

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 653 522**

51 Int. Cl.:

C07D 249/18 (2006.01)

A61K 31/4196 (2006.01)

A61P 5/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.12.2014 PCT/US2014/068487**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.06.2015 WO15088868**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2014 E 14816539 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.10.2017 EP 3080093**

54 Título: **Un novedoso compuesto de triazolo-piridina**

30 Prioridad:

13.12.2013 US 201361915774 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

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 653 522 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

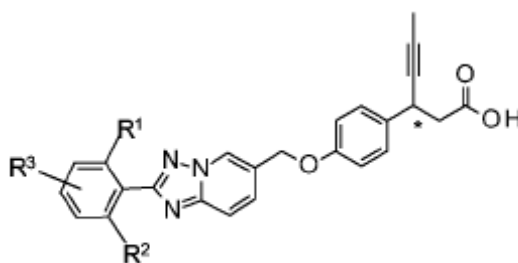
Un novedoso compuesto de triazolo-piridina

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

Se ha informado de que el GPR-40, conocido también como receptor de ácido graso libre 1 (FFA1 o FFAR1), se expresa predominantemente a niveles elevados en células beta pancreáticas de roedor, líneas celulares de insulinoma e islotes humanos. La modulación de glucosa en la secreción de insulina es una característica importante de la activación de GPR-40. Los compuestos que efectúan la activación de GPR-40 están asociados con la estimulación de la secreción de insulina en un paciente con diabetes tipo II (T2D). Los compuestos que son activadores de GPR-40 se desean para su uso en el tratamiento de afecciones mediadas por GPR-40.

El documento WO2004/041266 divulga reguladores de la función del receptor GPR-40 que comprenden un compuesto que tiene un anillo aromático y un grupo capaz de liberar un catión.

La presente invención proporciona compuestos de la Fórmula la siguiente:



Ia

en la que

R¹ se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃;

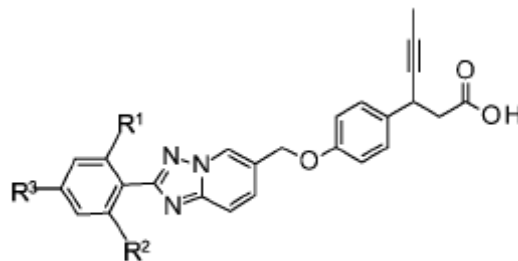
R² se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃;

R³ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₃, O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃, O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH, CN y OCF₂;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Un compuesto de la presente invención tiene un carbono quiral identificado en la estructura anterior con un asterisco (*). Un compuesto preferente tiene la configuración mostrada en la Fórmula I, dada a continuación, que por convención se conoce como la configuración S.

La presente invención proporciona compuestos de la Fórmula Ib siguiente:



Ib

en la que

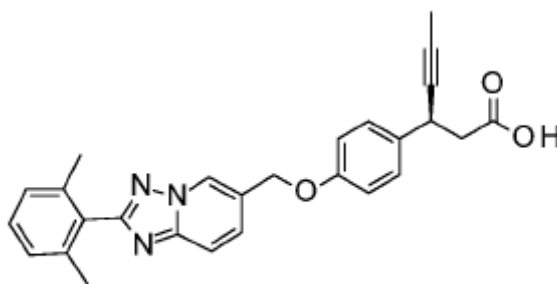
R¹ se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃;

R² se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃;

R³ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₃, O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃, O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH, CN y OCF₂;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

5 La presente invención proporciona un compuesto de la Fórmula I dada a continuación:



I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 En una realización, el compuesto de Fórmula I es la Forma I cristalina anhidra.

En una realización, el compuesto de Fórmula I es la Forma II cristalina anhidra.

En una realización, R¹ es H; R² es CH₃; y R³ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₃ y CN. En otra realización, R¹ es H; R² es H; y R³ es H. En otra realización, R¹ es H; R² es H; y R³ se selecciona de entre el grupo que consiste en O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃, O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH, CN y OCF₂. En otra realización, R¹ es CH₃; R² es CH₃; y R³ es alquilo C₃. R¹ es H; R² es H; y R³ es O(CH₂)₃SO₂CH₃. En otra realización, R¹ es CH₃; R² es CH₃; y R³ es H. En otra realización, R¹ es H; R² es CH₃; y R³ se selecciona de entre el grupo que consiste en O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃ y O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH.

La presente invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I tal como se ha descrito anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

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

La presente invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula la tal como se ha descrito anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

La presente invención proporciona también una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula la tal como se ha descrito anteriormente o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente en combinación con uno o más agentes terapéuticos. Los agentes terapéuticos adicionales incluyen, por ejemplo, metformina y/o Januvia. En una realización de la invención, el agente terapéutico adicional es metformina. En una realización de la invención, el agente terapéutico adicional es Januvia.

La presente invención describe un procedimiento para tratar una afección modulada por la actividad de GPR-40. La presente invención describe también un procedimiento para tratar diabetes en un mamífero. El procedimiento comprende administrar al mamífero que necesita tratamiento, una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. El procedimiento comprende administrar al mamífero que necesita tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula la, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Más preferentemente, la presente invención divulga un procedimiento para tratar diabetes tipo 2 en un mamífero que necesita tratamiento que comprende administrar al mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula

I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Más preferentemente, la presente invención divulga un procedimiento para tratar la diabetes de tipo 2 en un mamífero que necesita tratamiento que comprende administrar al mamífero una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Preferentemente, el mamífero es un ser humano.

5 La presente invención proporciona un compuesto según la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se ha descrito anteriormente para su uso en terapia.

La presente invención proporciona un compuesto según la Fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo tal como se ha descrito anteriormente para su uso en terapia.

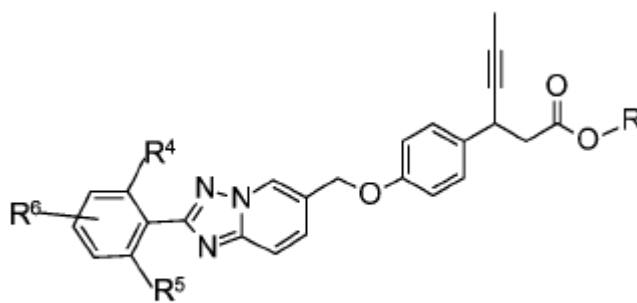
10 En otra forma más, la presente invención proporciona un compuesto tal como se ha descrito anteriormente según la Fórmula I, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la diabetes. En todavía otra forma, la presente invención proporciona un compuesto tal como se ha descrito anteriormente según la Fórmula Ia, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de la diabetes. En otra realización, un compuesto tal como se ha descrito anteriormente según la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es para el tratamiento de la diabetes tipo 2. En otra realización, la composición farmacéutica es para el tratamiento de la diabetes tipo 2.

La presente invención proporciona el uso de un compuesto según la Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes. Preferentemente, el medicamento es para el tratamiento de la diabetes tipo dos.

20 La presente invención proporciona el uso de un compuesto según la Fórmula Ia, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes. Preferentemente, el medicamento es para el tratamiento de la diabetes tipo dos.

En otra forma más, la presente invención proporciona un compuesto intermedio de la Fórmula IIa

25



30

IIa

en la que

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

35 R⁴ se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃;

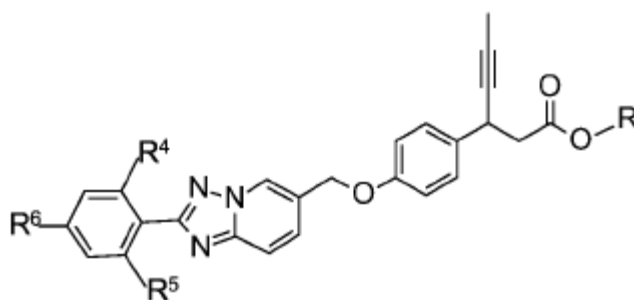
R⁵ se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃; y

R⁶ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₃, O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃, O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH, CN y OCF₂;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 En otra forma más, la presente invención proporciona un compuesto intermedio de la Fórmula IIb

5



IIb

en la que

10

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

R⁴ se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃;

R⁵ se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃; y

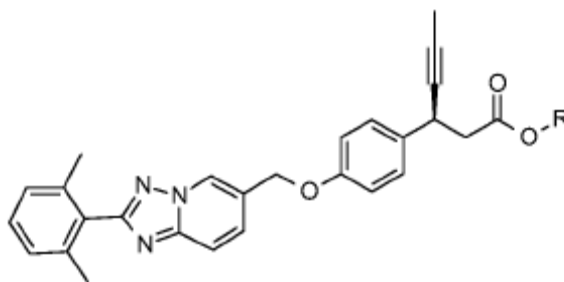
R⁶ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₃, O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃, O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH, CN y OCF₂;

15

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra forma más, la presente invención proporciona un compuesto intermedio de la Fórmula II

20



II

25

en la que R se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, alquilo C₁₋₄-cicloalquilo C₃₋₆, fenilo y alquilfenilo C₁₋₅, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Los grupos R preferentes se seleccionan de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₂, fenilo y alquilfenilo C₁₋₂. Los grupos R particularmente preferentes se seleccionan de entre el grupo que consiste en metilo, etilo, fenilo y bencilo. Los grupos R particularmente preferentes se seleccionan de entre el grupo que consiste en metilo y etilo.

30

En una realización, R es alquilo C₁₋₄; R⁴ es H; R⁵ es CH₃; y R⁶ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₃ y CN. En una realización, R se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₄ y haloalquilo C₁₋₄; R⁴ es H; R⁵ es CH₃; y R⁶ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₃ y CN. En otra realización, R se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄; R⁴ es H; R⁵ es H; y R⁶ es H. En otra realización, R se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₂, fenilo y alquilfenilo C₁₋₂; R⁴ es H; R⁵ es H; y R⁶ se selecciona de entre el grupo que consiste en O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃, O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH, CN y OCF₂. En otra realización, R se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₂, fenilo y alquilfenilo C₁₋₂; R⁴ es CH₃; R⁵ es CH₃; y R⁶ es alquilo C₃. En otra realización, R se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₄; R⁴ es CH₃; R⁵ es CH₃; y R⁶ es H. En otra realización, R se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₂, fenilo y alquilfenilo C₁₋₂; R⁴ es H; R⁵ es CH₃; y R⁶ se selecciona de entre el grupo que consiste en O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃ y O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH.

40

La presente invención proporciona también un procedimiento de preparación de ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-ínicico descrito anteriormente para la Fórmula I. El procedimiento

comprende desproteger o desesterificar el compuesto intermedio según la Fórmula II para preparar el compuesto de Fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 La presente invención proporciona también un procedimiento de preparación de un compuesto descrito anteriormente como Fórmula Ia. El procedimiento comprende desproteger o desesterificar el compuesto intermedio según la Fórmula IIa para preparar el compuesto de Fórmula Ia o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Un experto en la técnica entenderá fácilmente y podrá implementar reacciones de desprotección sin excesiva experimentación. Los expertos en la técnica reconocerán que, además del ácido carboxílico y del ácido carboxílico protegido, pueden usarse otros grupos funcionales que pueden convertirse fácilmente en un ácido carboxílico en lugar del ácido carboxílico o el ácido protegido. Dichos grupos funcionales, preparaciones y transformaciones de estos grupos a ácidos carboxílicos pueden encontrarse en "Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Preparations" por Larock, R.C, Wiley VCH, 1999 y en "March's Advanced Organic Chemistry, Reactions, Mechanisms and Structure" Smith, M.B., y March, J., Wiley-Interscience, 6ª edición, 2007.

15 La Figura 1, ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico, Forma II y la Figura 2, ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina -6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico, Forma I, son espectrogramas del patrón de XRD representativo para ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico. Los espectrogramas de XRD se obtienen tal como se describe en el Ejemplo 1.

20 Los compuestos de la presente invención pueden proporcionarse como una sal farmacéuticamente aceptable. "Sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales del compuesto de la invención consideradas aceptables 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.

25 La expresión "vehículo, diluyente o excipientes farmacéuticamente aceptables" significa que el vehículo, el diluyente y los excipientes son farmacéuticamente compatibles con los otros ingredientes de la composición.

30 Los isómeros, enantiómeros o diastereómeros individuales pueden separarse en cualquier punto conveniente en la síntesis del compuesto de Fórmula I o la o Ib mediante procedimientos tales como cromatografía quiral. Además, los compuestos intermedios descritos en los siguientes Esquemas y preparaciones contienen una serie de 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 a realizar. Las condiciones de protección y de desprotección son bien conocidas por los expertos en la materia y se describen en la literatura. Véase, por ejemplo, Greene y Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, (T. Greene y P. Wuts, eds., 2ª ed. 1991).

