

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 676 224**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

A61P 25/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.03.2013 PCT/US2013/029056**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.09.2013 WO13134228**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.03.2013 E 13710250 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.04.2018 EP 2834243**

54 Título: **Compuestos a base de pirazolo[1,5-a]pirimidina, composiciones que los comprenden y métodos para usarlos**

30 Prioridad:

09.03.2012 US 201261608765 P

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

17.07.2018

73 Titular/es:

**LEXICON PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
8800 Technology Forest Place
The Woodlands, TX 77381, US**

72 Inventor/es:

**BI, YINGZHI;
CARSON, KENNETH GORDON;
CIANCHETTA, GIOVANNI;
GREEN, MICHAEL ALAN;
KUMI, GODWIN;
MAIN, ALAN;
ZHANG, YULIAN y
ZIPP, GLENN GREGORY**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 676 224 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 a base de pirazolo[1,5-a]pirimidina, composiciones que los comprenden y métodos para usarlos

- 5 La presente solicitud reivindica la prioridad sobre la Solicitud Provisional de Patente de los Estados Unidos n.º 61/608.765, presentada el 9 de marzo de 2012.

1. Campo de la invención

- 10 La presente invención se refiere a compuestos a base de pirazolo[1,5-a]pirimidina útiles como inhibidores de la cinasa 1 asociada con adaptador (AAK1).

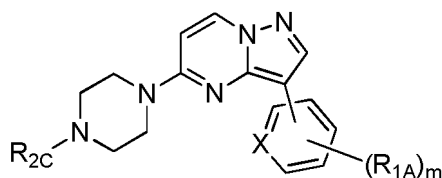
2. Antecedentes de la invención

- 15 La cinasa 1 asociada con adaptador (AAK1) es un miembro de la familia Ark1/Prk1 de serina/treonina cinasas. El ARNm de AAK1 existe en dos formas de corte y empalme denominadas corta y larga. La forma predominante es la larga y se expresa abundantemente en el cerebro y el corazón (Henderson y Conner, Mol. Biol. Cell. 2007, 18, 2698-2706). AAK1 se enriquece en preparaciones sinaptosómicas y se localiza junto con estructuras endocíticas en células cultivadas. AAK1 modula la endocitosis recubierta de clatrina, un proceso que es importante en el reciclaje
20 de vesículas sinápticas y en la endocitosis mediada por receptor. AAK1 se asocia con el complejo AP2, un heterotetrámero que une la carga del receptor al recubrimiento de clatrina. La unión de la clatrina a AAK1 estimula la actividad cinasa de AAK1 (Conner et al., Traffic 2003, 4, 885-890; Jackson et al., J. Cell. Biol. 2003, 163, 231-236). AAK1 fosforila la subunidad mu-2 de AP-2, que promueve la unión de mu-2 a los motivos de clasificación que contienen tirosina en los receptores de carga (Ricotta et al., J. Cell Bio. 2002, 156, 791-795; Conner y Schmid, J. Cell
25 Bio. 2002, 156, 921-929). No es necesaria la fosforilación de Mu2 para la captación por el receptor, pero su fosforilación potencia la eficacia de la internalización (Motely et al., Mol. Biol. Cell. 2006, 17, 5298-5308).

- Se ha identificado a AAK1 como un inhibidor de la señalización de neuregulina-1/ERbB4 en células PC12. La pérdida de expresión de AAK1 mediante silenciamiento génico mediado por interferencia de ARN o tratamiento con
30 el inhibidor de cinasa K252a (que inhibe la actividad cinasa de AAK1) da como resultado la potenciación del recrecimiento de neuritas inducido por neuregulina-1. Estos tratamientos dan como resultado una expresión aumentada de ErbB4 y una acumulación de ErbB4 en o próxima a la membrana plasmática (Kuai et al., Chemistry and Biology 2011, 18, 891-906). NRG1 y ErbB4 son supuestos genes de susceptibilidad a la esquizofrenia (Buonanno, Brain Res. Bull. 2010, 83, 122-131). Se han asociado SNP en ambos genes con múltiples endofenotipos
35 de esquizofrenia (Greenwood et al., Am. J. Psychiatry 2011, 168, 930-946). Algunos modelos de ratón KO para neuregulina 1 y ErbB4 han demostrado cambios morfológicos para la esquizofrenia y fenotipos conductuales relevantes (Jaaro-Peled et al., Schizophrenia Bulletin 2010, 36, 301-313; Wen et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2010, 107, 1211-1216). Además, se ha asociado un polimorfismo de un solo nucleótido en un intrón del gen AAK1 con la edad de aparición de la enfermedad de Parkinson (Latourelle et al., BMC Med. Genet. 2009, 10, 98). Estos
40 resultados sugieren que la inhibición de la señalización de AAK1 puede ser útil en el tratamiento de la esquizofrenia, los déficits cognitivos en la esquizofrenia, la enfermedad de Parkinson, el trastorno bipolar y la enfermedad de Alzheimer.

