol-4-ilmetil)pirazol-4-carboxílico (2,28 g, 5,70 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 100 ml y se disolvió en dimetil sulfóxido (28,5 ml). Se agregó diisopropiletilamina (6,8 ml, 39,2 mmoles) y tetrafluoroborato de O-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio (3,5 g, 11,00 mmoles) y se agitó durante 10 minutos. Se agregó N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (1,52 g, 5,7 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó durante 90 minutos. La reacción se interrumpió con agua (40 ml) y se extrajo tres veces con metanol al 10%/acetato de etilo y la fase acuosa se descartó. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa y se cristalizó con metanol/acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,45 g, 18%). LCMS (m/z): 442,2 (M+1).

Preparación 23

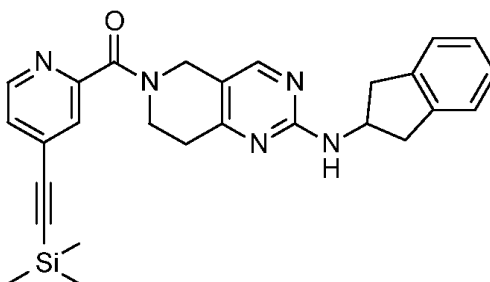
Síntesis de (4-bromo-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



15 Se introdujo N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (2,66 g, 10 mmoles), ácido 4-bromopiridino-2-carboxílico (2,24 g, 11,0 mmoles), hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (2,88 g, 15,0 mmoles) y 4-piridamina, N,N-dimetil- (61 mg, 0,50 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 100 ml. Se disolvió en diclorometano (40 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. Se concentró y el residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice ultrarrápida con acetonitrilo/diclorometano, proporcionando el compuesto del epígrafe (2,9 g, 64%). LCMS (m/z): 452,0 (M+1).

20 Preparación 24

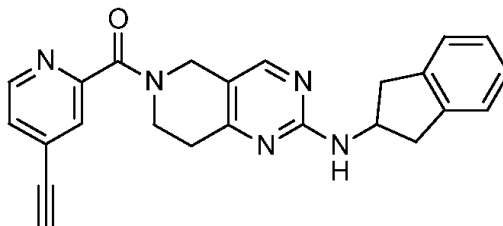
Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[4-(2-trimetilsililetinil)-2-piridil]metanona.



25 Se introdujo (4-bromo-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (2,9 g, 6,44 mmoles), trimetilsililacetileno (1,1 ml, 7,73 mmoles), trietilamina (16 ml, 116 mmoles), cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (219 mg, 0,31 mmoles) y yoduro de cobre(I) (32 mg, 0,2 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 50 ml. Se disolvió en dimetilformamida (32 ml) y la mezcla de reacción se desgasificó tres veces. La mezcla de reacción se calentó a 65°C durante 18 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo y la fase acuosa se descartó. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice ultrarrápida con acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (1,3 g, 43%). LCMS (m/z): 468,2 (M+1).

Preparación 25

Síntesis de (4-etinil-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.

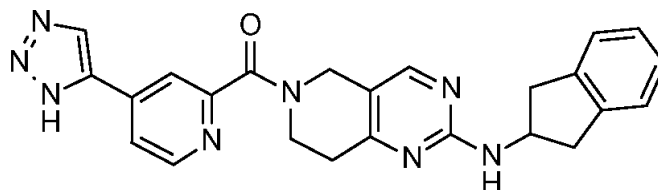


5 Se introdujo [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[4-(2-trimetilsililetinil)-2-piridil]metanona (1,3 g, 2,78 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 50 ml. Se disolvió en tetrahidrofurano (18 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a 0°C. Se agregó fluoruro de tetrabutilamonio 1 N (3,06 ml, 3,06 mmoles) y se agitó durante 30 minutos. La reacción se interrumpió con agua (40 ml) y se extrajo tres veces con acetato de etilo y la fase acuosa se descartó. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice ultrarrápida con metanol/acetato de etilo, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,89 g, 81%). LCMS (m/z): 396,0 (M+1).

Ejemplo 9

Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[4-(1H-triazol-5-il)-2-piridil]metanona.

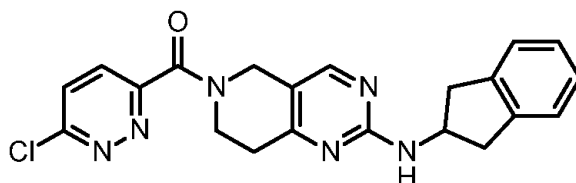
Un nombre químico alternativo para el compuesto del Ejemplo 9 es [2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidro-pirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il][4-(1H-1,2,3-triazol-5-il)piridin-2-il]metanona.



15 Se introdujo (4-etinil-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (2,3 g, 4,92 mmoles) en un vial de microondas y se disolvió en dimetilformamida (29 ml) y agua (29 ml). Se agregó sulfato de cobre(II) pentahidrato (249 mg, 1 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (1,9 g, 9,8 mmoles) y dimetilformamida (15 ml). La mezcla de reacción se desgasificó tres veces. Se agregó azidotrimetilsilano (2,3 ml, 20 mmoles), gota a gota durante 20 minutos. Se calentó a 90°C durante 15 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se extrajo tres veces con acetato de etilo y la fase acuosa se descartó. Las capas orgánicas se combinaron y se lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,47 g, 22%). LCMS (m/z): 439,0 (M+1).

25 Preparación 26

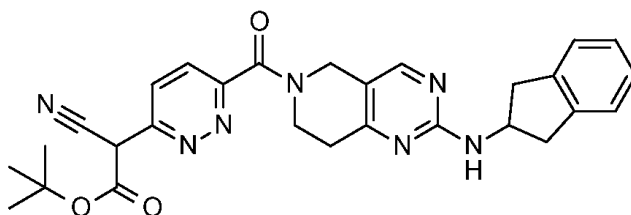
Síntesis de (6-cloropiridazin-3-il)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



30 Se agitó una suspensión de ácido 6-cloropiridazin-3-carboxílico (1,93 g, 1,20 equiv., 12,17 mmoles), N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (2,70 g, 1,00 equiv., 10,14 mmoles), e hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminiopropil)-3-etilcarbodiimida (2,14 g, 1,10 equiv., 11,16 mmoles) en diclorometano (25 ml) durante 30 minutos. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida y se purificó mediante cromatografía de columna (0 a 5% de metanol/cloruro de metileno), proporcionando el compuesto del epígrafe (3,70 g, 90%). MS (m/z): 407 (M+H).

Preparación 27

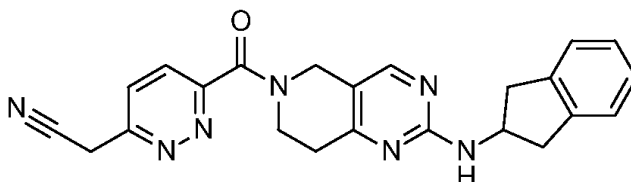
35 Síntesis de 2-ciano-2-[6-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidino-6-carbonil]piridazin-3-il]acetato de terc-butilo.