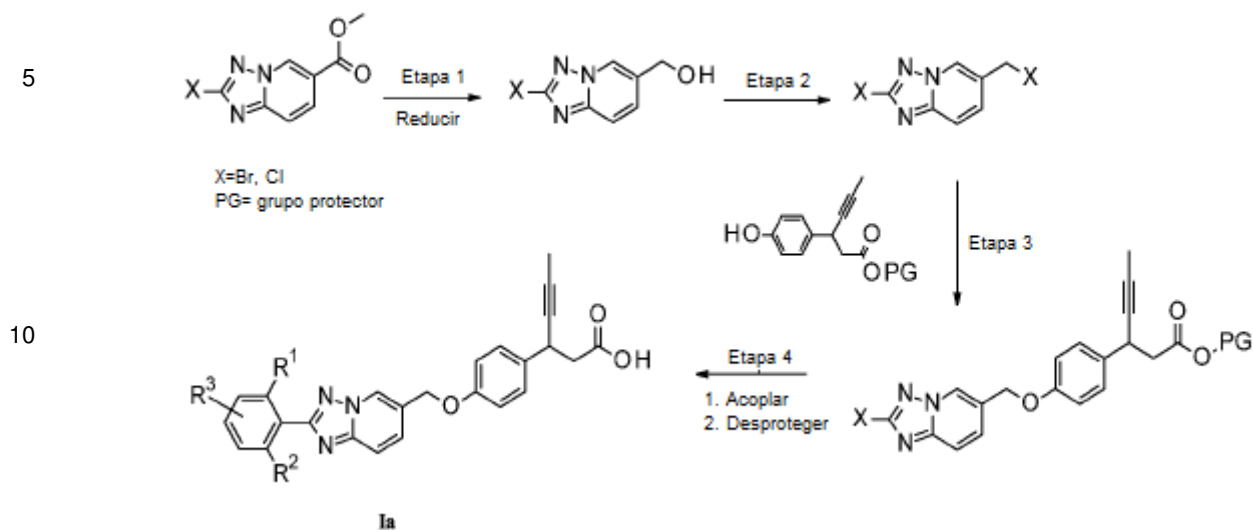
35 Las abreviaturas usadas en la presente memoria se definen según Aldrichimica Acta, vol. 17, Nº 1, 1984. Otras abreviaturas se definen de la siguiente manera: "BSA" se refiere a albúmina de suero bovino; "DCM" se refiere a diclorometano; "DIBAL-H" se refiere a hidruro de diisobutilaluminio; "DIPEA" se refiere a diisopropiletilamina; "DMEM" se refiere al Medio de Eagle Modificado de Dulbecco; "DMF" se refiere a dimetilformamida; "DTT" se refiere a ditioneitol; "EC₅₀" se refiere a la concentración efectiva 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; "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; "i.p." se refiere a inyección intraperitoneal; "MCPBA" se refiere a ácido m-cloroperbenzoico; "PPAR" se refiere a receptor activado por proliferador de peroxisoma; "PPRE" se refiere al elemento de respuesta del proliferador de peroxisoma; "PPh₃" se refiere a trifenilfosfato; "RFU" se refiere a unidad de fluorescencia relativa; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; "TK" se refiere a timidina quinasa; "TAK875" se refiere al compuesto de Takeda, (ácido 3-[4-(2-metil-benciloxi)-fenil]-hex-4-inico), conocido como fasiglifam y "XRD" se refiere a la difracción de rayos X en polvo.

50 El término alquilo, tal como se usa en la presente memoria, 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 alquilo. Si hay dos o más halógenos, no es necesario que los halógenos estén unidos al mismo carbono. Este término incluye también perhalo alquilos en los que todos los átomos de hidrógeno del grupo alquilo se reemplazan por un halógeno.

55 En las preparaciones y los esquemas siguientes, todos los sustituyentes, a menos que se indique lo contrario, son tal como se han definido anteriormente. Los reactivos y los materiales de partida están generalmente fácilmente disponibles para un experto en la técnica. Otros pueden prepararse mediante técnicas estándar de química orgánica y heterocíclica que son análogas a las síntesis de compuestos estructuralmente similares conocidos y los

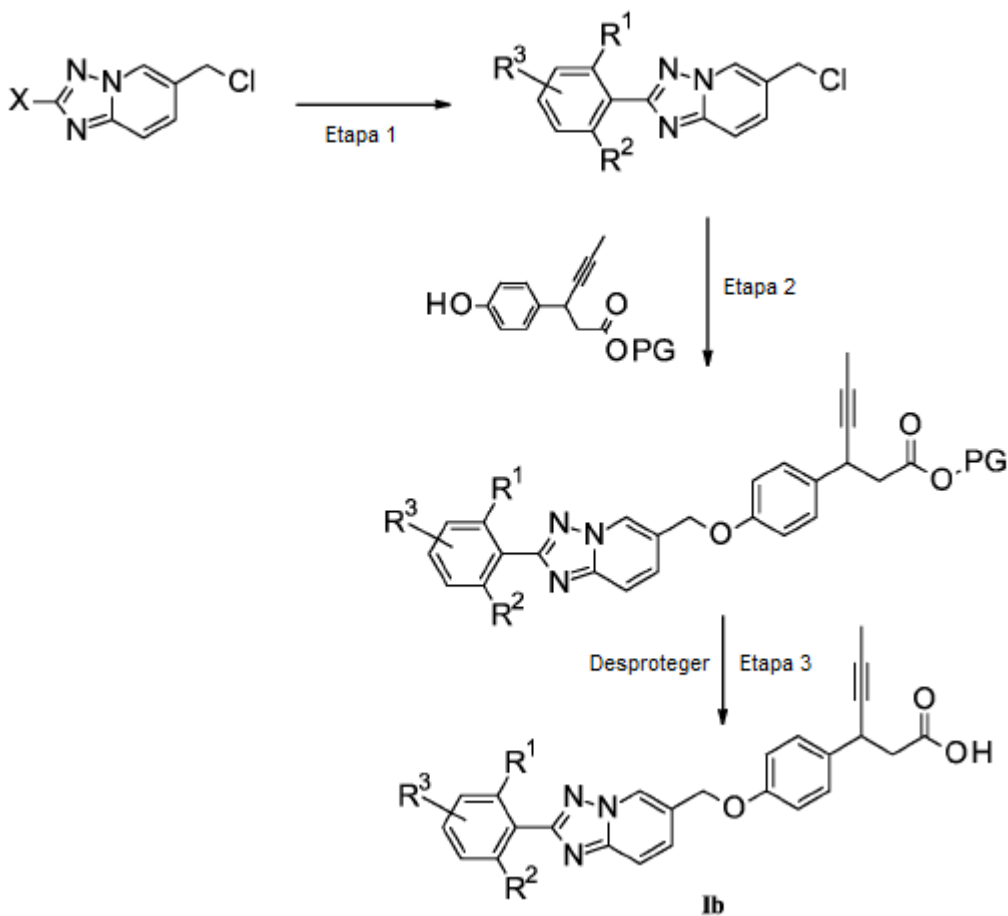
procedimientos descritos en las Preparaciones y los Ejemplos siguientes, que incluyen cualquier procedimiento novedoso.

Esquema 1



Un producto de la Fórmula Ib puede prepararse según las reacciones representadas en el Esquema I. El Esquema 1 muestra las reacciones de un halógeno, intermedio [1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-ilo 6-sustituido que conducen a compuestos de Fórmula Ib. El carboxilato del [1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-2-ilo 6-sustituido puede reducirse al hidroxilo bajo condiciones de reducción estándar usando un agente reductor tal como un exceso de DIBAL-H a una temperatura de -78°C en un disolvente aprótico polar tal como DCM para proporcionar el producto de la Etapa 1, Esquema 1. Una persona experta en la técnica entenderá que hay otros agentes reductores tales como borohidruro sódico e hidruro de litio y aluminio que podrían usarse también para reducir un carboxilato de metilo al producto compuesto hidroxilo de la Etapa 1. El producto hidroxilo de la Etapa 1 puede convertirse en un halógeno tal como cloro usando agentes de cloración tales como SOCl_2 o POCl_3 para proporcionar el producto de la Etapa 2. De manera alternativa, el hidroxilo puede desplazarse con bromo usando un agente de bromación tal como PBr_3 en un disolvente aprótico polar tal como DCM a una temperatura de aproximadamente -40°C para proporcionar el producto de la Etapa 2. El producto de la Etapa 2 puede alquilarse con el fenol sustituido bajo condiciones de alquilación comunes usando una base inorgánica tal como carbonato de cesio o carbonato de potasio en un disolvente aprótico polar tal como DMF o acetonitrilo para proporcionar el producto de la Etapa 3. El producto halógeno de la Etapa 3 puede acoplarse en la sub-Etapa 1, Etapa 4 con un ácido borónico apropiado bajo las condiciones de acoplamiento cruzado de Suzuki-Miyaura. El experto en la materia reconocerá que hay diversas condiciones útiles para facilitar dichas reacciones de acoplamiento cruzado. Por consiguiente, un reactivo de paladio adecuado incluye cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II), tris(dibencilidenedetona)dipaladio (0) con triciclohexilfosfina, cloruro de (1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno)paladio (II), tetrakis(trifenilfosfina) de paladio o acetato de paladio (II). Una base adecuada incluye carbonato de cesio, carbonato de sodio, carbonato de potasio o monohidrato tribásico de fosfato de potasio usando un disolvente no polar tal como 1,4-dioxano o tolueno y EtOH para proporcionar compuestos de la Etapa 4 que pueden desprotegerse en la sub-Etapa 2, Etapa 4 bajo condiciones básicas usando NaOH , LiOH o trimetilsilanotato de potasio a temperatura ambiente o con calentamiento para proporcionar compuestos de Fórmula Ib. "PG" es un grupo protector desarrollado para un ácido tal como ésteres. Dichos grupos protectores son bien conocidos y apreciados en la técnica. Véase, por ejemplo, Greene y Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis. Los productos fenólicos de la Etapa 4, sub-Etapa 1 pueden alquilarse además en condiciones bien conocidas en la técnica usando una base inorgánica tal como carbonato de cesio en un disolvente aprótico polar tal como acetonitrilo para proporcionar, después de la desprotección, compuestos de Fórmula Ib.

Esquema 2



De manera alternativa, en el Esquema 2, el producto de la Etapa 2, Esquema 1 puede acoplarse bajo condiciones de acoplamiento cruzado de Suzuki-Miyaura, tal como se ha descrito en la sub-Etapa 1, Etapa 4, Esquema 1 para proporcionar el producto de la Etapa 1, Esquema 2. El producto de la Etapa 1, Esquema 2, puede hacerse reaccionar a continuación con el reactivo de fenol de la Etapa 2, Esquema 2, tal como se ha descrito en la Etapa 3, Esquema 1, para proporcionar el producto de la Etapa 2, Esquema 2. El producto de la Etapa 2, Esquema 2, puede desprotegerse tal como se ha descrito en la sub-Etapa 2, Etapa 4, Esquema 1, para proporcionar productos de la Fórmula Ib.

25

En una etapa opcional, puede formarse una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de Fórmula (I) mediante la reacción de un ácido apropiado de Fórmula (I) con una base farmacéuticamente aceptable apropiada en un disolvente adecuado bajo condiciones estándar. Además, la formación de dichas sales puede ocurrir simultáneamente tras la hidrólisis de un éster. La formación de dichas sales es bien conocida y apreciada en la técnica.

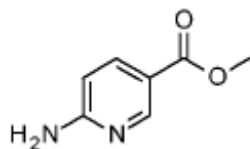
30

Las preparaciones y los ejemplos siguientes ilustran además la invención y representan una síntesis típica del compuesto de Fórmula (I). A menos que se indique lo contrario, los compuestos ilustrados en la presente memoria se nombran y se numeran usando Accelrys Draw 4.1, IUPACNAME ACDLABS.

35

Preparación 1

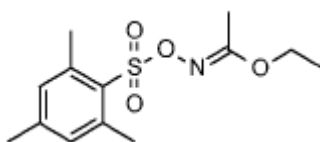
6-aminopiridin-3-carboxilato de metilo



A una solución de ácido 6-aminopiridin-3-carboxílico (30 g, 217,1 mmol) en metanol (30 ml) se añade H₂SO₄ (30 ml a 0°C) y la mezcla de reacción se calienta a 80°C durante 16 horas. La mezcla de reacción se evapora y el residuo se neutraliza con una solución acuosa de NaHCO₃ (50 ml), el sólido precipitado se filtra y se seca para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo pálido (24 g, 72%). LCMS m/z 153 (M+H)⁺.