3. Sumario de la invención

- 45 Esta invención se refiere, en parte, a inhibidores de AAK1 de fórmula:



- 50 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

X es CH o N;

cada R_{1A} es independientemente -OR_{1C}, -N(R_{1C})₂, -C(O)R_{1C}, -C(O)OR_{1C}, -C(O)N(R_{1C})₂, -N(R_{1C})C(O)OR_{1C}, ciano, halo o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es
55 con uno o más R_{1B};

cada R_{1B} es independientemente -OR_{1C}, -N(R_{1C})₂, -C(O)R_{1C}, -C(O)OR_{1C}, -C(O)N(R_{1C})₂, -N(R_{1C})C(O)OR_{1C}, ciano o halo;

cada R_{1C} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de ciano, halo o hidroxilo;

- 60 cada R_{2C} es independientemente -OR_{2D}, -N(R_{2D})₂, -C(O)R_{2D}, -C(O)OR_{2D}, -C(O)N(R_{2D})₂, -N(R_{2D})C(O)OR_{2D}, ciano, halo o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es

con uno o más de amino, ciano, halo, hidroxilo o R_{2D};
 cada R_{2D} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, ciano, halo, hidroxilo; y m es 0-3.

5

4. Breve descripción de las figuras

Los aspectos de la invención se ilustran en la figura 1, que muestra resultados obtenidos a partir de un modelo de dolor por formalina usando ratones *knockout* para AAK1 homocigotos (-/-) y sus compañeros de camada de tipo silvestre (+/+). Los ratones *knockout* para AAK1 homocigotos (-/-) muestran una clara reducción en la respuesta al dolor tanto agudo como tónico en comparación con sus compañeros de camada de tipo silvestre (+/+).

10

5. Descripción detallada de la invención

La presente invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que los ratones *knockout* para AAK1 muestran una alta resistencia al dolor. Este descubrimiento propició la investigación que, en última instancia, dio lugar al descubrimiento de inhibidores de AAK1, a composiciones que los comprenden y a métodos para usarlos.

15

5.1. DEFINICIONES

20

A menos que se indique otra cosa, las expresiones "compuestos de la invención", "compuestos de la presente divulgación", y similares se refieren a compuestos desvelados en el presente documento.

25

A menos que se indique otra cosa, el término "hidrocarbilo" significa un resto alicíclico o alifático que tiene una cadena principal de carbono y que consiste en átomos de hidrógeno y carbono. Los ejemplos de grupos hidrocarbilo incluyen aquellos que tienen 1-20, 1-12, 1-6 y 1-4 átomos de carbono (citados como hidrocarbilo C₁₋₂₀, hidrocarbilo 1-12, hidrocarbilo C₁₋₆ e hidrocarbilo C₁₋₄, respectivamente). Algunos ejemplos concretos incluyen alquilo, alquenilo, alquinilo, arilo, bencilo, cicloalquilo, cicloalquenilo, cicloalquilalquilo, cicloalquenilalquilo, naftilo, fenilo y feniletilo.

30

Algunos ejemplos de restos alquilo incluyen restos de cadena lineal y ramificada que tienen 1-20, 1-12, 1-6, 1-4 y 1-3 átomos de carbono (citados como alquilo C₁₋₂₀, alquilo C₁₋₁₂, alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₄ y alquilo C₁₋₃, respectivamente). Algunos ejemplos concretos incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, pentilo, hexilo, isohexilo, heptilo, 4,4-dimetilpentilo, octilo, 2,2,4-trimetilpentilo, nonilo, decilo, undecilo y dodecilo.

35

Algunos ejemplos de restos alquenilo incluyen cadenas alquenilo C₂₋₂₀, C₂₋₁₂ y C₂₋₆ lineales y ramificadas. Algunos ejemplos concretos incluyen vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobuteno, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2-metil-2-butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo, 1-hexenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 1-heptenilo, 2-heptenilo, 3-heptenilo, 1-octenilo, 2-octenilo, 3-octenilo, 1-nonenilo, 2-nonenilo, 3-nonenilo, 1-decenilo, 2-decenilo y 3-decenilo.

40

Algunos ejemplos de restos alquinilo incluyen alquinilo C₂₋₂₀, C₂₋₁₂ y C₂₋₆ de cadena lineal y ramificada. Algunos ejemplos concretos incluyen etinilo y 2-propinilo (propargilo).

45

Algunos ejemplos de restos arilo incluyen antraceno, azuleno, fluoreno, indano, indenilo, naftilo, fenilo y fenantreno.

50

A menos que se indique otra cosa, el término "halo" incluye flúor, cloro, bromo y yodo.