- 5 Se agregó cianoacetato de t-butilo (0,27 ml, 1,52 equiv., 1,83 mmoles) a una suspensión agitada de hidruro sódico (0,12 g, 2,50 equiv., 3,00 mmoles) en 1,4-dioxano (6,5 ml) a temperatura ambiente. Después de 1 hora, se agregó (6-cloropiridazin-3-il)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidino-6-il]metanona (0,49 g, 1,00 equiv., 1,20 mmoles) y la mezcla de reacción resultante se calentó a 100°C durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se repartió entre acetato de etilo y ácido clorhídrico 3 M y las capas se separaron. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró bajo presión reducida, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,61 g, 99%). MS (m/z): 512 (M+H).

Preparación 28

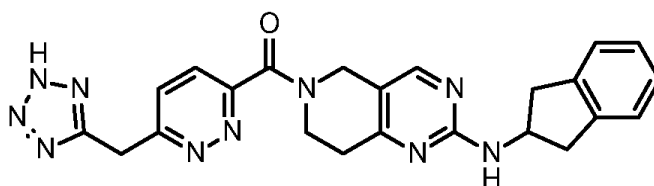
- 10 Síntesis de 2-[6-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidino-6-carbonil]piridazin-3-il]acetonitrilo.



- 15 Se agregó ácido p-toluenosulfónico monohidrato (0,025 g, 0,11 equiv., 0,13 mmoles) a una solución agitada de 2-ciano-2-[6-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidino-6-carbonil]piridazin-3-il]acetato de terc-butilo (0,61 g, 1,00 equiv., 1,19 mmoles) en tolueno (8 ml) y se calentó a reflujo durante 3 horas y, a continuación, se enfrió a temperatura ambiente y se filtró. El residuo sólido se disolvió en cloruro de metileno (30 ml) y se lavó con bicarbonato sódico saturado, se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (50 a 75% de acetona/hexanos), proporcionando el compuesto del epígrafe (0,255 g, 52%). MS (m/z): 412 (M+H).

Ejemplo 10

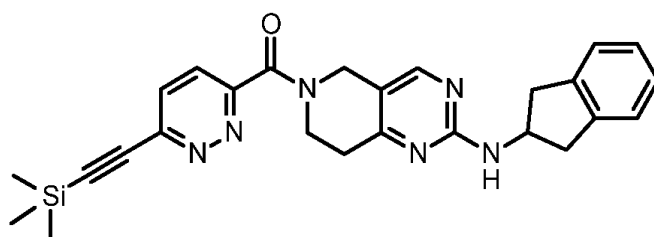
- 20 Síntesis de [2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il][6-(1H)-tetrazol-5-ilmetil]piridazin-3-il]metanona.



- 25 Se agregó azidotrimetilsilano (0,81 ml, 10 equiv., 6,08 mmoles) y dibutiloxiestannano (0,042 g, 0,28 equiv., 0,17 mmoles) a una suspensión agitada de 2-[6-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidino-6-carbonil]piridazin-3-il]acetonitrilo (0,25 g, 1,00 equiv., 0,61 mmoles) en tolueno (6 ml) y la mezcla de reacción resultante se calentó a 110°C durante 16 horas y, a continuación, se enfrió a temperatura ambiente y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de fase inversa, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,074 g, 27%). MS (m/z): 455 (M+H).

Preparación 29

- 30 Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[6-(2-trimetilsililetil)piridazin-3-il]metanona.

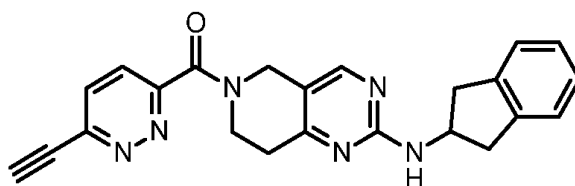


- 5 Se irradió un vial de microondas con una suspensión de (6-cloropiridazin-3-il)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (0,505 g, 1,00 equiv., 1,24 mmoles), yoduro de cobre(I) (0,014 g, 0,06 equiv., 0,073 mmoles), cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (0,043 g, 0,05 equiv., 0,061 mmoles) y trimetilsililacetileno (0,69 ml, 3,94 equiv., 4,90 mmoles) en dimetilformamida (0,9 ml) y trietilamina (10 ml) a 140°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo y ácido clorhídrico 0,1 N y se separó. La capa orgánica se agitó con SiliCycle (SiliaMets Thiol) durante 30 minutos, se filtró y se concentró. El residuo se disolvió en 50% de acetona/hexanos y se purificó usando un tapón de gel de sílice. El filtrado se concentró bajo presión reducida, proporcionando el compuesto del epígrafe 0,44 g, 76%). MS (m/z): 469 (M+H).

Preparación 30

- 10 Síntesis de [6-(2,2-dimetoxietil)piridazin-3-il]-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.

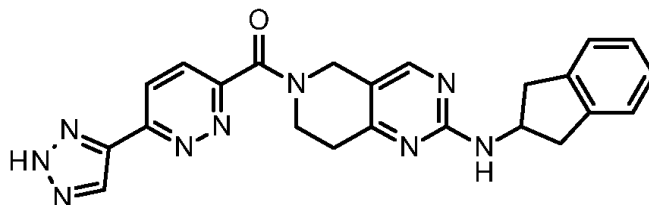
Un nombre químico alternativo para el compuesto de la Preparación 30 es (6-etinilpiperazin-3-il)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



- 15 Se agitó una suspensión de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[6-(2-trimetilsililetil)piridazin-3-il]metanona (0,50 g, 1,00 equiv., 1,07 mmoles) y carbonato potásico (0,42 g, 2,8 equiv., 3,01 mmoles) en metanol (10 ml) durante 15 minutos. La reacción se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se repartió entre agua y cloruro de metileno y las capas se separaron y, a continuación, la capa acuosa se extrajo adicionalmente con cloruro de metileno (150 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna (50% de acetona/hexanos), proporcionando el compuesto del epígrafe (0,082 g, 16%). MS (m/z): 397 (M+H).

Ejemplo 11

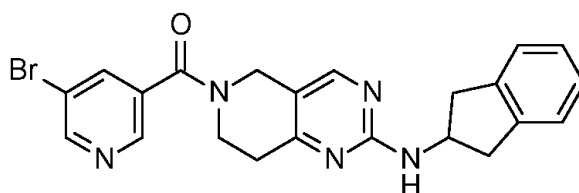
Síntesis de [2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il]][6-(1H)-1,2,3-triazol-5-il]piridazin-3-il]metanona.



- 25 Se desgasificó y volvió a llenar (2x) una suspensión agitada de (6-etinilpiperazin-3-il)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (0,082 g, 1,00 equiv., 0,21 mmoles), sulfato de cobre(II) pentahidrato (0,005 g, 0,1 equiv., 0,020 mmoles), y sal sódica de ácido L-ascórbico (0,012 g, 0,3 equiv., 0,061 mmoles) en dimetilformamida (1 ml) y agua (1 ml). Se agregó azidotrimetilsilano (0,053 ml, 1,8 equiv., 0,375 mmoles) y la mezcla de reacción resultante se calentó a 90°C durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se repartió entre ácido clorhídrico 0,1 N y acetato de etilo y se separó. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (2 x 50 ml), se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna de fase inversa, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,031 g, 35%). MS (m/z): 440 (M+H).