5 Preparación 2

(1E)-N-(2,4,6-trimetilfenil)sulfoniloxietanimidato de etilo



10

A una solución de (1E)-N-hidroxietanimidato de etilo (8,4 g, 81,5 mmol) en DMF (20 ml) se añade trietilamina (12 ml, 86,24 mmol) y la mezcla se agita durante 20 minutos. Se añade cloruro de 2,4,6-trimetilbenceno-1-sulfonilo (20 g, 81,5 mmol) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se inactiva con agua (100 ml) y se extrae con EtOAc (3 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se evaporan hasta la sequedad para dar el compuesto del título como un sólido de color blanco (15 g, 64%). El material bruto se usa sin purificación adicional.

15

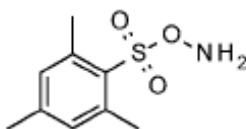
Preparación alternativa 2

A una solución de (1E)-N-hidroxietanimidato de etilo (250 g, 2,42 mol) en DMF (2,5 l) se añade trietilamina (490,6 g, 4,85 mol) y la mezcla se agita durante 20 minutos. La mezcla de reacción se enfría a 10°C-15°C y se añade cloruro de 2,4,6-trimetilbenceno-1-sulfonilo (529,5 g, 2,42 mol) en porciones durante un período de 30 minutos y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se inactiva con agua (3,5 l) y se extrae con EtOAc (2 x 4 l). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (4 x 3 l), solución salina (3 l), se secan sobre sulfato de sodio y se evaporan para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (435 g, 63%). LCMS m/z 285,1 (M+H)⁺.

20

25 Preparación 3

2,4,6-trimetilbencenosulfonato de amino



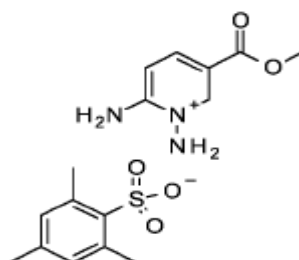
30

A una solución de (1E)-N-(2,4,6-trimetilfenil)sulfoniloxietanimidato de etilo (14 g, 49,12 mmol) en 1,4 dioxano (25 ml) se añade HClO₄ (70 ml, 70% en agua) a 0°C y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae con DCM (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de sodio y se filtran. El material bruto se usa sin purificación adicional (10 g, rendimiento teórico).

35

Preparación 4

1,6-diaminopiridin-1-ium-3-carboxilato de metilo; 2,4,6-trimetilbencenosulfonato



40

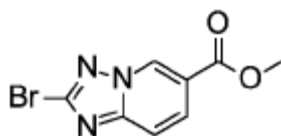
5 A una solución agitada de 2,4,6-trimetilbencenosulfonato de amino (10 g, 45,71 mmol) en DCM (100 ml) se añade 6-aminopiridin-3-carboxilato de metilo (5,55 g, 56,56 mmol). Después de 10 minutos, se añade trietilamina (19,11 ml, 137,13 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfría a 0°C y se añade éter dietílico. El sólido precipitado se filtra y se seca en vacío para dar el compuesto del título como un sólido de color blanco (6,8 g, 41%). ¹HNMR (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 8,95 (bs, 2H), 8,63 (s, 1H), 8,11 (d, J = 9,6 Hz, 1H), 7,09 (d, J = 9,6 Hz, 1H) 6,89 (s, 2H), 6,73 (s, 2H), 3,85 (s, 3H), 2,48 (s, 6H), 2,16 (s, 1H).

Preparación alternativa 4

10 A una solución agitada de 2,4,6-trimetilbencenosulfonato de amino (618 g, 2,87 mol) en DCM (8,5 l) se añade 6-aminopiridin-3-carboxilato de metilo (437,3 g, 2,87 mmol) a 10°C-15°C y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfría a 0°C, se agita durante 20 minutos y el precipitado sólido se filtra, se lava con éter dietílico (2 l) y se seca bajo vacío para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (495 g, 47%) LCMS m/z 168 (M+H)⁺.

Preparación 5

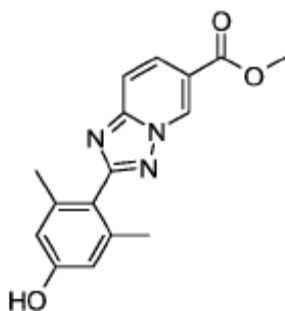
15 2-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-carboxilato de metilo



20 A una solución agitada de bromuro cúprico (13,9 g, 62,4 mmol) en acetonitrilo (150 ml) se añade nitrito de tert-butilo (6,4 g, 62,4 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calienta a 60°C. Se añade 2-amino-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-carboxilato de metilo (8,0 g, 41,6 mmol) en porciones y la mezcla de reacción se calienta a la misma temperatura durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactiva con agua y se extrae con EtOAc. El extracto orgánico se lava con salmuera, se seca sobre sulfato de sodio y se evapora hasta la sequedad. El material bruto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice (purificador combiflash) (columna redisepe de 40 g) y se eluye con EtOAc al 30% en hexano para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (5,1 g, 48%). LCMS m/z 363 (M+H)⁺.

Preparación 6

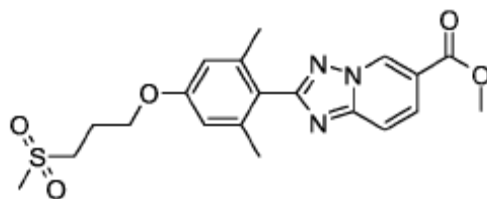
30 Éster metílico de ácido 2-(4-hidroxi-2,6-dimetil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-carboxílico



40 A una solución agitada de 1,6-diaminopiridin-1-ium-3-carboxilato de metilo; 2,4,6-trimetilbencenosulfonato (8 g, 21,68 mmol) en metanol (100 ml) se añade 4-hidroxi-2,6-dimetil-benzaldehído (3,25 g, 21,68 mmol) y trietilamina (8,77 ml, 65,04 mmol) a 0°C y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 48 horas. La mezcla de reacción se concentra y se extrae con EtOAc (100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (2 x 100 ml), solución saturada de cloruro de amonio (50 ml), solución salina (50 ml), y se secan sobre sulfato de sodio anhidro, se filtran y se evaporan hasta la sequedad. El material bruto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice (columna combiflash redisepe Rf de 40 g) y se eluye con 40-60% de EtOAc en hexano para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo pálido (1,2 g, 18%). LCMS m/z 298 [M+H]⁺.

Preparación 7

45 Éster metílico de ácido 2-[4-(3-metanosulfonil-propoxi)-2,6-dimetil-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-carboxílico



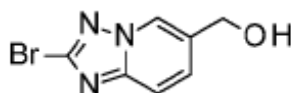
5

A una solución de éster metílico de ácido 2-(4-hidroxi-2,6-dimetil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-carboxílico (0,2 g, 0,673 mmol) en acetonitrilo (5 ml) se añade éster 3-metanosulfonil-propílico de ácido tolueno-4-sulfónico (0,196 g, 0,673 mmol) y carbonato potásico (0,278 g, 2,019 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calienta a 100°C por 16 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), salmuera (10 ml), se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtra y se evapora hasta la sequedad. El material bruto se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (purificador combiflash en columna rediseñada de 24 g) y se eluye con 40-60% de EtOAc en hexano para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo claro (198 mg, 70%). LCMS m/z 418 [M+H]⁺.

10

Preparación 8

15 (2-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)metanol



20

A una solución de 2-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-carboxilato de metilo (3,0 g, 11,7 mmol) en DCM, se añade gota a gota DIBAL-H (3 equivalentes) a -78°C y la mezcla de reacción se calienta a temperatura ambiente y se agita durante 1 hora. La mezcla de reacción se inactiva con una solución saturada de cloruro de amonio (20 ml) y se extrae con DCM (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre sulfato de sodio y se evaporan. El material bruto se tritura con n-pentano para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo (1,5 g, 57,6%). LCMS m/z 171 (M+H)⁺.

25 Los compuestos siguientes se preparan esencialmente mediante el procedimiento de la Preparación 8.

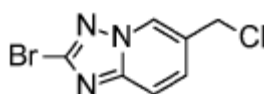
Tabla 1

Nº Prep.	Nombre químico	Estructura	LCMS (m/z) (M+H)
9	{2-[4-(3-metanesulfonil-propoxi)-2,6-dimetil-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il}-metanol		390

Preparación 10

2-bromo-6-(clorometil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina

30



35

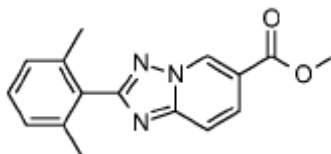
Una mezcla de (2-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)metanol (1,5 g, 6,5 mmol) y cloruro de tionilo (10 ml) se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se evapora hasta la sequedad. El residuo se co-evapora con tolueno (2 x 20 ml) para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo (1,5 g, bruto). LCMS m/z 247 (M+H)⁺.

Preparación alternativa 10

Se añade SOCl_2 (50 ml) a (2-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)-metanol (2,9 g, 12,69 mmol) a 0°C y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfría a 0°C , se inactiva con solución saturada de bicarbonato sódico (100 ml) y se extrae con DCM (3 x 30 ml). La capa orgánica combinada se lava con solución salina, se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se evapora para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo (2,8 g, bruto). LCMS m/z 246 (M+H)⁺.

Preparación 11

2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-carboxilato de metilo



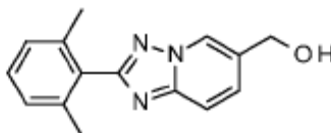
A una solución de 1,6-diaminopiridin-1-ium-3-carboxilato de metilo; 2,4,6-trimetilbencenosulfonato (6,0 g, 16,3 mmol) en 1,4-dioxano (50 ml) se añade 2,6-dimetilbenzaldehído (1,72 g, 13,00 mmol) y la mezcla de reacción se calienta a 90°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se añade una solución de KOH 1 N (15 ml) y la mezcla se agita durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluye con agua (50 ml) y se extrae con EtOAc (2 x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (100 ml) y solución salina saturada (100 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran. El material bruto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice (combiflash) eluyendo con EtOAc al 12% en hexanos para dar el compuesto del título como un líquido de color amarillo (0,35 g, 16%). LCMS m/z 282 (M+H)⁺.

Preparación alternativa 11

A una solución de 1,6-diaminopiridin-1-ium-3-carboxilato de metilo; 2,4,6-trimetilbencenosulfonato (400 g, 1,09 mol) en metanol (5 l) se añade 2,6-dimetilbenzaldehído (146 g, 1,09 mol) y trietilamina (330,5 g, 3,27 mol) a 15°C - 20°C y la mezcla se agita durante 30 minutos. La mezcla de reacción se deja calentar a temperatura ambiente y se agita durante 18 horas. El disolvente se elimina mediante destilación a 50°C . El residuo bruto se disuelve en EtOAc (3 l) y agua (4 l) y se agita durante 10 minutos. La mezcla se separa y la capa acuosa se extrae con EtOAc (2 x 3 l). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (2 x 5 l) y solución salina (3 l), se secan sobre sulfato de sodio y se concentran para obtener una masa viscosa de color marrón. El material bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 30-50% en hexanos para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo pálido (125 g, 40%). LCMS m/z 282 (M+H)⁺.

Preparación 12

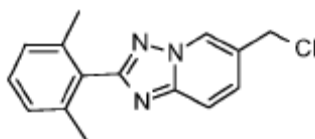
[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metanol



A una solución de 2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-carboxilato de metilo (0,35 g, 1,24 mmol) en DCM (20 ml), se añade DiBAL-H (solución 1 M en tolueno, 4,98 ml, 4,98 mmol) gota a gota a 0°C . La mezcla de reacción se calienta a temperatura ambiente y se agita durante 2 horas. La reacción se inactiva con una solución acuosa de NH_4Cl y se extrae con EtOAc (4 x 50 ml). Los extractos combinados se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran. El material bruto se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (combiflash) eluyendo con 50% de EtOAc en hexanos. El producto se concentra para dar el compuesto del título como un líquido transparente (0,18 g, 57%). LCMS m/z 254 (M+H)⁺.