55

A menos que se indique otra cosa, el término "heterocarbilo" se refiere a un resto que tiene una cadena principal de uno o más átomos de carbono y uno o más heteroátomos. Algunos ejemplos concretos de heteroátomos son nitrógeno, oxígeno y azufre. Se puede considerar que un resto heterocarbilo es un resto hidrocarbilo, en donde al menos un átomo de carbono, grupo CH, CH₂ o CH₃ se sustituye con uno o más heteroátomos y el número necesario de átomos de hidrógeno para satisfacer las valencias. Algunos ejemplos de heterocarbilo incluyen restos heterocarbilo de 2-20, 2-12, 2-8, 2-6 y 2-4 restos, en donde el intervalo de números se refiere a la suma total del número de átomos de carbono, nitrógeno, oxígeno y/o azufre en el resto. Por lo tanto, la expresión "heterocarbilo de 2-12 miembros" se refiere a un resto heterocarbilo que tiene un total de 2-12 átomos de carbono, nitrógeno, oxígeno y/o azufre. Algunos restos heterocarbilo concretos incluyen heteroalquilo, heteroalquenilo y heteroalquinilo de cadena lineal y ramificada, así como heterociclo y heteroarilo.

60

Algunos ejemplos de restos heteroalquilo incluyen restos heteroalquilo de 2-8 miembros, 2-6 miembros y 2-4 miembros. Algunos ejemplos concretos incluyen alcoxilo, acilo (por ejemplo, formilo, acetilo, benzoilo), alquilamino (por ejemplo, di-(alquil C₁₋₃)amino), arilamino, ariloxima, carbamatos, carbamidas, alquilcarbonilo, arilcarbonilo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquilsulfanilo, arilsulfanilo, alquilsulfínilo, arilsulfínilo, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, alquilsulfonilamino y arilsulfonilamino.

65

A menos que se indique otra cosa, el término "heterociclo" se refiere a un resto heterocarbilo cíclico (monocíclico o policíclico) que puede ser aromático, parcialmente aromático o no aromático. Los heterociclos incluyen heteroarilos. Algunos ejemplos incluyen heterociclos de 4-10 miembros, 4-7 miembros, 6 miembros y 5 miembros. Algunos ejemplos concretos incluyen benzo[1,3]dioxolilo, 2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxinilo, cinolinilo, furanilo, hidantoinilo, morfolinilo, oxetanilo, oxiranilo, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinonilo, pirrolidinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropirranilo, tetrahidropiridinilo, tetrahidropirimidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiopyranilo y valerolactamilo. Debido a que el término "heterociclo" se refiere a un anillo, por sí solo no incluye restos tales como oxazolidinona e imidazolidinona: dichos restos se consideran heterociclos sustituidos, por ejemplo, heterociclos sustituidos con oxo.

Algunos ejemplos de restos heteroarilo incluyen acridinilo, benzoimidazolilo, benzofuranilo, benzoisotiazolilo, benzoisoxazolilo, benzoquinazolinilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, furilo, imidazolilo, indolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, oxazolilo, ftalazinilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridilo, pirimidinilo, pirimidilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, tetrazolilo, tiazolilo y triazinilo.

A menos que se indique otra cosa, el término "incluyen" tiene el mismo significado que "incluyen, pero sin limitación", y el término "incluye" tiene el mismo significado que "incluye, pero sin limitación". De manera similar, la expresión "tal como" tiene el mismo significado que el término "tal como, pero sin limitación".

A menos que se indique otra cosa, los términos "controlar", "que controla" y "control" abarcan prevenir la recurrencia de la enfermedad o el trastorno específico en un paciente que ya ha padecido la enfermedad o el trastorno y/o prolongar el tiempo que permanece en remisión un paciente que ha padecido la enfermedad o el trastorno. Los términos incluyen la modulación del umbral, el desarrollo y/o la duración de la enfermedad o trastorno, o cambiar la forma en que un paciente responde a la enfermedad o trastorno.

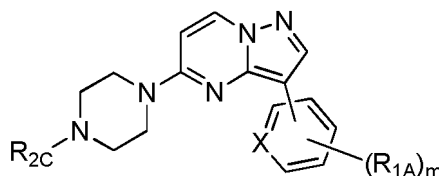
A menos que se indique otra cosa, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o control de una enfermedad o afección, o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o afección. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto significa una cantidad del agente terapéutico, solo o en combinación con otras terapias, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o el control de la enfermedad o la afección. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" puede incluir una cantidad que mejora la terapia global, reduce o evita síntomas o causas de una enfermedad o afección o mejora la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico.

A menos que se indique otra cosa, los términos "tratar", "que trata" y "tratamiento" contemplan una acción que se produce mientras un paciente padece la enfermedad o trastorno especificado, que reduce la gravedad de la enfermedad o el trastorno o retrasa o frena la progresión de la enfermedad o trastorno.

