

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 639 125**

51 Int. Cl.:

C07D 471/02 (2006.01)

C07D 487/02 (2006.01)

C07D 491/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.03.2014 PCT/US2014/020297**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014 WO14143583**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.03.2014 E 14712894 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.06.2017 EP 2970254**

54 Título: **Compuestos de imidazo piridina**

30 Prioridad:

12.03.2013 US 201361777216 P

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

25.10.2017

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**JONES, SPENCER BRIAN;
NORMAN, BRYAN HURST y
PFEIFER, LANCE ALLEN**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 639 125 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de imidazo piridina

La presente invención se refiere a compuestos de imidazo piridina e imidazo morfolina, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y a su uso terapéutico. Los compuestos de la presente invención son inhibidores de autotaxina.

Se ha informado de que la autotaxina es una enzima que es la fuente del ácido lisofosfatídico (LPA) que regula al alza o por incremento las proteínas relacionadas con el dolor a través de uno si sus receptores afines, LPA₁. LPA es un mediador lipídico intracelular que influye en una diversidad de procesos biológicos y bioquímicos. La inhibición dirigida de la biosíntesis de LPA mediada por autotaxina puede proporcionar un mecanismo novedoso para prevenir el dolor neuropático inducido por lesión nerviosa. Se desean compuestos que inhiban la autotaxina para ofrecer una opción de tratamiento potencial para pacientes que necesitan tratamiento para el dolor.

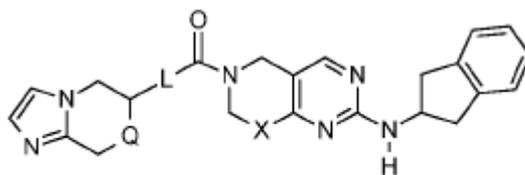
Se ha informado de que el dolor asociado con la osteoartritis (OA) es el síntoma principal que conduce a la discapacidad de las extremidades inferiores en pacientes con OA. Más de 20 millones de estadounidenses han sido diagnosticados con OA, la más común de las artropatías. Los tratamientos actualmente aprobados para el dolor OA pueden ser invasivos, pierden eficacia con el uso a largo plazo, y pueden no ser apropiados para tratar a todos los pacientes. Se desean opciones de tratamiento adicionales para los pacientes que sufren dolor asociado con OA. Los compuestos que inhiben la autotaxina representan otra posible opción de tratamiento para los pacientes con dolor asociado con OA.

La patente US 7.524.852 (852) divulga derivados bicíclicos de pirimidina sustituidos como agentes antiinflamatorios.

El documento PCT/US2011/048477 divulga compuestos indol como inhibidores de autotaxina.

Existe una necesidad de nuevos inhibidores de autotaxina. La presente invención proporciona compuestos novedosos que son inhibidores de autotaxina. La presente invención proporciona ciertos compuestos novedosos que inhiben la producción de LPA. Se desean compuestos inhibidores de autotaxina para proporcionar tratamientos para afecciones mediadas por autotaxina, tales como dolor asociado con OA.

La presente invención proporciona compuestos de Fórmula I



I

en la que X es un enlace o CH₂;

Q es CH₂ u O;

L se selecciona de entre el grupo que consiste en -OCH₂- y -CH₂O-;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención proporciona también un procedimiento para tratar el dolor en un paciente, que comprende administrar a un paciente en necesidad de dicho tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La presente invención proporciona también un procedimiento para tratar el dolor asociado con la osteoartritis en un paciente, que comprende administrar a un paciente en necesidad de dicho tratamiento, una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

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

proporciona también el uso de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento del dolor asociado con OA.

5 La invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en combinación con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. La invención abarca también productos intermedios y procedimientos novedosos para la síntesis de los compuestos de Fórmula I.

10 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal del compuesto de la invención considerada aceptable para uso clínico y/o veterinario. Las sales farmacéuticamente aceptables y la metodología común para prepararlas son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, P. Stahl, et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use, (VCHA/Wiley-VCH, 2002); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Sciences, vol. 66, Nº 1, enero de 1977.

15 El término "tratando" (o "tratar" o "tratamiento") tal como se usa en la presente memoria se refiere a la restricción, ralentización, detención o inversión de la progresión o la gravedad de un síntoma, afección o trastorno existente. Los síntomas, afecciones o trastornos pueden presentarse como eventos "agudos" o "crónicos". En un evento agudo, el compuesto se administra con la aparición del síntoma, afección o trastorno y se interrumpe cuando el evento desaparece. Un evento crónico se trata durante el transcurso del trastorno o la afección asociados con el síntoma o evento, en el que el tratamiento crónico no depende de una manifestación particular del síntoma o evento. La presente invención contempla tanto el tratamiento agudo como el tratamiento crónico.

20 Los compuestos de la presente invención inhiben la autotaxina y pueden ser útiles para tratar una enfermedad o afección acompañada por un aumento de la autotaxina. Los compuestos de la presente invención inhiben la producción de LPA y pueden ser útiles para tratar una enfermedad o afección acompañada por un aumento de LPA. Los compuestos de la presente invención pueden inhibir la biosíntesis de LPA mediada por autotaxina cuando en comparación con otros mediadores lipídicos de LPA. Los compuestos de la presente invención pueden ser útiles para tratar una enfermedad o afección acompañada por un aumento de LPA.

25 Tal como se usa en la presente memoria, "paciente" se refiere a un animal en necesidad de tratamiento, preferentemente no exclusivamente, un mamífero. Una realización preferente es un paciente que es un mamífero, que es preferentemente un ser humano. Otra realización preferente es un paciente que es un animal de compañía, tal como un perro, un gato; o un ave.

30 Tal como se usa en la presente memoria, la expresión "cantidad eficaz" se refiere a la cantidad o dosis del compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que, tras la administración de una sola dosis o múltiples dosis al paciente, proporciona el efecto deseado en el paciente bajo diagnóstico o tratamiento. Se entenderá que la cantidad de agente activo administrado realmente será determinada por un médico, según las circunstancias relevantes, incluyendo la afección a tratar, la vía de administración elegida, el agente activo real administrado, la edad, el peso, y la respuesta del paciente individual, y la gravedad de los síntomas del paciente y otras circunstancias relevantes.

35 Un compuesto de la presente invención se formula preferentemente como composiciones farmacéuticas administradas por cualquier vía que convierta el compuesto en biodisponible. Más preferentemente, dichas composiciones son para la administración oral. Dichas composiciones farmacéuticas y procedimientos para preparar las mismas son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (D.B. Troy, Editor, 21ª Edición, Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

40 Los compuestos de Fórmula I son particularmente útiles en los procedimientos de tratamiento de la invención, pero ciertos grupos, sustituyentes y configuraciones son preferentes para los compuestos de Fórmula I. Los párrafos siguientes describen dichos grupos, sustituyentes y configuraciones preferentes. Se entenderá que estas preferencias son aplicables tanto a los procedimientos de tratamiento como a los nuevos compuestos de la invención.

Es preferente que X se seleccione de entre el grupo que consiste en un enlace o CH_2 . Es especialmente preferente que X sea un enlace.

Es preferente que L sea $-\text{CH}_2\text{O}-$.

Es especialmente preferente que cuando X es un enlace, Q sea O y L sea $-\text{CH}_2\text{O}-$.

50 Es preferente además que X sea un enlace, Q sea CH_2 , y L es $-\text{CH}_2\text{O}-$.

Los compuestos preferentes son:

2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo;

2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo [2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo;

5 1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-il]-2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)etanona;

1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il]-2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)etanona, y

sus sales farmacéuticamente aceptables.

10 Los compuestos preferentes son:

2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo,

2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo [2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo, y

15 sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos especialmente preferentes son:

2-(indan-2-ilamino)-5,7-dihidropirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de [(6R)-6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-il]metilo, y

sus sales farmacéuticamente aceptables.

20 Los compuestos especialmente preferentes son:

2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo [2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo, y

sus sales farmacéuticamente aceptables.

Preparaciones y ejemplos

25 Las siguientes Preparaciones y Ejemplos ilustran adicionalmente la invención y representan una síntesis típica del compuesto de la invención. Debería entenderse que las Preparaciones y los Ejemplos se exponen a modo de ilustración y no de limitación, y que una persona con conocimientos ordinarios en la materia puede realizar diversas modificaciones. En los esquemas presentados a continuación, todos los sustituyentes, a menos que se indique lo contrario, son tal como se han definido previamente. Ciertos centros estereoquímicos se han dejado sin especificar y ciertos sustituyentes han sido eliminados en los esquemas siguientes en aras de la claridad y no pretenden
30 limitar, en modo alguno, la enseñanza de los esquemas. Además, los isómeros, enantiómeros o diastereómeros individuales pueden ser separados o resueltos por una persona con conocimientos ordinarios en la materia en cualquier punto conveniente en la síntesis de los compuestos de Fórmula I mediante procedimientos tales como técnicas de cristalización selectiva o cromatografía quiral (véase, por ejemplo, J. Jacques, et al., "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Inc., 1981, y E.L. Eliel y S.H. Wilen "Stereochemistry of Organic Compounds", Wiley-Interscience, 1994). Los reactivos y los materiales de partida están generalmente disponibles para una persona con conocimientos ordinarios en la materia. Otros pueden prepararse mediante técnicas estándar de química orgánica y heterocíclica que son análogas a la síntesis de compuestos y procedimientos estructuralmente similares conocidos descritos por las Preparaciones y los Ejemplos siguientes, incluyendo cualquier procedimiento novedoso.
40

