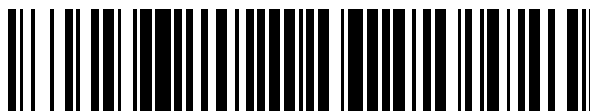


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 653 425**

51 Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 3/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **06.01.2015 PCT/US2015/010291**

87 Fecha y número de publicación internacional: **16.07.2015 WO15105786**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.01.2015 E 15702019 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017 EP 3092241**

54 Título: **Compuestos de fenil-triazolo-piridina**

30 Prioridad:

10.01.2014 US 201461925802 P

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

07.02.2018

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

**HAMDOUCHI, CHAFIQ y
MAITI, PRANAB**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 653 425 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

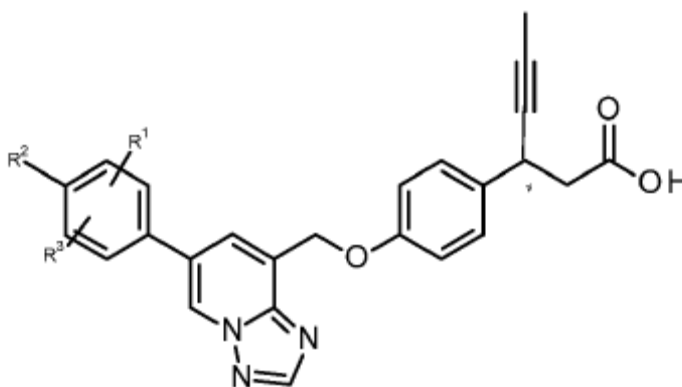
Compuestos de fenil-triazolo-piridina

La presente invención se refiere a compuestos de fenil-triazolo-piridina o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y a su uso en terapia. Los compuestos de fenil-triazolo-piridina de la presente invención son activadores de GPR-40.

Se ha informado que GPR-40, también conocido como receptor de ácido graso libre 1 (FFA1 o FFAR1), se expresa predominantemente a altos niveles en células beta pancreáticas de roedor, líneas celulares de insulinoma e islotes humanos. La modulación de la glucosa en la secreción de insulina es una característica importante de la activación de GPR-40. Las sulfonilureas, prescritas como secretagogos de insulina, son un tratamiento aceptado para pacientes con diabetes tipo II; sin embargo, se desean opciones de tratamiento adicionales. Los compuestos que efectúan la activación de GPR40 están asociados con la estimulación de la secreción de insulina en un paciente con diabetes tipo II (T2D). Se desean compuestos que efectúen la activación de GPR40.

El documento WO2004/041266 describe un compuesto que es un regulador de la función del receptor GPR40 que comprende un compuesto que tiene un anillo aromático y un grupo capaz de liberar un catión. Otros moduladores GPR40 se describen en los documentos WO2005/086661 y WO2011/161030. Existe la necesidad de nuevos compuestos que sean activadores de GPR 40. La presente invención proporciona compuestos con actividad de activación de GPR 40. Los compuestos que son activadores de GPR 40 se desean para su uso en el tratamiento de afecciones mediadas por GPR40.

La presente invención proporciona un compuesto de la fórmula:



en la que R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, CN, -CH₂CN, -C(CH₃)₂CN, F, Cl, y Br;

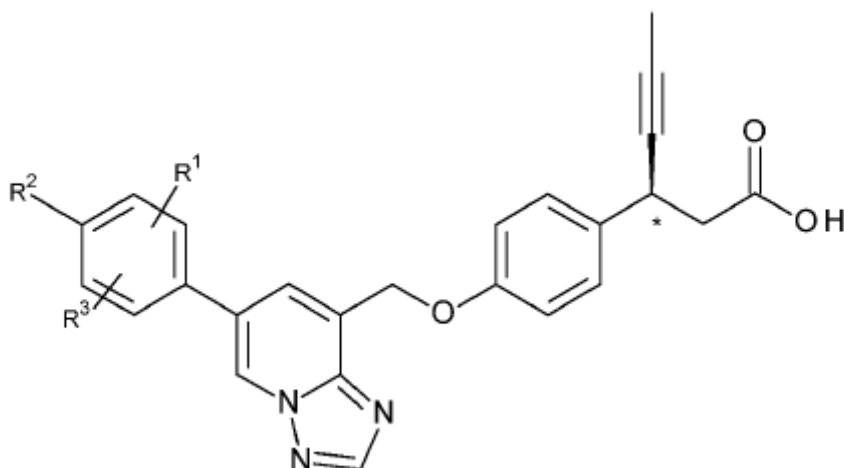
R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquileo C₁-C₃)R⁴, -CH₂CN, CN, -OCH₃, CF₂, -C(CH₃)₂CN, -C(CH₃)₂, -S(O)₂CH₃, -S(O)₂NH₂, y -OCF₂;

R³ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, y -OCH₃; y

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -C(CH₃)₂CN, -OCH₃, -S(O)₂CH₃, CN, y -C(CH₃)₂OH;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La presente invención proporciona un compuesto de la fórmula I, dada a continuación:



I

en la que R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, CN, -CH₂CN, -C(CH₃)₂CN, F, Cl, y Br;

R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquileo C₁-C₃)R⁴, -CH₂CN, CN, -OCH₃, CF₂, -C(CH₃)₂CN, -C(CH₃)₂, -S(O)₂CH₃, -S(O)₂NH₂, y -OCF₂;

5 R³ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, y -OCH₃; y

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -C(CH₃)₂CN, -OCH₃, -S(O)₂CH₃, CN, y -C(CH₃)₂OH;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Los compuestos de la presente invención tienen un carbono quiral identificado en la estructura anterior con un asterisco (*). Los compuestos preferidos tienen la configuración mostrada anteriormente, que por convención se conoce como la configuración S.

En una realización de la presente invención, R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, F y Cl. En otra realización, R¹ se selecciona del grupo que consiste en H y CH₃.

15 En otra realización de la presente invención, R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquileo C₁-C₃)R⁴, -OCH₃, -OCF₂, y -C(CH₃)₂. En otra realización R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -S(O)₂CH₃, -C(CH₃)₂OH, y -OCH₃. En otra realización se prefieren los compuestos en los que R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquileo C₁-C₃)R⁴, y C(CH₃)₂.

En otra realización, R³ se selecciona del grupo que consiste en H y CH₃. En otra realización, R¹ es CH₃, R² es H y R³ es H.

20 En otra realización, R¹ se selecciona del grupo que consiste en H y CH₃; R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquileo C₁-C₃)R⁴, -OCH₃, -OCF₂, y -C(CH₃)₂; R³ se selecciona del grupo que consiste en H y CH₃; y R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -S(O)₂CH₃, -C(CH₃)₂OH, y -OCH₃.

Un compuesto preferido de la presente invención es el ácido (S)-3-[4-(6-o-tolil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi)-fenil]-hex-4-inoico; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I como se describió anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

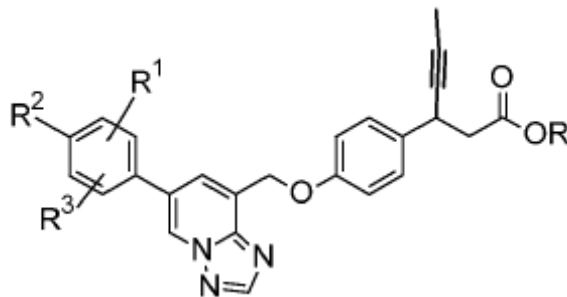
30 La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I como se describió anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente uno o más agentes terapéuticos. Los agentes terapéuticos adicionales incluyen, por ejemplo, metformina y/o Januvia. En una realización, el agente terapéutico adicional es metformina.

La presente invención proporciona un compuesto de acuerdo con la fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se describió anteriormente para su uso en terapia.

En aún otra forma, la presente invención proporciona un compuesto como se describe anteriormente de acuerdo con la fórmula I, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la diabetes en un paciente que lo necesite. Preferiblemente, el uso es para el tratamiento de la diabetes tipo 2 y el paciente es un ser humano.

- 5 La presente invención proporciona el uso de un compuesto de acuerdo con la fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes. Preferiblemente, el medicamento es para el tratamiento de la diabetes tipo dos.

En aún otra forma, la presente invención proporciona un compuesto intermedio de la fórmula



- 10 en la que R se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo C₃₋₆, fenilo, y alquilo C₁₋₅-fenilo;

R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, CN, -CH₂CN, -C(CH₃)₂CN, F, Cl, y Br;

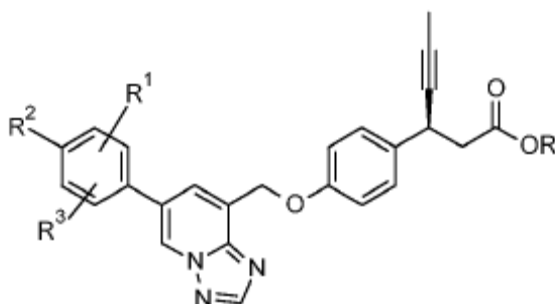
R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquilenos C₁₋₃)R⁴, -CH₂CN, CN, -OCH₃, CF₂, -C(CH₃)₂CN, -C(CH₃)₂, -S(O)₂CH₃, -S(O)₂NH₂, y -OCF₂;

- 15 R³ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, y -OCH₃; y

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -C(CH₃)₂CN, -OCH₃, -S(O)₂CH₃, CN, y -C(CH₃)₂OH; para proporcionar un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Los grupos R preferidos incluyen alquilo C₁₋₂, haloalquilo C₁₋₂, fenilo, y alquilo C₁₋₂-fenilo. Los grupos R particularmente preferidos incluyen metilo, etilo, fenilo, y bencilo. Se puede preferir que el compuesto de fórmula II, o una sal del mismo, comprende un compuesto en el que R¹ es CH₃, R² es H, y R³ es H.

- 20

En aún otra forma, la presente invención proporciona un compuesto intermedio de la fórmula II



II

en el que R se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo C₃₋₆, fenilo, y alquilo C₁₋₅-fenilo;

- 25 R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, CN, -CH₂CN, -C(CH₃)₂CN, F, Cl, y Br;

R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquilenos C₁₋₃)R⁴, -CH₂CN, CN, -OCH₃, CF₂, -C(CH₃)₂CN, -C(CH₃)₂, -S(O)₂CH₃, -S(O)₂NH₂, y -OCF₂;

R³ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, y -OCH₃; y

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -C(CH₃)₂CN, -OCH₃, -S(O)₂CH₃, CN, y -C(CH₃)₂OH; para proporcionar un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Los grupos R preferidos incluyen alquilo C₁₋₂, haloalquilo C₁₋₂, fenilo, y alquilo C₁₋₂-fenilo. Los grupos R particularmente preferidos incluyen metilo, etilo, fenilo, y bencilo. Se puede preferir que el compuesto de fórmula II, o una sal del mismo, comprende un compuesto en el que R¹ es CH₃, R² es H, y R³ es H.

La presente invención también proporciona un proceso de preparación de los compuestos descritos anteriormente para la fórmula I. El procedimiento comprende la desprotección o la desesterificación del compuesto intermedio de acuerdo con la fórmula II, para preparar el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La invención proporciona además un compuesto que activa selectivamente GPR-40 en comparación con la actividad de PPAR gamma, como se muestra por los resultados del ensayo de PPAR gamma funcional.

Un experto en el arte entenderá fácilmente y será capaz de implementar reacciones de desprotección sin una experimentación excesiva. Los expertos en el arte reconocerán que, además del ácido carboxílico y el ácido carboxílico protegido, se pueden usar otros grupos funcionales que se pueden convertir fácilmente en un ácido carboxílico en lugar del ácido carboxílico o el ácido protegido. Tales grupos funcionales, preparaciones y transformaciones de estos grupos a ácidos carboxílicos se pueden encontrar en "Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations" by Larock. R.C, Wiley VCH, 1999 y en "March's Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure" Smith, M.B., and March, J., Wiley-Interscience, 6th Ed. 2007.

Los compuestos de la presente invención se pueden proporcionar como sales farmacéuticamente aceptables. "Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales del compuesto de la invención que se consideran aceptables para su 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 1977.