A menos que se indique otra cosa, debe interpretarse que uno o más adjetivos inmediatamente a continuación de una serie de nombres se aplican a cada uno de los nombres. Por ejemplo, la frase "alquilo, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituido" tiene el mismo significado que "alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido".

5.2. COMPUESTOS

La presente invención incluye compuestos de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

- X es CH o N;
 cada R_{1A} es independientemente $-OR_{1C}$, $-N(R_{1C})_2$, $-C(O)R_{1C}$, $-C(O)OR_{1C}$, $-C(O)N(R_{1C})_2$, $-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}$, ciano, halo o hidrocarbilo C_{1-12} opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más R_{1B} ;
 cada R_{1B} es independientemente $-OR_{1C}$, $-N(R_{1C})_2$, $-C(O)R_{1C}$, $-C(O)OR_{1C}$, $-C(O)N(R_{1C})_2$, $-N(R_{1C})C(O)OR_{1C}$, ciano o halo;
 cada R_{1C} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C_{1-12} opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de ciano, halo o hidroxilo;
 cada R_{2C} es independientemente $-OR_{2D}$, $-N(R_{2D})_2$, $-C(O)R_{2D}$, $-C(O)OR_{2D}$, $-C(O)N(R_{2D})_2$, $-N(R_{2D})C(O)OR_{2D}$, ciano, halo o hidrocarbilo C_{1-12} opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, ciano, halo, hidroxilo o R_{2D} ;
 cada R_{2D} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C_{1-12} opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12

miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, ciano, halo, hidroxilo; y m es 0-3.

En compuestos concretos, R_{1A} es $-OR_{1C}$.

5

En compuestos concretos, R_{1B} es $-N(R_{1C})_2$, halo.

En compuestos concretos, R_{1C} es hidrógeno. En algunos, R_{1C} es hidrocarbilo C_{1-12} (por ejemplo, hidrocarbilo C_{1-6} , hidrocarbilo C_{1-4} tal como metilo, etilo, propilo). En algunos, R_{2C} es $-C(O)OR_{2D}$, $-C(O)N(R_{2D})_2$, o $-N(R_{2D})C(O)OR_{2D}$.

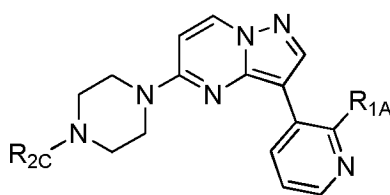
10

En compuestos concretos, R_{2D} es hidrógeno.

En compuestos concretos, R_{2D} es hidrocarbilo C_{1-12} (por ejemplo, hidrocarbilo C_{1-6} , hidrocarbilo C_{1-4} tal como metilo, etilo, propilo).

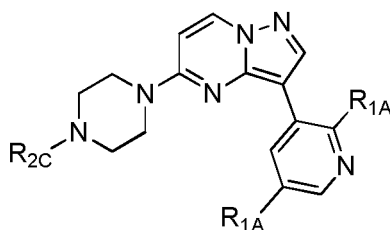
15

Algunos ejemplos concretos son de fórmula:



Otros son de la fórmula:

20



En compuestos concretos, R_{1A} es halo. En algunos, R_{1A} es $-OR_{1C}$.

25

En compuestos concretos, R_{1C} está opcionalmente sustituido con hidrocarbilo C_{1-12} (por ejemplo, hidrocarbilo C_{1-6} , hidrocarbilo C_{1-4}).

En compuestos concretos, R_{2C} es $-C(O)OR_{2D}$, $-C(O)N(R_{2D})_2$ o $-N(R_{2D})C(O)OR_{2D}$. En algunos, R_{2C} es $-C(O)R_{2D}$.

30

En compuestos concretos, R_{2D} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C_{1-12} (por ejemplo, hidrocarbilo C_{1-6} , hidrocarbilo C_{1-4}). En algunos, R_{2D} está opcionalmente sustituido con hidrocarbilo C_{1-12} , cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, ciano, halo, hidroxilo.

Los compuestos de la invención pueden tener uno o más centros asimétricos. A menos que se indique otra cosa, la presente invención incluye todos los estereoisómeros de los compuestos, así como sus mezclas. Los estereoisómeros individuales de los compuestos se pueden preparar sintéticamente a partir de materiales de partida disponibles comercialmente que contienen centros quirales o mediante la preparación de mezclas de productos enantioméricos, seguido de separación, tal como conversión a una mezcla de diastereómeros, seguido de separación o recristalización, técnicas cromatográficas o separación directa de enantiómeros en columnas de cromatografía quiral. Los compuestos de partida de estereoquímica particular están disponibles comercialmente o se pueden producir y separar por técnicas conocidas en la materia.