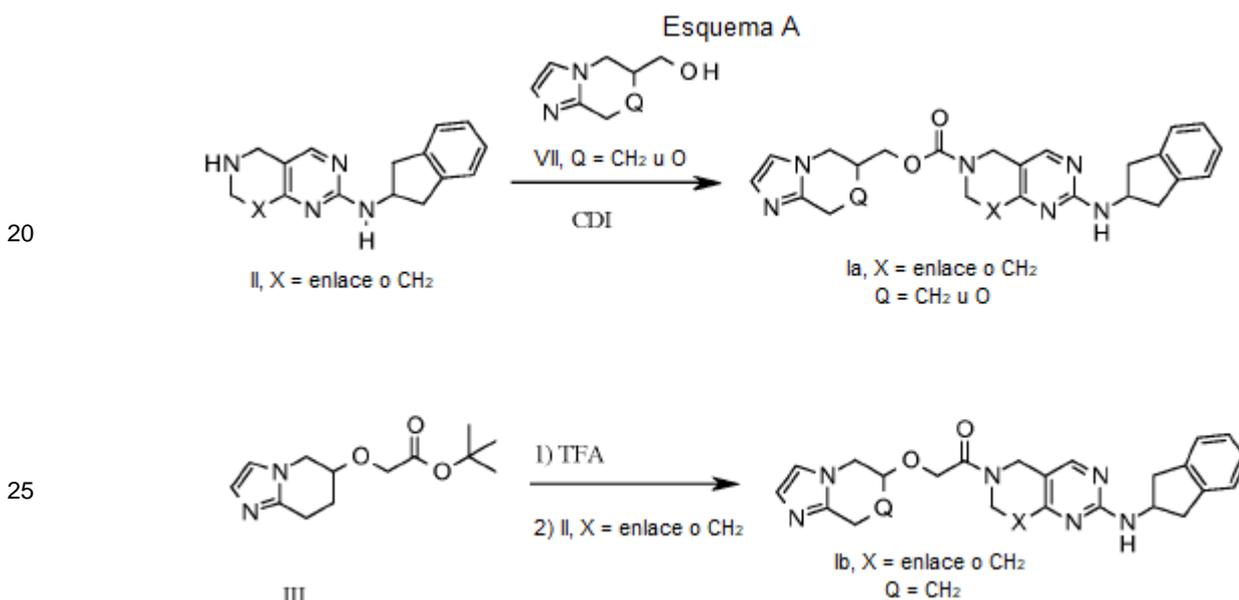
A menos que se indique lo contrario, los compuestos ilustrados en la presente memoria se nombran y numeran usando ACDLABS o Symyx Draw 3.2.

Generalmente, un compuesto de fórmula I en la que X es un enlace o CH₂ puede prepararse a partir de un compuesto de fórmula II. Más específicamente en el Esquema A, un compuesto de fórmula II en la que X es un

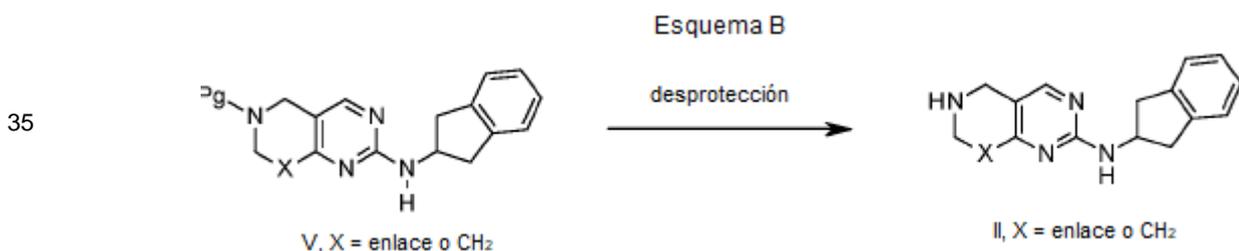
enlace o CH₂ se acopla con un compuesto de fórmula VII en la que Q es CH₂ u O en presencia de carbonildiimidazol (CDI) y una base tal como trietilamina para proporcionar un compuesto de fórmula Ia en la que X es un enlace o CH₂, y Q es CH₂ u O. La reacción se lleva a cabo de manera conveniente en un disolvente tal como diclorometano.

5 De manera alternativa en el Esquema A, un compuesto de fórmula I en la que X es un enlace o CH₂ y Q es CH₂ puede prepararse a partir de un compuesto de fórmula III. Más específicamente, un compuesto de fórmula III en la que Q es CH₂ se hace reaccionar con un ácido tal como ácido trifluoroacético en un disolvente tal como diclorometano para proporcionar el ácido carboxílico correspondiente. El ácido carboxílico intermedio se hace reaccionar con un compuesto de fórmula II en la que X es un enlace o CH₂ y anhídrido cíclico de ácido 1-propanofosónico en presencia de una base tal como trietilamina para proporcionar un compuesto de fórmula Ib en la que X es un enlace o CH₂, y Q es CH₂. La reacción se lleva a cabo de manera conveniente en un disolvente tal como dimetilformamida.

15 Un compuesto de fórmula VII en la que Q es CH₂ u O o un compuesto de fórmula III en la que Q es CH₂ puede prepararse tal como se describe en las preparaciones o mediante procedimientos conocidos por una persona con conocimientos ordinarios en la técnica química.

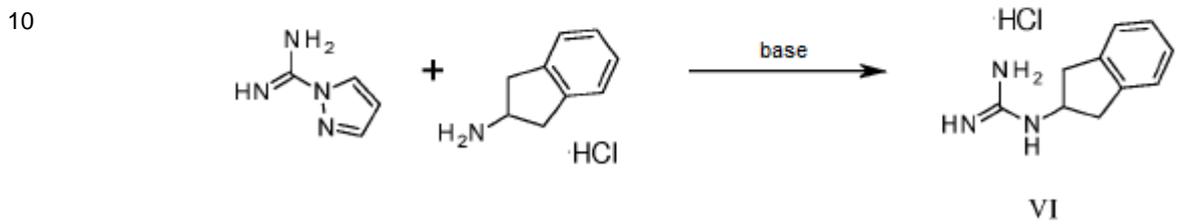
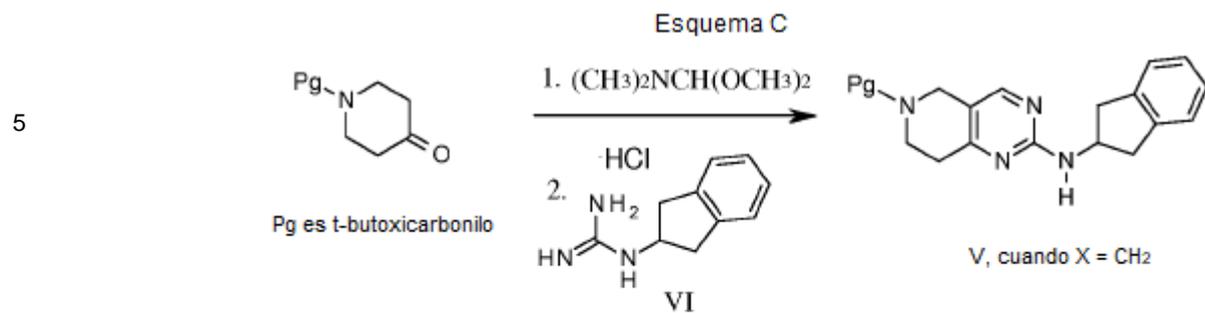


30 Tal como se muestra en el Esquema B, un compuesto de fórmula II en la que X es un enlace o CH₂ puede prepararse a partir de un compuesto de fórmula V en la que Pg es un grupo protector de amina. Más específicamente, un compuesto de fórmula V en la que X es un enlace o CH₂, y Pg es tert-butoxicarbonilo se hace reaccionar con un ácido tal como ácido clorhídrico en un disolvente tal como tetrahidrofurano para proporcionar un compuesto de fórmula II en la que X es un enlace o CH₂.

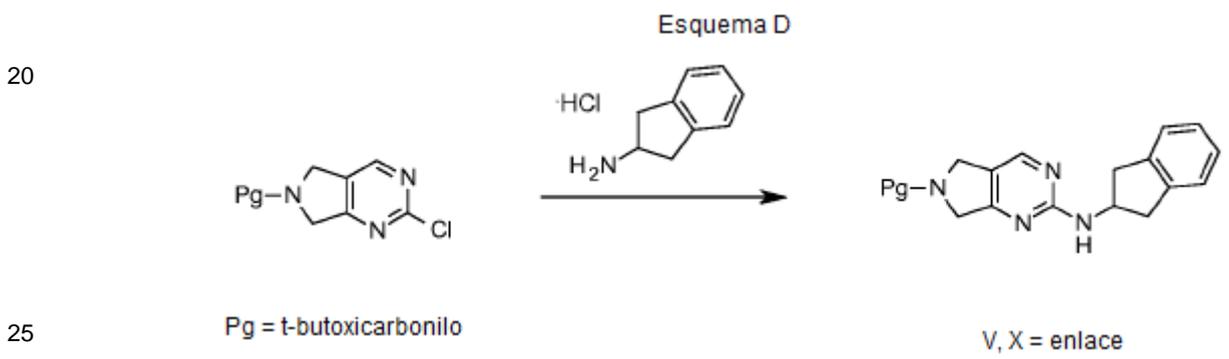


40 En el Esquema C, un compuesto de fórmula V en la que X es CH₂; y Pg es un grupo protector de amina tal como tert-butoxicarbonilo puede prepararse a partir de un compuesto de fórmula VI. Más específicamente, una 4-piperidona protegida se hace reaccionar secuencialmente con (CH₃)₂NCH(OCH₃)₂ en un disolvente tal como dimetilformamida y, a continuación, con un compuesto de fórmula VI, una base tal como carbonato de potasio en un co-disolvente tal como etanol para proporcionar un compuesto de fórmula V en la que X es CH₂, y Pg es tert-butoxicarbonilo. Un compuesto de fórmula VI puede prepararse haciendo reaccionar clorhidrato de 2,3-dihidro-1H-

inden-2-amina con clorhidrato de 1H- pirazol-1-carboximidamida y una base tal como diisopropiletilamina en un disolvente tal como acetonitrilo.