Los isómeros, enantiómeros o diastereómeros individuales se pueden separar en cualquier punto conveniente en la síntesis de un compuesto de fórmula I por procedimientos tales como cromatografía quiral. Adicionalmente, los intermedios descritos en los siguientes esquemas y preparaciones contienen varios grupos protectores de nitrógeno, hidroxilo y ácido tales como ésteres. El grupo protector variable puede ser el mismo o diferente en cada caso, dependiendo de las condiciones de reacción particulares y de las transformaciones particulares que se van a realizar. Las condiciones de protección y desprotección son bien conocidas para los expertos en el arte y se describen en la bibliografía. Véase, por ejemplo, Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, (T. Greene and P. Wuts, eds., 2d ed. 1991).

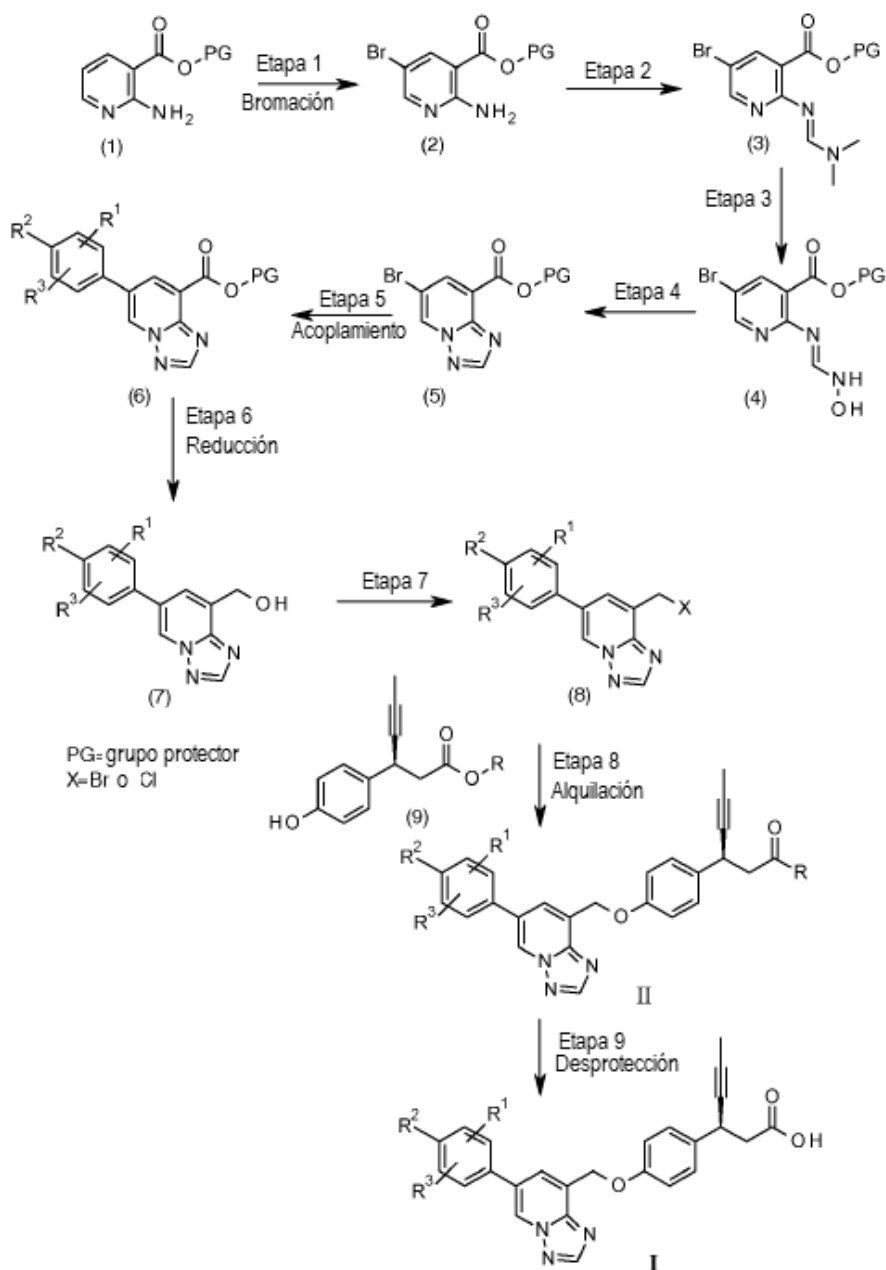
Las abreviaturas usadas en este documento se definen de acuerdo con Aldrichimica Acta, Vol. 17, No. 1, 1984. Otras abreviaturas se definen de la siguiente manera: "BSA" se refiere a albúmina de suero bovino; "DIBAL" se refiere a hidruro de diisobutilaluminio; "DCM" se refiere a diclorometano; "DMEM" se refiere al medio de Eagle modificado de Dulbecco; "DMF" se refiere a dimetilformamida; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "EC₅₀" se refiere a la concentración eficaz a la mitad de la respuesta máxima; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; "EtOH" se refiere a alcohol etílico o etanol; "F12" se refiere al medio F12 de Ham; "FA" se refiere a ácido graso; "FBS" se refiere a suero fetal bovino; "HEK" se refiere al riñón embrionario humano; "IC₅₀" se refiere a la concentración de un agente que produce el 50 % de la respuesta inhibitoria máxima posible para ese agente; "MeOH" se refiere a alcohol metílico o metanol; "Pd(amphos)Cl₂" bis(di-tert-butyl(4-dimetilaminofenil)fosfina)dicloropaladio(II); "Pd(PPh₃)₂Cl₂" se refiere a cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II); "PPA" se refiere a ácido polifosfórico; "PPAR" se refiere al receptor activado por el proliferador de peroxisoma; "PPRE" se refiere al elemento de respuesta del proliferador de peroxisoma; "RFU" se refiere a la unidad de fluorescencia relativa; "RPMI" se refiere a Roswell Park Memorial Institute; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "TK" se refiere a la timidina quinasa y "TAK875" se refiere al compuesto de Takeda conocido como fasiglifam.

El término alquilo como se usa en este documento es un alquilo de cadena lineal tal como etilo o n-propilo, o un alquilo de cadena ramificada tal como isopropilo o tert-butilo. El término haloalquilo C₁₋₄ se refiere a un grupo alquilo que tiene 1, 2, 3 o más grupos halo unidos a los carbonos de la cadena del alquilo. Si hay dos o más halógenos, los halógenos no necesitan estar unidos al mismo carbono. Este término también incluye perhaloalquilos en los que todos los átomos de hidrógeno del grupo alquilo se reemplazan por un halógeno.

En los esquemas dados a continuación, todos los sustituyentes a menos que se indique lo contrario, son como se definieron previamente. Los reactivos y los materiales de partida están generalmente disponibles para un experto en el arte. Otros se pueden preparar mediante técnicas estándar de química orgánica y heterocíclica que son análogas

a las síntesis de compuestos estructuralmente similares conocidos y a los procedimientos descritos en las preparaciones y ejemplos que siguen incluyendo cualquier procedimiento novedoso.

Esquema 1

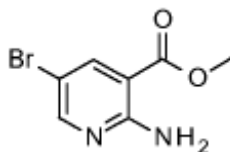


- Un compuesto de fórmula I se puede preparar de acuerdo con las reacciones que se muestran en el esquema 1.
- 5 Una 2-amino-3-carboxi éster piridina se bromó exclusivamente en la posición 5 más activa usando bromo y una base inorgánica tal como bicarbonato de sodio en un solvente aprótico polar tal como DCM para dar el compuesto 2, Etapa 1. En la etapa 2, la amina primaria en la posición 2 de la piridina se convierte en el compuesto dimetilamino-
- 10 metilenamino (3), mediante una condensación de formamida usando dimetoxi metil dimetilamina en un solvente aprótico polar tal como DMF para dar el compuesto 3, etapa 2. El compuesto 3 se convierte en la hidroxilamina imina (4) usando clorhidrato de hidroxilamina en un solvente prótico polar tal como MeOH para dar el compuesto 4, etapa 3. El compuesto 4 se puede ciclar a la [1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina (5) mediante una ciclación intramolecular catalizada por ácido para dar el tetrazol (5) con ácido polifosfórico y calentando a aproximadamente 120°C, etapa 4. Alternativamente, la [1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina (5) se puede formar usando anhídrido trifluoroacético en un solvente aprótico polar tal como THF a aproximadamente 0°C para dar el compuesto 5. La 8-bromo [1,2,4]triazolo[1,5-
- 15 a]piridina (5, etapa 5) se puede acoplar bajo las condiciones de acoplamiento cruzado de Suzuki-Miyaura usando un reactivo de ácido borónico. El experto en el arte reconocerá que existen diversas condiciones útiles para facilitar

- tales reacciones de acoplamiento cruzado. De acuerdo con lo anterior, un reactivo de paladio apropiado incluye dicloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II), Pd(amphos)Cl₂, tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) con triciclohexilfosfina, cloruro de (1,1'-bis (difenilfosfino) ferroceno) paladio (II), tetrakis(trifenilfosfina) de paladio o acetato de paladio (II). Una base apropiada incluye carbonato de cesio, carbonato de sodio, carbonato de potasio o monohidrato tribásico de fosfato de potasio en un solvente no polar apropiado tal como 1,4-dioxano para dar el compuesto 6, etapa 5. El éster del compuesto 6 se puede reducir al compuesto hidroxilo (7, etapa 6) con hidruro de diisobutilaluminio (DIBAL) en un solvente aprótico polar tal como diclorometano o THF para dar el compuesto 7, etapa 6. El compuesto hidroxilo se puede convertir ya sea en cloruro o bromuro en la etapa 7, compuesto 8. Un agente de cloración típico es cloruro de tionilo, mientras que los agentes de bromación típicos son tribromuro de fósforo o tetrabromuro de carbono y trifenilfosfina en un solvente aprótico polar tal como DCM para dar el compuesto 8, etapa 7, donde X es Cl o Br. A continuación, el compuesto halogenado (8) se puede alquilar con el compuesto 9 en condiciones básicas usando una base inorgánica tal como carbonato de cesio o acetato de potasio en un solvente aprótico polar tal como acetonitrilo para dar los compuestos protegidos con éster de fórmula II, etapa 8. El ácido protegido de la etapa 8, se puede desproteger en condiciones básicas bien conocidas en la técnica para dar los compuestos de fórmula I, etapa 9. Las condiciones para la desprotección de ésteres son bien conocidas en la técnica usando una base tal como hidróxido de sodio o hidróxido de litio en un solvente prótico polar tal como EtOH o MeOH o una mezcla de solvente de agua/THF. Otras condiciones de desprotección alternativas incluyen el uso de hidróxido de trimetilestaño o trimetilsilanolato de potasio como una base en dicloroetano o THF para dar los compuestos de fórmula I.
- 20 Las siguientes preparaciones y ejemplos ilustran adicionalmente la invención y representan la síntesis típica de los compuestos de fórmula I. A menos que se indique lo contrario, los compuestos ilustrados en este documento se nombran y numeran usando Accelrys Draw 4.0, IUPCNAME ACDLABS o MDL ISIS, versión 2.5 SP2.

Preparación 1

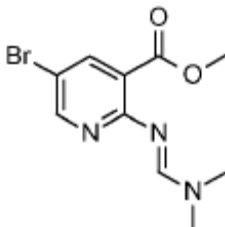
Éster etílico del ácido 2-amino-5-bromo-nicotínico



- 25 A una solución agitada de éster metílico del ácido 2-amino-nicotínico (2 g, 13,15 mmol) y bicarbonato de sodio (2,2 g, 26,31 mmol) en DCM (30 ml) se le adiciona una solución de bromo (1,01 ml en DCM (20 ml) gota a gota a 0°C. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactiva con solución de bisulfito de sodio (50 ml) y se extrae con DCM (2x40 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavan con salmuera (40 ml), se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y evapora a presión reducida para dar el compuesto base como un sólido de color amarillo (3 g, 99 %). LCMS m/z (⁷⁹Br/⁸¹Br) 231/233 (M+H)⁺.