Preparación 31

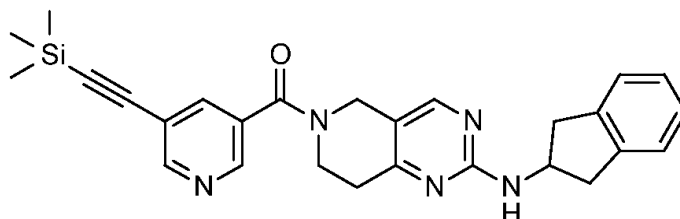
- 35 Síntesis de (5-bromo-3-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



Se agitó una suspensión de ácido 5-bromonicotínico (0,91 g, 1,20 equiv., 4,51 mmoles), N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (1,00 g, 1,00 equiv., 3,75 mmoles), e hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (0,791 g, 1,1 equiv., 4,13 mmoles) en diclorometano (8 ml) durante treinta minutos y, a continuación, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. El residuo resultante se purificó mediante cromatografía de columna (0 a 50% de metanol/diclorometano), proporcionando el compuesto del epígrafe (1,145 g, 68%) en forma de un sólido de color blanco. MS (m/z): 450, 452 (M, M+2H).

Preparación 32

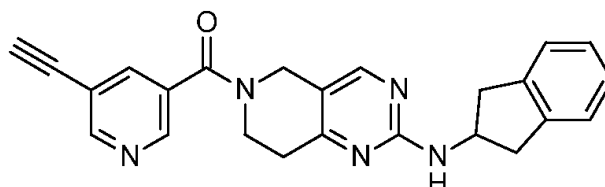
Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[5-(2-trimetilsililetinil)-3-piridil]metanona.



Se irradió un vial de microondas de 20 ml conteniendo (5-bromo-3-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (1,47 g, 1,00 equiv., 2,45 mmoles), cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (0,086 g, 0,05 equiv., 0,12 mmoles), yoduro de cobre(I) (0,24 g, 0,05 equiv., 0,12 mmoles), trietilamina (1,42 ml, 4,15 equiv., 10,16 mmoles), (trimetilsilil)acetileno (2,42 ml, 7,0 equiv., 17,1 mmoles), y dimetilformamida (2,45 ml) a 120°C durante 50 minutos. La mezcla de reacción se diluyó en acetato de etilo (75 ml) y LiliaMetS Thiol (1,31 g) y, a continuación, se dejó la mezcla de reacción en agitación a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se filtró y, a continuación, los componentes orgánicos se lavaron con solución de cloruro de litio (5%, 2x) y salmuera. Los compuestos orgánicos se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de columna (30% de acetona/hexanos), proporcionando el compuesto del epígrafe (0,852 g, 74%), en forma de una espuma de color naranja-pardo. MS (m/z): 468 (M+H).

Preparación 33

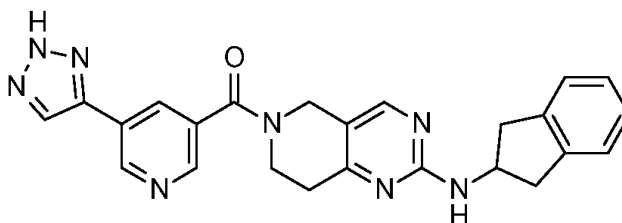
Síntesis de (5-etinil-3-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



Se agitó una solución de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[5-(2-trimetilsililetinil)-3-piridil]metanona (0,852 g, 1,00 equiv., 1,82 mmoles) y carbonato potásico (0,76 g, 3,0 equiv., 5,47 mmoles) en metanol (10 ml) y diclorometano (10 ml) a temperatura ambiente durante 15 minutos y, a continuación, la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó con agua. Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,753 g, >95%), en forma de un sólido. El material se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional. MS (m/z): 396 (M+H).

Ejemplo 12

Síntesis de [2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il][5-(1H-1,2,3-triazol-5-il)piridin-3-il]metanona.

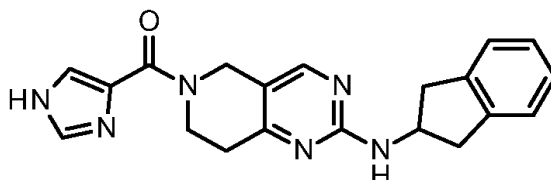


Se desgasificó y volvió a llenar (gas nitrógeno) dos veces una solución conteniendo (5-etinil-3-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (0,72 g, 1,00 equiv., 1,82 mmoles), sulfato de cobre(II) pentahidrato (0,023 g, 0,05 equiv., 0,091 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (0,072 g, 0,2 equiv., 0,36 mmoles).

les) en dimetilformamida (1,8 ml) y agua (1,8 ml). Se agregó azidotrimetilsilano (0,36 ml, 1,5 equiv., 2,73 mmoles) y la mezcla de reacción se calentó a 90°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo y cloruro sódico saturado al 50%. Las capas acuosas se extrajeron con cloroformo:isopropanol 3:1. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se trituró con metanol y acetato de etilo, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,173 g, 22%), en forma de un sólido blanquecino. MS (m/z): 439 (M+H).

Preparación 34

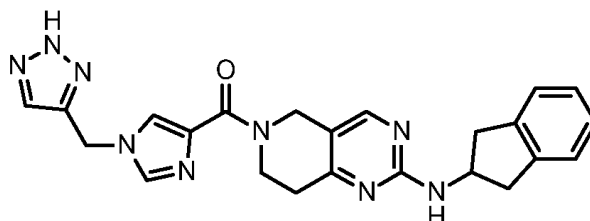
Síntesis de 1H-imidazol-4-il-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



Se agitó una mezcla de N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidro[4,3-d]pirimidin-2-amina (1,00 g, 1,00 equiv., 3,75 mmoles), ácido 1H-imidazol-4-carboxílico (0,46 g, 1,10 equiv., 4,10 mmoles), dicloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (0,79 g, 1,10 equiv., 4,17 mmoles), hidrato de 1-hidroxibenzotriazol (0,63 g, 1,10 equiv., 4,11 mmoles), y trietilamina (1,6 ml, 3,1 equiv., 11,48 mmoles) en dimetilformamida (12,5 ml) a temperatura ambiente durante una noche. La solución se repartió entre acetato de etilo y solución de cloruro de litio al 5% y las capas se separaron y, a continuación, la capa acuosa se extrajo adicionalmente con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico anhidro, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía de columna (0 a 20% de metanol/diclorometano), proporcionando el compuesto del epígrafe (0,842 g, 62%) en forma de un sólido de color blanquecino. MS (m/z): 361 (M+H).

Ejemplo 13

Síntesis de [2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il][1-(1H-1,2,3-triazol-5-il)-metil]-1H-imidazol-4-il]metanona.