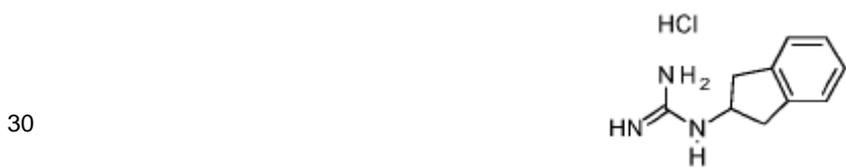


15 En el Esquema D, un compuesto de fórmula V en la que X es un enlace y Pg es un grupo protector de amina tal como tert-butoxicarbonilo puede prepararse haciendo reaccionar 2-cloro-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de tert-butilo con 2,3-dihidro-1H-inden-2-amina en presencia de una base tal como N-etil-N-isopropilpropan-2-amina en un disolvente tal como 1-metilpirrolidin-2-ona.



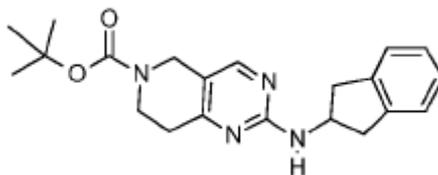
Preparación 1

Síntesis de clorhidrato de 1-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il) guanidina.



35 Agitar una solución de clorhidrato de 2,3-dihidro-1H-inden-2-amina (197 g, 1,08 equiv., 1,16 moles), clorhidrato de 1H-pirazol-1-carboximidamida (158 g; 1,00 equiv., 1,08 moles) y diisopropiletilamina (400 g, 2,87 equiv., 3,09 moles, 539,74 ml) en acetonitrilo (2 l) a 62°C durante 2 horas, tiempo durante el cual se precipita un sólido de color blanco. Enfriar la mezcla a 25°C, a continuación, filtrar y lavar con 300 ml de acetonitrilo y 300 ml de metiltert-butil éter. Secar el producto en aire a 25°C durante 1 h para proporcionar el compuesto del título (200 g, 87%) como un sólido de color blanco. MS (m/z): 176 (M+1).

Preparación 2

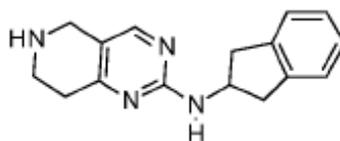
Síntesis de 2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-carboxilato de tert-butilo.

5

Agitar 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 l) a 109°C bajo N₂ durante 4 h. Enfríar la mezcla a 25°C y, a continuación, añadir etanol (700 ml, 12,02 moles, 553,91 g). Añadir clorhidrato de 1-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)guanidina (185 g, 1,00 equiv., 873,90 mmoles) y carbonato de potasio (475 g, 3,44 moles) a la mezcla a 25°C en una porción para formar una suspensión de color blanco. Agitar la mezcla a 80-90°C durante 24 h, a continuación, enfriar a 25°C y se verter la mezcla en 5 l de hielo/agua para obtener una suspensión de color amarillo. Extraer con acetato de etilo (3 x 3 l), y lavar la capa orgánica con una solución de cloruro de litio al 10% (3 l), agua (3 l) y solución saturada de cloruro sódico (3 l). Secar sobre sulfato sódico anhidro, filtrar y concentrar para dar aproximadamente 300 ml de una solución de color rojo. Filtrar la solución a través de un tapón de gel de sílice (10 cm de altura, 5 cm de diámetro) y, a continuación, concentrar hasta la sequedad para dar el compuesto del título como 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-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina.

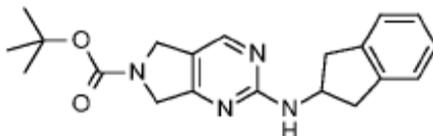


20

Añadir ácido clorhídrico en porciones (900 ml, 5 ml en agua, 5,17 equivalentes, 4,50 moles, 1,08 kg) a una solución de 2-(indan-2-ilamino)-7,8-dihidro-5H-pirido[4,3-d]pirimidin-6-carboxilato de tert-butilo (319 g, 1,00 equiv., 870,48 mmoles) en tetrahidrofurano (1,5 l). Una vez completada la adición, agitar la solución a 50°C durante 1 h. Enfríar la mezcla a 25°C y, a continuación, añadir 3 l de metil-ter-butil éter y 1 l de agua. Dejar reposar la solución a 20°C durante 16 h. Separar las fases y extraer la fase acuosa con diclorometano (2 l). Desechar los extractos orgánicos y ajustar la fase acuosa a pH 10 usando hidróxido de sodio 4 M. Extraer con acetato de etilo (3 x 3 l) y lavar los extractos orgánicos combinados con cloruro sódico saturado (2 l). Secar sobre sulfato sódico anhidro, filtrar y concentrar hasta la sequedad para dar un gel de color rojo. Volver a disolver la sustancia en acetato de etilo (300 ml) y éter de petróleo (200 ml) a 50°C, y permitir la precipitación durante 24 horas. Filtrar y secar para proporcionar el compuesto del título (85 g, 37%). MS (m/z): 267 (M+1).

Preparación 4

Síntesis de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de tert-butilo.



35

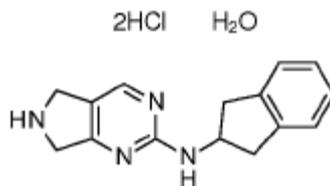
Se cargan 450 ml (2,58 moles) de N-etil-N-isopropilpropan-2-amina en una solución a 15°C de 2-cloro-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de tert-butilo (220 g, 860,37 mmol) y 2,3-dihidro-1H-inden-2-amina (137,7 g, 1,03 mol) en 1-metilpirrolidin-2-ona (3,6 l). Calentar la mezcla resultante a 80°C durante 16 h, a continuación, enfriar a 30°C y transferir la mezcla resultante a 5 l de agua a 25°C. Filtrar el sólido resultante y aclarar la torta de filtración con agua (2 x 300 ml). Volver a suspender el sólido en acetato de etilo (350 ml) durante 45 minutos a 15°C. Filtrar la suspensión, enjuagar con acetato de etilo a 15°C (2 x 250 ml), y secar para dar el compuesto del título (226 g, 75%) como un sólido blanquecino. ¹H RMN (d₆DMSO) 1,45 (s, 9 H), 2,87 (dd, J= 7,2, 15,8 Hz, 2 H), 3,24 (dd, J= 7,2, 15,8 Hz, 2 H), 4,36 (d, 10,4 Hz, 2 H), 4,44 (d, J= 12,8 Hz, 2 H), 4,60 (m, 1 H), 7,14 (m, 2 H), 7,20 (m, 2 H), 7,55 (d, J= 6,8 Hz, 1 H), 8,27 (d, J= 7,2 Hz, 1 H).

45

Preparación 5

Síntesis de hidrato de diclorhidrato de N-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6,7-dihidro-5H-pirrololo[3,4-d]pirimidin-2-amina.

5



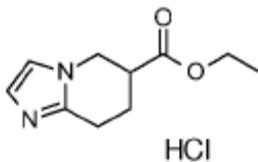
10

Cargar 670 ml de ácido clorhídrico 5 M (3,35 moles) a una solución de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrololo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de tert-butilo (226 g, 641,25 mmol) en tetrahidrofurano (2,0 l) a 17°C, manteniendo la temperatura interna por debajo de 26°C durante la adición. Calentar la solución resultante a 50°C durante 16 h, enfriar a 25°C y diluir con 500 ml de agua y 500 ml de éter tert-butilmetiléter. Separar las capas resultantes y extraer con tert-butilmetiléter (3 x 1 l). Concentrar la fase acuosa hasta un volumen de reacción de aproximadamente 200 ml, y filtrar la suspensión resultante. Enjuagar la torta con éter tert-butilmetiléter (2 x 200 ml) y secar para dar el producto del título (177 g, 80%) como un sólido de color marrón claro. MS (m/z): 253,2 (M-2HCl-H₂O+1).

15

Preparación 6

Síntesis de clorhidrato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-carboxilato de etilo.



20

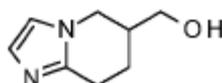
Añadir ácido clorhídrico 5 N (100 ml, 500,00 mmoles) y etanol (200 ml) a un matraz que contiene imidazo[1,2-a]piridin-6-carboxilato de metilo (4,98 g, 1,0 equiv, 28,27 mmoles) y paladio al 10% sobre carbono (3,01 g, 0,1 equiv., 2,83 mmoles). Evacuar y rellenar el recipiente de reacción con nitrógeno (3x), a continuación, volver a evacuar y rellenar la reacción con hidrógeno (3x). Calentar la mezcla de reacción a 60°C y agitar vigorosamente bajo una atmósfera de hidrógeno durante 24 horas, a continuación, evacuar y rellenar el recipiente de reacción con nitrógeno (3x) y filtrar la mezcla de reacción a través de Celite™, enjuagar la torta de filtración con etanol (100 ml). Concentrar el filtrado, añadir tolueno (200 ml) y concentrar hasta la sequedad (repetir 2 veces) para dar clorhidrato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-carboxilato de etilo (5,74 g; 88%) como un sólido de color blanco. MS (m/z): 195 (M+1).

25

Preparación 7

30

Síntesis de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetanol.