Preparación 2

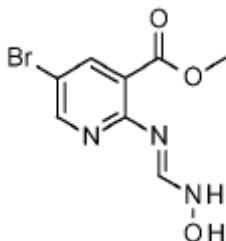
Éster metílico del ácido 5-bromo-2-(dimetilamino-metileneamino)-nicotínico



- 35 A una solución de éster etílico del ácido 2-amino-5-bromo-nicotínico (3 g, 12,98 mmol) en DMF (30 ml) se le adiciona dimetoximetildimetilamina (5,1 ml, 38,95 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calienta a 110°C, durante la noche. La mezcla de reacción se diluye con agua helada (50 ml) y se extrae con EtOAc (2x40 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavan con salmuera (40 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y evaporan a presión reducida para dar el compuesto base (3,2 g, 86 %) que se usa sin purificación adicional. LCMS m/z (⁷⁹Br/⁸¹Br) 286/288 (M+H)⁺.

Preparación 3

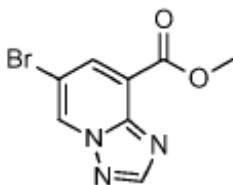
Éster metílico del ácido 5-bromo-2-[(N-hidroxi-formimidoil)-amino]-nicotínico



- 5 A una solución de éster metílico del ácido 5-bromo-2-(dimetilamino-metileneamino)-nicotínico (3,2 g, 11,10 mmol) en MeOH (30 ml) se le adiciona clorhidrato de hidroxilamina (1,0 g, 15,54 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se evapora a presión reducida y el residuo se lava con agua (10 ml), se filtra y se seca para dar el compuesto base (3 g, 100 %) que se usa sin purificación adicional. LCMS m/z (⁷⁹Br/⁸¹Br) 274/276 (M+H)⁺.

Preparación 4

Éster metílico del ácido 6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico



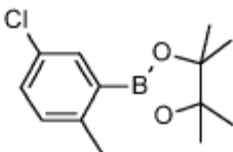
- 10 Se adiciona éster metílico del ácido 5-bromo-2-[(N-hidroxi-formimidoil)-amino]-nicotínico (3 g, 10,86 mmol) en porciones a PPA (0,8 g) a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se calienta a 120°C, durante la noche. La mezcla de reacción se inactiva con una solución de bicarbonato de sodio (50 ml) y se extrae con EtOAc (2x40 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (40 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y evaporan a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash), eluyendo con EtOAc al 40 % en hexanos para dar el compuesto base como un sólido de color blanco crema (0,6 g, 21,42 %). LCMS m/z (⁷⁹Br/⁸¹Br) 256/258 (M+H)⁺.
- 15

Preparación alternativa 4

- 20 A una solución agitada de éster metílico del ácido 5-bromo-2-[(N-hidroxi-formimidoil)-amino]-nicotínico (14 g, 51 mmol) en THF (100 ml) se le adiciona anhídrido trifluoroacético (10,8 ml), 76 mmol) a 0°C. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción luego se inactiva con solución de bicarbonato de sodio (250 ml) y se extrajo con EtOAc (2x250 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (100 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y evaporan a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con EtOAc al 30 % en hexanos para dar el compuesto base como un sólido de color blanco crema (6,5 g, 50 %). LCMS m/z (⁷⁹Br/⁸¹Br) 256/258 (M+H)⁺.

25 Preparación 5

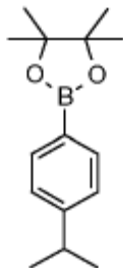
2-(5-Cloro-2-metil-fenil)-4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolano



- 30 A una solución agitada de 5-cloro-2-metil-fenilamina (1,5 g, 10,59 mmol) en acetonitrilo (30 ml), se le adiciona nitrito de tert-butilo (1,88 ml, 15,88 mmol) y diboro de bispinacolato (4,03 g, 15,89 mmol) a 0°C. La mezcla se calienta a 80°C, durante 2 horas. La mezcla de reacción se evapora a presión reducida para obtener el compuesto en bruto que se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con 4 % de acetato de etilo/hexanos para dar el compuesto base (1 g, 38 %). LCMS m/z 253 (M+H)⁺.

Preparación 6

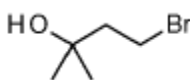
Ácido 4-isopropil-fenilborónico



5 A una solución agitada de 4-isopropil-fenilamina (1 g, 7,4 mmol) en acetonitrilo (30 ml) se le adiciona tert-butilnitrito (1,3 ml, 11,1 mmol) y bispinacolatodiboro (2,24 g, 8,8 mmol) a 0°C. La mezcla se calienta a 80°C, durante 2 horas. La mezcla de reacción se evapora a presión reducida y se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo en 4 % de EtOAc/hexanos para dar el compuesto base como un sólido de color marrón (1,2 g, 99,8 %). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7,74 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,24 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 2,93-2,87 (m, 1H), 1,33 (s, 12H), 1,25 (d, J = 7,2 Hz, 6H).

10 Preparación 7

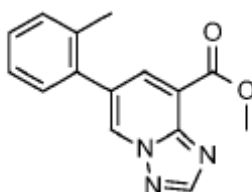
4-Bromo-2-metil-butan-2-ol



15 A una solución agitada de éster metílico del ácido 4-bromo-butírico (1 g, 5,9 mmol) en éter dietílico (20 ml) se le adiciona bromuro de metilmagnesio (19,9 ml, 23,9 mmol) a 0 °C y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactiva con cloruro de amonio acuoso (40 ml) y se extrae con éter dietílico (2x20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución saturada de salmuera (20 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y concentran. El material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con 20 % de EtOAc/hexanos para obtener el compuesto base como un líquido de color rosa pálido (0,6 g, 60 %). ¹HRMN (400 MHz, DMSO) δ 4,38 (s, 1H), 3,52-3,48 (m, 2H), 1,97-1,91 (m, 2H), 1,08 (s, 6H).

20 Preparación 8

Éster metílico del ácido 6-o-Tolil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico



25 A una solución agitada de éster metílico del ácido 6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico (0,2 g, 0,78 mmol) y ácido o-tolilborónico (0,11 g, 0,859 mmol) en dioxano (4 ml) se le adiciona una solución de carbonato de potasio 2 M (0,78 ml, 1,56 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se purga con argón durante 30 minutos y se adiciona Pd(PPh₃)₄ (0,045 g, 0,039 mmol). A continuación, la mezcla de reacción se calienta a 100°C, durante 1 hora en un microondas. Una vez completada la reacción, la mezcla de reacción se pasa a través de tierra de diatomeas, el filtrado se diluye con agua (20 ml) y se extrae con EtOAc (2x30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (20 ml), salmuera (20 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y evaporan a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con EtOAc al 40 % en hexanos para dar el compuesto base (0,11 g, 52,88 %). LCMS m/z 268,1 (M+H)⁺.

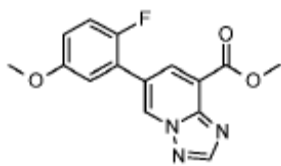
30

Preparación alternativa 8

A una solución agitada de éster metílico del ácido 6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico (432 g, 1,69 mol) y ácido o-tolil borónico (252,3 g, 1.855 mol) en tolueno (8,6 l) se le adiciona una solución de K₃PO₄ (1074 g,

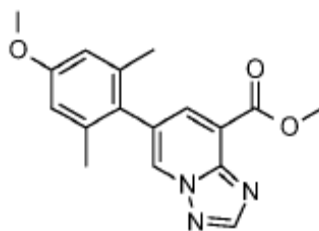
- 5,05 mol) en agua (5 l). La mezcla de reacción se purga con nitrógeno durante 1 hora, se adiciona Pd(amphos)Cl₂ (29,87 g, 0,0421 moles) y la mezcla se purga nuevamente con nitrógeno durante 20 minutos. La mezcla de reacción se calienta a 70°C, durante 2 horas. La reacción se enfría a 30°C, se filtra a través de tierra de diatomeas y se lava con EtOAc (3x1 l). El filtrado se diluye con agua (5 l) y la capa acuosa se extrae con EtOAc (2x2 l). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (3 l) y solución saturada de salmuera (3 l), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y concentran a sequedad. Este material en bruto (273 g) se mezcla con material en bruto de otros lotes (330 g de tamaño del lote y 432 g de tamaño del lote) y se purifica con cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con 60-70 % de EtOAc/hexanos para obtener el compuesto base como sólido de color blanco crema (354 g, 28,4 %). LCMS m/z 268,1 (M+H)⁺.
- 10 El siguiente compuesto se prepara esencialmente mediante el procedimiento de la preparación 8.

Tabla 1

Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
9	Éster metílico del ácido 6-(2-fluoro-5-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico		302

Preparación 10

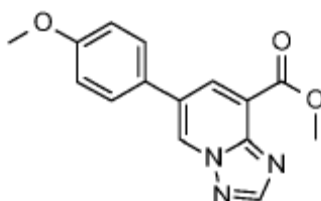
Éster metílico del ácido 6-(4-metoxi-2, 6-dimetil-fenil)-[1, 2, 4] triazolo [1, 5-a] piridina-8-carboxílico



- 15 A una solución agitada de éster metílico del ácido 6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico (0,8 g, 3,125 mmol) y ácido 2,5-dimetil 4-metoxi fenil borónico (0,563 g, 0,315 mmol) en 1,4 dioxano (12 ml) se le adiciona carbonato de potasio (1,29 g, 9,38 mmol) y la reacción se purga en una atmósfera de nitrógeno durante 20 minutos.
- 20 A esta solución se le adiciona Pd(PPh₃)₄ (0,18 g, 0,156 mmol) y la mezcla de reacción se calienta a 100°C en un microondas durante 8 horas. La mezcla de reacción se diluye con EtOAc (30 ml) y se lava con agua (2x30 ml) y solución de salmuera (30 ml), se seca sobre sulfato de sodio anhidro y se evapora a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo a 29-32 % de EtOAc en hexanos para dar el compuesto base como un sólido de color amarillo (0,375 g, 38 %). LCMS m/z 312 (M+H)⁺.

Preparación 11

- 25 Éster metílico del ácido 6-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico

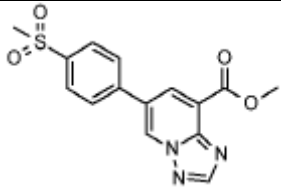
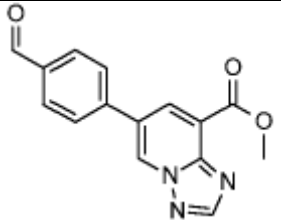


A una solución agitada de éster metílico del ácido 6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico (0,5 g, 1,95 mmol) y ácido 4-metoxifenil borónico (0,32 g, 2,1 mmol) en dioxano (20 ml) se le adiciona una solución de carbonato

de potasio 2 M (0,8 g, 5,8 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se purga con argón durante 30 minutos y se adiciona Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,068 g, 0,096 mmol). La mezcla de reacción se calienta a 100°C, durante 2 horas. La mezcla de reacción se pasa a través de tierra de diatomeas y el filtrado se evapora a sequedad a presión reducida. El producto en bruto se usa sin purificación adicional (0,52 g, 94 %). LCMS m/z 284 (M+H)⁺.

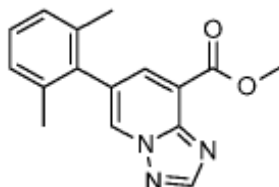
5 Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de preparación 11.

Tabla 2

Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
12	Éster metílico del ácido 6-(4-metanosulfonilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico		331
13	Éster metílico del ácido 6-(4-formil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico		282

Preparación 14

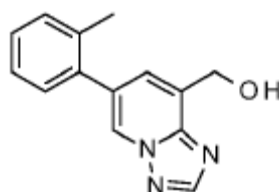
Éster metílico del ácido 6-(2,6-dimetil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico



10 A una solución agitada de éster metílico del ácido 6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico (2 g, 738 mmol) y éster 2,3-dimetil fenil borónico (1,7 g, 11,7 mmol) en dioxano (20 ml) se le adiciona K₂CO₃ (2,1 g, 15,6 mmol). La mezcla se purga con argón durante 30 minutos. A esta se le adiciona Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,273 g, 0,39 mmol) y la mezcla se calienta a 100°C, durante la noche. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y se filtra a través de tierra de diatomeas. El filtrado se diluye con agua (30 ml) y se extrae con EtOAc (2x30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución saturada de salmuera (20 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y concentran. El material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con 30 % de EtOAc/hexanos para dar el compuesto base como un líquido incoloro (0,7 g, 33,3 %). LCMS m/z 282 (M+H)⁺.