Preparación 13

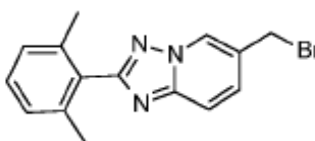
6-(clorometil)-2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina



- 5 Una solución de [2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metanol (0,17 g, 0,67 mmol) en SOCl_2 (2,0 ml) se agita durante 2 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se evapora hasta la sequedad y se co-distila con tolueno para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo (0,198 g, 100% crudo) que se usa sin purificación adicional. LCMS m/z 272 (M+H)⁺.

Preparación 14

- 10 6-(bromometil)-2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina



- 15 A una solución de (2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)metanol (148 g, 0,584 mol) en DCM (2,96 l) se añade PBr_3 (237,3 g, 0,877 mol) a -40°C . La mezcla de reacción se deja calentar a temperatura y a continuación se agita durante 2 horas adicionales a temperatura ambiente. La reacción se enfría a 0°C , se inactiva con agua helada (1,5 l) y se añade una solución saturada de bicarbonato de sodio para ajustar el pH a entre ~7,5 y 8. La mezcla se diluye con DCM (2 l), la capa acuosa se separa y se extrae con DCM (3 l). Los extractos orgánicos se combinan, se lavan con agua (2 x 3 l) y solución salina (3 l), los extractos orgánicos se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se evaporan hasta la sequedad para dar el compuesto del título (140 g, 76%). LCMS m/z 316/318 $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$ (M+H)⁺.

Preparación alternativa 14

- 25 A una solución de (2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)metanol (0,2 g, 0,79 mmol) en DCM (10 ml) se añade PBr_3 (0,11 ml, 1,18 mmol) a -40°C y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfría a 0°C , se inactiva con agua helada (5 ml), se añade una solución de bicarbonato de sodio al 10% (10 ml) y la mezcla se extrae con DCM (3 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución salina, se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se evaporan hasta la sequedad para dar el compuesto del título (0,17 g, bruto). LCMS m/z $^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$ 316/318 (M+H)⁺.

El compuesto siguiente se prepara esencialmente mediante el procedimiento de la preparación alternativa 14.

30

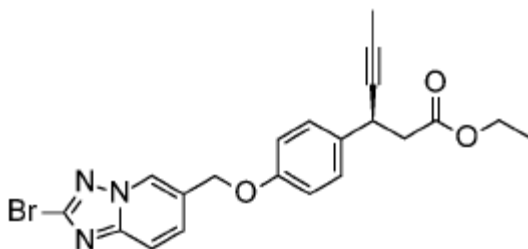
Tabla 2

Nº Prep.	Nombre químico	Estructura	LCMS (m/z) (M+1)
15	6-bromometil-2-[4-(3-metanosulfonyl-propoxy)-2,6-dimetilfenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina		($^{79}\text{Br}/^{81}\text{Br}$) 452/454

Preparación 16

(3S)-3-[4-[(2-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)metoxi]fenil]hex-4-inoato de etilo

5



10

A una solución agitada de 3-(4-hidroxifenil)hex-4-inoato de (S)-etilo (1,4 g, 6,09 mmol) en DMF, se añade carbonato de cesio (5,9 g, 18,1 mmol) y 2-bromo-6-(clorometil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina (1,5 g, 6,09 mmol) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se inactiva con agua helada y se extrae con EtOAc (2x200 ml). El extracto orgánico se lava con salmuera (2 x 30 ml), se seca sobre sulfato de sodio y se concentra. El material bruto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice (purificador combiflash, columna rediseñada de 10 g) eluyendo con EtOAc al 25% en hexano para dar el compuesto del título como un aceite pegajoso de color amarillo (1,4 g, 54%). LCMS m/z 442 (M+H)⁺.

Preparación alternativa 16

15

Una mezcla de 2-bromo-6-clorometil-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina (2,8 g, 11,39 mmol), 3-(4-hidroxifenil)hex-4-inoato de (S)-etilo (2,6 g, 11,359 mmol) y carbonato de cesio (11,10 g, 34,07 mmol) en acetonitrilo (50 ml) se agita a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluye con agua (50 ml) y se extrae con EtOAc (2 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución salina saturada (20 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se evaporan hasta la sequedad. El material bruto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice (purificador combiflash 40 g columna rediseñada) y se eluye en EtOAc al 42% en hexano para dar el compuesto del título como un líquido de color marrón (4 g, 80%). LCMS m/z 442 (M+H)⁺.

20

El compuesto siguiente se prepara esencialmente mediante el procedimiento de preparación alternativa 16 usando 6-bromometil-2-[4-(3-metanosulfonyl-propoxi)-2,6-dimetilfenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina como el material de partida con éster etílico de ácido (S)-3-(4-hidroxifenil)-hex-4-inóico.

25

Tabla 3

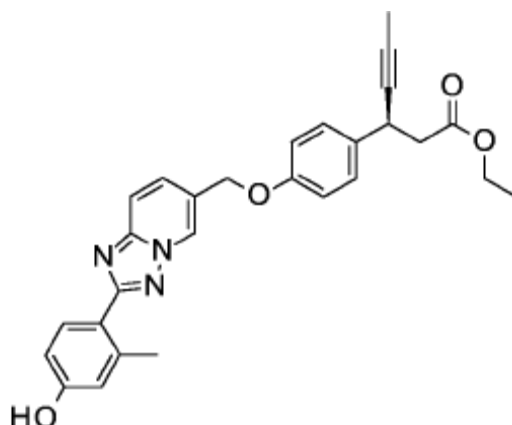
Nº Prep.	Nombre químico	Estructura	LCMS (m/z) (M+1)
17	Éster etílico de ácido (S)-3-(4-{2-[4-(3-metanosulfonyl-propoxi)-2,6-dimetilfenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi}-fenil)-hex-4-inóico		604

Preparación 18

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

30

5

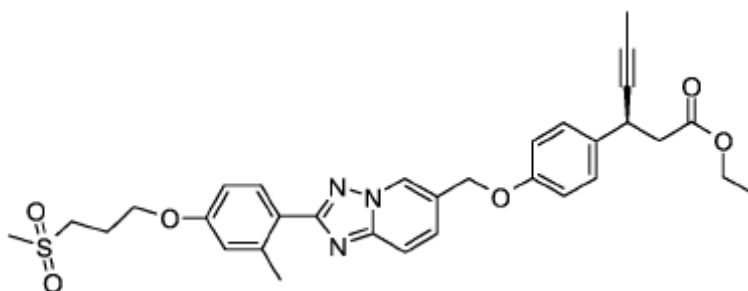


10 A una solución agitada de (3S)-3-[4-[(2-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)metoxi]fenil]hex-4-inoato de etilo (0,5 g, 1,13 mmol) y ácido 4-hidroxi-2-metilbencenoborónico (0,206 g, 1,35 mmol) en 1,4-dioxano (10 ml), se añade una solución de carbonato de potasio 2M (1,69 ml, 3,39 mmol). La mezcla se purga con nitrógeno durante 20 minutos, Pd(PPh₃)₂Cl₂ (0,039 g, 0,056 mmol) y la mezcla se irradia con radiación de microondas durante 4 horas a 100°C. La mezcla de reacción se filtra a través de tierra de diatomeas y se lava con EtOAc (10 ml). El filtrado se lava con agua fría (2 x 20 ml) y solución salina, se seca sobre sulfato de sodio y se evapora a presión reducida. El residuo se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (combiflash) eluyendo con 15% de EtOAc en hexano para dar el compuesto del título como un jarabe de color amarillo (0,3 g, 56,6%). LCMS m/z 470 (M+H)⁺.

Preparación 19

20 Éster etílico de ácido (S)-3-(4-{2-[4-(3-metanosulfonil-propoxi)-2-metil-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil)-hex-4-inoico

25

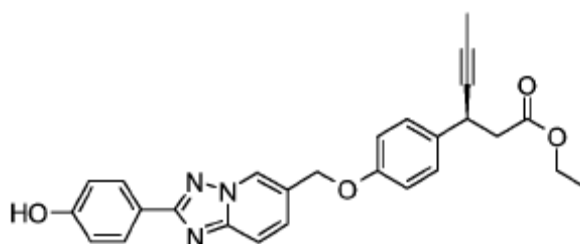


30 A una solución agitada de éster etílico de ácido (S)-3-(4-{2-[4-(3-metanosulfonil-propoxi)-2-metil-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil)-hex-4-inoico (0,3 g, 0,630 mmol) y éster 3-metanosulfonil-propílico de ácido tolueno-4-sulfónico (0,18 g, 0,634 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se añade carbonato de potasio (0,26 g, 1,89 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calienta a 90°C durante la noche. La mezcla de reacción se filtra a través de tierra de diatomeas, se lava con EtOAc (10 ml) y el filtrado se evapora hasta la sequedad. El residuo se disuelve en EtOAc (10 ml), se lava con agua (2 x 30 ml), solución salina, se seca sobre sulfato de sodio y se evapora a presión reducida. El compuesto bruto se purifica mediante gel de sílice (purificador combiflash) y se eluye con EtOAc al 50% en hexano para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo (0,12 g, 32,3%). LCMS m/z 590 (M+H)⁺.

Preparación 20

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

40

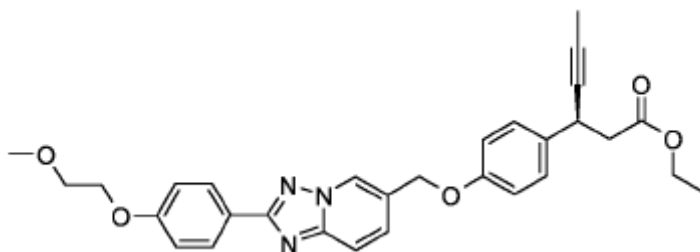


5 A una solución agitada de (3S)-3-[4-[(2-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)metoxi]fenil]hex-4-inoato de etilo (1,0 g, 2,2 mmol) y ácido 4-hidroxifenil borónico (0,37 g, 2,7 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) se añade K_2CO_3 (0,91 g, 6,6 mmol). La mezcla se purga con nitrógeno durante 10 minutos. Se añade $Pd(PPh)_3Cl_2$ (0,14 g, 0,2 mmol) y la mezcla se calienta a 100°C durante 12 horas. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se filtra a través de tierra de diatomeas y se lava con EtOAc (2 x 10 ml). El filtrado se seca sobre sulfato de sodio anhidro, se filtra y se concentra hasta la sequedad. El material bruto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice (combiflash usando una columna rediseñada de 24 g) eluyendo con 15-20% de EtOAc/hexano para dar el compuesto del título (0,75 g, 73,52%). LCMS m/z 456,2 (M+H)⁺.

Preparación 21

10 Éster etílico de ácido (S)-3-[4-[2-[4-(2-metoxi-etoxi)-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil]hexano-hex-4-inóico

15



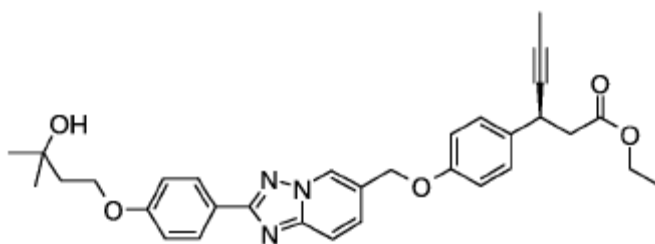
20 A una solución agitada de éster etílico de ácido (S)-3-[4-[2-(4-hidroxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inóico (0,250 g, 0,585 mmol) y 1-bromo-2-metoxi-etano (0,22 ml, 2,34 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se añade carbonato de cesio (0,381 g, 1,17 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se filtra a través de tierra de diatomeas y se lava con EtOAc (20 ml) y el filtrado se concentra hasta la sequedad. El residuo se disuelve en EtOAc (30 ml), se lava con agua (2 x 30 ml), solución salina (30 ml), se seca sobre sulfato de sodio y se evapora a presión reducida. El compuesto bruto se purifica mediante gel de sílice (purificador combiflash) y se eluye con 17-19% de EtOAc en hexano para dar el compuesto del título como un semisólido de color blanco (0,190 g, 64%). LCMS m/z 514 (M+H)⁺.