35

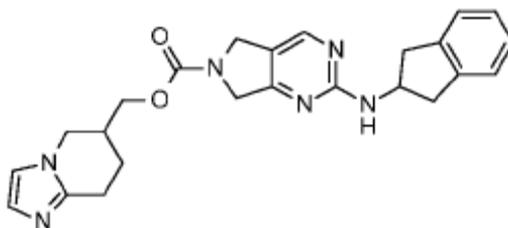
Suspender clorhidrato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-carboxilato de etilo (5,74 g, 1,0 equiv., 24,88 mmoles) en diclorometano (100 ml) y tetrahidrofurano (40 ml) y enfriar a 0°C. Añadir hidruro de litio y aluminio (1,77 g, 1,8 equiv., 44,79 mmoles) en porciones durante 10 minutos. Después de otros 5 minutos, dejar que la mezcla de reacción se caliente a temperatura ambiente. Después de 15 minutos, enfriar la mezcla de reacción a 0°C y añadir lentamente agua (1,77 ml), solución de hidróxido de sodio al 15% (1,77 ml) y agua (5,31 ml) secuencialmente con agitación vigorosa. Continuar agitando a temperatura ambiente durante 15 minutos. Añadir sulfato de magnesio y, a continuación, filtrar la mezcla de reacción, enjuagar la torta de filtración con 200 ml de diclorometano. Concentrar el filtrado para dar 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetanol (2,63 g, 69%). MS (m/z): 153 (M+1).

40

Ejemplo 1

Síntesis de 2-(2,3-dihidro-1-metil-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo.

5



Añadir 1,1'-carbonildiimidazol (2,87 g, 1,02 equiv., 17,69 mmoles) a una solución de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetanol (2,64 g, 1,00 equiv. 17,35 mmoles) en diclorometano (30 ml), a continuación, agitar a 40°C durante 1 hora. Añadir hidrato de clorhidrato de N-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6,7-dihidro-5H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-2-amina (6,25 g, 1,05 equiv., 18,21 mmoles) y diisopropiletilamina (9,08 ml, 3,0 equiv., 52,04 mmoles) y mantener la reacción a 40°C durante 4 horas. Cargar la solución directamente en una columna de gel de sílice tratada con diisopropiletilamina y purificar la mezcla mediante cromatografía en columna (del 0 al 15% de metanol en acetato de etilo) para dar 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-ilmetilo (3,32 g, 44%) como una espuma incolora. MS (m/z): 431 (M+1).

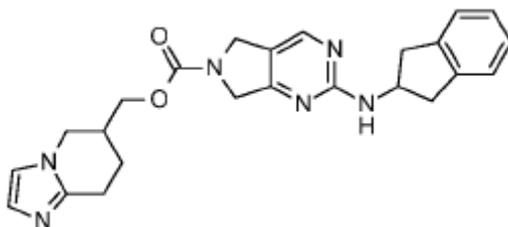
10

15

Ejemplos 2 y 3

Purificación de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo racémico al isómero 1 y 2.

20



Purificar 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo racémico (3,32 g, 1,00 equiv., 7,71 mmoles) mediante separación quiral. Solubilizar la muestra anterior en metanol (63,5 ml) y separar mediante inyecciones de 10 ml en una columna Chiralpak AS (20 µm) 8 x 35 cm a 400 ml/min con metanol al 100% (isopropilamina al 0,2%), longitud de onda 235 nM.

25

Ejemplo 2 El aislamiento del primer pico de elución (1) a 8,0 min proporciona el 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo como una espuma de color canela, 99% ee (1,18 g, 36%) MS (m/z): 431 (M+1).

30

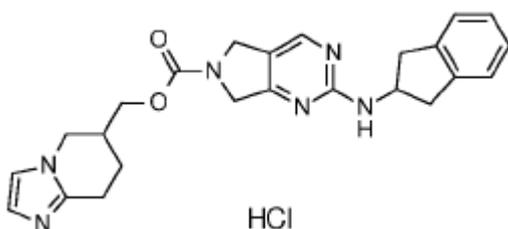
Ejemplo 3 El aislamiento del segundo pico de elución (2) a 12,0 min, proporciona el 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo como una espuma de color canela, 99% de ee, (1,03 g, 31%), MS (m/z): 431 (M+1).

35

Ejemplo 4

Síntesis de isómero 1 de clorhidrato de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo.

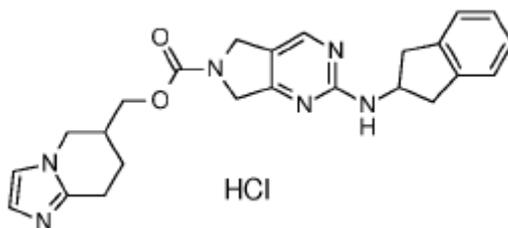
40



Añadir cloruro de hidrógeno (1 N, 0,53 ml, 1,0 equiv., 0,53 mmoles) a una solución de isómero 1 de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirroló[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo (0,228 g, 0,5 equiv., 0,53 mmoles) en metanol (0,5 ml). Agitar la mezcla hasta que se disuelva y, a continuación, concentrar a un residuo. Añadir agua (1 ml), congelar la solución en un baño de hielo seco a -78°C y liofilizar para proporcionar isómero 1 de clorhidrato de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirroló[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo (0,238 g, 100%) como un polvo de color canela. MS (m/z): 431 (M+1).

Ejemplo 5

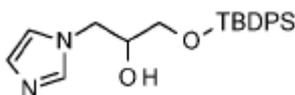
Síntesis de isómero 2 de clorhidrato de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirroló[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo.



Añadir cloruro de hidrógeno (1 N, 0,62 ml, 1,05 equiv., 0,62 mmoles) a una solución de isómero 2 de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirroló[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo (0,254 g, 1,00 equiv., 0,59 mmoles) en alcohol isopropílico (0,3 ml). Agitar la mezcla hasta que se disuelve, congelar la solución en un baño de hielo seco a -78°C y liofilizar para proporcionar isómero 2 de clorhidrato de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirroló[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo (0,28 g, 100%) como una espuma de color marrón. MS (m/z): 431 (M+1).

Preparación 8

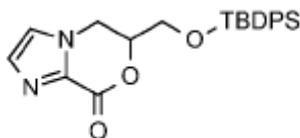
Síntesis de 1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-imidazol-1-il-propan-2-ol.



Añadir 1H-imidazol (19,72 g, 6,2 equiv., 289,67 mmoles) seguido de tert-butilclorodifenilsilano (12,00 ml, 1,0 equiv., 46,28 mmoles) a una solución de glicidol recién destilada (5,0 ml, 1,62 equiv., 75,05 mmoles) en acetonitrilo (50 ml). Agitar la solución a temperatura ambiente durante 30 minutos, a continuación, calentar a reflujo durante 4 horas. Dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente y concentrar la mezcla de reacción, a continuación, verter el residuo en diclorometano/bicarbonato sódico 2M (1:1, 400 ml). Separar las capas y extraer adicionalmente la capa acuosa con diclorometano (2x). Secar los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, filtrar y concentrar para obtener el producto bruto. La purificación mediante cromatografía en columna proporciona el 1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-imidazol-1-il-propan-2-ol deseado (8,87 g, 50%). MS (m/z): 381 (M+1).

Preparación 9

Síntesis de 6-[[tert-butil(difenil)silil]oximetil]-5,6-dihidroimidazo[2,1-c][1,4]oxazin-8-ona.

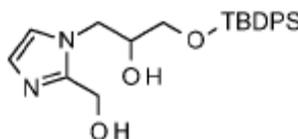


Añadir lentamente cloroformiato de triclorometilo (8,74 ml, 2,0 equiv., 72,84 mmoles) durante 10 minutos a una solución a 0°C de 1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-imidazol-1-il-propan-2-ol (13,86 g, 1,0 equiv., 36,42 mmoles) y piridina (23,56 ml, 8 equiv., 291,36 mmoles) en acetonitrilo (500 ml). Agitar durante 1 hora y, a continuación, se deja que la solución se caliente a temperatura ambiente durante 1 hora. Añadir agua (50 ml) y concentrar la mezcla de reacción a ~75 ml de volumen. Añadir diclorometano (100 ml) y verter lentamente la solución resultante en bicarbonato

sódico saturado al 50% (200 ml). Separar las capas y extraer adicionalmente la capa acuosa con diclorometano (3x150 ml). Secar los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, filtrar y concentrar. La purificación mediante cromatografía en columna (del 10% al 100% de acetato de etilo en hexanos) proporciona el 6-[[tert-butil(difenil)silil]oximetil]-5,6-dihidroimidazo[2,1-c][1,4]oxazin-8-ona (9,48 g, 64%) como una goma de color rosa claro: MS (m/z): 407 (M+1).

Preparación 10

Síntesis de 1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-[2-(hidroximetil)imidazol-1-il]propan-2-ol.



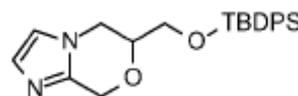
10

Añadir hidruro de diisobutilaluminio (35 ml, 1 M en hexanos, 1,5 equiv., 35 mmoles) a una solución a 0°C de 6-[[tert-butil(difenil)silil]oximetil]-5,6-dihidroimidazo[2,1-c][1,4]oxazin-8-ona (9,48 g, 1,0 equiv., 23,32 mmoles) en diclorometano (200 ml). Agitar la solución durante 15 minutos, a continuación, añadir metanol (150 ml). Después de 5 minutos, añadir borohidruro de sodio (0,176 g, 0,2 equiv., 4,66 mmoles) y mantener la solución a 0°C durante 15 minutos. Añadir tartrato de potasio y sodio saturado (50 ml) y agitar la solución a temperatura ambiente durante 20 minutos. Concentrar la solución en ~100 ml, añadir agua y diclorometano (100 ml cada uno) y separar las capas. Extraer adicionalmente la capa acuosa con diclorometano (5x). Secar los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, filtrar y concentrar para proporcionar el 1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-[2-(hidroximetil)imidazol-1-il]propan-2-ol (9,40 g, 98%). MS (m/z): 411 (M+1).