40

Determinados compuestos de la presente divulgación pueden existir también en diferentes formas conformacionales estables que pueden ser separables. La asimetría de torsión debida a una restricción en las rotaciones alrededor de un enlace simple asimétrico, por ejemplo las debidas al impedimento estérico o tensiones en el anillo, pueden permitir la separación de los diferentes conformeros. La presente divulgación incluye cada isómero conformacional de estos compuestos y sus mezclas.

45

Se pretende que la presente divulgación incluya todos los isótopos de los átomos que se encuentran en los presentes compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero números másicos diferentes. A modo de ejemplo general y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen deuterio y tritio.

50

Los isótopos de carbono incluyen ^{13}C y ^{14}C . Los compuestos de la invención marcados isotópicamente generalmente pueden prepararse por técnicas convencionales conocidas por los expertos en la materia o mediante procesos análogos a aquellos descritos en el presente documento, usando un reactivo adecuado marcado isotópicamente en lugar del reactivo no marcado que de otro modo se emplea. Dichos compuestos pueden tener una diversidad de usos potenciales, por ejemplo, como patrones y reactivos para determinar la actividad biológica. En el caso de los isótopos estables, dichos compuestos pueden tener el potencial de modificar favorablemente las propiedades biológicas, farmacológicas o farmacocinéticas.

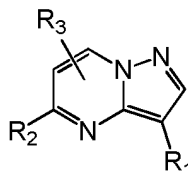
Los compuestos de la presente divulgación pueden existir en forma de sales farmacéuticamente aceptables. La expresión "sal farmacéuticamente aceptable", tal como se usa en el presente documento, representa sales o formas zwitteriónicas de los compuestos de la presente divulgación, que son solubles en agua o en aceite o dispersables, que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de los pacientes sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación acorde con una relación beneficio/riesgo razonable y son eficaces para su uso previsto. Las sales pueden prepararse durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos o por separado haciendo reaccionar un átomo de nitrógeno adecuado con un ácido adecuado. Las sales de adición de ácido representativas incluyen acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato; digluconato, dibromhidrato, diclorhidrato, diyodhidrato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, formiato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, mesitilensulfonato, metanosulfonato, naftilensulfonato, nicotinato, 2-naftalenosulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, picrato, pivalato, propionato, succinato, tartrato, tricloroacetato, trifluoroacetato, fosfato, glutamato, bicarbonato, paratoluensulfonato y undecanoato. Algunos ejemplos de ácidos que se pueden emplear para formar sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico y fosfórico y ácidos orgánicos tales como ácido oxálico, maleico, succínico y cítrico.

Pueden prepararse sales de adición de base durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos haciendo reaccionar un grupo carboxilo con una base adecuada tal como el hidróxido, carbonato o bicarbonato de un catión metálico o con amonio o una amina orgánica primaria, secundaria o terciaria. Los cationes de las sales farmacéuticamente aceptables incluyen litio, sodio, potasio, calcio, magnesio y aluminio, así como cationes de aminas cuaternarias no tóxicas tales como amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, dietilamina, etilamina, tributilamina, piridina, N,N-dimetilanilina, N-metilpiperidina, N-metilmorfolina, dicitclohexilamina, procaína, dibencilamina, N,N-dibencilfenetilamina y N,N'-dibenciletildiamina. Otras aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición de base incluyen etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperidina y piperazina.

Los compuestos particulares de la invención inhiben a AAK1 con una CI_{50} de menos de 0,1, 0,01 o 0,001 μM medida en el ensayo de placa de filtro P81 descrito más adelante en los ejemplos. Los compuestos particulares de la invención inhiben a AAK1 con una CI_{50} de menos de 0,1, 0,01 o 0,001 μM medida en el ensayo de basado en células HEK281 descrito más adelante en los ejemplos.

5.3. MÉTODOS DE SÍNTESIS

Pueden prepararse los compuestos de la presente invención (es decir, los compuestos desvelados en el presente documento) usando los métodos descritos a continuación y usando métodos conocidos para los expertos en la técnica de la química orgánica. Los compuestos de la invención se incluyen en la fórmula general:



en donde

R_1 es $\text{R}_{1\text{A}}$ o hidrocarbilo C_{1-12} opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más $\text{R}_{1\text{A}}$;

cada $\text{R}_{1\text{A}}$ es independientemente $-\text{OR}_{1\text{C}}$, $-\text{N}(\text{R}_{1\text{C}})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}_{1\text{C}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{1\text{C}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{1\text{C}})_2$, $-\text{N}(\text{R}_{1\text{C}})\text{C}(\text{O})\text{OR}_{1\text{C}}$, ciano, halo o hidrocarbilo C_{1-12} opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más $\text{R}_{1\text{B}}$;

cada $\text{R}_{1\text{B}}$ es independientemente $-\text{OR}_{1\text{C}}$, $-\text{N}(\text{R}_{1\text{C}})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}_{1\text{C}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}_{1\text{C}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{1\text{C}})_2$, $-\text{N}(\text{R}_{1\text{C}})\text{C}(\text{O})\text{OR}_{1\text{C}}$, ciano o halo;

cada $\text{R}_{1\text{C}}$ es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C_{1-12} opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más ciano, halo o hidroxilo;