25

Preparación 22

30 Éster etílico de ácido (S)-3-[4-[2-[4-(3-hidroxi-3-metil-butoxi)-fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il metoxi]-fenil]-hex-4-inóico

30



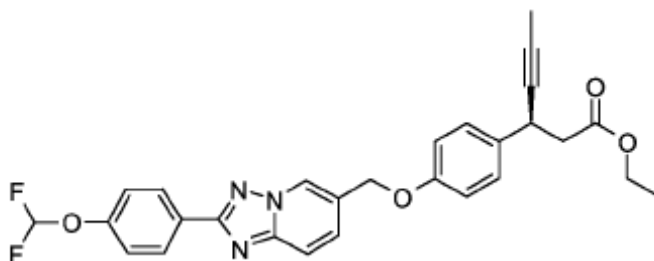
35 A una solución agitada de éster etílico de ácido (S)-3-[4-[2-(4-hidroxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inóico (0,2 g, 0,43 mmol) en acetonitrilo (20 ml) se añade 4-bromo-2-metil-butan-2-ol (0,14 g, 0,87 mmol) y carbonato de cesio (0,41 g, 1,2 mmol) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se filtra y se evapora hasta la sequedad. El material bruto se purifica mediante cromatografía en gel de sílice (purificador combiflash columna rediseñada de 24 g) y se eluye con 15-20% de EtOAc en hexano para dar el compuesto del título (0,23 g, 100%). LCMS m/z 542 (M+H)⁺.

40

Preparación 23

Éster etílico de ácido (S)-3-[4-[2-(4-difluorometoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inóico

5



10

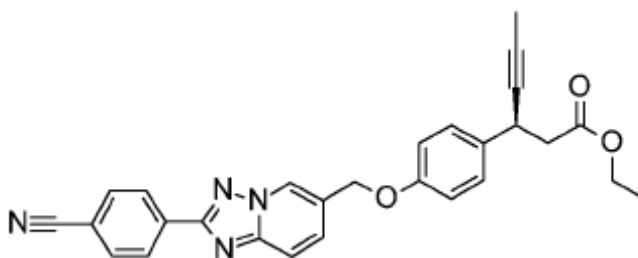
15

A una mezcla de éster etílico de ácido (S)-3-[4-[2-(4-hidroxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inóico (0,25 g, 0,54 mmol) en DMF (10 ml) se añade cloro difluoroacetato de sodio (0,142 g, 1,09 mmol) y carbonato de cesio (0,354 g, 1,09 mmol) a 0°C y la mezcla de reacción se calienta a 80°C durante 4 horas. La mezcla de reacción se diluye con agua helada (50 ml) y se extrae con EtOAc (2 x 20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución salina saturada (20 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se evaporan hasta la sequedad. El material bruto se purifica mediante gel de sílice (purificador combiflash, columna rediseñada de 40 g) y se eluye con EtOAc al 45% en hexano para dar el compuesto del título como un semi sólido incoloro (0,15 g, 55,5%). LCMS m/z 506 (M+H)⁺.

Preparación 24

Éster etílico de ácido (S)-3-[4-[2-(4-ciano-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inóico

20



25

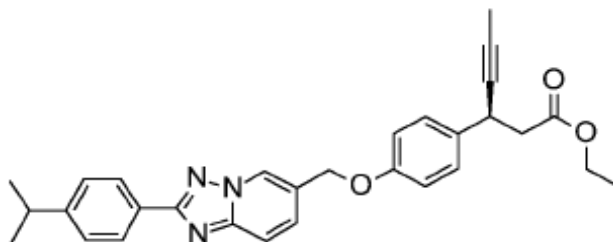
30

A una solución agitada de (3S)-3-[4-[(2-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)metoxi]fenil]hex-4-inoato de etilo (0,25 g, 0,57 mmol) y 4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-benzonitrilo (0,14 g, 0,5 mmol) en dioxano (115 ml) se añade K₂CO₃ (0,15 g, 1,134 mmol). La mezcla se purga con argón durante 30 minutos, Pd(PPh₃)₄ (0,032 g, 0,027 mmol) y la mezcla se calienta a 100°C durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se filtra a través de tierra de diatomeas. El filtrado se evapora a presión reducida y se concentra hasta la sequedad. El material bruto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice (combiflash) eluyendo con 30% de EtOAc/hexano para dar el compuesto del título como un líquido de color marrón (0,170 g, 68,75%). LCMS m/z 464 (M+H).

Preparación 25

(S)-3-[4-[2-(4-Isopropil-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inóico éster etílico ácido

35



40

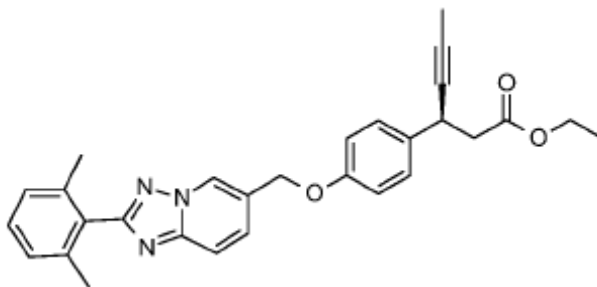
A una solución agitada de (3S)-3-[4-[(2-bromo-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il)metoxi]fenil]hex-4-inoato de etilo (0,3 g, 0,67 mmol) y ácido 4-isopropil-fenilborónico (0,24 g, 1,0 mmol) en tolueno (16 ml) y EtOH (4 ml) se añaden K₂CO₃ 2 M (0,6 ml, 1,34 mmol). La mezcla se purga con argón durante 30 minutos. Se añade Pd(PPh₃)₄ (0,077 g, 0,067 mmol) y la mezcla se calienta a 100°C durante la noche. La mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se filtra a través de tierra de diatomeas. El filtrado se diluye con agua (30 ml) y se extrae con EtOAc (2 x

20 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con solución salina saturada (20 ml), se secan sobre sulfato de sodio, se filtran y se concentran hasta la sequedad. El material bruto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice (combiflash usando una columna rediseñada de 24 g) eluyendo con 45% de EtOAc/hexano para dar el compuesto del título como un líquido de color marrón (0,22 g, 68,75%). LCMS m/z 481 (M+H)⁺.

5 Preparación 26

(3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inoato de etilo

10



15

A una solución de 3-(4-hidroxifenil)hex-4-inoato de (S)-etilo (documento WO05/086661) (0,2 g, 0,87 mmol) en DMF (20 ml) se añade Cs₂CO₃ (0,84 g, 2,59 mmol) y 6-(clorometil)-2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina (0,187 g, 0,69 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se vierte en agua helada y se extrae con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (2 x 50 ml) y salmuera (50 ml), se secan sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtran y se evaporan hasta la sequedad. El material bruto se purifica mediante cromatografía en gel de sílice combiflash eluyendo con EtOAc al 13% en hexano para dar el compuesto del título como un líquido incoloro (0,225 g, 55%). LCMS m/z 468 (M+H)⁺.

20 Preparación alternativa 26

25

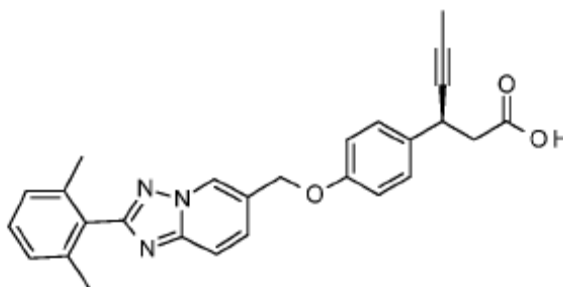
A una solución de 3-(4-hidroxifenil)hex-4-inoato de (S)-etilo (14,69 g, 63,25 mmol) en DMF (200 ml) se añade Cs₂CO₃ (61,82 g, 189,75 mmol) a 10°C-15°C y la mezcla se agita durante 15 minutos. Se añade 6-(bromometil)-2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridina (20 g, 63,25 mmol) y la mezcla se agita a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se inactiva con agua fría (400 ml) y se extrae con EtOAc (2 x 200 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavan con agua (4 x 600 ml), solución salina (500 ml), se secan sobre sulfato de sodio y se evaporan. El producto bruto se purifica mediante cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc al 30-50% en hexanos para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo pálido (17 g, 57%). LCMS m/z 467 (M+H)⁺.

Ejemplo 1

30

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

35



40

A una solución de (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inoato de etilo (0,22 g, 0,47 mmol) en EtOH (20 ml) se añade NaOH 5 N (0,3 ml) y la mezcla de reacción se agita a 80°C en un instrumento de microondas durante 30 minutos. La mezcla de reacción se evapora hasta la sequedad, se diluye con agua y se acidifica con solución de HCl 6 N a pH ~ 3. El sólido precipitado se filtra, se lava con n-pentano y se seca para dar el compuesto del título como un sólido de color blanco (0,155 g, 75%). LCMS m/z 440 (M+H)⁺.

Preparación alternativa, ejemplo 1

45

A una solución de (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inoato (16 g, 34,22 mmol) en etanol (160 ml) se añade NaOH 5 N acuoso (2,73 g, 68,44 mmol en 16 ml de agua) gota a gota a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se agita durante 16 horas. La mezcla de reacción se evapora hasta

la sequedad, el residuo se disuelve en agua (300 ml), se lava con éter dietílico (2 x 200 ml) y el extracto orgánico se descarta. La capa acuosa se enfría a 10°C-15°C, se acidifica con una solución saturada de ácido cítrico a pH ~5 y se extrae con DCM (2 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua (2 x 500 ml), solución salina (500 ml), se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se evaporan hasta la sequedad para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (14 g, 93%). LCMS m/z 440 (M+H)⁺.

Los productos de otros lotes, preparados como en el Ejemplo de preparación alternativa 1, se mezclan con el producto del Ejemplo de preparación alternativa 1 DCM (5 l) y se calientan a 40°C para obtener una solución transparente. A continuación, el disolvente se evapora para dar un sólido blanquecino. La posibilidad de DCM atrapado es una preocupación, por lo tanto, se carga EtOAc (7,5 l) y la mezcla resultante se calienta a 65°C para obtener una solución transparente (~30 minutos). El disolvente se evapora y el sólido resultante se seca en vacío a 50°C para obtener el producto deseado como un sólido blanquecino. LCMS m/z 440 (M+H)⁺.

Forma II, Cristal de siembra, Ejemplo 1

Una solución saturada de etanol de ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico se filtra a través de un filtro de jeringa de nailon de 0,22 µm al interior de un recipiente limpio. Una evaporación lenta del disolvente a 25°C resulta en cristales de siembra de la Forma II del Ejemplo 1.

Ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico, forma cristalina II

El ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico puede prepararse como una Forma II anhidra cristalina disolviendo ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico (580 mg, 132 mmol) en EtOH (1,2 ml) mientras la mezcla se agita a 80°C durante 10 minutos. La solución se filtra y se enfría a 70°C, momento en el que se introducen las semillas de la Forma II. A continuación, la mezcla se enfría lentamente a temperatura ambiente mientras se agita durante la noche. El tapón sólido resultante se afloja con la adición de heptano (600 µl) y los sólidos se recuperan mediante filtración en vacío y se secan en vacío a 60°C para dar el producto cristalino del título (438 mg, 75,5%).

Difracción de rayos X en polvo, Ejemplo 1, Forma II

Los patrones XRD de sólidos cristalinos se obtienen en un difractómetro de rayos X en polvo Bruker D4 Endeavor, equipado con una fuente CuKα (λ = 1,54060 Å) y un detector Vantec, que funciona a 35 kV y 50 mA. La muestra se escanea entre 4 y 40° en 2θ, con un tamaño de paso de 0,0087° en 2θ y una velocidad de escaneo de 0,5 segundos/paso, y con divergencia de 0,6 mm, anti-dispersión fija de 5,28mm y ranuras detectoras de 9,5 mm. El polvo seco se empaqueta en un porta-muestras de cuarzo y se obtiene una superficie lisa usando un porta-objetos de vidrio. Es bien conocido en la técnica de la cristalografía que, para cualquier forma cristalina determinada, las intensidades relativas de los picos de difracción pueden variar debido a una orientación preferente resultante de factores tales como la morfología y el hábito del cristal. Cuando los efectos de la orientación preferente están presentes, las intensidades de pico se alteran, pero las posiciones de pico características del polimorfo no cambian. Véase, por ejemplo, The U. S. Pharmacopeia 35 – National Formulary 30 Capítulo <941> Characterization of crystalline and partially crystalline solids by X-ray powder diffraction (XRPD) Official 1 de Diciembre de 2012-1 de Mayo de 2013. Además, también es bien conocido en la técnica de la cristalografía que, para cualquier forma cristalina determinada, las posiciones angulares de pico pueden variar ligeramente. Por ejemplo, las posiciones de los picos pueden cambiar debido a una variación de la temperatura o de la humedad a las que se analiza una muestra, el desplazamiento de la muestra o la presencia o ausencia de un patrón interno. En el presente caso, una variabilidad de posición de pico de ± 0,2 en 2θ tendrá en cuenta estas potenciales variaciones sin obstaculizar la identificación inequívoca de la forma cristalina indicada. La confirmación de una forma cristalina puede realizarse en base a cualquier combinación única de picos distintivos (en unidades de °2θ), típicamente los picos más prominentes. Los patrones de difracción de formas cristalinas, recogidos a temperatura y humedad relativa ambiente, se ajustan en base a los picos estándar NIST 675 a 8,85 y 26,77 grados 2-theta.