15

Preparación 11

Síntesis de tert-butil-(6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetoxi)-difenil-silano.



Añadir yodo (6,39 g, 1,1 equiv., 25,18 mmoles) a una solución a 0°C de trifetilfosfina (7,21 g, 1,2 equiv., 27,47 mmoles) en diclorometano (60 ml) y agitar durante 10 minutos. Añadir 1-metilimidazol (2,19 ml, 1,2 equiv., 27,47 mmoles), resultando en una solución de color naranja con cierta precipitación.

25

Por separado, preparar una solución a -78°C de 1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-[2-(hidroximetil)imidazol-1-il]propan-2-ol (9,4 g; mmoles) en diclorometano (100 ml). Añadir, gota a gota, el reactivo yodante preparado in situ a esta solución con el color naranja desapareciendo rápidamente hasta casi incoloro. Mantener la solución a -78°C durante 30 minutos, a continuación, dejar que se caliente a 0°C y mantener durante 10 minutos. Volver a enfriar la solución a -78°C y añadir tetrahydrofurano (150 ml) seguido de hidruro sódico al 60% (2,20 g, 2,4 equiv., 54,95 mmoles). Lentamente, calentar la solución a 0°C durante 30 minutos y, a continuación, a temperatura ambiente durante 1 hora. Verter la mezcla lentamente a una solución saturada de bicarbonato de sodio al 50% y extraer con diclorometano (4 x 100 ml). Secar los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, filtrar y concentrar. Purificar el producto bruto mediante cromatografía en columna (del 10 al 100% de acetato de etilo en hexanos) para dar el producto deseado contaminado con óxido de trifetilfosfina. Purificar adicionalmente mediante cromatografía de intercambio iónico SCX (10% de metanol en diclorometano hasta el 10% (amoníaco 4N en metanol) en diclorometano) para dar el tert-butil-(6,8-dihidro-5H-imidazo [2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetoxi)-difenil-silano (5,96 g, 66%) como una goma incolora. MS (m/z): 393 (M+1).

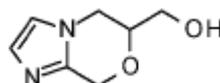
30

35

40

Preparación 12

Síntesis de 6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetanol.

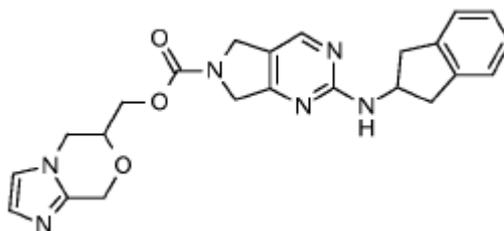


45

Añadir fluoruro de tetra-N-butilamonio (1 M en tetrahidrofurano, 13,98 ml, 3 equiv., 13,98 mmoles) a una solución de tert-butil-(6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetoxi)-difenil-silano (6,96 g, 1,0 equiv., 17,73 mmoles) en tetrahidrofurano (100 ml) y agitar durante 1 hora. Cargar la solución directamente en una columna de intercambio iónico SCX y eluir con metanol al 15% en diclorometano, seguido del 20% ((amoníaco 2N en metanol) en diclorometano) para proporcionar (2 purificaciones de intercambio iónico scx, cuando sea necesario) 6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetanol (2,59 g, 61%). MS (m/z): 155 (M+1).

Ejemplo 6

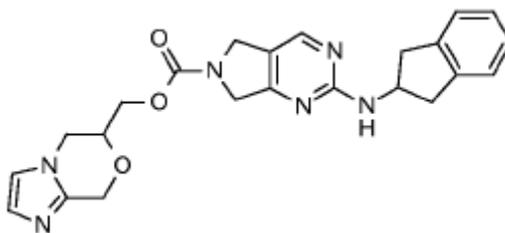
Síntesis de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo.



Añadir 1,1'-carbonildiimidazol (1,92 g, 1,1 equiv., 11,83 mmoles) a una solución de 6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetanol (2,59 g, 1,0 equiv., 10,75 mmoles) en diclorometano (30 ml) y calentar a 40°C durante 1 hora. Añadir hidrato de clorhidrato de N-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6,7-dihidro-5H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-2-amina (4,80 g; 1,3 equiv., 13,98 mmoles) y trietilamina (4,50 ml, 3 equiv., 32,26 mmoles) y mantener la reacción a 40°C durante 1 hora. Cargar la solución directamente en una columna de gel de sílice y purificar mediante cromatografía en columna (hexanos a acetato de etilo a metanol al 20% en acetato de etilo) para dar un producto con una cantidad significativa de imidazol presente según RMN. Disolver el producto bruto en diclorometano (20 ml) y agua (20 ml), separar las capas y extraer con diclorometano (3 x 15 ml). Secar los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, filtrar y concentrar para dar 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo (3,95 g, 85%) como una espuma de color canela. MS (m/z): 433 (M+1).

Ejemplos 7 y 8

Purificación de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo en isómero 1 y 2.



Disolver 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo (3,95 g) en 75,5 ml de metanol. Separar mediante inyecciones de 10 ml en una columna Chiralpak™ AS (20 μm) de 50 x 150 mm a 400 ml/min con 100% de metanol (0,2% de isopropilamina), longitud de onda 235 nm.

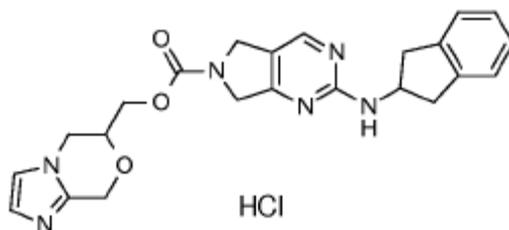
Ejemplo 7: El aislamiento del primer pico de elución (1) a 8,8 min proporciona isómero 1 de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo como una espuma de color canela, 99% de ee, (1,56 g, 33%). MS (m/z): 433 (M+1).

Ejemplo 8: El aislamiento del segundo pico de elución (2) a 12,8 min proporciona isómero 2 de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo como una espuma de color canela, 99% de ee, (1,60 g, 34%). MS (m/z): 433 (M+1).

Ejemplo 9

Síntesis de isómero 1 de clorhidrato de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo.

5



10

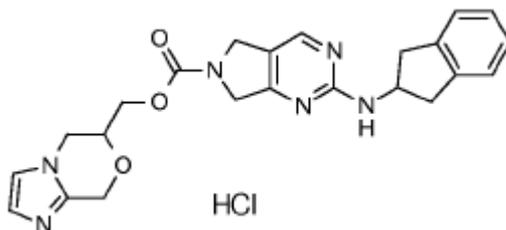
Añadir ácido clorhídrico (1N, 3,61 ml, 3,61 mmoles) a un vial que contiene isómero 1 de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo (1,56 g, 3,61 mmoles) en metanol (1 ml). Congelar esta solución en un baño de hielo seco a -78°C y liofilizar para dar isómero 1 de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo (1,67 g). MS (m/z): 433 (M+1).

Ejemplo 10

15

Síntesis de isómeros 2 de clorhidrato de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo.

20



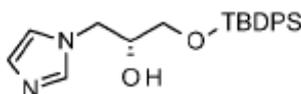
25

Añadir ácido clorhídrico (1N, 3,7 ml, 3,70 mmol) a un vial que contiene isómero 2 de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo (1,60 g, 3,70 mmoles) en metanol (1 ml). Congelar esta solución en un baño de hielo seco a -78°C y liofilizar para dar isómero 2 de 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo (1,65 g). MS (m/z): 433 (M+1).

Preparación 13

Síntesis de (2R)-1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-imidazol-1-il-propan-2-ol.

30



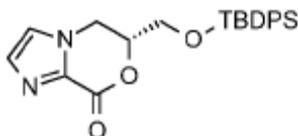
35

Añadir 1H-imidazol (14,70 g, 4 equiv., 215,99 mmoles) seguido de tert- butilclorodifenilsilano (14,00 ml, 1,0 equiv., 54,00 mmoles) a una solución a 0°C de (S)-glicidol recién destilado (3,66 ml, 1,0 equiv., 54,00 mmoles) en acetonitrilo (40 ml). Agitar la solución a temperatura ambiente durante 30 minutos, a continuación, calentar a reflujo durante 4 horas. Dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente y concentrar la mezcla de reacción, a continuación, verter el residuo en diclorometano y solución de bicarbonato sódico 2M (1:1, 400 ml). Separar las capas y extraer adicionalmente la capa acuosa con diclorometano (2x). Secar los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, filtrar y concentrar para obtener el producto bruto. Una purificación mediante cromatografía en columna proporciona el (2R)-1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-imidazol-1-il-propan-2-ol deseado (9,25 g, 45%). MS (m/z): 381 (M+1).

40

Preparación 14

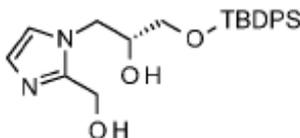
Síntesis de (6R)-6-[[tert-butil(difenil)silil]oximetil]-5,6-dihidroimidazo[2,1-c][1,4]oxazin-8-ona.