R_2 es $-\text{NR}_{2\text{A}}\text{R}_{2\text{B}}$, en donde $\text{R}_{2\text{A}}$ es hidrógeno y $\text{R}_{2\text{B}}$ está opcionalmente sustituido con hidrocarbilo C_{1-12} o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más $\text{R}_{2\text{C}}$;

o R_{2A} y R_{2B} se toman juntos para formar un heterociclo de 4-7 miembros opcionalmente sustituido con uno o más R_{2C} ;

cada R_{2C} es independientemente $-OR_{2D}$, $-N(R_{2B})_2$, $-C(O)R_{2D}$, $-C(O)OR_{2D}$, $-C(O)N(R_{2D})_2$, $-N(R_{2D})C(O)OR_{2D}$, ciano, halo o hidrocarbilo C_{1-12} opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más amino, ciano, halo, hidroxilo o R_{2D} ;

cada R_{2D} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C_{1-12} opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, ciano, halo o hidroxilo; y

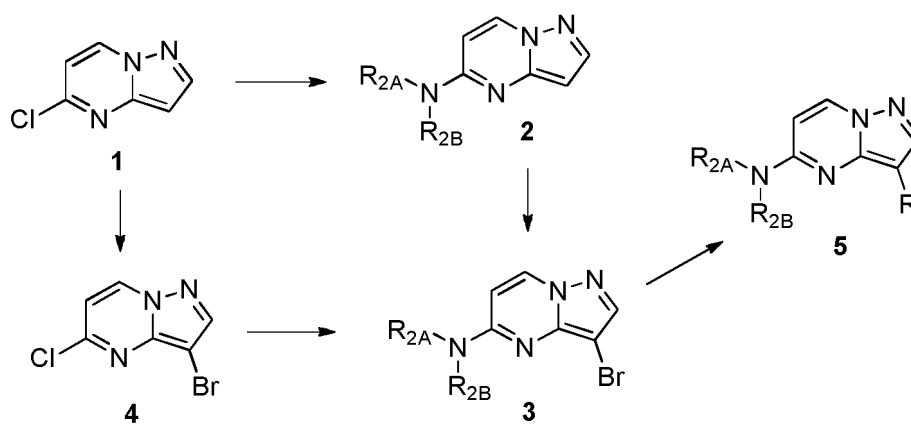
R_3 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido con uno o más de ciano, halo o hidroxilo y se incluyen todas sus sales;

los presentes compuestos pueden prepararse por los métodos indicados a continuación.

Los compuestos de la fórmula mostrada anteriormente pueden prepararse por los métodos indicados a continuación.

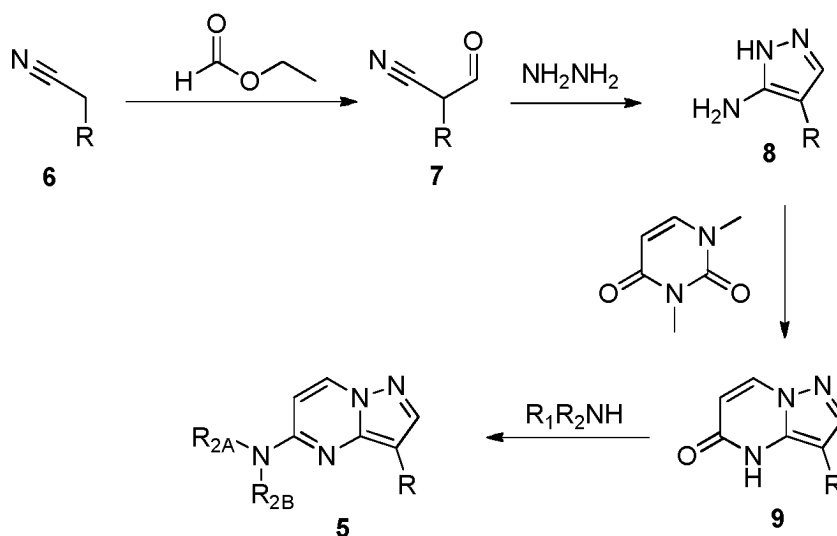
En el esquema 1, el cloro de un compuesto de fórmula 1 se desplaza con una amina para producir 2. La bromación de 2 proporciona 3. Como alternativa, puede bromarse primero 1 para proporcionar 4 y a continuación se desplaza la amina para dar 3. El acoplamiento de Suzuki de 3 con un ácido borónico apropiado $[R_1B(OH)_2]$ proporciona compuestos de fórmula 5.