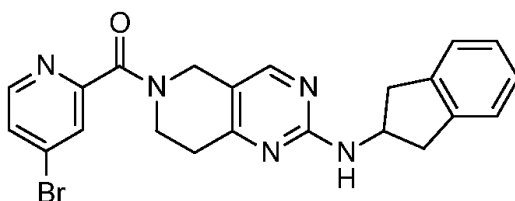


Se agregó en porciones durante 5 minutos hidruro sódico (0,22 g, 2,00 equiv., 5,55 mmoles) a una solución a 0°C de 1H-imidazol-4-il-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (1,00 g, 1,00 equiv., 2,77 mmoles) en tetrahidrofurano (10 ml) y se agitó durante 15 minutos. La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente y se agregó bromuro de propargilo (0,46 ml, 1,5 equiv., 4,16 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. Se agregó metanol (1 ml) y la mezcla se concentró. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía de columna (0 a 5% de metanol/diclorometano), proporcionando el compuesto intermedio N-alquilimidazol en forma de una mezcla de isómeros N-propargílico (0,697 g, 63%) y N-alénico (0,123 g, 11%).

Estos productos se combinaron y se agregaron a una solución de sulfato de cobre pentahidrato (0,024 g, 0,05 equiv., 0,096 mmoles) en dimetilformamida (16,4 ml) y agua (4 ml). El sistema se desgasificó y volvió a llenar con nitrógeno 3 veces y, a continuación, se agregó sal sódica de ácido L-ascórbico (0,090 g, 0,23 equiv., 0,45 mmoles). Se agregó azidotrimetilsilano (0,40 ml, 1,50 equiv., 3,00 mmoles) y la mezcla de reacción se calentó a 90°C durante 16 horas. La mezcla se repartió entre agua y cloroformo:alcohol isopropílico 3:1. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron en vacío. El producto se purificó mediante cromatografía de fase inversa, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,035 g, 5%), en forma de un sólido de color blanco. MS (m/z): 442 (M+H).

Preparación 35

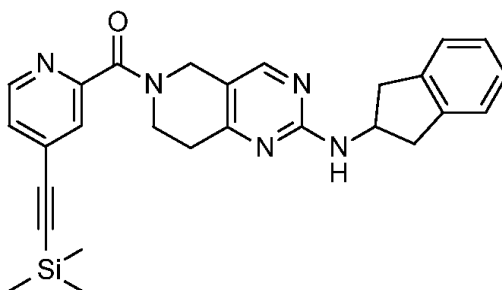
Síntesis de (4-bromo-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



5 Se introdujo N-indanil-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (2,66 g, 10 mmoles), ácido 4-bromopiridino-2-carboxílico (2,24 g, 11,00 mmoles), hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (2,88 g, 15,00 mmoles), y 4-piridamina, N,N-dimetil- (61,08 mg, 0,500 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 100 ml. Se disolvió en diclorometano (40 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. El residuo se concentró y purificó mediante cromatografía de gel de sílice ultrarrápida con acetonitrilo/diclorometano, proporcionando el compuesto del epígrafe (2,9 g, 64%). LCMS (m/z): 452,0 (M+2).

Preparación 36

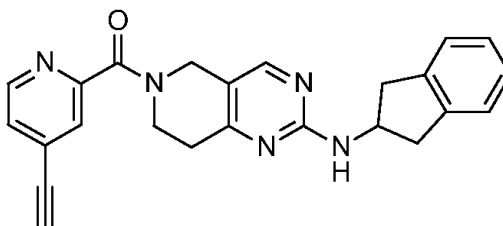
Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[4-(2-trimetilsililetinil)-2-piridil]metanona.



10 Se introdujo (4-bromo-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (2,9 g, 6,44 mmoles), trimetilsililacetileno (1,1 ml, 7,73 mmoles), trietilamina (16 ml, 115,5 mmoles), cloruro de bis(trifenilfosfina)-paladio(II) (219,15 mg, 0,31 mmoles) y yoduro de cobre(I) (32 mg, 0,2 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 50 ml. Se disolvió en dimetilformamida (32 ml) y la mezcla de reacción se desgasificó tres veces. La mezcla de reacción se calentó a 65°C durante 18 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo y la fase acuosa se descartó. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice ultrarrápida con acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (1,3 g, 43%). LCMS (m/z): 468,2 (M+1).

20 Preparación 37

Síntesis de (4-etenil-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.

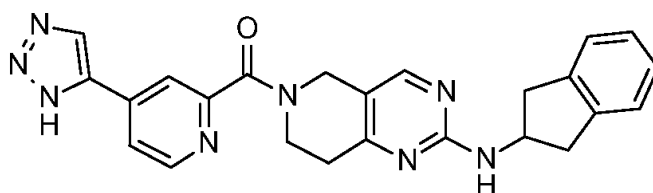


25 Se introdujo [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[4-(2-trimetilsililetinil)-2-piridil]metanona (1,3 g, 2,78 mmoles) en un matraz de fondo redondo de 50 ml. Se disolvió en tetrahidrofurano (18 ml, 15,89) y la mezcla de reacción se enfrió a 0°C. Se agregó fluoruro de tetrabutilamonio 1 M (3,06 ml, 3,06 mmoles) y se agitó durante 30 minutos. La reacción se interrumpió con agua (40 ml) y se extrajo tres veces con acetato de etilo y la fase acuosa se descartó. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de gel de sílice ultrarrápida con metanol/acetato de etilo, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,89 g, 81%). LCMS (m/z): 396,0 (M+1).

Ejemplo 14

Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[4-(1H-triazol-5-il)-2-piridil]metanona.

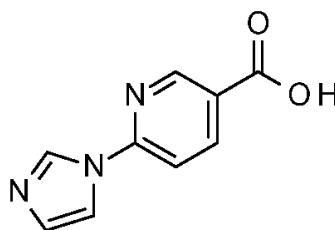
Un nombre químico alternativo para el compuesto del Ejemplo 14 es [2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il][4-(1H-1,2,3-triazol-5-il)piridino-2-il]metanona.



5 Se introdujo [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[4-(2-trimetilsiletinil)-2-piridil]metanona (2,3 g, 4,92 mmoles) en un vial de microondas y se disolvió en dimetilformamida (29 ml) y agua (29 ml). Se agregó sulfato de cobre(II) pentahidrato (246 mg, 1,0 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (1,9 g, 9,8 mmoles) y dimetilformamida (15 ml). La mezcla de reacción se desgasificó tres veces. Se agregó azidotrimetilsilano (2,3 ml, 20 mmoles) gota a gota durante 20 minutos. La mezcla se calentó a 90°C durante 15 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se extrajo tres veces con acetato de etilo y la fase acuosa se descartó. Las capas orgánicas se combinaron y lavaron una vez con salmuera. Se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,47 g, 22%). LCMS (m/z): 439,0 (M+1).

Preparación 38

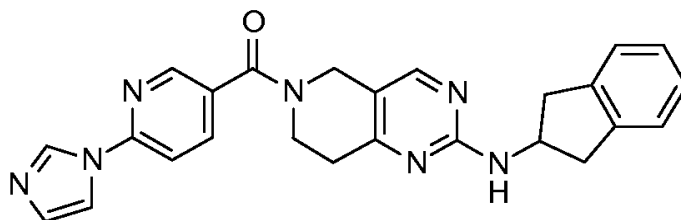
Síntesis de ácido 6-imidazol-1-ilpiridino-3-carboxílico.