20 Preparación 15

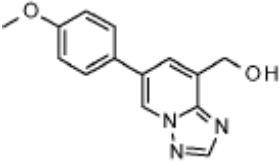
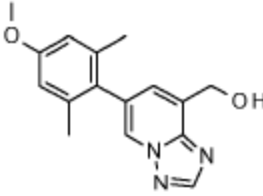
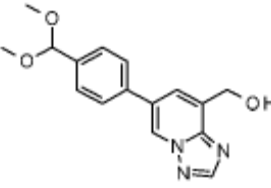
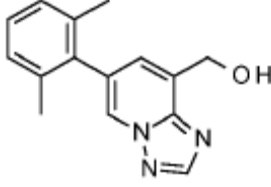
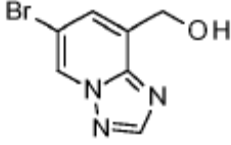
(6-o-Tolil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il)-metanol



5 A una solución agitada de éster metílico del ácido 6-o-tolil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico (0,11 g, 0,411 mmol) en DCM (10 ml) se le adiciona DIBAL (1,12 ml, 1,1 M en hexanos, 1,87 mmol) a -78°C. La mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente y se agita durante 2 horas. La mezcla de reacción se detiene con MeOH (4 ml) a 0 °C y se agita durante 30 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se pasa a través de tierra de diatomeas y el filtrado se concentra a presión reducida para dar el compuesto base (0,09 g, en bruto) que se usa sin purificación adicional. LCMS m/z 240,2 (M+H)⁺.

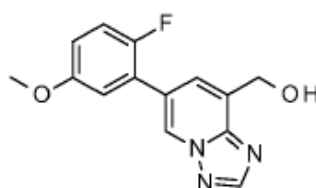
Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de preparación 15.

Tabla 3

Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
16	[6-(4-Metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il] -metanol		256
17	[6-(4-Metoxi-2, 6-dimetil-fenil)-[1, 2, 4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il]-metanol		284
18	[6-(4-Dimetoximetil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il] -metanol		300
19	[6-(2,6-Dimetilfenil)[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il] metanol		253
20	(6-Bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il)-metanol		229

10 Preparación 21

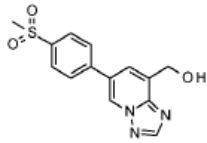
[6-(2-Fluoro-5-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il]-metanol



- 5 A una solución agitada de éster metílico del ácido 6-(2-fluoro-5-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico (0,4 g, 1,33 mmol) en THF (15 ml) se le adiciona DIBAL (6,6 ml, 1 M en hexano, 6,6 mmol) a -78°C. La mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente y se agita durante la noche. La mezcla de reacción se inactiva con cloruro de amonio (10 ml) a 0 °C y se extrajo con EtOAc (3x15 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y evaporan a presión reducida para dar el compuesto base (0,38 g, 100 %). LCMS m/z 274 (M+H)⁺.

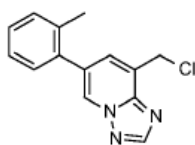
El siguiente compuesto se prepara esencialmente mediante el procedimiento de preparación 21.

Tabla 4

Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
22	[6-(4-metanosulfonilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il]-metanol		304

10 Preparación 23

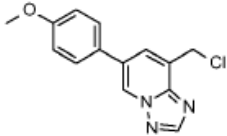
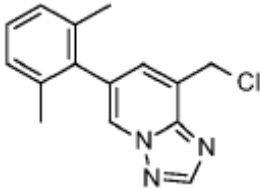
8-Clorometil-6-o-tolil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina



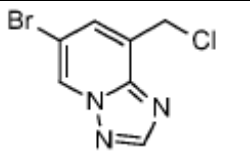
- 15 Se disuelve (6-o-Tolil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il)-metanol (0,09 g, 0,37 mmol) en cloruro de tionilo (5 ml) y la mezcla de reacción se agita durante 1 hora a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se reparte entre agua (20 ml) y DCM (50 ml). La capa orgánica se lava con solución de NaHCO₃ (25 ml), se seca sobre sulfato de sodio y se evapora a presión reducida para dar el compuesto base (0,07 g, en bruto). LCMS m/z 258,1 (M+H)⁺.

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de preparación 23.

Tabla 5

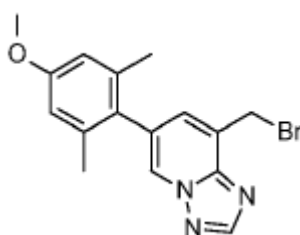
Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
24	8-Clorometil-6-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina		274
25	8-Clorometil-6-(2,6-dimetil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina		272

(continuación)

Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
26	6-Bromo-8-clorometil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina		246/248

Preparación de 27

8-(Bromometil)-6-(4-metoxi-2,6-dimetilfenil)[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina



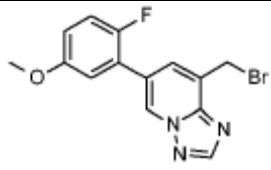
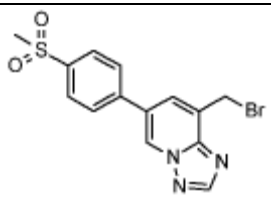
5

A una solución de [6-(4-metoxi-2,6-dimetil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il]-metanol (0,200 g, 0,704 mmol) en DCM (6 ml) se le adiciona PBr_3 (0,1 ml, 0,84 mmol) a 0°C. La mezcla se deja agitar a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfría a 0 °C, se inactiva con solución saturada de bicarbonato de sodio (20 ml) y se extrae con DCM (3x20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución de salmuera (15 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y evaporan a sequedad para dar el compuesto base (0,250 g, en bruto). LCMS m/z ($^{79}Br/^{81}Br$) 346/348 (M+H)⁺

10

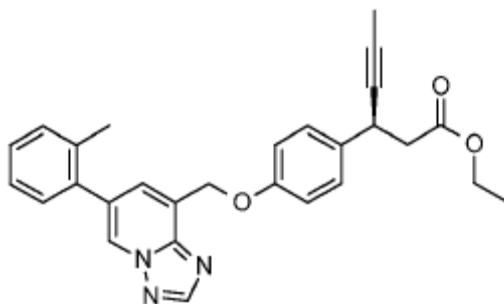
Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de preparación 27.

Tabla 6

Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
28	8-Bromometil-6-(2-fluoro-5-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina		336/338
29	8-Bromometil-6-(4-metanosulfonilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina		366/368

15 Preparación 30

Éster etílico del ácido (S)-3-[4-(6-o-tolil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi)-fenil]-hex-4-inoico



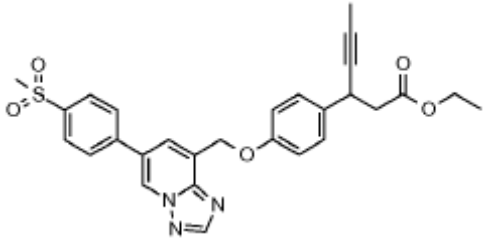
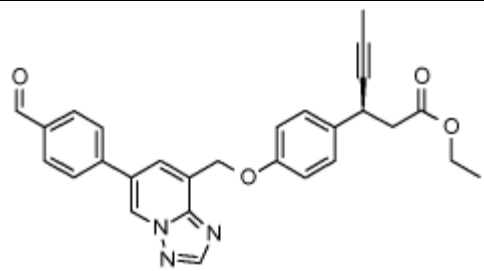
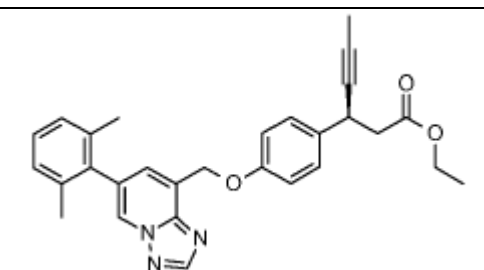
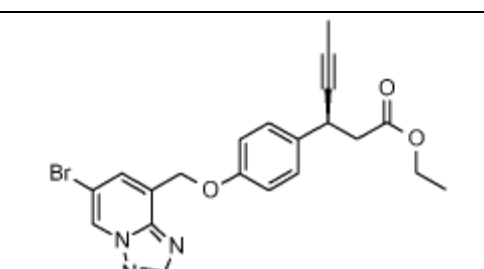
5 A una solución agitada de 8-clorometil-6-o-tolil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina (0,07 g, 0,27 mmol) y éster etílico del ácido (S)-3-(4- hidroxifenil)-hex-4-inoico (documento WO05/086661) (0,06 g, 0,27 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se le adiciona carbonato de cesio (0,409 g, 1,25 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtra y se evapora a presión reducida. El residuo se diluye con EtOAc (15 ml), la capa orgánica se lava con agua (20 ml), salmuera (20 ml), se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se evapora a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con EtOAc al 35 % en hexanos para dar el compuesto base (0,08 g, 80,34 %). LCMS m/z 454,3 (M+H)⁺.

10 Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de preparación 30.

Tabla 7

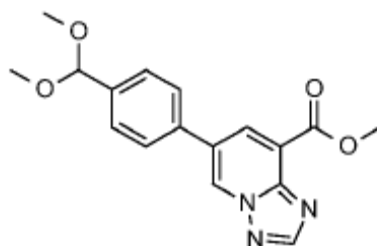
Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
31	Éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-metoxifenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]fenil}-hex-4-inoico		470
32	Éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-metoxi-2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]fenil}-hex-4-inoico		498
33	Éster etílico del ácido 3-{4-[6-(5-metoxi-2-metil-fenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]fenil} -hex-4-inoico		488

(continuación)

Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
34	Éster etílico del ácido 3-{4-[6-(4-metano sulfonil-fenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil} -hex-4-inoico		518
35	Éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-formil-fenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico		468
36	Éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(2,6-dimetil-fenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil} -hex-4-inoico		468
37	Éster etílico del ácido (S)-3-[4-(6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a] piridin-8-ilmetoxi)-fenil]-hex-4-inoico		442/444

Preparación 38

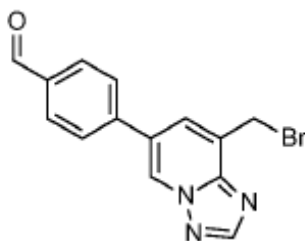
Éster metílico del ácido 6-(4-dimetoximetil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico



- 5 A una solución agitada de éster metílico del ácido 6-(4-formil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina-8-carboxílico (0,8 g, 2,84 mmol) en MeOH (20 ml) se le adiciona formiato de trimetiloilo (4 ml) y ácido p-toluenosulfónico (0,05 g) a 0°C. La mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente y se agita durante 1 hora. La mezcla de reacción se evapora a sequedad y se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice con EtOAc al 30 % en hexanos (1,0 g, 100 %). LCMS m/z 328 (M+H)⁺.

Preparación 39

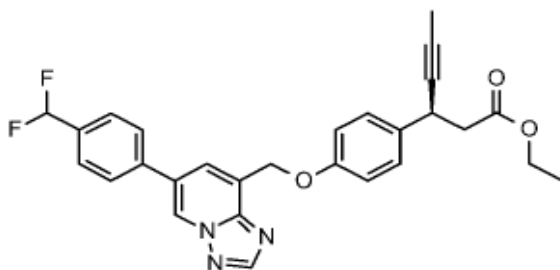
4-(8-Bromometil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-benzaldehído



- 10 A una solución agitada de [6-(4-dimetoximetil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-il]-metanol (0,4 g, 1,33 mmol) en DCM (20 ml) se le adiciona trifetilfosfina (0,52 g, 1,9 mmol) y la mezcla se enfría a 0°C. Se adiciona tetrabromuro de carbono (0,66 g, 1,9 mmol) en porciones y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se evapora a sequedad y el material se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice con EtOAc al 30 % en hexanos para dar el compuesto base (0,75 g, 59,5 %). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8,83 (s, 1H), 8,43 (s, 1H), 8,04 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,88 (s, 1H), 7,78 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,67 (s, 1H), 4,93 (s, 1H).