Esquema 1

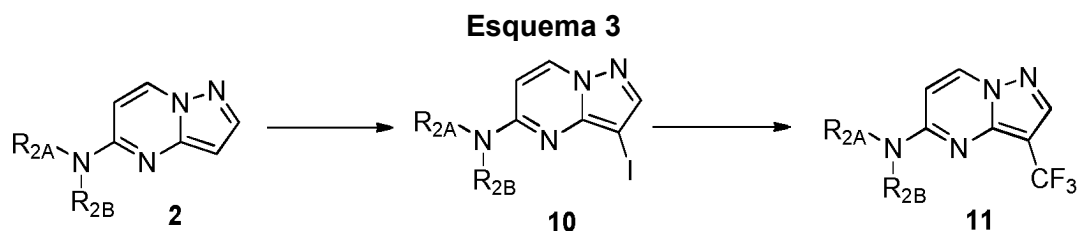


En el esquema 2, se hace reaccionar el acetonitrilo sustituido 6 con formiato de etilo para proporcionar 7. La condensación de 7 con hidrato de hidrazina proporciona 8. La reacción de 8 con 1,3-dimetilpirimidin-2,4(1H,3H)-diona proporciona 9. La reacción adicional de 9 con amina proporciona compuestos de fórmula 5.

Esquema 2



En el esquema 3, el compuesto con la fórmula 10 puede prepararse haciendo reaccionar 2 con NIS. La reacción de 10 con 2,2-difluoro-2-(fluorosulfonyl)acetato de metilo proporciona compuestos con la fórmula 11.



5.4. MÉTODOS DE USO

5 Un aspecto de la presente divulgación que se refiere a la invención reivindicada abarca métodos para inhibir la cinasa 1 asociada con adaptador (AAK1) tanto *in vitro* como *in vivo*, que comprenden poner en contacto AAK1 con un compuesto de la invención.

10 Otro aspecto abarca métodos para tratar y controlar enfermedades y trastornos mediados por la actividad de AAK1. Las enfermedades y trastornos mediados por la actividad de AAK1 son enfermedades y trastornos que tienen al menos un síntoma, cuya gravedad o manifestación está afectada por la actividad de AAK1. Se cree que algunos ejemplos de dichas enfermedades y trastornos incluyen la enfermedad de Alzheimer, el trastorno bipolar, dolor, la enfermedad de Parkinson y esquizofrenia (incluyendo los déficits cognitivos en la esquizofrenia). Los métodos
15 particulares comprenden administrar a un paciente (un ser humano u otro mamífero) que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un inhibidor de AAK1 (por ejemplo, un compuesto divulgado en el presente documento).

20 Otro aspecto de la divulgación relativo a la presente invención abarca un método para tratar o controlar una enfermedad o trastorno, que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéutica o profilácticamente eficaz de un inhibidor de AAK1, en donde la enfermedad o el trastorno es enfermedad de Alzheimer, trastorno bipolar, dolor, enfermedad de Parkinson y esquizofrenia (incluyendo los déficits cognitivos en la esquizofrenia). Los tipos de dolor particulares incluyen dolor crónico, dolor agudo y dolor neuropático. Los tipos
25 específicos de dolor neuropático incluyen fibromialgia y neuropatía periférica (por ejemplo, neuropatía diabética).

30 Cuando se usan para tratar o controlar una enfermedad o trastorno, los compuestos de la invención se administran preferentemente como parte de una composición farmacéutica que comprende uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

35 Las composiciones o formulaciones farmacéuticas pueden presentarse en formas farmacéuticas unitarias que contienen una cantidad predeterminada de principio activo por dosis unitaria. Son habituales en monoterapia niveles de dosis de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 250 miligramos por kilogramo ("mg/kg") de peso corporal por día, preferentemente, de entre aproximadamente 0,05 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por día de los compuestos de la presente divulgación para la prevención y el tratamiento de enfermedades.
40 Normalmente, las composiciones farmacéuticas de esta divulgación se administrarán de aproximadamente 1 a aproximadamente 5 veces por día o como alternativa, como una infusión continua. Dicha administración puede utilizarse como tratamiento crónico o agudo. La cantidad de principio activo que puede combinarse con los materiales transportadores para producir una forma farmacéutica unitaria variará dependiendo de la dolencia que se esté tratando, de la gravedad de la afección, del tiempo de administración, de la vía de administración, de la tasa de excreción del compuesto empleado, de la duración del tratamiento y de la edad, el género, el peso y el estado del paciente. Las formulaciones farmacéuticas unitarias preferidas son las que contienen una dosis o una subdosis diaria, como se ha citado anteriormente en el presente documento o una fracción adecuada de la misma, de un principio activo. El tratamiento puede iniciarse con pequeñas dosis sustancialmente menores que la dosis óptima del compuesto. Posteriormente, la dosificación se aumenta en pequeñas cantidades hasta que se alcanza el efecto
45 óptimo en las circunstancias dadas. En general, el compuesto se administra de forma más deseable a un nivel de concentración que proporcionará generalmente resultados eficaces sin producir ningún efecto secundario perjudicial o dañino.