15 Se introdujo 6-imidazol-1-ilpiridino-3-carboxilato de metilo (535 mg, 2,50 mmoles), tetrahidrofurano (12 ml), hidróxido sódico (780 mg, 3,75 mmoles) y metanol (10 ml) en un matraz de fondo redondo y se calentó a 50°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se acidificó con ácido clorhídrico 1 N y se concentró bajo presión reducida hasta sequedad. Se suspendió en metanol/diclorometano, se filtró y se concentró, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un sólido de color blanco (0,47 g, 68%). LCMS (m/z): 190,0 (M+1).

Ejemplo 15

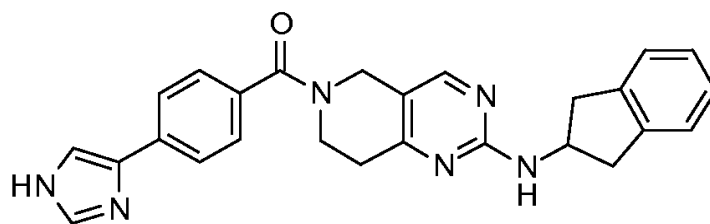
Síntesis de (6-imidazol-1-il-3-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



25 Se introdujo ácido 6-imidazol-1-ilpiridino-3-carboxílico (125 mg, 0,66 mmoles), N-indanil-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (160 mg, 0,60 mmoles), hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (173 mg, 0,90 mmoles), y 4-piridamina, N,N-dimetil (3,7 mg, 0,03 mmoles) en un matraz de fondo redondo y se disolvió en diclorometano (5 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas a 25°C. Se concentró bajo presión reducida hasta sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,049 g, 19%). LCMS (m/z): 438,0 (M+1).

Ejemplo 16

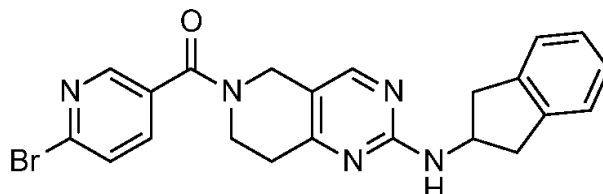
Síntesis de [4-(1H-imidazol-4-il)fenil]-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



5 Se introdujo ácido 4-(1H-imidazol-4-il)benzoico (124 mg, 0,66 mmoles), N-indanil-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (160 mg, 0,60 mmoles), hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (173 mg, 0,90 mmoles), y 4-piridamina, N,N-dimetil (3,7 mg, 0,03 mmoles) en un matraz de fondo redondo y se disolvió en diclorometano (5 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas a 25°C. Se concentró bajo presión reducida hasta sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase inversa, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,106 g, 40%). LCMS (m/z): 437,2 (M+1).

Preparación 39

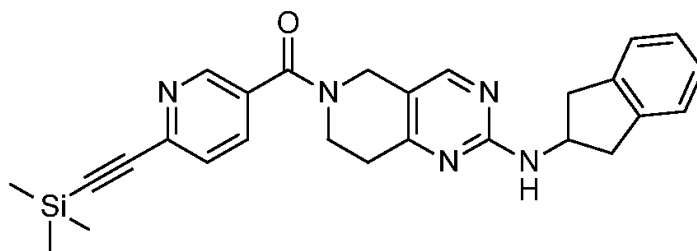
Síntesis de (6-bromo-3-ilpiridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



10 Se introdujo ácido 6-bromopiridino-3-carboxílico (224 mg, 1,10 mmoles), N-indanil-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (266 mg, 1,00 mmoles), hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (288 mg, 1,50 mmoles), y 4-piridamina, N,N-dimetil (6,1 mg, 0,05 mmoles) en un matraz de fondo redondo y se disolvió en diclorometano (4 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas a 25°C. Se concentró bajo presión reducida hasta sequedad. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando acetonitrilo/diclorometano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,25 g, 55%). LCMS (m/z): 452,2 (M+1).

Preparación 40

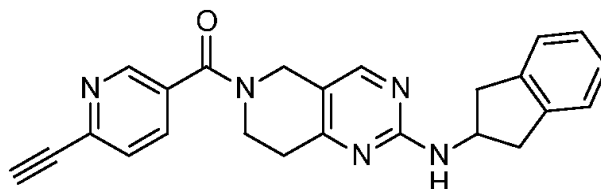
Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[6-(2-trimetilsililetinil)-3-piridil]metanona.



20 Se introdujo (6-bromo-3-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (260 mg, 0,57 mmoles), trietilamina (1,44 ml, 10,36 mmoles), (trimetilsilil)acetileno (0,098 ml, 0,69 mmoles), cloruro de bis(trifenilfosfino)paladio(II) (9,8 mg, 0,014 mmoles) y yoduro de cobre(I) (1,4 mg, 0,008 mmoles) en un matraz de fondo redondo en dimetilformamida (1,44 ml) y se calentó a 65°C. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/acetonitrilo, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,17 g, 63%). LCMS (m/z): 468,2 (M+1).

Preparación 41

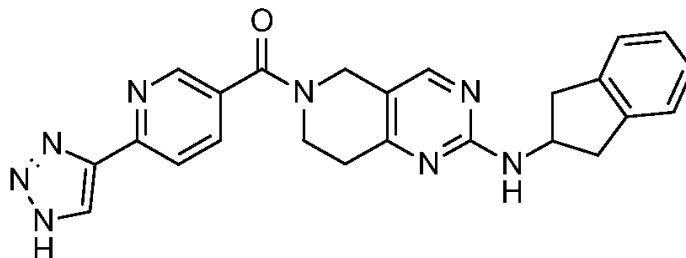
Síntesis de (6-etinil-3-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



Se introdujo [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[6-(2-trimetilsililetinil)-3-piridil]metanona (170 mg, 0,36 mmoles) en un matraz de fondo redondo. Se agregó tetrahidrofurano (1 ml) y se enfrió a 0°C. Se agregó fluoruro de tetra-N-butil amonio 1 M (0,40 ml, 0,40 mmoles) y se agitó durante 30 minutos. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,087 g, 61%). LCMS (m/z): 396,2 (M+1).

Ejemplo 17

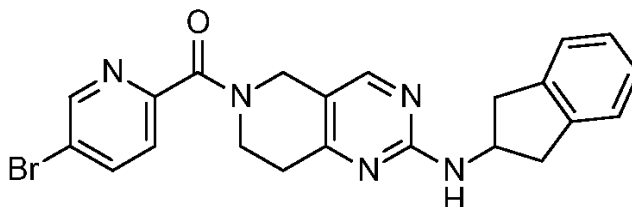
Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[6-(1H-triazol-4-il)-3-piridil]metanona.