15 Preparación 40

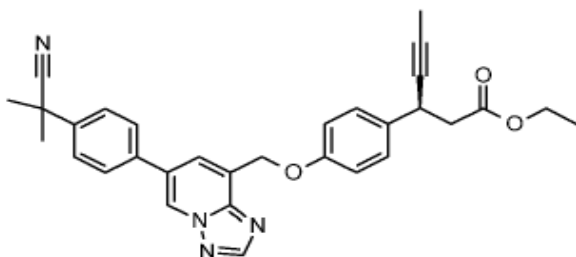
Éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-difluorometil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico



- 20 El éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-formil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico (0,17 g, 0,36 mmol) se combina con trifluoruro de dietilaminoazufre (0,5 ml) en DCM (20 ml) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agita durante 2 horas. La mezcla se reparte entre agua (20 ml) y DCM (50 ml) y la capa orgánica se aísla, se seca y se evapora a presión reducida. El material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice, eluyendo con EtOAc al 25 % en hexanos para dar el compuesto base (0,11 g, 61,7 %). LCMS m/z 490 (M+H)⁺.

Preparación 41

- 25 Éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-(ciano-dimetil-metil)-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico



5 A una solución agitada de 2-metil-2-[4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-propionitrilo (0,24 g, 0,542 mmol) y éster etílico del ácido (S)-3-[4-(6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi)-fenil]-hex-4-inoico (0,157 g, 0,597 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml) se le adiciona carbonato de potasio 2 M (0,542 ml, 1,084 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se purga en atmósfera de nitrógeno durante 20 minutos y se adiciona Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,018 g, 0,0271 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se calienta a 100°C, durante 1 hora. La mezcla de reacción se filtra a través de tierra de diatomeas y se lava con EtOAc (2x20 ml). El filtrado se lava con agua fría (2x10 ml) y solución de salmuera (10 ml), se seca sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra y se evapora a sequedad. El material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con 20-50 % de EtOAc en hexanos para dar el compuesto base como un jarabe de color amarillo pálido (0,11 g, 40 %). LC-MS m/z 507 [M+H]⁺.

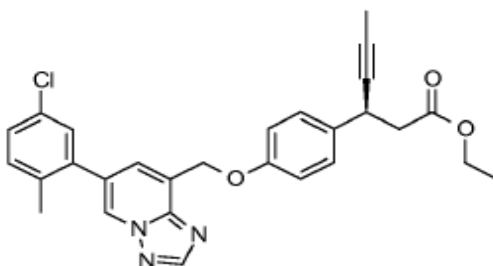
Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de preparación 41.

Tabla 8

Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
42	Éster etílico del ácido (S)-3-[4-[6-(4-cianofenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inoico		465
45	Éster etílico del ácido (S)-3-[4-[6-(2-fluoro-6-metil-fenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inoico		472
46	Éster etílico del ácido (S)-3-[4-[6-(2-metil-4-sulfamoi-fenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inoico		533

Preparación 47

15 Éster etílico del ácido (S)-3-[4-[6-(5-cloro-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inoico



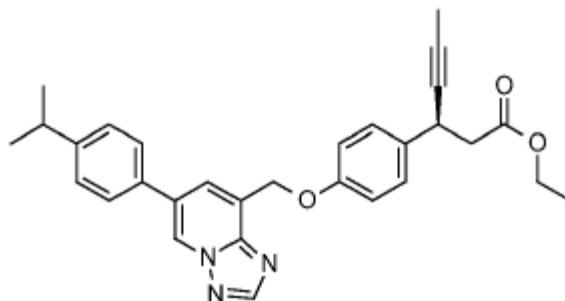
- 5 A una solución agitada de éster etílico del ácido (S)-3-[4-(6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi)-fenil]-hex-4-inoico (0,25 g, 0,565 mmol) y 2-(5-cloro-2-metil-fenil)-4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolano (0,142 g, 0,565 mmol) en dioxano (20 ml) se le adiciona K_2CO_3 2 M (0,7 ml, 1,13 mmol). La mezcla se purga con argón durante 30 minutos, se adiciona $Pd(PPh_3)_4$ (0,032 g, 0,028 mmol) y la mezcla se calienta a $100^\circ C$, durante la noche. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y se filtra a través de tierra de diatomeas. El filtrado se diluye con agua (30 ml) y se extrae con EtOAc (2x20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución saturada de salmuera (20 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y concentran. El material en bruto se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con 75 % de EtOAc/hexanos para obtener el compuesto base (0,15 g, 54 %). LCMS m/z 488 (M+H)⁺.
- 10 Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de preparación 47.

Tabla 9

Prep. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
48	Éster etílico del ácido (S)-3-[4-[6-(4-hidroxil-2-metilfenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inoico		470
49	Éster etílico del ácido (S)-3-[4-[6-(4-metoxi-2-metilfenil)-[1,2,4] triazolo [1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inoico		484

Preparación 50

Éster etílico del ácido (S)-3-[4-[6-(4-isopropil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inoico

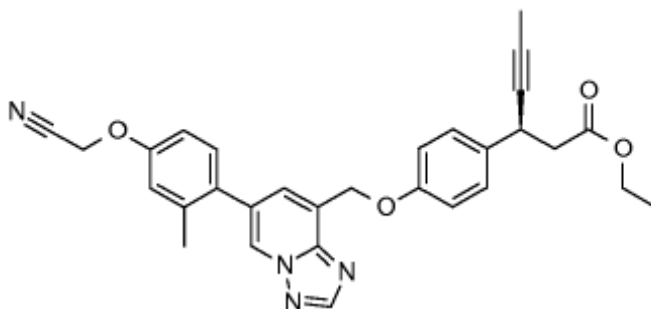


- 15 A una solución agitada de éster etílico del ácido 3-[4-(6-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi)-fenil]-hex-4-inoico (0,25 g, 0,56 mmol) y ácido 4-isopropil-fenilborónico (0,28 g, 1,13 mmol) en tolueno (12 ml) y EtOH (3 ml) se le adiciona K_2CO_3 2 M (0,56 ml, 1,13 mmol). La mezcla se purga con argón durante 30 minutos, se adiciona $Pd(PPh_3)_4$ (0,065 g, 0,05 mmol) y la mezcla se calienta a $100^\circ C$, durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente y se filtra a través de tierra de diatomeas. El filtrado se diluye con agua (20 ml) y se extrae con EtOAc (2x20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución saturada de salmuera (10 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y concentran. El material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de
- 20

gel de sílice (Combiflash) eluyendo en 50 % de EtOAc/hexanos para dar el compuesto base como un líquido amarillo (0,2 g, 73,52 %). LCMS m/z 482 (M+H)⁺.

Preparación 51

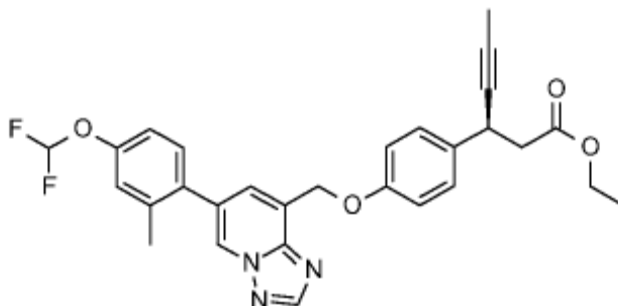
5 Éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-cianometoxi-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico



10 A una solución agitada de éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-hidroxi-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a] piridina-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico (0,25 g, 0,53 mmol) en acetonitrilo (20 ml) se le adiciona bromoacetoni-trilo (0,319 g, 2,6 mmol) y carbonato de potasio (0,146 g, 1,06 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agita a 100°C, durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluye con agua (10 ml) y se extrae con EtOAc (2 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (10 ml) y salmuera (10 ml), se secan sobre sulfato de sodio anhidro, se filtran y evaporan. El material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con 60 % de EtOAc en hexanos para dar el compuesto base como un sólido pegajoso incoloro (0,18 g, 66,6 %). LC-MS m/z 509 [M+H]⁺.

15 Preparación 52

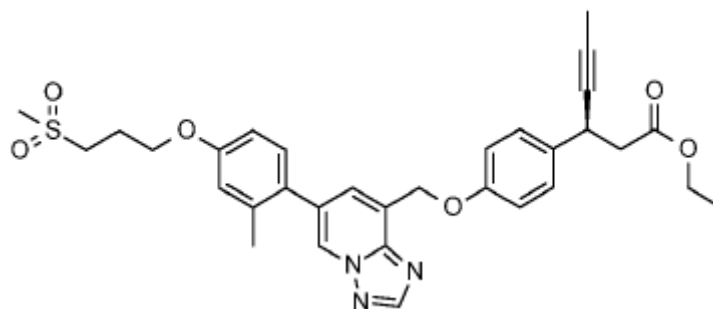
Éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-difluorometoxi-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico



20 A una solución agitada de éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-difluorometoxi-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo [1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico (0,25 g, 0,53 mmol) en DMF (10 ml) se le adiciona 1-cloro-1,1-difluoroacetona (0,249 g, 1,5 mmol) y carbonato de cesio (0,346 g, 1,06 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agita a 80°C, durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluye con agua (10 ml) y se extrae con EtOAc (3x20 ml). La capa orgánica combinada se seca sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra y se evapora a sequedad. El material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice, (Combiflash) eluyendo con EtOAc al 50 % en hexanos para dar el compuesto base en forma de un sólido pegajoso incoloro (0,120 g, 66,6 %). LC-MS m/z 520 [M+H]⁺.

Preparación 53

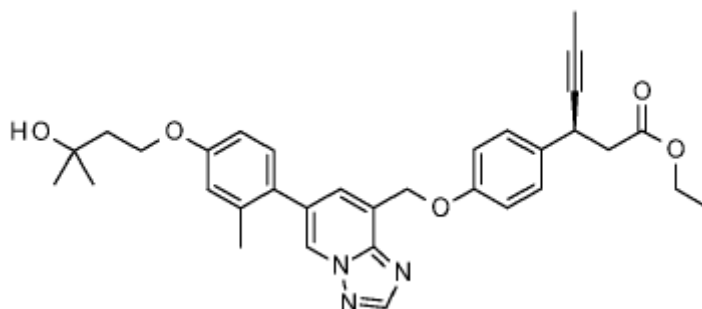
Éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-[4-(3-metanosulfonyl-propoxi)-2-metil-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico



5 Una mezcla de éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-hidroxi-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico (0,15 g, 0,31 mmol), éster 3-metanosulfonil-propílico del ácido tolueno-4-sulfónico (0,28 g, 0,95 mmol) y carbonato de potasio (0,129 g, 0,95 mmol) en acetonitrilo (15 ml) se agita durante la noche a 80°C. La mezcla de reacción se diluye con agua (50 ml) y se extrae con EtOAc (2x30 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución saturada de salmuera (20 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y evaporan a sequedad. El material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con 90 % de EtOAc/hexanos para obtener el compuesto base como un sólido de color blanco crema (0,15 g, 83,3 %). LCMS m/z 590 (M+H)⁺.