Una muestra preparada de ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico, Forma II, se caracteriza por un patrón de XRD usando radiación CuKα que tiene picos de difracción (valores 2-theta) tal como se describe en la Tabla 4, dada a continuación. Específicamente, el patrón contiene un pico a 17,55 en combinación con uno o más de los picos seleccionados de entre el grupo que consiste en 5,82, 10,78, 19,65, 21,31 y 24,33 con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,2 grados.

Picos de difracción de rayos X en polvo de ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico, Forma II

Tabla 4

Pico	Ángulo (2-Theta °) +/- 0./ 2°	Intensidad relativa (% del pico más intenso)
1	5,82	50
2	9,70	22
3	10,78	41
4	11,05	26
5	11,67	26
6	12,13	21
7	12,86	28
8	14,61	34
9	15,90	26
10	16,66	25
11	17,55	100
12	18,38	44
13	19,17	23
14	19,65	51
15	20,11	37
16	21,31	69
17	23,43	44
18	24,33	55
19	24,94	32
20	25,92	37
21	26,40	37
22	27,21	24
23	27,72	24
24	29,45	26

Forma cristalina I, Ejemplo 1

5 Se disuelve ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico (0,102 g, 0,232 mmol) en acetato de isopropilo (2 ml) a 80°C. Se elimina el calor y se permite que la muestra alcance la temperatura ambiente, resultando en la formación de cristales. Se añade heptano (3 ml) en incrementos de 1 ml para dar una solución turbia y engomadora. La muestra se agita y se calienta a 90°C durante 1 hora para dar un sólido de color blanco brillante de láminas/placas birrefringentes que se filtra al vacío y se seca en vacío durante 10 minutos.

10 Cristal de forma alternativa I, Ejemplo 1

Se suspende ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico (44 g, 0,10 mol) en etanol (1,1 l) y se agita a 60°C resultando en una solución transparente. La temperatura se eleva a 70°C y se añade lentamente agua (638 ml) y la mezcla se agita durante 30 minutos a esta temperatura y a continuación se

enfria a 5°C con agitación durante 1 hora y 30 minutos. La mezcla se calienta a 55°C durante aproximadamente 10 minutos y se enfria a 15°C. La mezcla se agita durante 14 horas a 15°C. Los cristales blancos se filtran en vacío y se secan al aire para dar el compuesto del título (24,1 g, 55%) que se seca adicionalmente en vacío a 40°C.

Difracción de rayos X en polvo, Ejemplo 1, Forma II

- 5 Los patrones XRD de sólidos cristalinos se obtienen en un difractómetro de rayos X en polvo Bruker D4 Endeavor, equipado con una fuente CuK α ($\lambda = 1,54060 \text{ \AA}$) y un detector Vantec, que funciona a 35 kV y 50 mA. La muestra se escanea entre 4 y 40° en 2 θ , con un tamaño de paso de 0,0087° en 2 θ y una velocidad de escaneo de 0,5 segundos/paso, y con una divergencia de 0,6 mm, anti-dispersión fija de 5,28mm y rendijas detectoras de 9,5 mm.
- 10 El polvo seco se empaqueta en un porta-muestras de cuarzo y se obtiene una superficie lisa usando un porta-objetos de vidrio. Es bien conocido en la técnica de la cristalografía que, para cualquier forma cristalina determinada, las intensidades relativas de los picos de difracción pueden variar debido a una orientación preferente resultante de factores tales como la morfología y el hábito del cristal. Cuando los efectos de la orientación preferente están presentes, las intensidades de pico se alteran, pero las posiciones de pico características del polimorfo no cambian. Véase, por ejemplo, The U. S. Pharmacopeia 35 – National Formulary 30 Capítulo <941>
- 15 Characterization of crystalline and partially crystalline solids by X-ray powder diffraction (XRPD) Official 1 de Diciembre de 2012-1 de Mayo de 2013. Además, también es bien conocido en la técnica de la cristalografía, que, para cualquier forma cristalina determinada, las posiciones angulares de los picos pueden variar ligeramente. Por ejemplo, las posiciones de los picos pueden cambiar debido a una variación de la temperatura o de la humedad a la que se analiza una muestra, el desplazamiento de la muestra o la presencia o la ausencia de un patrón interno. En
- 20 el presente caso, una variabilidad de la posición de pico de $\pm 0,2$ en 2 θ tendrá en cuenta estas potenciales variaciones sin obstaculizar la identificación inequívoca de la forma de cristal indicada. La confirmación de una forma de cristal puede realizarse en base a cualquier combinación única de picos distintivos (en unidades de ° 2 θ), típicamente los picos más prominentes. Los patrones de difracción de formas cristalinas, recogidos a temperatura y humedad relativa ambiente, se ajustan en base a los picos estándar NIST 675 a 8,85 y 26,77 grados 2-theta.
- 25 Una muestra preparada de ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inoico, Forma I, se caracteriza por un patrón de XRD usando radiación CuK α que tiene picos de difracción (valores 2-theta) tal como se describe en la Tabla 5 dada a continuación. Específicamente, el patrón contiene un pico en 17,70 en combinación con uno o más de los picos seleccionados de entre el grupo que consiste en 4,92, 13,33, 18,44, 20,27 y 23,36 con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0,2 grados.
- 30 **Picos de difracción de rayos X en polvo de ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inoico, Forma I**

Tabla 5

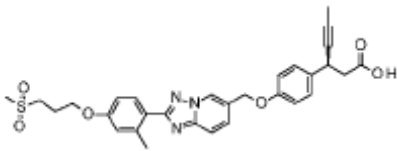
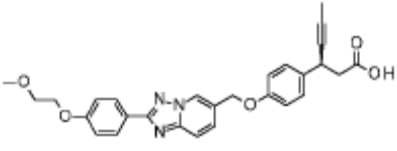
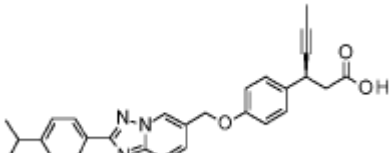
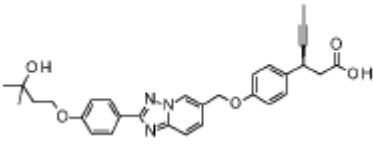
Pico	Ángulo (2-Theta °)	Intensidad (%)
1	4,92	45
2	8,53	10
3	8,80	9
4	9,89	18
5	10,08	8
6	13,33	28
7	13,78	8
8	16,09	12
9	17,70	100
10	18,44	47
11	20,27	48
12	21,53	8

(continuación)

13	22,10	16
14	23,36	27
15	23,50	27
16	24,78	13
17	25,44	16
18	25,70	15
19	27,16	1
20	27,89	9
21	28,36	8

5 Los compuestos siguientes se preparan esencialmente tal como se ha descrito para el Ejemplo de preparación alternativa 1. Las reacciones se agitan a temperatura ambiente durante 2-4 horas. El producto puede recogerse como un precipitado cuando se acidifica con ácido cítrico saturado o se extrae con DCM, se filtra y se concentra hasta la sequedad.

Tabla 6

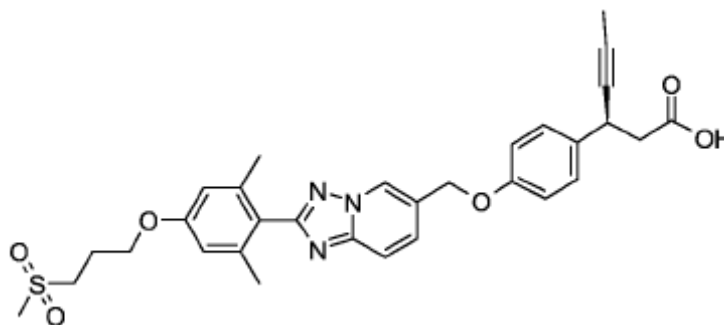
Nº Prep.	Nombre químico	Estructura	LCMS (m/z) (M+H)
2 ^a	Ácido (3S)-3-[4-[[2-[2-metil-4-[3-(metilsulfonyl)propoxy]fenil]1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico		562
3 ^a	Ácido (3S)-3-[4-[[2-[4-(2-metoxietoxi)fenil][1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico		486
4 ^a	Ácido (3S)-3-[4-[[2-[4-(propan-2-il)fenil][1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico		454
5 ^b	Ácido (3S)-3-[4-[[2-[4-(3-hidroxi-3-metilbutoxi)fenil][1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico		514

^a Se añade NaOH 5 N a 0°C.
^b La reacción se completa en metanol.

Ejemplo 6

Ácido (3S)-3-[4-[[2-[2,6-dimetil-4-[3-(metilsulfonil)propoxi]fenil][1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico

5



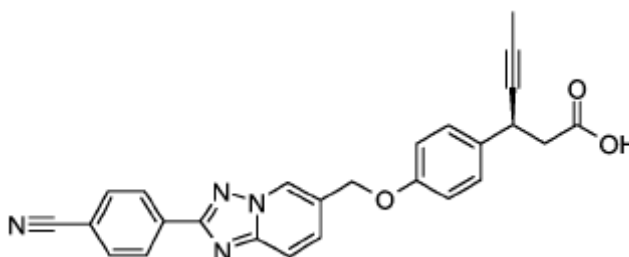
10 A una solución de éster etílico de ácido (S)-3-(4-[2-[4-(3-metanosulfonil-propoxi)-2,6-dimetilfenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil)-hex-4-inóico (0,145 g, 0,238 mmol) en EtOH (5 ml) se añade una solución de NaOH 5 N (0,14 ml, 0,715 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla de reacción se calienta a 50°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se evapora y el residuo se disuelve en agua (5 ml), se lava con éter (2 x 5 ml) y se acidifica con solución acuosa de ácido cítrico (pH ~6) a 0°C. El sólido precipitado se filtra y se seca para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (0,075 g, 55%). LCMS m/z 576 [M+H]⁺.

15

Ejemplo 7

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

20



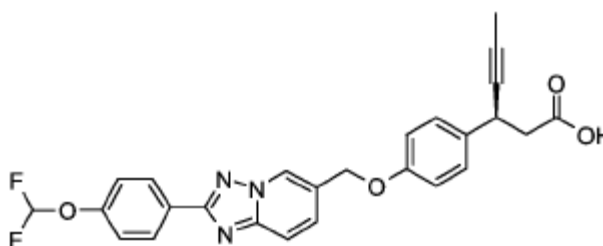
25 A una solución de éster etílico de ácido (S)-3-(4-[2-(4-ciano-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil)-hex-4-inóico (0,130 g, 0,2795 mmol) en THF (10 ml) se añade trimetilsilanoato de potasio (0,143 g, 1,118 mmol) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se evapora hasta la sequedad, el residuo se lava con n-pentano, se disuelve de nuevo en agua (5 ml) y se acidifica con una solución saturada de ácido cítrico (pH ~5). El sólido precipitado se filtra, se lava con agua y se seca para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (0,113 g, 56,5%). LCMS m/z 437 (M+H)⁺.

30

Ejemplo 8

Ácido (3S)-3-[4-[[2-(4-difluorometoxi)fenil]-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inóico

35



40

A una solución de éster etílico de ácido (S)-3-14-[2-(4-difluorometoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-ilmetoxi]-fenil]-hex-4-inóico (0,15 g, 0,29 mmol) en THF (8 ml) y agua (2 ml) se añade LiO.H₂O 3 N (0,1 ml, 0,89 mmoles) y la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 48 horas. La mezcla de reacción se evapora hasta la sequedad, el residuo se lava con n-pentano, se disuelto de nuevo en agua (5 ml) y se acidifica con una solución

saturada de ácido cítrico (pH ~5). El sólido precipitado se filtra, se lava con agua y se seca para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (0,83 g, 59,2%). LCMS m/z 478 (M+H)⁺.