- 5 Añadir lentamente cloroformiato de triclorometilo (5,80 ml, 2,0 equiv., 48,35 mmoles) durante 15 minutos a una solución a 0°C de (2R)-1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-imidazol-1-ilpropan-2-ol (9,2 g, 1,0 equiv., 24,17 mmoles) y piridina (15,64 ml, 8 equiv., 193,40 mmoles) en acetonitrilo (450 ml). Agitar durante 1 hora y, a continuación, dejar que la solución se caliente a temperatura ambiente durante 1 hora. Añadir agua (30 ml) y concentrar la mezcla de reacción. Añadir diclorometano (50 ml) y verter lentamente la solución resultante en bicarbonato sódico saturado al 50% (200 ml). Separar las capas y extraer adicionalmente la capa acuosa con diclorometano (3 x 150 ml). Secar los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, filtrar y concentrar. Una purificación mediante cromatografía en columna (del 10% al 100% de acetato de etilo en hexanos) proporciona la (6R)-6-[[tert-butil(difenil)silil]oximetil]-5,6-dihidroimidazo[2,1-c][1,4]oxazin-8-ona (5,50 g, 56%). MS (m/z): 407 (M+1).

Preparación 15

- 15 Síntesis de (2R)-1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-[2-(hidroximetil)imidazol-1-il]propan-2-ol.

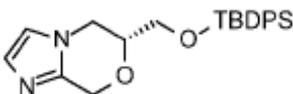


- 20 Añadir hidruro de diisobutilaluminio (1 M en hexanos, 21,65 ml, 1,6 equiv., 21,65 mmoles) a una solución a 0°C de (6R)-6-[[tert-butil(difenil)silil]oximetil]-5,6-dihidroimidazo[2,1-c][1,4]oxazin-8-ona (5,5 g, 1,0 equiv., 13,53 mmoles) en diclorometano (130 ml). Agitar la solución durante 15 minutos, a continuación, añadir metanol (100 ml). Después de 5 minutos, añadir borohidruro de sodio (0,307 g, 0,6 equiv., 8,12 mmoles) y mantener la solución a 0°C durante 15 minutos. Añadir una solución saturada de tartrato de sodio y potasio (80 ml) y agitar la solución a temperatura ambiente durante 14 horas. Filtrar la solución y separar las capas líquidas. Extraer adicionalmente la capa acuosa con diclorometano (3x). Lavar los extractos orgánicos combinados con solución salina saturada al 50%, secar sobre sulfato de magnesio, filtrar y concentrar para proporcionar el (2R)-1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-[2-(hidroximetil)imidazol-1-il]propan-2-ol (5,30 g, 95%). MS (m/z): 411 (M+1).

Preparación 16

Síntesis de tert-butil-[[[(6R)-6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-il]metoxi]-difenil-silano.

30



Añadir yodo (3,44 g, 1,05 equiv., 13,55 mmoles) a una solución a 0°C de trifenilfosfina (4,06 g, 1,2 equiv., 15,49 mmoles) en diclorometano (25 ml) y agitar durante 10 minutos. Añadir 1-metilimidazol (1,23 ml, 1,2 equiv., 15,49 mmoles), resultando en una solución de color naranja con cierta precipitación.

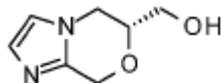
- 35 Por separado, preparar una solución a -78°C de (2R)-1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-[2-(hidroximetil)imidazol-1-il]propan-2-ol (5,3 g; 1,0 equiv., 12,91 mmoles) en diclorometano (25 ml). Añadir, gota a gota, el reactivo yodante preparado in situ a la solución de (2R)-1-[tert-butil(difenil)silil]oxi-3-[2-(hidroximetil)imidazol-1-il]propan-2-ol, con el color naranja desvaneciéndose rápidamente hasta casi incoloro. Mantener la solución a -78°C durante 30 minutos, a continuación, dejar que se caliente a 0°C y mantener durante 10 minutos. Volver a enfriar la solución a -78°C y añadir tetrahidrofurano (100 ml) seguido de hidruro de sodio al 60% (1,14 g, 2,2 equivalentes, 28,40 mmoles). Lentamente, calentar la solución a 0°C durante 30 minutos, y, a continuación, a temperatura ambiente durante 1 hora. Verter la mezcla lentamente en una solución saturada de bicarbonato de sodio al 50% y extraer con diclorometano (4 x 100 ml). Secar los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, filtrar y concentrar. Purificar el producto bruto mediante cromatografía en columna (del 10 al 100% de acetato de etilo en hexanos) para dar el producto deseado contaminado con óxido de trifenilfosfina. Purificar adicionalmente mediante cromatografía de intercambio iónico SCX (del 10% de metanol en diclorometano al 10% (amoniac 4N en metanol)

en diclorometano) para proporcionar el tert-butil-[[6R]-6,8-dihidro-5H-imidazo [2,1-c][1,4]oxazin-6-il]metoxi]-difenil-silano (1,86 g, 37%). MS (m/z): 393 (M+1).

Preparación 17

Síntesis de [(6R)-6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-il]metanol.

5

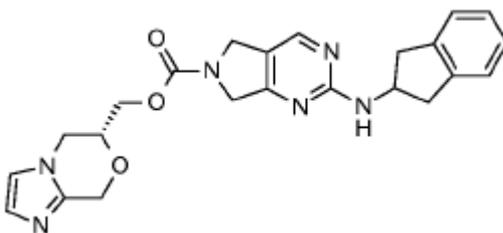


Añadir fluoruro de cesio (1,42 g, 2,0 equivalentes, 9,32 mmoles) a una solución de [(6R)-6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-il]metanol (1,83 g, 1,0 equiv., 4,66 mmoles) en tetrahidrofurano (25 ml), agua (5 ml) y dimetilformamida (5 ml) y agitar durante 36 horas. No se produce reacción, por lo tanto, añadir fluoruro de tetra-N-butilamonio (1 N en tetrahidrofurano, 13,98 ml, 3 equiv., 13,98 mmoles) y agitar durante 1 hora. Cargar la solución directamente en una columna de intercambio iónico SCX y eluir con metanol al 15% en diclorometano seguido de 20% (amoníaco 2N en metanol) en diclorometano para dar el producto deseado contaminado con lo que es probablemente sales de alquilamonio. Purificar adicionalmente el producto bruto mediante cromatografía en columna (del 1 al 10% de metanol/cloroformo) para proporcionar el [(6R)-6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-il]metanol (0,515 g, 72%). MS (m/z): 155 (M+1).

Ejemplo 11

Síntesis de 2-(indan-2-ilamino)-5,7-dihidropirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de [(6R)-6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-il]metilo.

20

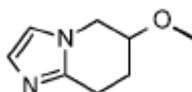


Añadir 1,1'-carbonildiimidazol (0,477 g, 1,1 equiv., 2,94 mmoles) a una solución de [(6R)-6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-il]metanol (0,412 g, 1,0 equiv., 2,67 mmoles) en 1,2-dicloroetano (15 ml) y tetrahidrofurano (5 ml). Calentar la solución a 50°C durante 30 minutos, a continuación, añadir hidrato de clorhidrato de N-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6,7-dihidro-5H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-2-amina (1,01 g, 1,1 equiv., 2,94 mmoles) seguido de trietilamina (1,30 ml, 3,5 equivalentes, 9,35 mmoles). Agitar la solución resultante durante 3 horas a 50°C. Verter la mezcla en bicarbonato de sodio saturado al 50% y diclorometano (50 ml cada uno). Separar las capas y extraer adicionalmente la capa acuosa con diclorometano (2 x 50 ml). Secar los extractos orgánicos combinados sobre sulfato de magnesio, filtrar y concentrar para dar un aceite de color rojo. Purificar el producto bruto mediante cromatografía en columna (del 1 al 8% de metanol en cloroformo) para proporcionar el 2-(indan-2-ilamino)-5,7-dihidropirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de [(6R)-6,8-dihidro-5H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-il]metilo (1,12 g, 97%). Determinar el exceso enantiomérico mediante un análisis HPLC quiral (columna Chiralpak™ AS-H de 0,46 x 15 cm, elución de metanol al 100%). El producto aislado eluye a los 13 minutos, mientras que el enantiómero eluye a 9,1 minutos, demostrando que el producto es 98,3% ee. MS (m/z): 433 (M+1).

Preparación 18

Síntesis de 6-metoxi-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridina

40



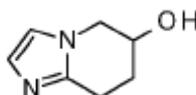
Añadir ácido acético (40 ml) a una solución heterogénea de 6 metoxiimidazopiridina (1,0 g, 1,0 equiv., 6,75 mmoles) y paladio sobre carbono al 10% (1,0 g, 1,4 equiv., 9,40 mmoles). Evacuar y rellenar el recipiente de reacción con

5 nitrógeno (3x), a continuación, hidrógeno (3x). Agitar vigorosamente la reacción bajo hidrógeno a temperatura ambiente durante 3 horas. Filtrar la mezcla de reacción a través de celite y lavar la torta de filtración con una mezcla 1:1 de diclorometano y metanol. Concentrar el filtrado y disolver la mezcla de producto en bruto en 20 ml de metanol, a continuación, cargar en una columna de intercambio iónico scx. Eluir con metanol seguido de amoniaco 2M en metanol para dar 6-metoxi-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridina (1,00 g, 97%) como un aceite incoloro. ¹H NMR (DMSO): δ 1,84-1,94 (m, 1H), 2,00-2,09 (m, 1H), 2,63-2,68 (m, 2H), 3,27 (s, 3H), 3,77-3,82 (m, 1 H), 3,92-4,03 (m, 2 H), 6,74 (d, 1H), 6,91 (d, 1H).

Preparación 19

Síntesis de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ol.