Se introdujo (6-etinil-3-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (87 mg, 0,22 mmoles) en un recipiente de reacción de microondas y se agregó dimetilformamida (1,7 ml) y agua (1,3 ml). Se agregó sulfato de cobre(II) pentahidrato (11 mg, 0,044 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (87 mg, 0,44 mmoles). El sistema se desgasificó borboteando nitrógeno y purgándolo tres veces. Se agregó azidotrimetilsilano (0,117 ml, 0,88 mmoles) y se calentó a 90°C durante 2 horas. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo/metanol 9:1. Se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,043 g, 44%). LCMS (m/z): 439,2 (M+1).

Preparación 42

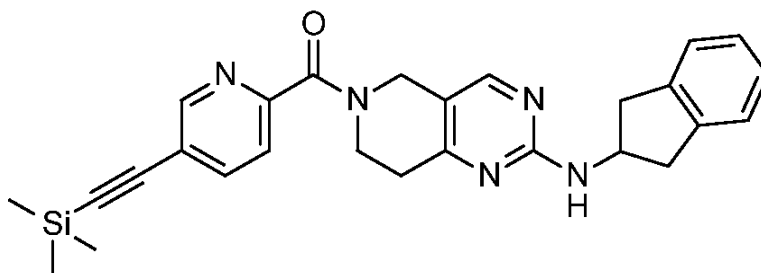
Síntesis de (5-bromo-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



Se introdujo ácido 5-bromopiridino-2-carboxílico (224 mg, 1,10 mmoles), N-indanil-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (266 mg, 1,00 mmoles), hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (288 mg, 1,50 mmoles), y 4-piridamina, N,N-dimetil (6,1 mg, 0,050 mmoles) en un matraz de fondo redondo y se disolvió en diclorometano (4 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 18 horas a 25°C. Se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando acetonitrilo/diclorometano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,34 g, 75%). LCMS (m/z): 452,2 (M+1).

Preparación 43

Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[5-(2-trimetilsililetinil)-2-piridil]metanona.

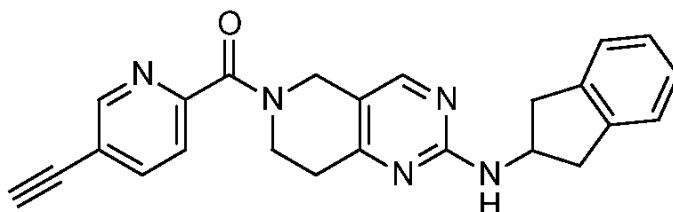


Se introdujo (5-bromo-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (0,34 g, 0,75 mmoles), trietilamina (1,89 ml, 13,54 mmoles), (trimetilsilil)acetileno (0,128 ml, 0,91 mmoles), cloruro de

bis(trifenilfosfino)paladio(II) (13 mg, 0,018 mmoles) y yoduro de cobre(I) (1,9 mg, 0,010 mmoles) en un matraz de fondo redondo en dimetilformamida (2 ml) y se calentó a 90°C. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,25 g, 71%). LCMS (m/z): 468,2 (M+1).

Preparación 44

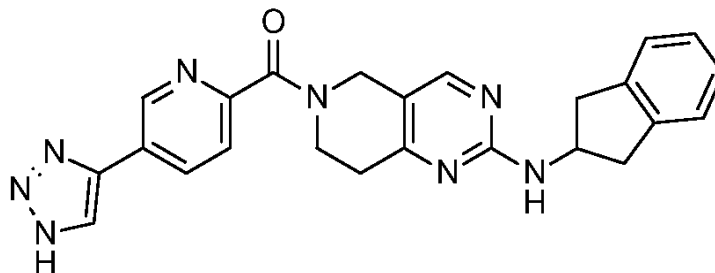
Síntesis de (5-etinil-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona.



Se introdujo [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[5-(2-trimetilsililetinil)-2-piridil]metanona (300 mg, 642 mmoles) en un matraz de fondo redondo. Se agregó tetrahydrofurano (1,5 ml) y se enfrió a 0°C. Se agregó fluoruro de tetra-N-butil amonio 1 M (0,71 ml, 0,71 mmoles) y se agitó durante 30 minutos. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo. Se lavó una vez con salmuera y se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/acetato de etilo/hexano, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,18 g, 71%). LCMS (m/z): 396,2 (M+1).

Ejemplo 18

Síntesis de [2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]-[5-(1H-triazol-4-il)-2-piridil]metanona.



Se introdujo (5-etinil-2-piridil)-[2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-il]metanona (162 mg, 0,41 mmoles) en un recipiente de reacción de microondas y se agregó dimetilformamida (0,7 ml) y agua (2,4 ml). Se agregó sulfato de cobre(II) pentahidrato (20 mg, 0,082 mmoles) y sal sódica de ácido L-ascórbico (162 mg, 0,82 mmoles). El sistema se desgasificó borboteando nitrógeno y purgándolo tres veces. Se agregó azidotrimetilsilano (0,216 ml, 1,64 mmoles) y se calentó a 90°C durante 2 horas. La reacción se interrumpió con agua y se extrajo tres veces con acetato de etilo/metanol 9:1. Se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fase normal usando metanol/acetato de etilo/hexano y, a continuación, cromatografía de fase inversa, proporcionando el compuesto del epígrafe (0,014 g, 8,0%). LCMS (m/z): 439,2 (M+1).

Inhibición de autotaxina medida según la liberación de colina

El objeto de este ensayo es detectar la inhibición de autotaxina usando un ensayo de liberación de colina.

El compuesto de ensayo (soluciones madre 10 mM en DMSO al 100%) se diluyó seriadamente en DMSO al 100% dando como resultado 10 concentraciones de inhibidor 100X en placas de 96 pocillos de semi-área (Corning 3992). Cada uno de estos 10 pocillos en DMSO al 100% se diluyó 1:33,33 en tampón de ensayo en placas de 96 pocillos de fondo redondo (Fisher 12565502) dando como resultado concentraciones 3X por cavidad conteniendo DMSO al 3%. El tampón de ensayo es Tris 50 mM pH 8,0, KCl 5 mM, CaCl₂ 1 mM, MgCl₂ 1 mM, TRITON™ X-100 (Sigma T9284) al 0,01% y albúmina de suero bovino libre de ácido graso al 0,01% (Sigma A8806). A continuación, se agregó una parte alícuota de 20 µl de cada compuesto de ensayo 3X a placas de 96 pocillos de fondo plano de color negro (Corning 3991) individualmente. A continuación, se agregó una parte alícuota de 20 µl por pocillo de autotaxina humana recombinante 3X (Echelon, E-4000) (autotaxina humana de longitud total con una marca His C-terminal transfectada dentro de células 293E y purificada mediante quelato de níquel y cromatografía de exclusión por tamaño) a cada pocillo, excepto para los pocillos de control sin enzima. A los pocillos de control sin enzima se agregó una parte alícuota de 20 µl por pocillo de tampón de ensayo. A cada pocillo se agregó una parte alícuota de 20 µl de