GPR-40: Información

5 Los resultados de estudios usando ratones transgénicos que sobre-expresan el gen GPR-40 humano bajo el control del promotor de insulina II descritos recientemente por Nagasumi respaldan además que GPR-40 desempeña un papel importante en la regulación de GDIS y los niveles de glucosa en plasma in vivo, especialmente en modelos de roedores de resistencia a la insulina. Nagasumi K, et. al., Overexpression of GPR-40 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 GPR-40 is activated by medium and long chain fatty acids, *Journal Biological Chemistry* 278: 11303 - 11311, 2003. Estos hallazgos respaldan además que el desarrollo de nuevos compuestos moduladores de GPR-40 puede ser particularmente deseado para su uso en el tratamiento de T2D.

Ensayos primarios de flujo de calcio

15 Estos ensayos se usan para la selección de compuestos mediante la medición del aumento en los niveles de calcio intracelular resultantes cuando un ligando se une a y activa el GPR-40, demostrando de esta manera la potencia y la eficacia de los agonistas de GPR-40. Para el estudio, se emplean células HEK293, que sobre-expresan el ADNc de GPR-40 humano, mantenidas en medio de Eagle modificado por Dulbecco con medio F12 en una proporción de 3:1 complementado con 10% de SFB y 800 μ g/ml de geneticina a 37°C y 5% de CO₂. Los ensayos con agonistas se realizan usando un kit de ensayo Calcium 4 Dye (Molecular Devices) en presencia o en ausencia de BSA libre de ácidos grasos al 0,1% en el tampón de ensayo (1 \times HBSS (solución salina equilibrada de Hank) y HEPES 20 mM (ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico). La activación del receptor se mide como un aumento en el calcio intracelular usando el lector de placas de imágenes fluorométricas (Fluorometric Imaging Plate Reader, FLIPR). El cambio máximo en la fluorescencia con relación a la línea de base se usa para determinar la respuesta del agonista. El valor EC₅₀ del compuesto se calcula usando el software Excel Fit (versión 4; IDBS) representando la concentración en función de las unidades relativas de fluorescencia (RFU). El porcentaje de eficacia se calcula en base a la respuesta máxima exhibida por el compuesto en comparación con el ligando natural, el ácido linoleico. El compuesto de ensayo del Ejemplo 1 tiene un valor EC₅₀ de 119 nM (\pm 27,4, n=7) y una eficacia del 76% (\pm 0,8, n=5) cuando se examina en este ensayo. Estos resultados demuestran además la potencia y la eficacia deseadas del Ejemplo 1 como un agonista de GPR-40. (Media \pm SEM; SEM = error estándar de la media).

30 Los compuestos ejemplificados en la presente memoria se ensayan esencialmente tal como se ha descrito anteriormente y exhiben un valor EC₅₀ para el ensayo primario de flujo de calcio de menos de 500 nM y una eficacia > 35%. Estos resultados para los compuestos ejemplificados demuestran la potencia y la eficacia deseadas para un agonista de GPR-40.

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

35 Debido a que se conoce que el GPR-40 es activado por ligandos para PPAR γ , los compuestos ejemplificados se examinan en ensayos con informadores PPAR α , PPAR δ y PPAR γ para determinar la selectividad de un compuesto ejemplificado. Células CV1, derivadas del tejido renal de un mono verde africano, se transfectan con diversos plásmidos receptores e informadores usando Fugene. Para los ensayos PPAR α y PPAR δ , se transfecta un plásmido indicador que contiene cinco copias en tándem del elemento de respuesta Gal4 de la proteína de transcripción de levadura, clonado aguas arriba de un gen de luciferasa de luciérnaga dirigido por el promotor principal tardío de adenovirus, junto con plásmido dirigido por virus Simian 40 (SV40) que expresa constitutivamente una proteína híbrida que contiene el dominio de unión a ADN (DBD) Gal4 y cualquier de entre los dominios 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 (2xPPRE). Las células se transfectan en matraces de cultivo celular T225 cm² en medio DMEM con FBS al 5% despojado de carbón y los plásmidos específicos para el ensayo individual. Después de una incubación durante la noche, las células transfectadas se tripsinizan, se colocan en placas opacas de 96 pocillos (15.000 células/pocillo) en medio DMEM que contiene 5% de FBS despojado de carbón, se incuban durante 4 horas y se exponen a entre 0,17 nM y 10 μ M de compuesto de ensayo o compuesto de referencia en diluciones semi-logarítmicas. Después de 24 horas de incubación con el compuesto, 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 cuatro parámetros para determinar los valores EC₅₀. Se determina el máximo porcentaje de estimulación frente a la estimulación máxima obtenida con 10 μ M de un compuesto de referencia de agonista de PPAR apropiado. Una eficacia <20% se considera negativa. No se detecta activación funcional de PPAR α y PPAR δ con el compuesto del Ejemplo 1 cuando se examina hasta 10 μ M en los ensayos de co-transfección específica de PPAR (CTF)/funcionales descritos

anteriormente. El valor EC_{50} para el compuesto del Ejemplo 1 en el ensayo CTF PPAR γ es de 2,6 μ M. Debido a que el % de eficacia en este ensayo con el compuesto del Ejemplo 1 es del 17%, el compuesto se considera negativo para la actividad de PPAR γ . De esta manera, los ensayos respaldan que el compuesto del Ejemplo 1 evita la actividad agonista de PPAR, según se desea.

5 **Afinidad de unión a GPR-40 *In vitro***

Se realizan ensayos competitivos de unión de radioligandos usando filtración de lavado rápido con un radiomarcador preparado a medida ($[^3H]$ 5 nM) (TAK-875) y membranas preparadas a partir de células HEK293 que sobre-expresan el constructo GPR-40 humano (hGPR-40) para determinar las constantes (K_i) de disociación de equilibrio para un compuesto ejemplificado. Las curvas de competencia se representan como el porcentaje de inhibición específica en función de la concentración del compuesto y se analizan usando un ajuste de regresión no lineal de cuatro parámetros con pendiente variable. Los valores K_i se calculan usando la ecuación de Cheng-Prusoff $K_i = IC_{50}/(1+(D/K_d))$, en la que IC_{50} es la concentración de compuesto que resulta en una inhibición del 50% de la unión, D es la concentración de radioligando usada 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. y Prusoff, W.H. (1973) "Relationship between the inhibition constant (K_i) and the concentration of inhibitor which causes 50 per cent inhibition (IC_{50}) of an enzymatic reaction", *Biochem Pharmacol* 22 (23):3099-3108. Para el Ejemplo 1, $K_i = 14,9$ nM \pm 3,5, $n = 4$. (Media \pm SEM; SEM = error estándar de la media). Estos datos demuestran que el compuesto del Ejemplo 1 es un ligando para el GPR-40 humano.

Cinética de unión competitiva - determinación del tiempo de residencia del receptor

Las tasas de asociación y de disociación del compuesto no marcado se cuantifican usando el procedimiento descrito por Motulsky, H. J. y L. C. Mahan (1984), "The kinetics of competitive radioligand binding predicted by the law of mass action" *Mol Pharm* 25(1): 1-9. Las membranas GPR-40 humanas se incuban en diversos momentos con $[^3H]$ 6-8 nM de un estándar agonista de GPR-40 (TAK-875) en ausencia o en presencia de 1x K_i , 3x K_i o 10x K_i compuesto ejemplificado no marcado. La separación del radioligando unido y libre se realiza usando filtración de lavado rápido sobre filtros de fibra de vidrio y se realiza un recuento en un contador de centelleo líquido. Las tasas se calculan ajustando los datos a la cinética del modelo de unión competitiva en GraphPad Prism 6, versión 6.03 para Windows, GraphPad Software, La Jolla California USA. El Ejemplo 1 muestra un tiempo de residencia GPR-40, τ , que es de 30,2 min (\pm 3,2, $n=3$), que sugiere que este ligando GPR-40 tiene un tiempo de residencia en el receptor asociado con una respuesta *in vivo*. (Media \pm SEM; SEM = error estándar de la media).

30 **Ensayo agonista beta-arrestina humana y de ratón con 1% de SFB para determinar el reclutamiento de beta-arrestina:**

Las células de riñón embrionario humano (hEK293)-hFFAR1 se adquieren en DiscoverXTM. DiscoverXTM desarrolla células de osteosarcoma humano (U2OS) que expresan mFFAR1. Estas células co-expresan las proteínas de fusión GPR-40 marcada con Enzyme AceptorTM (EA) y beta-arrestina marcada con ProlinkTM (PK). Si la activación del GPR-40 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 usando el kit de detección DiscoverX PathHunterTM. Las células se incuban durante la noche a 5.000 células/pocillo en placas de 384 pocillos en medio de cultivo que contiene 1% de SFB (suero fetal bovino). El compuesto diluido en serie en DMSO (diluciones 2x para generar 20 concentraciones) se diluyen en medios de cultivo que contienen 1% de SFB (suero fetal bovino) y se añaden a las células con una concentración superior final que comienza en 100 μ M. Después de la adición del compuesto, las células se incuban durante 90 min a 37°C en un incubador con 5% de CO₂, y se añaden reactivos de detección del kit DiscoverXTM. La medición de la señal quimioluminiscente se determina con el lector EnvisionTM, después de una incubación de 1 hora a temperatura ambiente. Los datos se ajustan a una curva logística de ajuste de 4 parámetros para determinar los valores EC_{50} , el % de actividad se mide en función de la respuesta máxima a un agonista GPR-40 estándar interno a 1 μ M. Para b-arrestina hGPR-40, Ejemplo 1, tiene un valor EC_{50} de 44,8 nM (\pm 17,9, $n=4$) con un % de estimulación máxima (FA) de 128 (\pm 10,9, $n = 4$) y b-arrestina mGPR-40 de 3,63 nM (\pm 0,81, $n = 7$) con un % estimulación máxima (FA) de 153 (\pm 5,64, $n=7$). (Media \pm SEM; SEM = error estándar de la media.) Estos datos indican que el compuesto del Ejemplo 1 puede señalizar a través de la ruta beta arrestina.

50 **Ensayo de tolerancia oral crónica a la glucosa (OGTT) en ratas Zucker fa/fa (genéticamente obesas)**

Los ensayos OGTT se realizan en ratas Zucker fa/fa, un modelo de roedores de resistencia a la insulina, después de 1 y 21 días de compuesto ejemplificado administrado por vía oral a 1,0, 3,0 y 10 mg/kg. Un agonista GPR-40 estándar a 1 mg/kg sirve como control positivo. Los ensayos OGTT se realizan una hora después de la administración del compuesto con muestras de sangre tomadas para la determinación de los niveles de glucosa e insulina a los 10, 20, 40, 60 y 120 minutos después de la administración de glucosa. Los días 1 y 21, las AUC para la reducción de glucosa son estadísticamente significativas ($p < 0,05$) para todas las dosis del compuesto del

Ejemplo 1 ensayado (1, 3 y 10 mg/kg) y con el control positivo. Las AUC de insulina demuestran una elevación dependiente de la dosis durante los ensayos OGTT; aunque, estos valores no son estadísticamente significativos. El peso y el consumo de alimentos no se alteran debido a ningún tratamiento durante el estudio. El valor ED₉₀ para la reducción de glucosa usando un compuesto del Ejemplo 1 el día 1 es de 4,1 mg/kg y el día 21 es de 5,0 mg/kg. Estos hallazgos sugieren que GPR-40 no se desensibiliza después de 21 días de administración oral con un compuesto del Ejemplo 1.

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

Para examinar la capacidad del compuesto del Ejemplo 1 para activar GPR-40 in-vivo resultando en una eficacia antidiabética, es decir, reducción de los niveles de glucosa en plasma, se completa un estudio de ensayo de tolerancia a la glucosa intraperitoneal (ipGTT) y se muestran los datos para el compuesto del Ejemplo 1, en la Tabla 7 dada a continuación.