10 Preparación 54

Éster etílico del ácido (S)-3-(4-[6-[4-(3-hidroxi-3-metil-butoxi)-2-metil-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil)-hex-4-inoico

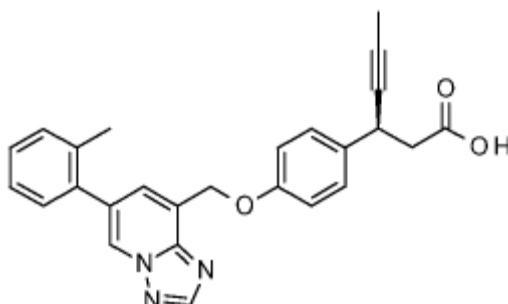


15 Una mezcla de (éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-hidroxi-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico (0,1 g, 0,21 mmol), 4-bromo-2-metil-butan-2-ol (0,106 g, 0,63 mmol) y carbonato de cesio (0,136 g, 0,42 mmol) en acetonitrilo (15 ml) se agita a 80°C, durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluye con agua (20 ml) y se extrae con EtOAc (2x20 ml). La capa orgánica combinada se lava con solución saturada de salmuera (20 ml), se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se evapora a sequedad. El material en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (Combiflash) eluyendo con EtOAc al 70 %/hexanos para obtener el compuesto base como un sólido de color marrón (0,09 g, 81,8 %). LCMS m/z 556 (M+H)⁺.

20

Ejemplo 1

Ácido (S)-3-(4-(6-olil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi)-fenil)-hex-4-inoico



5 A una solución agitada de éster etílico del ácido (S)-3-[4-(6-o-tolil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi)-fenil]-hex-4-inoico (0,11 g, 0,23 mmol) en MeOH (4 ml) se le adiciona solución de hidróxido de sodio 5,0 M (0,23 ml, 1,17 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentra a presión reducida. El residuo obtenido se tritura con éter dietílico (2 x 3 ml), se seca y se diluye con agua (5 ml). La solución acuosa se neutraliza con ácido cítrico (pH ~7). El sólido precipitado se filtra y se seca para dar el compuesto base como un sólido de color blanco (0,061 g, 49,3 %). LCMS m/z 426,2 (M+H)⁺. ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃) δ 12,1 (bs, 1H), 8,90 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,33-7,26 (m, 6H), 7,02 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 5,45 (s, 2H), 3,93 (m, 1H), 2,65 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 2,19 (s, 3H), 1,76 (s, 3H).

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento del ejemplo 1.

10

Tabla 10

Ej. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
2	Ácido (S)-3-[4-[6-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inoico		442
3	Ácido (S)-3-[4-[6-(2-fluoro-6-metil-fenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil] - hex-4-inoico		444

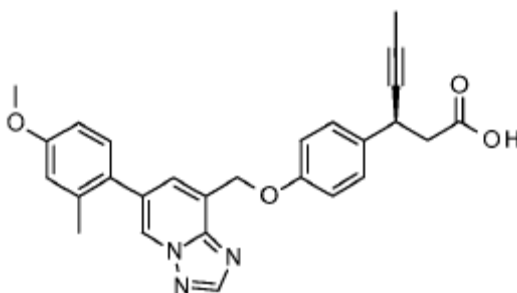
Ejemplo de preparación alternativa 1

15 A una solución agitada de éster etílico del ácido (S)-3-[4-(6-o-tolil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi)-fenil]-hex-4-inoico (458 g, 1,01 mol) en EtOH (9,1 l) se le adiciona una solución de hidróxido de sodio (201,9 g, 5,04 mol) en agua (2 l) durante un período de 20 minutos a 0-10°C. La mezcla de reacción se calienta a 25°C y se agita durante 4 horas. La mezcla se concentra a sequedad, se disuelve en agua (4 l) y se agita durante 1 hora. Se obtiene una solución clara. Se adiciona DCM (4 l) y la mezcla se agita durante 15 minutos. Se produjo una emulsión y la mezcla se concentra a un volumen de aproximadamente 4,5 L. La solución se lava con éter dietílico (3 x 2,5 l). La capa acuosa se aísla y se enfría a 0°C. El pH se ajusta a 4,7 adicionando una solución saturada de ácido cítrico. La mezcla se agita durante 1 hora, se filtra y se lava con agua (4 x 10 l) para dar un sólido de color blanco crema. El material se vuelve a disolver en EtOAc (5 l), se filtra y se concentra para dar el compuesto base (321,6 g, 75 %). LCMS m/z 426,2 (M+H)⁺.

20

Ejemplo 4

Ácido (S)-3-[4-[6-(4-metoxi-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inoico



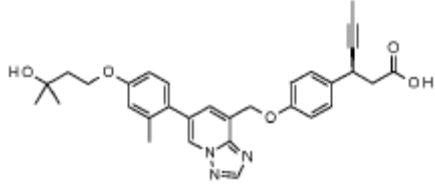
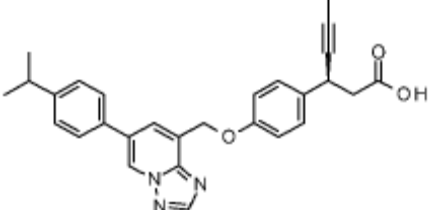
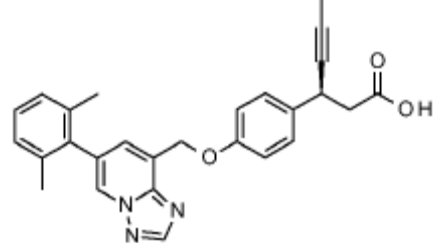
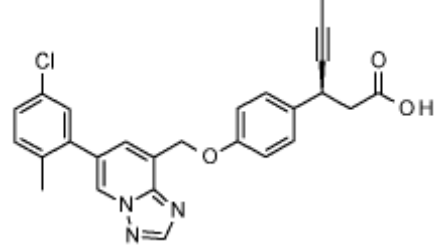
5 A una solución de (éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-metoxi-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico (0,29 g, 0,6 mmol) en EtOH (15 ml) se le adiciona NaOH 5 N (0,3 ml, 1,8 mmol). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se evapora a sequedad, el residuo se lava con pentano, se
 10 seca y se vuelve a disolver en agua (5 ml). La solución se acidifica con una solución saturada de ácido cítrico a aproximadamente pH 5. El sólido precipitado se filtra, se lava con agua y se seca para dar el compuesto base como un sólido de color blanco crema (0,115 g, 42,5 %). LCMS m/z 455 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, DMSO) δ 12,18 (bs, 1H), 8,87 (s, 1H), 8,53 (s, 1H), 7,66 (s, 1H), 7,28-7,23 (m, 3H), 7,01-6,99 (d, J = 5,6 Hz, 2H), 6,87 (s, 1H), 6,86-6,84 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 5,73 (s, 2H), 3,95 (s, 1H), 3,77 (s, 3H), 2,57-2,56 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 2,17 (s, 3H), 1,76 (s, 3H); Pureza por HPLC: 99,43 %.

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento del ejemplo 4.

Tabla 11

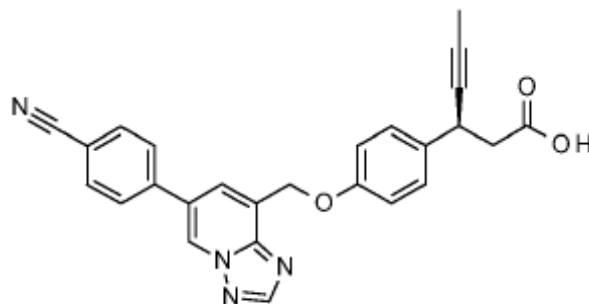
Ej. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
5	Ácido (S)-3-{4-[6-(4-metoxi-2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico		470
6	Ácido (S)-3-{4-[6-(5-metoxi-2-metilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-butírico		460
7	Ácido (S)-3-(4-{4-[6-(4-(3-metanosulfonil-propoxi)-2-metilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico		562

(continuación)

Ej. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
8	Ácido (S)-3-{4-[6-[4-(3-hidroxi-3-metil-butoxi)-2-metilfenil]-1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico		528
9	Ácido (S)-3-{4-[6-(4-isopropil-fenil)-1,2,4]triazolo[1,5-a] piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico		454
11	Ácido (S)-3-{4-[6-(2,6-dimetil-fenil)-1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico		439
12	Ácido (S)-3-{4-[6-(6-metoxi-piridin-3-il)-1,2,4] triazolo[1,5-a] piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico		460

Ejemplo 13

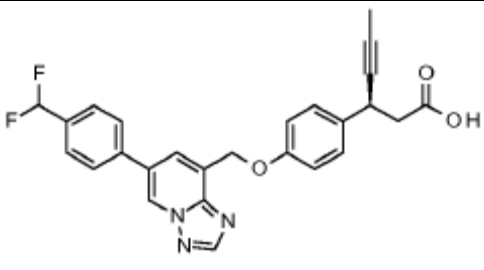
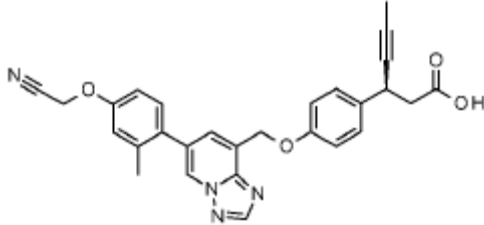
Ácido (S)-3-{4-[6-(4-ciano-fenil)-1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico



5 A una solución agitada de éster etílico del ácido (S)-3-{4-[6-(4-ciano-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico (0,1 g, 0,21 mmol) en dicloroetano (10 ml) se le adiciona hidróxido de trimetilestaño (0,19 g, 1,04 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se somete a reflujo durante la noche. La mezcla se concentra y se purifica por cromatografía en columna de gel de sílice con MeOH al 3 % en DCM para dar el compuesto base como un sólido de color blanco (0,03 g, 32 %). LCMS m/z 437,4 (M+H)⁺; ¹HRMN (400 MHz, d₆-DMSO) δ 12,1 (bs, 1H), 9,46 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,04-7,96 (m, 4H), 7,29 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 7,04 (d, J = 8,8 Hz, 2H), 5,46 (s, 2H), 3,94 (bs, 1H), 2,57 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 1,76 (s, 3H).

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento del ejemplo 13.

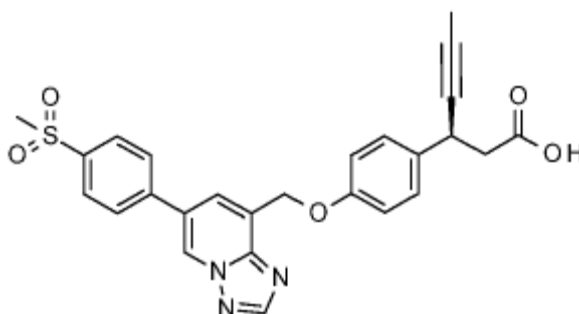
Tabla 12

Ej. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
15	Ácido (S)-3-{4-[6-(4-difluorometil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico		462
16	Ácido (S)-3-{4-[6-(4-cianometoxi-2-metilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico		480

10

Ejemplo 17

Ácido (S)-3-{4-[6-(4-metanosulfonil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-butírico



15 A una solución de éster etílico del ácido 3-{4-[6-(4-metanosulfonil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico (0,07 g, 0,15 mmol) en THF:H₂O (7:3, 5 ml), se le adiciona LiOH 3 M (0,012 ml, 0,2 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agita durante 3 horas. La mezcla se evapora a sequedad y el residuo se lava con pentano, se seca y se vuelve a disolver en agua (5 ml). La solución se acidifica con una solución saturada de ácido cítrico a aproximadamente pH 5. El sólido precipitado se filtra, se lava con agua y se seca para dar el compuesto base como un sólido de color blanco (0,047 g, 70,1 %). LCMS m/z 490 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO) δ 12,2 (bs, 1H), 9,46 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,16 (s, 1H) 8,08 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 8,03 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,29 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,04 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 5,47 (s, 2H), 3,94 (m, 1H), 2,5 (m, 2H), 1,76 (s, 3H); Pureza por HPLC: 95,832 %.

20

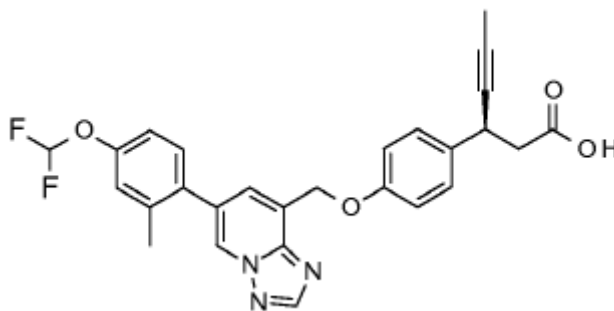
Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento del ejemplo 17.