un cóctel 3X conteniendo colina oxidasa (Sigma C5896), peroxidasa de rábano picante (Sigma P8125), amplex ultrarrojo (Invitrogen A36006) y el sustrato de autotaxina lisofosfatidilcolina (LPC)16:0 (Avanti Polar Lipids 855675P), evitándose la exposición a la luz. Las concentraciones finales en el pocillo de colina oxidasa, peroxidasa de rábano picante, amplex ultrarrojo y LPC 16:0 fueron de 0,4 unidades/ml, 4 unidades/ml, 40 μ M y 30 μ M, respectivamente. A continuación, la placa se selló con lámina de aluminio y se incubó a 37°C durante 1 hora en un incubador Labline Imperial III. Durante esta incubación, la LPC se escindió por la autotaxina dando como resultado ácido lisofosfatídico (LPA) 16:0 y colina. La colina liberada se oxidó mediante la colina oxidasa dando como resultado betaína y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno reaccionó con el peróxido de rábano picante y la amplex ultrarroja para formar la molécula fluorescente resorufina. El contenido de resorufina en las placas se midió con un fluorómetro SpectraMax Gemini EM a unas longitudes de onda de emisión-excitación de 530-590 nm usando el software SoftMax Pro 4.8. Las IC₅₀ se calcularon usando ajustes de curvas de 4 parámetros. El compuesto del Ejemplo 1 de la presente invención se ensayó esencialmente como se ha descrito anteriormente. En la Tabla 1 se muestra la IC₅₀. Los compuestos ejemplificados tiene una IC₅₀ menor de 30 nM.

Tabla 1: Inhibición de autotaxina: Ensayo de liberación de colina

Compuesto de ensayo	IC ₅₀ (nM)
Ejemplo 1	<1,70 nM (n=5)
Ejemplo 9	<1,70 nM (n=5)

Los datos en la Tabla 1 ilustran que el compuesto del Ejemplo 1 inhibe la autotaxina usando el ensayo *in vitro* de liberación de colina.

Inhibición mediada por autotaxina de LPA en la presencia de plasma humano

El ensayo siguiente está destinado a medir la inhibición mediada por autotaxina de LPA. Este ensayo es una herramienta que puede usarse para identificar compuestos inhibidores de LPA mediada por autotaxina cuando se usa para ensayar compuestos que han sido identificados como inhibidores de autotaxina. La biosíntesis de LPA a través de autotaxina se estima que es la fuente de LPA para el dolor neuropático mediado por LPA₁. Makoto Inous, y otros, "Autotaxin, a synthetic enzyme of lysophosphatidic acid (LPA), mediates the induction of nerve-injured neuropathic pain", Molecular Pain, vol. 4, pág. 6, (2008). La inhibición de la biosíntesis de LPA mediada por autotaxina está soportada por los resultados de este ensayo.

Se recogieron unidades de plasma procedentes de donantes femeninos humanos sanos en heparina sódica (Lampire Biologicals), se agruparon, se repartieron alícuotamente y se almacenaron a -80°C. El día del ensayo, se descongelaron partes alícuotas del plasma y se centrifugaron durante 10 minutos a 3000 rpm a 4°C en una centrífuga para eliminar los residuos. A cada pocillo de una placa de polipropileno de fondo redondo de 96 pocillos se agregó una parte alícuota de 90 μ l de plasma. A cada pocillo se agregó una parte alícuota de 10 μ l de compuesto de ensayo 10X conteniendo DMSO al 10% en tampón de ensayo (Tris 50 mM pH 8,0, KCl 5 mM, CaCl₂ 1 mM, MgCl₂ 1 mM), excepto para los pocillos de control que no contenían compuesto de ensayo. Esto dio como resultado concentraciones 10X del compuesto de ensayo individualmente con una concentración final de DMSO al 1% en plasma al 90%. A las 0 horas (n=8) y 3 horas (n=8) se agregó una parte alícuota de 10 μ l de DMSO al 10% en tampón de ensayo sin compuesto de ensayo, a las cavidades de control (n=8) sin compuesto de ensayo. A cada una de las cavidades de control sin compuesto de ensayo de 0 horas se agregó una parte alícuota de 10 μ l de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 500 mM, para quelar la autotaxina endógena. Los contenidos enteros de los pocillos de control sin compuesto de ensayo de 0 horas se transfirieron a una nueva placa de polipropileno de fondo redondo de 96 pocillos y se congelaron a -80°C. A continuación, la placa conteniendo plasma+/compuestos de ensayo (menos los pocillos de control sin inhibidor de 0 horas) se incubó durante 3 horas a 37°C en un incubador de hibridación Robbins Scientific™ modelo 400, mientras se agitaba a 14.000 rpm. Durante estas 3 horas de incubación, las lecitina-colesterol aciltransferasas presentes en el plasma escindieron la fosfatidilcolina, dando como resultado niveles de plasma superiores del sustrato de autotaxina lisofosfatidilcolina (LPC). Los niveles de LPC endógenos incrementados se escindieron por la autotaxina endógena, dando como resultado concentraciones de plasma superiores de ácido lisofosfatídico (LPA) endógeno (Nakamura y otros, Clinical Biochemistry, vol. 40, págs. 274-277, (2007)). Este incremento en LPA en la incubación de 3 horas puede ser inhibido por inhibidores de autotaxina. Después de la incubación de 3 horas, se agregaron 10 μ l de EDTA 500 mM a todas las pocillos restantes (pocillos conteniendo compuesto de ensayo y pocillos de control sin compuesto de ensayo de 3 horas) para quelar la autotaxina endógena. A continuación, los contenidos enteros de estos pocillos se agregaron a la placa conteniendo el plasma de control sin compuesto de ensayo de 0 horas que había sido previamente almacenado a -80°C (sin descongelación del plasma de 0 horas). A continuación, la placa recubrió con un sellado de hoja de aluminio y se volvió a dejar a -80°C hasta su extracción para análisis espectrométrico de masas. El día de la extracción, las placas se descongelaron sobre hielo y 25 μ l de plasma de cada pocillo se transfirieron a una placa de 96 pocillos profunda cuadrada de 2 ml True Taper™ (Analytical Sales and Products #968820). A cada pocillo se agregó una parte alícuota de 400 μ l de tampón de extracción (50% de metanol, 49,9% de acetonitrilo, 0,1% de ácido acético) conteniendo patrones internos de LPA (50 ng/ml de D6

deuterium LPA 16:0 y 50 ng/ml de D5 deuterium LPA 18:0) y se determinó el LPA total en cada muestra mediante análisis espectrométricos de masas. El por ciento de inhibición de LPA se calculó de acuerdo con la fórmula siguiente:

$$5 \quad \frac{100 - (\text{plasma de 3 horas} + \text{compuesto de ensayo} - \text{plasma de 0 horas sin compuesto de ensayo de control}) / (\text{plasma de 3 horas sin compuesto de ensayo de control} - \text{plasma de 0 horas sin compuesto de ensayo de control}) \times 100}{100 - (\text{compuesto ensayo 3 horas} - \text{sin compuesto de ensayo de control 0 horas})} \times 100$$

% de inhibición de LPA = ----- x 100

(sin compuesto de ensayo 3 horas - sin compuesto de ensayo de control 0 horas)

- 10 Los valores de IC₅₀ se calcularon usando ajustes de curvas de 4 parámetros. Los resultados se expresaron como media aritmética +/- desviación estándar; n=x. Los resultados de este ensayo usando compuestos de la presente invención pueden mostrar inhibición de LPA que es dependiente de la dosis y estadísticamente significativa. Los resultados del presente ensayo pueden probar que los compuestos de ensayo inhiben la biosíntesis de LPA mediada por autotoxina.
- 15 Los valores de IC₅₀ se calcularon usando ajustes de curvas de 4 parámetros. Los resultados de este ensayo usando compuestos de la presente invención muestran inhibición de LPA mediada por autotoxina que es dependiente de la dosis.