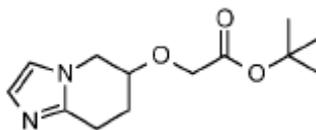
10



15 Añadir, gota a gota, tribromuro de boro (1,24 ml, 2,0 equiv., 13,14 mmoles) a una solución de 6-metoxi-5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridina (1,0 g, 1,0 equiv, 6,57 mmoles) en diclorometano (40 ml) y agitar a temperatura ambiente durante 4 horas. Añadir agua (10 ml) y agitar durante 20 minutos, a continuación, concentrar la mezcla. Añadir metanol (20 ml) y cargar la solución en una columna de intercambio iónico scx. Purificar el producto eluyendo con metanol seguido de amoniaco 2M en metanol para dar 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ol (0,908 g, 80% de rendimiento), que cristaliza tras reposar. MS (m/z): 139 (M+1).

Preparación 20

20 Síntesis de 2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)acetato de tert-butilo.



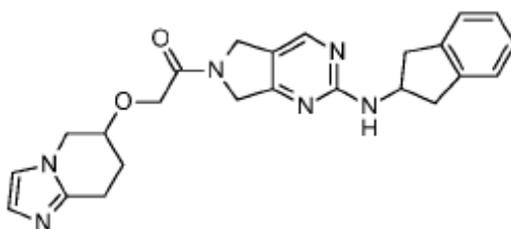
25 Calentar una suspensión de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ol (0,357 g, 1,0 equiv, 2,07 mmoles) en dimetilformamida (4 ml) a 40°C, obtener disolución completa, a continuación, enfriar a 0°C y añadir hidruro sódico (0,091 g 1,1 equiv., 2,27 mmoles) y agitar durante 30 minutos. Añadir, gota a gota, ácido acético, éster bromo-1,1-dimetileílico (1,1 equiv, 1,10 equiv., 2,27 mmoles, 342,48 µl) a 0°C y agitar durante 1 hora. Diluir la mezcla de reacción con metanol (10 ml) y pasar a través de una columna de intercambio iónico scx (metanol a amoniaco 2M en metanol) para proporcionar 2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)acetato de tert-butilo (0,3 g, 17%) como una goma de color amarillo, que se usa directamente en la siguiente etapa. MS (m/z): 253 (M+1).

30

Ejemplo 12

Preparación de 1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-il]-2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)etanona.

35

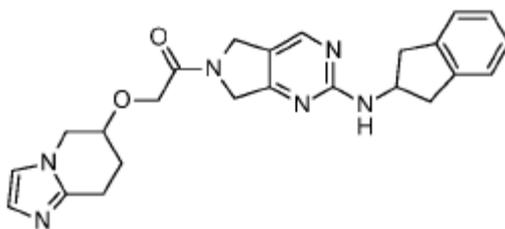


40 Añadir ácido trifluoroacético (3 ml) a un matraz que contiene 2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)acetato de tert-butilo (0,30 g, 2,04 equiv., 1,19 mmoles) en diclorometano (3 ml) y agitar a temperatura ambiente durante 1 hora. Concentrar la mezcla, añadir tolueno (2x5 ml) y volver a concentrar (2x). Añadir metanol (10 ml) seguido de ácido clorhídrico 5 N (1 ml), a continuación, concentrar. Añadir tolueno (4x5 ml) y volver a concentrar (4x). Añadir dimetilformamida (5 ml), trietilamina (15 equiv., 8,74 mmol, 1,22 ml), hidrato de clorhidrato de N-(2,3-dihidro-1H-inden-2-il)-6,7-dihidro-5H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-2-amina (0,20 ml, 1,0 equiv., 0,583 mmoles) y anhídrido

cíclico de ácido 1-propanofosfónico (0,70 ml, 2,0 equiv., 1,17 mmoles) y agitar a temperatura ambiente durante 2 Horas. Cargar la solución directamente en una columna de gel de sílice y purificar mediante cromatografía en columna (hexanos a acetato de etilo a metanol al 20% en acetato de etilo) para dar un producto impuro. Purificar adicionalmente el producto bruto mediante cromatografía de fase inversa para proporcionar 1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-il]-2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)etanona (0,083 g, 33%) como una espuma de color amarillo claro. MS (m/z): 431 (M+1).

Ejemplos 13 y 14

Purificación de 1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-il]-2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)etanona en isómero 1 y 2.



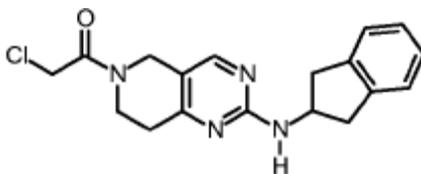
Suspender 1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-il]-2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)etanona (0,083 g; 1,0 equiv., 0,193 mmoles) en 1,0 ml de metanol y añadir varias gotas de alcohol isopropílico para solubilizarla. Inyectar series de 0,5 ml en una columna (Chiralcel™ OD-H de 2,1 x 25 cm, 5 micrómetros, eluyendo con una fase móvil de 40% de metanol (0,2% de isopropilamina)/dióxido de carbono. (Flujo 70 ml/min detección 225 nm).

Ejemplo 13: El aislamiento del primer pico de elución (1) a 8,0 min proporciona isómero 1 de 1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-il]-2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)etanona como una espuma incolora, 99 % ee, (0,030 g, 36%). MS (m/z): 431 (M+1).

Ejemplo 14: El aislamiento del segundo pico de elución (2) a 11,8 min proporciona isómero 2 de 1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-il]-2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)etanona como una espuma incolora, 99 % ee, (0,042 g, 51%). MS (m/z): 431 (M+1).

Preparación 21

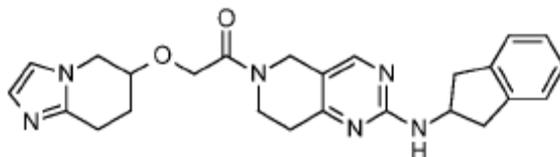
Síntesis de 2-cloro-1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il]etanona.



A N-indan-2-il-5,6,7,8-tetrahidropirido[4,3-d]pirimidin-2-amina (11,0 g, 41,3 mmol) y trietilamina (7,48 ml, 53,7 mmol) en diclorometano (200 ml), añadir, gota a gota, cloruro de 2-cloroacetilo (3,61 ml, 5,13 g, 45,4 mmol) durante cinco minutos a 23°C. Agitar durante 30 minutos y verter la mezcla de reacción en 1:1 de bicarbonato sódico acuoso saturado al 50%:diclorometano (75 ml). Separar la capa orgánica de la capa acuosa y extraer adicionalmente la capa acuosa con diclorometano (2 x 25 ml). Combinar los extractos orgánicos y secar sobre sulfato de sodio anhidro, filtrar y concentrar. Disolver el residuo cloroformo (10 ml) y purificar mediante cromatografía en columna de gel de sílice (elución en gradiente: acetato de etilo al 25% en hexanos a acetato de etilo al 100%) para dar el compuesto del título (9,75 g, 69%). ¹H RMN (CDCl₃, * = rotámero de amida menor) δ 2,77* (t, 2H), 2,84 (dd, 2H), 2,87 (t, 2H), 3,35 (dd, 2H), 3,76 (t, 2H), 3,85* (t, 2H), 4,12 (s, 2H), 4,52* (s, 2H), 4,57 (s, 2H), 4,72-4,82 (m, 1H), 5,48-5,64 (m, 1H), 7,12-7,21 (m, 4H), 8,03-8,10 (m, 1H).

Ejemplo 15

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



5 Añadir hidruro de sodio (0,054 g, 1,85 equiv., 1,35 mmoles) a una solución de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ol (0,252 g, 2,0 equiv.; 1,46 mmoles) en dimetilformamida (2 ml) y agitar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Añadir esta mezcla a una solución a 0°C de 2-cloro-1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il]etanona (0,25 g, 1,0 equiv., 0,729 mmoles) en dimetilformamida (2 ml). Agitar la solución resultante a 0°C durante 1 hora, a continuación, añadir agua y cargar en una columna de intercambio iónico SCX. Eluir el producto bruto (metanol a amoniaco 7N en metanol). Purificar adicionalmente el producto mediante cromatografía de fase inversa para proporcionar 1-[2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-7,8-dihidropirido[4,3-d]pirimidin-6(5H)-il]-2-(5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-iloxi)etanona (0,035 g, 11%) como una espuma de color blanco. MS (m/z): 445 (M+1).