Ratones Balb/c machos (ratones Albino) (8-9 semanas de edad) se enjaulan individualmente y se alimentan con dieta normal para roedores y agua *ad libitum*. Los animales se pesan; se aleatorizan por peso corporal; y se registran sus pesos corporales diarios. La noche anterior al estudio, los animales ayunan durante la noche. Por la mañana, los animales reciben una dosis por vía oral con el compuesto del Ejemplo 1 o vehículo solo 60 minutos antes del ensayo de tolerancia a la glucosa (glucosa 2 g/kg, i.p.). Los niveles de glucosa en sangre se determinan a partir de sangrados de cola tomados a los 0, 3, 7, 15, 30 y 60 minutos después del ensayo 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 porcentaje de reducción de glucosa se calcula a partir de los datos de AUC del compuesto con respecto al AUC del grupo vehículo. El compuesto del Ejemplo 1 se administra por vía oral a 0,1, 0,3, 1,0, 3,0, 10 o 30 mg/kg, y se administra un control positivo (ácido 3-[4-(2-metil-benciloxi)-fenil]-hex-4-inóico) a 10 mg/kg. Ninguna concentración de compuesto del Ejemplo 1 o el control positivo redujo significativamente los niveles de glucosa en los puntos de tiempo de 3 o 7 minutos durante el GTT. Los niveles de glucosa se redujeron significativamente con la dosis de 30 mg/kg de compuesto del Ejemplo 1 en el punto de tiempo de 15 minutos; con las dosis de 1,0, 10 y 30 mg/kg y el control positivo en el punto de tiempo de 30 minutos; y con las dosis de 3,0, 10 y 30 mg/kg más el control positivo en el punto de tiempo de 60 minutos. El valor ED₅₀ para el compuesto del Ejemplo 1 basado en AUCs para la reducción de glucosa es de 7,6 mg/kg. Los resultados de este estudio demuestran que la activación de GPR-40 por el Ejemplo 1 conduce a eficacia antidiabética *in vivo*.

Efecto sobre la glucosa en sangre, significación estadística para diversos grupos de tratamiento en comparación con el vehículo durante ipGTT

Tabla 7

Tratamiento	Dosis (mpk)	Tiempo					
		0	3	7	15	30	60
control (TAK875)	10	Ns	ns	ns	Ns	****	****
Ejemplo 1	0,1	Ns	ns	ns	Ns	ns	ns
	0,3	Ns	ns	ns	ns	ns	ns
	1	Ns	ns	ns	ns	*	ns
	3	Ns	ns	ns	ns	ns	
	10	Ns	ns	ns	ns	****	****
	30	Ns	ns	ns	**	****	****
* P <0,05, ** P <0,01, **** P <0,0001							
Anova bidireccional seguido de post ensayos Bonferroni, ns: no significativo							

Los compuestos ejemplificados de la presente invención pueden formularse fácilmente en composiciones farmacéuticas según las prácticas aceptadas conocidas en la técnica, tales como las encontradas en "Pharmaceutical Sciences" de Remington, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co. Easton Pa. 1990 tales como

comprimidos, cápsulas rellenas de sólidos o de gel, polvos, suspensiones o soluciones. La composición puede incluir también uno o más vehículos, excipientes y diluyentes farmacéuticamente aceptables.

5 Las composiciones farmacéuticas preferentes se formulan como un comprimido o una cápsula para la administración oral. El comprimido o la cápsula puede incluir un compuesto de la presente invención en una cantidad eficaz para tratar la diabetes, particularmente diabetes tipo dos.

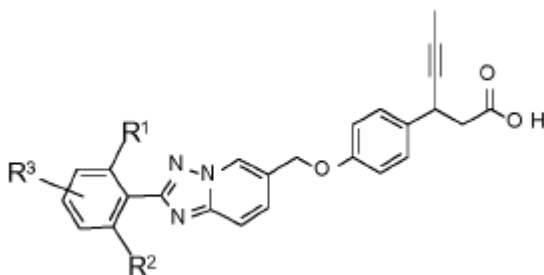
La composición farmacéutica se administra a un paciente en cantidades efectivas para tratar la diabetes, más particularmente, diabetes tipo 2. El proveedor de atención médica puede determinar una cantidad o dosis efectiva apropiada para tratar a un paciente.

10

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la Fórmula

5



en la que

10

R¹ se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃;

R² se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃;

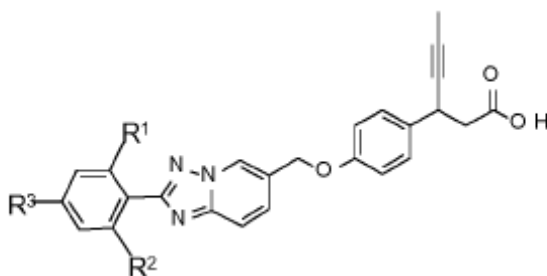
R³ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-C₃, O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃, O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH, CN y OCF₂;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15

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

20



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

25

3. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que R³ se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁-C₃, O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃, O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH, CN y OCF₂.

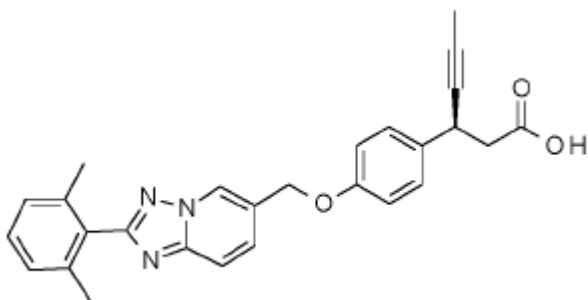
4. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que R¹ es H.

5. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R² es H.

6. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que R² es CH₃.

7. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto es:

30



35

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. Compuesto según la reivindicación 7, en el que el compuesto es ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil]hex-4-inoico.

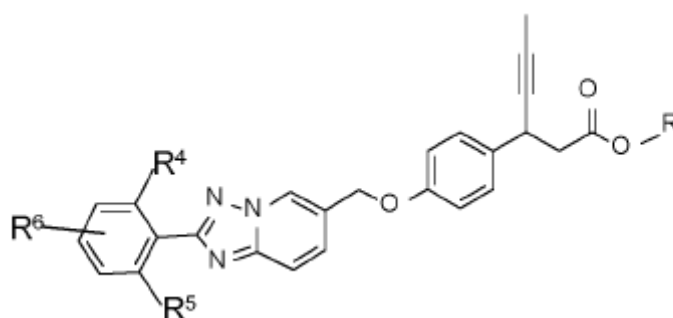
9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos uno de entre un vehículo, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptable.

10. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en terapia.

11. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso en el tratamiento de la diabetes.

12. Un compuesto, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso según la reivindicación 11 en el tratamiento de diabetes tipo 2.

13. Un compuesto intermedio de la fórmula



en la que

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

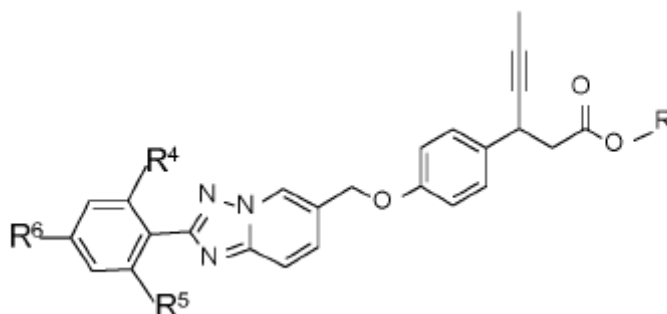
R⁴ se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃;

R⁵ se selecciona de entre el grupo que consiste en H y CH₃; y

R⁶ se selecciona de entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₃, O(CH₂)₃SO₂CH₃, O(CH₂)₂OCH₃, O(CH₂)₂C(CH₃)₂OH, CN y OCF₂;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

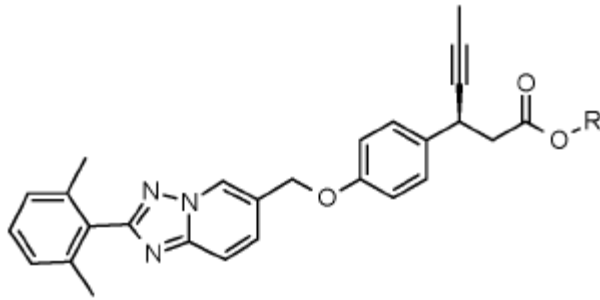
14. Compuesto intermedio según la reivindicación 13, en el que el compuesto es



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

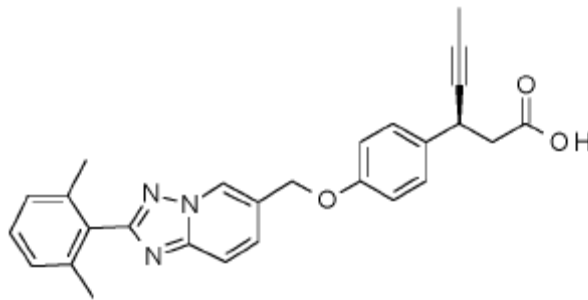
15. Un procedimiento de preparación de ácido (3S)-3-[4-[[2-(2,6-dimetilfenil)-[1,2,4]triazolo[1,5-a]piridin-6-il]metoxi]fenil] hex-4-inoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que comprende desesterificar un compuesto intermedio de la Fórmula;

5



en la que R se selecciona de entre el grupo que consiste en alquilo C₁₋₄, haloalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, alquilo C₁₋₄- cicloalquilo C₃₋₆, fenilo y alquilfenilo C₁₋₅; para proporcionar un compuesto de la Fórmula,

10



15

;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

FIGURA 1

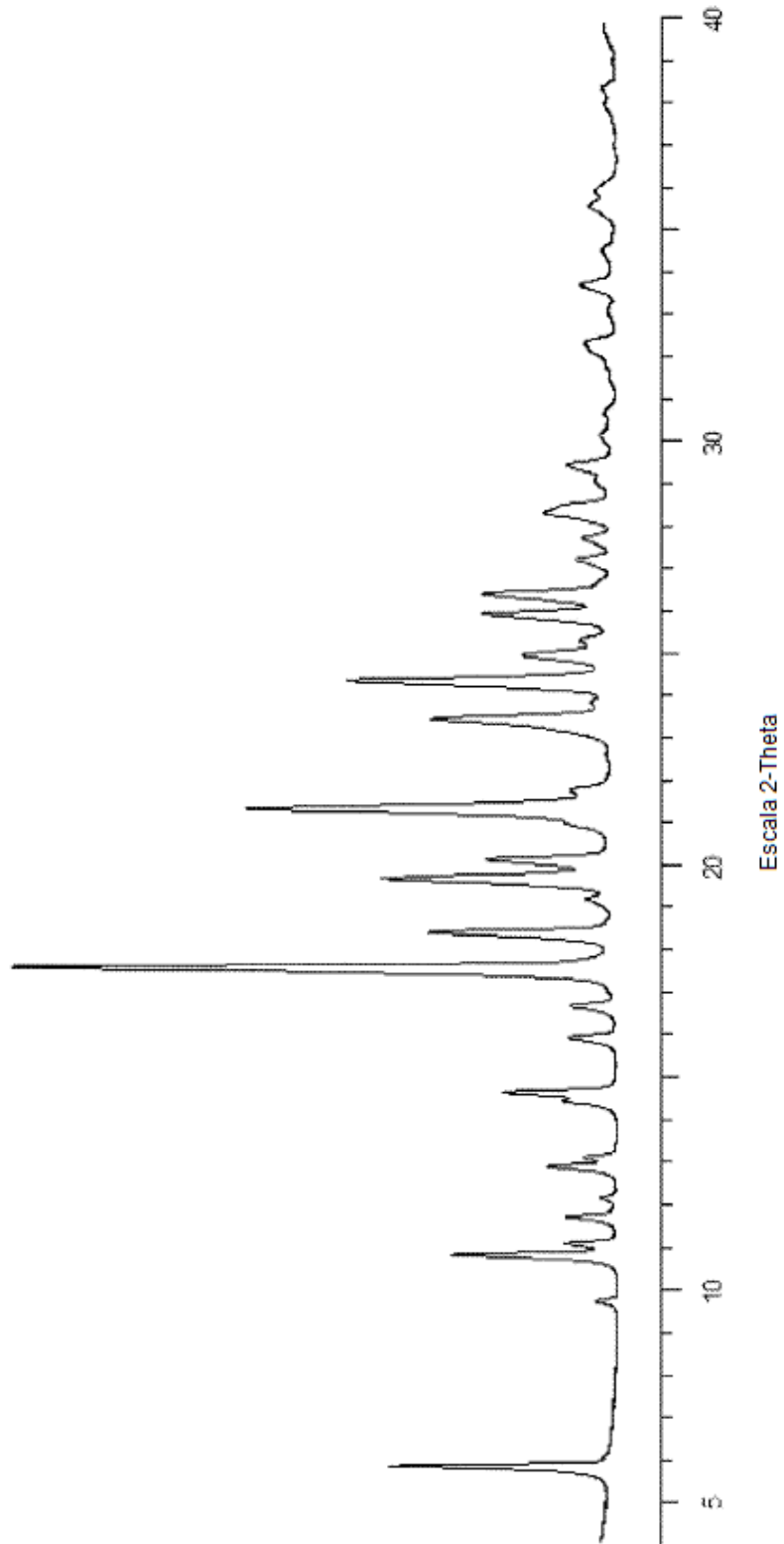


FIGURA 2