Tabla 13

Ej. No	Nombre químico	Estructura	ES/MS (m/z) (M+1)
18	Ácido (S)-3-{4-[6-(2-metil-4-sulfamoiil-fenil)-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico		505
19	Ácido (S)-3-(4-[6-[4-(ciano-dimetil-metil)-fenil]-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil)-hex-4-inoico		479

Ejemplo 20

- 5 Ácido (S)-3-{4-[6-(4-difluorometoxi-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico



- 10 A una solución agitada de ácido (S)-3-{4-[6-(4-difluorometoxi-2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi]-fenil}-hex-4-inoico (0,120 g, 0,23 mmol) en tolueno: agua (8:2, 5 ml) se le adiciona hidróxido de litio (0,029 g, 0,69 mmol) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 5 horas. La mezcla de reacción se evapora a presión reducida para dar un sólido y el sólido se lava con n-pentano (3x5 ml), se neutraliza con solución de ácido cítrico (10 ml), y se filtra para dar el compuesto base como un sólido de color blanco crema (0,030 g, 25 %). LCMS m/z 492 (M+H)⁺; ¹H RMN (400 MHz, d₆-DMSO) δ 12,2 (bs, 1H), 8,99 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,45 (s, 1H), 7,39-7,37 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,28-7,26 (m, 2H), 7,17 (s, 1H), 7,12-7,08 (m, 1H), 7,03-6,99 (d, J = 14,4 Hz, 2H), 5,45 (s, 2H), 3,94 (s, 1H), 2,58-2,56 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 2,20 (s, 3H), 1,76-1,76 (s, 3H), 1,22 (s, 2H); Pureza por HPLC: 98,42 %.

- 15 GPR40: Información

- 20 Los resultados de estudios que usan ratones transgénicos que sobreexpresan el gen GPR40 humano bajo el control del promotor de insulina II recientemente informado por Nagasumi respaldan adicionalmente que GPR40 desempeña un papel importante en la regulación de GDIS y niveles de glucosa en plasma in vivo, especialmente en modelos de roedores de resistencia a la insulina. Nagasumi K, et. al., Overexpression of GPR40 in pancreatic β-cells augments glucose-stimulated insulin secretion and improves glucose tolerance in normal and diabetic mice, Diabetes 58: 1067-1076, 2009. Véase también, Briscoe CP et al., The orphan G protein-coupled receptor GPR40 is activated by medium and long chain fatty acids, Journal Biological Chemistry 278: 11303 - 11311, 2003. Estos hallazgos

respaldan adicionalmente que el desarrollo de nuevos compuestos moduladores de GPR40 puede ser particularmente deseado para su uso en el tratamiento de T2D.

Ensayos

Ensayos primarios de flujo de calcio

- 5 Los ejemplos 1 a 20 se prueban esencialmente como se describe a continuación.

Estos ensayos se usan para seleccionar compuestos midiendo el aumento en los niveles de calcio intracelular que se produce cuando un ligando se une y activa GPR40, demostrando de este modo la potencia y eficacia de los agonistas de GPR40. Las células HEK293 que sobreexpresan el ADNc de GPR40 humano mantenidas en medio de Eagle modificado de Dulbecco con medio F12 en relación 3:1 suplementado con 10 % de FBS y 800 µg/ml de geneticina a 37 °C y 5 % de CO₂ se emplean para el estudio. Los ensayos de agonistas se realizan usando un kit de ensayo Calcium 4 Dye (Molecular Devices) en presencia o ausencia de BSA libre de ácidos grasos al 0,1 % en la solución reguladora de ensayo (1 X HBSS (solución salina equilibrada de Hank) & HEPES 20 mM (ácido 4-(2)-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico). La activación del receptor se mide como un aumento en el calcio intracelular utilizando el lector de placas de imágenes fluorométricas (FLIPR). El cambio máximo en la fluorescencia sobre la línea de base se utiliza para determinar la respuesta del agonista. El valor de EC₅₀ del compuesto se calcula utilizando el software Excel Fit (versión 4; IDBS) representando la concentración frente a unidades de fluorescencia relativas (RFU). El porcentaje de eficacia se calcula en función de la respuesta máxima exhibida por el compuesto en comparación con el ligando natural, el ácido linoleico. El compuesto de prueba del ejemplo 1 tiene una EC₅₀ de 146 nM (±15,4, n = 6) y una eficacia del 70,5 % (±0,821, n = 2) cuando se examinan en este ensayo. Estos resultados demuestran además la potencia y eficacia deseadas de este compuesto como un agonista de GPR40. (Media ± SEM; SEM = error estándar de la media). Los ejemplos 1 a 20 muestran un valor de EC₅₀ para el ensayo principal de flujo de calcio inferior a 500 nM, y exhibieron una eficacia de > 35 %.

Ensayos de selectividad

Ensayos funcionales α , δ , y γ del receptor activado por proliferador de peroxisoma (PPAR)

25 Debido a que se sabe que GPR40 se activa mediante ligandos para los compuestos ejemplificados PPAR γ , se examinan en ensayos indicadores de PPAR α Gal4, PPAR δ Gal4 y PPAR γ para determinar la selectividad de compuestos ejemplificados para los receptores de PPAR. Las células CV1, que se derivan del tejido renal de un mono verde africano, se transfectan con diversos plásmidos indicadores y receptores usando Eugene. Para los ensayos de PPAR α Gal4 y PPAR δ , un plásmido informador que contiene cinco copias en tándem del elemento de respuesta Gal4 de la proteína de transcripción de levadura, clonada en dirección 5' de un gen de luciferasa de luciérnaga impulsado por el principal promotor tardío del adenovirus, se transfecta junto con un plásmido dirigido por el virus 40 del simio (SV40) que expresa constitutivamente una proteína híbrida que contiene el dominio de unión a ADN Gal4 (DBD) y, ya sea el dominio de unión al ligando PPAR α o PPAR δ . Para el ensayo de PPAR γ , los plásmidos que codifican PPAR γ y RXR α , ambos dirigidos por un promotor de citomegalovirus (CMV) se transfectan junto con un plásmido que contiene ADNc indicador de luciferasa dirigido por el promotor TK y un elemento de respuesta del receptor (2 X PPRE). Las células se transfectan en matraces de cultivo celular de T225 cm² en medio DMEM con FBS tratado con carbón al 5 % y los plásmidos específicos para el ensayo individual. Después de una incubación durante la noche, las células transfectadas se someten a tripsinización, se siembran en placas opacas de 96 pocillos (15,000 células/pocillo) en medio DMEM que contiene FBS tratado con carbón al 5 %, se incuban durante 4 horas, y se exponen a 0,17 nM a 10 µM de los compuestos de prueba o compuesto de referencia en diluciones semilogarítmicas. Después de 24 horas de incubación con compuestos, las células se lisan y la actividad de la luciferasa se determina como una medida de la activación del receptor por luminiscencia. Los datos se ajustan a un modelo logístico de ajuste de cuatro parámetros para determinar los valores de EC₅₀. El máximo porcentaje de estimulación se determina frente a la estimulación máxima obtenida con 10 µM de un apropiado compuesto de referencia de agonista de PPAR, ácido 2-metil-2-(4-{2-metil -3-[2-(fenilcarbonil)-4-(trifluorometoxi)fenoxi]propoxi}fenoxi)propanoico. La eficacia de <20 % se considera negativa. La eficacia fue negativa para PPAR α , PPAR δ , y PPAR γ se detectó con el compuesto del ejemplo 1 cuando se examinó hasta 10 µM en los ensayos funcionales de cotransfección con PPAR (CTF) específicos descritos anteriormente. De este modo, estos ensayos respaldan que los compuestos ejemplificados son negativos para la eficacia de PPAR, según se desee.

- 50 Afinidad de unión in vitro a GPR40

Los ensayos de unión de competencia de radioligando usando filtración de lavado rápido con un radiomarcador preparado a medida (5 nM [³H] (TAK-875)) y membranas preparadas a partir de células HEK293 que sobreexpresan el constructo GPR40 humano (hGPR40) se analizan para determinar las constantes de disociación de equilibrio (K_i) para compuestos de prueba. Las curvas de competencia se trazan como el porcentaje de inhibición específica frente a la concentración del compuesto y se analizan usando un ajuste de regresión no lineal de cuatro parámetros con pendiente variable. Los valores de K_i se calculan usando la ecuación de Cheng-Prusoff $K_i = IC_{50}/(1+(D/K_d))$, donde

IC₅₀ es la concentración del compuesto que da como resultado 50 % de inhibición de unión, D es la concentración de radioligando utilizada en el ensayo y K_d es la constante de disociación de equilibrio para el receptor y el radioligando, determinada a partir de experimentos de análisis de unión de saturación (K_d para [³H] TAK-875 = 6,2). Véase, Cheng, Y. and Prusoff, W.H. (1973) "Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (IC₅₀) of an enzymatic reaction", *Biochem Pharmacol* 22(23):3099-3108. (Media ± SEM; SEM = error estándar de la media). Para el Ejemplo 1, K_i = 24,6 nM ± 4,51, n = 6. Estos datos demuestran que el compuesto del ejemplo 1 es un ligando de alta afinidad para GPR40 humano.

Ensayo agonista de beta-arrestina humana y de ratón con FBS al 1 % para determinar el reclutamiento de beta-arrestina:

- 10 Las células de riñón embrionario humano (hEK293) -hFFAR1 se adquieren de DiscoverX. Las células de osteosarcoma humano (U2OS) que expresan mFFAR1 están desarrolladas por DiscoverX. Estas células coexpresan GPR40 etiquetado con Prolink (PK) y las proteínas de fusión beta arrestina etiquetadas con el receptor de enzima (EA). Si la activación del GPR40 estimula el reclutamiento de beta-arrestina, forzaría la complementación de los fragmentos de la enzima beta galactosidasa (B-gal), formando una enzima B-gal que genera una señal quimioluminiscente con el kit de detección DiscoverX PathHunter. Las células se incuban durante la noche a 5.000 células/pocillo en placas de 384 pocillos en medio de cultivo que contiene FBS (suero fetal bovino) al 1 %. Los compuestos diluidos en serie en DMSO (diluciones 2x para generar 20 concentraciones) se diluyen en medio de cultivo que contiene FBS (suero fetal bovino) al 1 % y se adicionan a las células con una concentración superior final que comienza en 100 μM. Después de la adición de los compuestos, las células se incuban durante 90 minutos a 37°C en una incubadora de CO₂ al 5 %, y se adicionan los reactivos de detección del kit DiscoverX. La medición de la señal quimioluminiscente se determina con el lector Envision, después de una incubación de 1 hora a temperatura ambiente. Los datos se ajustan a una logística de ajuste de 4 parámetros para determinar los valores de EC₅₀; el % de actividad se mide frente a la respuesta máxima a TAK875 a 1 μM. Para b-arrestina de hGPR40, el ejemplo 1 tiene una EC₅₀ de 47,4 nM (± 14,4, n = 4) con un % de estimulación máxima (FA) de 163 (± 11,3, n = 4) y b-arrestina de mGPR40 de 4,02 nM (± 1,97, n = 5) con un % de estimulación máxima (FA) de 160 (± 7,71, n = 5). (Media de ± SEM; SEM = error estándar de la media). Estos datos indican que el compuesto del ejemplo 1 es un agonista de GPR40 que puede señalizar a través de la ruta de beta arrestina.

Prueba aguda de tolerancia oral a la glucosa (OGTT) en ratas Zucker fa/fa

- 30 Las OGTT se realizan en ratas fa/fa Zucker, un modelo en roedores de resistencia a la insulina, después de 1 y 21 días de material administrado por vía oral a 1,0, 3,0 y 10 mg/kg. TAK875 a 1 mg/kg sirvió como control positivo. Las OGTT se realizan una hora después de la administración del compuesto con muestras de sangre tomadas para determinar los niveles de glucosa e insulina a los 10, 20, 40, 60 y 120 minutos después de la administración de glucosa. Las AUC para la disminución de la glucosa fueron estadísticamente significativas (p < 0,05) para todas las dosis del compuesto del ejemplo 1 probado (1, 3 y 10 mg/kg) y con el control positivo. Las AUC de insulina demostraron una elevación dependiente de la dosis durante las OGTT; aunque, estos valores no fueron estadísticamente significativos. La ED₉₀ para reducir la glucosa es de 3,3 mg/kg. Estos hallazgos demuestran que la actividad reductora de la glucosa se observa en ratas fa/fa de Zucker después de la administración oral con el ejemplo 1.