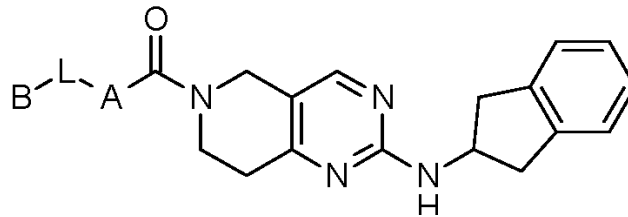
Tabla 2: Inhibición mediada por autotoxina de LPA en plasma humano

Compuesto de ensayo	IC ₅₀ (nM)
Ejemplo 1	5,4 (n=5) (intervalo de 4,3 a 7,1)
Ejemplo 9	7,0 (n=5) (intervalo de 6,1-9,3)

- 20 Los datos en la Tabla 2 demuestran que el compuesto del Ejemplo 1 es un inhibidor de LPA mediada por autotoxina en la presencia de plasma humano.

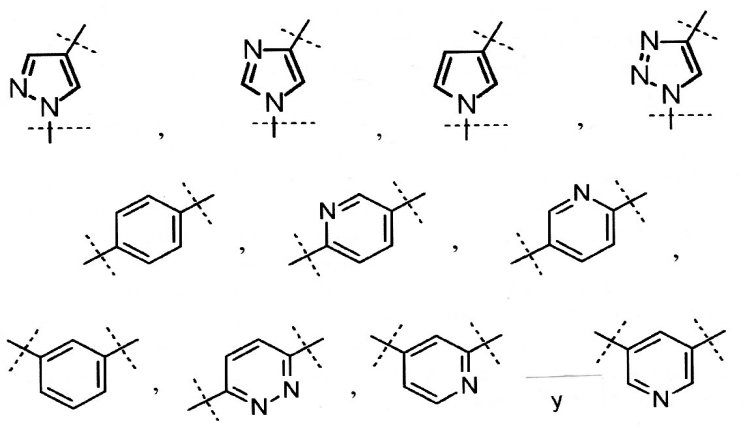
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



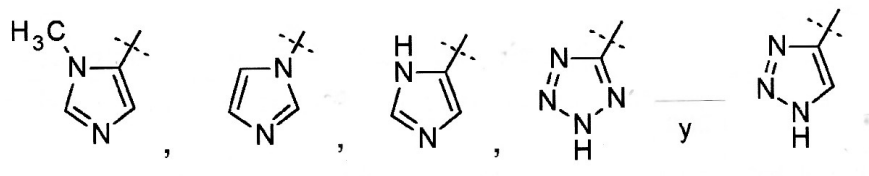
en la que

5 A está seleccionado entre el grupo que consiste en:



L es un enlace o alquilo de C₁-C₃; y

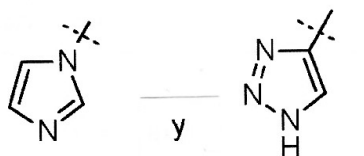
B está seleccionada entre el grupo que consiste en



10 o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo.

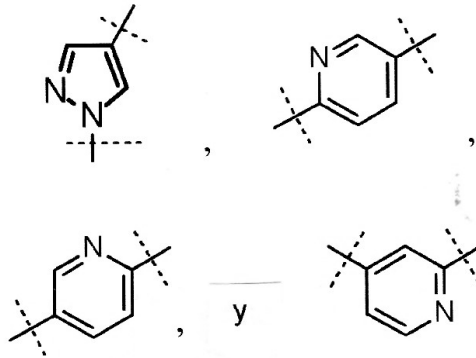
2. Un compuesto o sal del mismo, como se reivindica en la reivindicación 1, en el que L está seleccionada entre el grupo que consiste en un enlace o CH₂.

3. Un compuesto o sal del mismo, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 ó 2, en el que B está seleccionada entre el grupo que consiste en

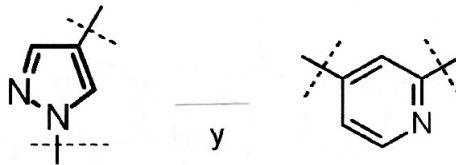


15

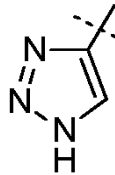
4. Un compuesto o sal del mismo, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que A está seleccionada entre el grupo que consiste en



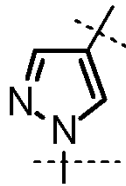
5. Un compuesto o sal del mismo, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que A está seleccionada entre el grupo que consiste en



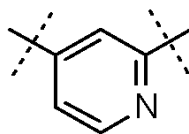
- 5 6. Un compuesto o sal del mismo, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que B es



7. Un compuesto o sal del mismo, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que A es

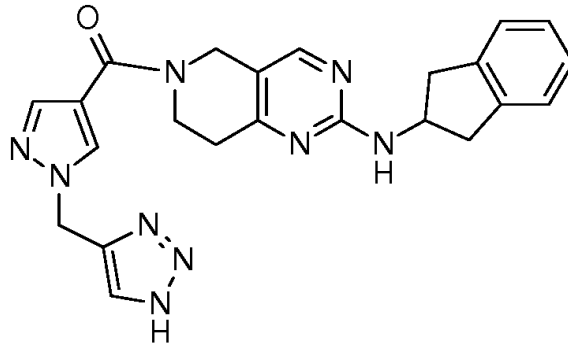


- 10 8. Un compuesto o sal del mismo, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que L es CH₂.
9. Un compuesto o sal del mismo, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 ó 8, en el que A es



- 15 10. Un compuesto o sal del mismo, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 ó 9, en el que L es un enlace.

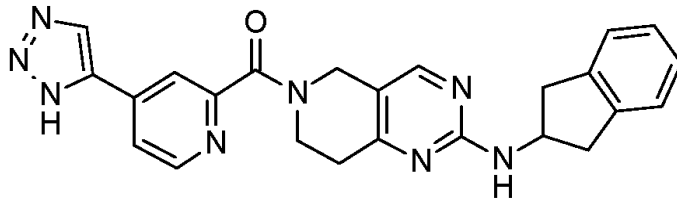
11. Un compuesto de Fórmula II, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8



II

o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo.

12. Un compuesto de Fórmula III, como se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, 9 ó 10



III

5

o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo.

13. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, y uno o más vehículos, diluyentes, o excipientes aceptables farmacéuticamente.
- 10 14. Un compuesto o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, para uso en terapia.
15. Un compuesto o una sal aceptable farmacéuticamente del mismo, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12, para uso en el tratamiento de dolor asociado con osteoartritis.