Inhibición de autotaxina medida por liberación de colina

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

Los compuestos de ensayo (muestras de 10 mM en DMSO al 100%) se diluyen en serie en DMSO al 100% resultando en 10 concentraciones de inhibidor 100X en placas de 96 pocillos de media superficie (Corning 3992). Cada uno de estos 10 pocillos en DMSO al 100% se diluye 1:33,33 en tampón de ensayo en placas de 96 pocillos de fondo redondo (Fisher 12565502) resultando en concentraciones 3X en pocillos que contienen DMSO al 3%. El tampón de ensayo es Tris 50 mM pH 8,0, KCl 5 mM, CaCl₂ 1 mM, MgCl₂ 1 mM, 0,01% de TRITON™ X-100 (Sigma T9284) y 0,01% de albúmina de suero bovino libre de ácidos grasos (Sigma A8806). A continuación, se añade una alícuota de 20 µl de cada compuesto de ensayo 3X a placas de 96 pocillos de fondo plano, negras (Corning 3991) de manera individual. A continuación, se añade una alícuota de 20 µl por pocillo de autotaxina humana recombinante 3X (autotaxina humana de longitud completa con un marcador His C-terminal transfectada en células 293E y purificada mediante quelato de níquel y cromatografía de exclusión de tamaño) a cada pocillo excepto para los pocillos de control sin enzimas. Se añade una alícuota de 20 µl por pocillo de tampón de ensayo a los pocillos de control sin enzimas. Se añade una alícuota de 20 µl de un cóctel 3X que contiene colina oxidasa (Sigma C5896), peroxidasa de rábano picante (Sigma P8125), amplex ultrared (Invitrogen A36006) y el sustrato de autotaxina lisofosfatidilcolina (LPC) 16:0 (Avanti Polar Lipids 855675P) a cada pocillo mientras se evita la exposición a la luz. Las concentraciones finales en el pocillo de colina oxidasa, peroxidasa de rábano picante, amplex ultrared y LPC 16:0 son 0,4 unidades/ml, 4 unidades/ml, 40 µM y 30 µM, respectivamente. A continuación, la placa se sella con sellos de aluminio y se incuba a 37°C durante 1 hora en una incubadora Labline Imperial III. Durante esta incubación, la LPC es escindida por la autotaxina resultando en ácido lisofosfatídico (LPA) 16:0 y colina. La colina que se libera es oxidada por la colina oxidasa resultando en betaína y peróxido de hidrógeno. El peróxido de hidrógeno reacciona con el peróxido de rábano picante y amplex ultrared para formar la molécula fluorescente resorufina. La resorufina sobre las placas se mide con un fluorómetro SpectraMax Gemini EM a longitudes de onda de excitación-emisión de 530-590 nm usando el software SoftMax Pro 4.8. Los valores IC₅₀ se calculan usando ajustes de curva de 4 parámetros con la herramienta interna de ajuste de curvas OLO del software de Lilly. Los resultados se expresan como la media aritmética +/- desviación estándar; n=x. Los compuestos de los Ejemplos 1-15 de la presente invención se ensayaron esencialmente tal como se ha descrito anteriormente y exhibieron un valor IC₅₀ para la autotaxina menor de a aproximadamente 100 nM. Los siguientes compuestos ejemplificados se ensayaron esencialmente tal como se ha descrito anteriormente y exhibieron la siguiente actividad para la autotaxina:

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

Compuesto de ensayo	IC ₅₀ (nM)
Ejemplo 3	<1,70 (n = 5)
Ejemplo 8	2,04 (n = 6)

45

Los datos en la Tabla 1 ilustran que los compuestos de la Tabla 1 inhiben la autotaxina usando el ensayo de liberación de colina *in vitro*.

Reducción de LPA en presencia de plasma humano

El siguiente ensayo está destinado a medir la reducción de LPA. Este ensayo es una herramienta que puede usarse para identificar compuestos selectivos inhibidores de LPA mediados por autotaxina cuando se usa para ensayar compuestos que han sido identificados como inhibidores de autotaxina. Se cree que la biosíntesis de LPA mediante autotaxina es la fuente de LPA para el dolor neuropático mediado por LPA₁. Makoto Inoue, et.al, "Autotaxin, a synthetic enzyme of lysophosphatidic acid (LPA), mediates the induction of nerve-injured neuropathic pain", **Dolor Molecular**, 2008,4:6. Los resultados de este ensayo apoyan la inhibición dirigida de la biosíntesis de LPA mediada por autotaxina.

Unidades de plasma de donantes humanos sanos se recogen en heparina sódica (Lampire Biologicals), se dividen en alícuotas y se almacenan a -80°C. El día del ensayo, alícuotas del plasma se descongelan y se centrifugan durante 10 minutos a 3.000 RPM a 4°C en una centrifuga para eliminar los desechos. Se añade una alícuota de 90 µl de plasma a cada pocillo de una placa de polipropileno de fondo redondo de 96 pocillos. Una alícuota de 10 µl del compuesto de ensayo 10X que contiene DMSO al 10% en tampón de ensayo (Tris 50 mM, pH 8,0, KCl 5 mM, CaCl₂ 1 mM, MgCl₂ 1 mM) se añade a cada pocillo a excepción de los pocillos de control que no contienen ningún compuesto de ensayo. Esto resulta en 10 concentraciones 1X de compuesto de ensayo en una sola vez con una concentración final de DMSO al 1% en plasma al 90%. Se añade una alícuota de 10 µl de DMSO al 10% en tampón de ensayo sin compuesto de ensayo a los pocillos de control de 0 horas (n = 8) y de 3 horas sin compuesto de ensayo (n = 8). Se añade una alícuota de 10 µl de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 500 mM a cada uno de los pocillos de control de 0 horas sin compuesto de ensayo para quelar la autotaxina endógena. El contenido total de los pocillos de control de 0 horas sin compuesto de ensayo se transfiere a una nueva placa de polipropileno de fondo redondo de 96 pocillos y se congela a -80°C. A continuación, la placa que contiene plasma +/-compuestos de ensayo (menos los pocillos de control de 0 horas sin inhibidores) se incuba durante 3 horas a 37°C en una incubadora de hibridación Robbins Scientific™ modelo 400 mientras se balancea a 14.000 rpm. Durante esta incubación de 3 horas, las lecitina colesterol aciltransferasas presentes en el plasma escinde la fosfatidilcolina resultando en niveles plasmáticos más altos del sustrato de autotaxina lisofosfatidilcolina (LPC). Los mayores niveles de LPC endógena son escindidos por la autotaxina endógena resultando en concentraciones plasmáticas más altas de ácido lisofosfatídico (LPA) endógeno (Nakamura et al., Clinical Biochemistry 40 (2007), 274-277). Este aumento de LPA en la incubación de 3 horas puede ser inhibido por los inhibidores de autotaxina. Después de la incubación de 3 horas, se añaden 10 µl de EDTA 500 mM a todos los pocillos restantes (pocillos que contienen compuesto de ensayo y pocillos de control de 3 horas sin compuesto de ensayo) para quelar la autotaxina endógena. A continuación, el contenido completo de estos pocillos se añade a la placa que contiene el plasma de control de 0 horas sin compuesto de ensayo que había sido almacenado previamente a -80°C (sin descongelar el plasma de 0 horas). A continuación, la placa se vuelve a recubrir con un sello de aluminio y se coloca de nuevo a -80°C hasta la extracción para un análisis de espectros de masa. El día de la extracción, las placas se descongelan sobre hielo y se transfieren 25 µl de plasma de cada pocillo a una placa de 96 pocillos profundos cuadrados TrueTaper™ de 2 ml (Analytical Sales and Products #968820). Se añade una alícuota de 400 µl de tampón de extracción (50% de metanol, 49,9% de acetonitrilo, 0,1% de ácido acético) que contiene los estándares internos de LPA (50 ng/ml de deuterio D5 LPA 16:0 y 50 ng/ml de deuterio D5 LPA 18:0) a cada pocillo y la LPA total en cada muestra se determina mediante un análisis de espectros de masas. El porcentaje de reducción de LPA se calcula según la fórmula siguiente:

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

Los valores IC₅₀ se calculan utilizando un ajuste de curva de 4 parámetros. Los resultados se expresan como la media aritmética +/- desviación estándar; n = x. Los resultados de este ensayo usando los compuestos de la presente invención muestran una reducción de LPA que depende de la dosis y que es estadísticamente significativa.

Tabla 2: Reducción de LPA en plasma humano

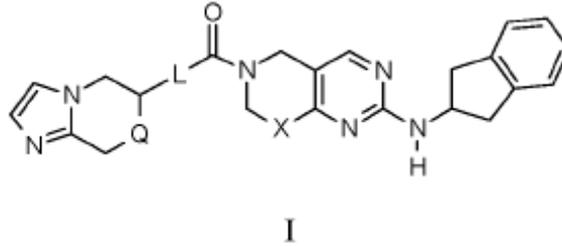
Compuesto de ensayo	IC ₅₀ (nM)
Ejemplo 3	2,22 (n = 4)
Ejemplo 8	12,9 (n = 3)

Los datos de la Tabla 2 demuestran que los compuestos reducen el LPA en presencia de plasma humano. Los resultados apoyan que los compuestos inhiben la biosíntesis de LPA mediada por autotaxina.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I

5



en la que X es un enlace o CH₂;

10

Q es CH₂ u O;

L se selecciona de entre el grupo que consiste en -OCH₂- y -CH₂O-;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto o una sal según la reivindicación 1, en el que X es un enlace.

3. Un compuesto o una sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que Q es O.

15

4. Un compuesto o una sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que Q es CH₂.

5. Un compuesto o una sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que L es -OCH₂-.

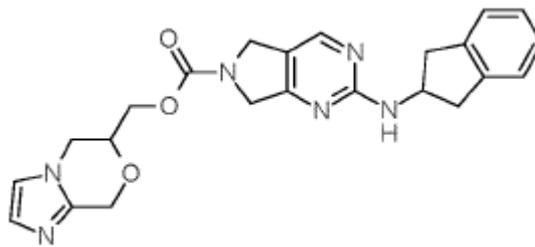
6. Un compuesto o una sal según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que L es -CH₂O-.

7. Un compuesto o una sal según la reivindicación 1, en el que X es CH₂.

20

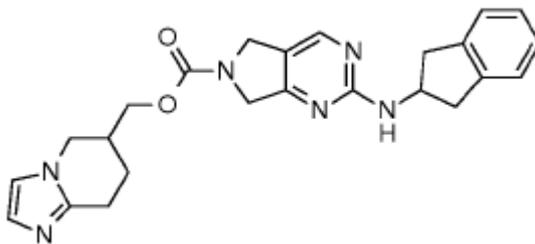
8. Un compuesto o una sal según la reivindicación 1, que es 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6-dihidro-8H-imidazo[2,1-c][1,4]oxazin-6-ilmetilo:

25



9. Un compuesto o una sal según la reivindicación 1, que es 2-(2,3-dihidro-1H-inden-2-ilamino)-5,7-dihidro-6H-pirrolo[3,4-d]pirimidin-6-carboxilato de 5,6,7,8-tetrahidroimidazo[1,2-a]piridin-6-ilmetilo:

30



35

10. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, en combinación con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 5 11. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en terapia.
12. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 para su uso en el tratamiento del dolor