Eficacia in vivo: prueba de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (IPGTT)

- 40 Para examinar la capacidad de los ejemplos 1 a 20 para activar GPR40 in vivo dando como resultado la eficacia deseada de reducción de glucosa, esto es, reducción en los niveles de glucosa en plasma, se completa un estudio de prueba de tolerancia a glucosa intraperitoneal (ipGTT), y se muestran los datos para el compuesto probado a continuación.

- 45 Los ratones Balb/c (ratones Albino) machos (8-9 semanas de edad) se alojan solos, y se alimentan con dieta de comida normal para roedores y agua ad libitum. Los animales son pesados; aleatorizados por peso corporal; y se registran sus pesos corporales diarios. Los animales se dosifican diariamente usando una formulación que lleva metilcelulosa y tween-80. La noche antes del estudio, los animales guardan ayuno. Por la mañana, los animales se dosifican por vía oral con compuesto o vehículo solo 60 minutos antes de la prueba de tolerancia a la glucosa (glucosa 2 g/kg, i.p.). Los niveles de glucosa en sangre se determinan a partir del sangrado de la cola tomado a los 0, 3, 7, 15, 30 y 60 minutos después de la prueba de glucosa. El perfil de excursión de glucosa en sangre de t = 0 a t = 60 min se usa para integrar un área bajo la curva (AUC) para cada tratamiento. El descenso en porcentaje en glucosa se calcula a partir de los datos de AUC del compuesto con respecto a la AUC del grupo vehículo. El compuesto de prueba se administra por vía oral a 0,3, 1,0, 3,0, 10, 30 o 100 mg/kg, y un control positivo (ácido 3-[4-(2-metil-benciloxi)-fenil]-hex-4-inoico, véase el documento WO2005086661 (TAK875) se administra a 10 mg/kg. Los niveles de glucosa se reducen significativamente en comparación con los logrados con el control del vehículo en los puntos de tiempo de 30 y 60 minutos con las dosis de 10, 30, y 100 mg/kg del ejemplo 1. Los niveles de glucosa se reducen a los puntos de tiempo de 30 y 60 minutos para el control positivo. La ED₅₀ para este compuesto basada en

AUC para reducir la glucosa es 7,9 mg/kg. Los resultados de este estudio demuestran que la activación de GPR40 por el ejemplo 1 conduce a una eficacia antidiabética in vivo.

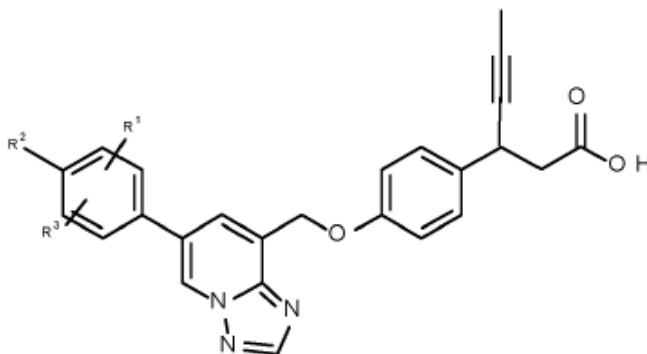
5 Los compuestos ejemplificados de la presente invención se pueden formular fácilmente en composiciones farmacéuticas de acuerdo con prácticas aceptadas conocidas en la técnica tales como las encontradas en Remington's "Pharmaceutical Sciences", Gennaro, Ed., Mack Publishing Co. Easton Pa. 1990, tales como comprimidos, cápsulas rellenas de gel o sólido, polvos, suspensiones o soluciones. La composición también puede incluir uno o más portadores, excipientes y diluyentes farmacéuticamente aceptables.

10 Las composiciones farmacéuticas preferidas se formulan como un comprimido o cápsula para administración oral. El comprimido o cápsula puede incluir un compuesto de la presente invención en una cantidad eficaz para tratar diabetes, particularmente la diabetes tipo 2. El experto apreciará que un compuesto de fórmula I se pueda administrar con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Se puede preferir que las composiciones farmacéuticas se formulen para incluir un compuesto de fórmula I y uno o más agentes terapéuticos adicionales. Un agente terapéutico adicional es, por ejemplo, metformina.

15 La composición farmacéutica se administra a un paciente en cantidades eficaces para tratar la diabetes, más particularmente, la diabetes tipo 2. Como se usa en este documento, "cantidad eficaz" significa una cantidad o dosis apropiada eficaz para tratar a un paciente según lo determine un proveedor de atención médica. Generalmente, una dosis apropiada contendrá más de aproximadamente 1 ng/kg a menos de aproximadamente 100 mg/kg de un compuesto de la presente invención.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



en la que

5 R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, CN, -CH₂CN, -C(CH₃)₂CN, F, Cl, y Br;

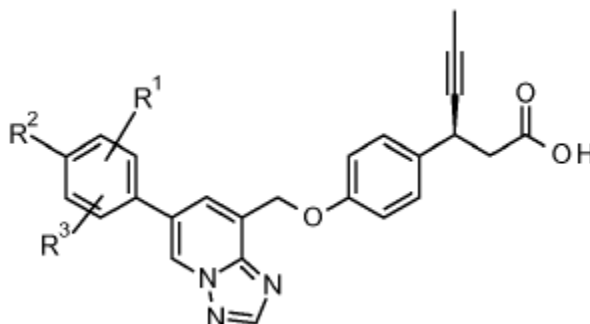
R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquileo C₁-C₃)R⁴, -CH₂CN, CN, -OCH₃, CF₂, -C(CH₃)₂CN, -C(CH₃)₂, -S(O)₂CH₃, -S(O)₂NH₂, y -OCF₂;

R³ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, y -OCH₃; y

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -C(CH₃)₂CN, -OCH₃, -S(O)₂CH₃, CN, y -C(CH₃)₂OH;

10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto es:



en la que

R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, CN, -CH₂CN, -C(CH₃)₂CN, F, Cl, y Br;

15 R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquileo C₁-C₃)R⁴, -CH₂CN, CN, -OCH₃, CF₂, -C(CH₃)₂CN, -C(CH₃)₂, -S(O)₂CH₃, -S(O)₂NH₂, y -OCF₂;

R³ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, y -OCH₃; y

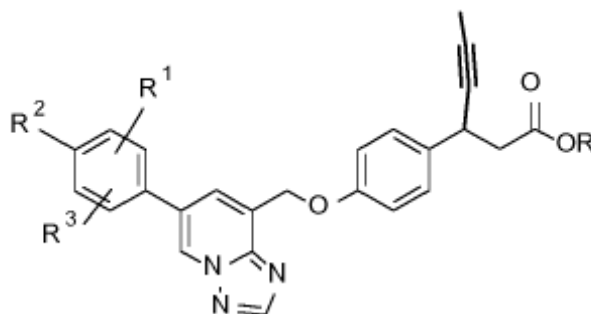
R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -C(CH₃)₂CN, -OCH₃, -S(O)₂CH₃, CN, y -C(CH₃)₂OH;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 3. Un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 en el que R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, F, y Cl.

4. Un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en el que R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquileo C₁-C₃)R⁴, -OCH₃, -OCF₂, y -C(CH₃)₂.

5. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 en el que R³ se selecciona del grupo que consiste en H y CH₃.
6. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el que R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -S(O)₂CH₃, -C(CH₃)₂OH, y -OCH₃.
- 5 7. Un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 en el que R¹ se selecciona del grupo que consiste en H y CH₃.
8. Un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 en el que R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquileo C₁-C₃)R⁴, y C(CH₃)₂.
- 10 9. Un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 en el que R¹ es CH₃, R² es H, y R³ es H.
10. Un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 9, que es el ácido (S)-3-[4-(6-o-tolil-[1,2,4] triazolo[1,5-a]piridin-8-ilmetoxi)-fenil]-hex-4-inoico.
11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y al menos un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 15 12. Un compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para su uso en terapia.
13. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para su uso en el tratamiento de la diabetes tipo 2.
- 20 14. Un compuesto intermedio que es



en la que

R se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo C₃₋₆, fenilo, y alquilo C₁₋₅-fenilo;

- 25 R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, CN, -CH₂CN, -C(CH₃)₂CN, F, Cl, y Br;

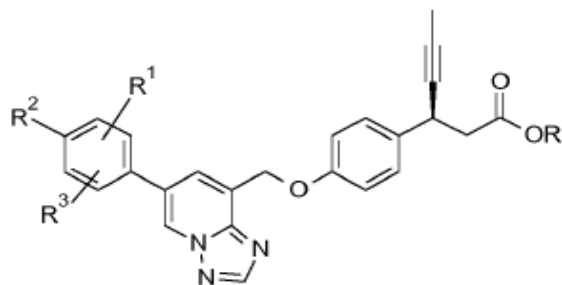
R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquileo C₁-C₃)R⁴, -CH₂CN, CN, -OCH₃, CF₂, -C(CH₃)₂CN, -C(CH₃)₂, -S(O)₂CH₃, -S(O)₂NH₂, y -OCF₂;

R³ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, y -OCH₃; y

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -C(CH₃)₂CN, -OCH₃, -S(O)₂CH₃, CN, y -C(CH₃)₂OH;

- 30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15. Un compuesto intermedio según la reivindicación 14, en el que el compuesto está de acuerdo con la fórmula II



II

en la que

R se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo C₃₋₆, fenilo, y alquilo C₁₋₅-fenilo;

5 R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, CN, -CH₂CN, -C(CH₃)₂CN, F, Cl, y Br;

R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquilenos C₁₋₃)R⁴, -CH₂CN, CN, -OCH₃, CF₂, -C(CH₃)₂CN, -C(CH₃)₂, -S(O)₂CH₃, -S(O)₂NH₂, y -OCF₂;

R³ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, y -OCH₃; y

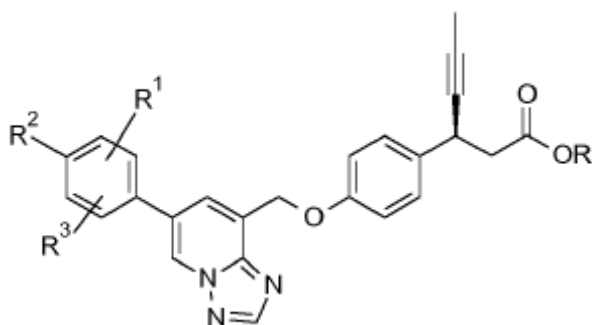
R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -C(CH₃)₂CN, -OCH₃, -S(O)₂CH₃, CN, y -C(CH₃)₂OH;

10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

16. Un compuesto intermedio según una cualquiera de las reivindicaciones 14 o 15, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R¹ es CH₃, R² es H, y R³ es H.

17. Un compuesto intermedio o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16 en el que R se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, fenilo, y bencilo.

15 18. Un procedimiento de preparación de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 10, comprendiendo dicho procedimiento la desesterificación de un compuesto de la fórmula II;



II

en la que

R¹ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, CN, -CH₂CN, -C(CH₃)₂CN, F, Cl, y Br;

20 R² se selecciona del grupo que consiste en H, -O(alquilenos C₁₋₃)R⁴, -CH₂CN, CN, -OCH₃, CF₂, -C(CH₃)₂CN, -C(CH₃)₂, -S(O)₂CH₃, -S(O)₂NH₂, y -OCF₂;

R³ se selecciona del grupo que consiste en H, CH₃, y -OCH₃;

R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H, -C(CH₃)₂CN, -OCH₃, -S(O)₂CH₃, CN, y -C(CH₃)₂OH; y

25 R se selecciona del grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo C₃₋₆, fenilo, y alquilo C₁₋₅-fenilo.