50 Los compuestos de la invención pueden administrarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adecuados. Por ejemplo, cuando se usan para el tratamiento del dolor, algunos agentes adicionales incluyen agentes inmunosupresores y antiinflamatorios.

55 Algunos inmunosupresores adecuados para su uso en los métodos y composiciones relativos a la presente invención incluyen los conocidos en la técnica. Algunos ejemplos incluyen aminopterina, azatioprina, ciclosporina A, D-penicilamina, sales de oro, hidroxycloquina, leflunomida, metotrexato, minociclina, rapamicina, sulfasalazina, tacrolimus (FK506) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Un inmunosupresor particular es el metotrexato.

60 Algunos ejemplos adicionales incluyen anticuerpos anti-TNF, tales como adalimumab, certolizumab pegol, etanercept e infliximab. Otros incluyen bloqueantes de interleucina-1, tales como anakinra. Otros incluyen

anticuerpos anti-linfocitos B (CD20), tales como rituximab. Otros incluyen bloqueantes de la activación de linfocitos T, tales como abatacept.

5 Algunos ejemplos adicionales incluyen inhibidores de inosina monofosfato deshidrogenasa, tales como micofenolato mofetilo (CellCept®) y ácido micofenólico (Myfortic®).

Algunos fármacos antiinflamatorios adecuados para su uso en los métodos y composiciones relativos a la presente invención incluyen los conocidos en la técnica. Algunos ejemplos incluyen glucocorticoides y AINE.

10 Son ejemplos de glucocorticoides aldosterona, beclometasona, betametasona, cortisona, desoxicorticosterona, dexametasona, fludrocortisonas, hidrocortisona, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, triamcinolona y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15 Algunos ejemplos de AINE incluyen salicilatos (por ejemplo, aspirina, amoxiciprina, benorilato, salicilato de magnesio y colina, diflunisal, faislamina, salicilato de metilo, salicilato de magnesio, salicilato de salicilo y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), ácidos arilalcanoicos (por ejemplo, diclofenaco, aceclofenaco, acemetacina, bromfenaco, etodolaco, indometacina, nabumetona, sulindaco, tolmentina y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), ácidos arilpropiónicos (por ejemplo, ibuprofeno, carprofeno, fenbufeno, fenoprofeno, flurbiprofeno, ketoprofeno, ketorolaco, loxoprofeno, naproxeno, oxaprozina, ácido tiaprofénico, suprofen y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), ácidos arilantranílicos (por ejemplo, ácido meclofenámico, ácido mefenámico y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), derivados de pirazolidina (por ejemplo, azapropazona, metamizol, oxifenbutazona, fenilbutazona, sulfiprazona y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), oxicams (por ejemplo, lornoxicam, meloxicam, piroxicam, tenoxicam y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos), inhibidores de COX-2 (por ejemplo, celecoxib, etoricoxib, lumiracoxib, parecoxib, rofecoxib, valdecoxib y sales farmacéuticamente aceptable de los mismos) y sulfonilamidas (por ejemplo, nimesulida y a sales farmacéuticamente aceptables de la misma).

20 Otros agentes usados en el tratamiento del dolor (incluyendo, pero sin limitación, dolor neuropático e inflamatorio) incluyen agentes tales como pregabalina, lidocaína, duloxetina, gabapentina, carbamazepina, capsaicina y otros inhibidores de la recaptación de serotonina/norepinefrina/dopamina y opiáceos (tales como oxiconina, morfina y codeína).

30 En el tratamiento del dolor causado por una enfermedad o afección conocida, tal como la diabetes, infección (por ejemplo, infección por herpes zóster o por VIH) o cáncer, pueden administrarse compuestos de la invención en combinación con uno o más agentes terapéuticos o profilácticos adicionales dirigidos contra la enfermedad o afección subyacente. Por ejemplo, cuando se usan para tratar la neuropatía diabética, pueden administrarse compuestos de la invención en combinación con uno o más agentes antidiabéticos, agentes antihiper glucémicos, agentes hipolipidémicos/reductores de lípidos, agentes antiobesidad, agentes antihipertensivos y supresores del apetito. Algunos ejemplos de agentes antidiabéticos incluyen biguanidas (por ejemplo, metformina, fenoformina), inhibidores de glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, miglitol), insulinas (incluyendo secretagogos de insulina y sensibilizantes a la insulina), meglitinidas (por ejemplo, repaglinida), sulfonilureas (por ejemplo, glimepirida, gliburida, gliclazida, clorpropamida y glipizida), combinaciones de biguanida/gliburida (por ejemplo, Glucovance), tiazolidindionas (por ejemplo, troglitazona, rosiglitazona y pioglitazona), agonistas de PPAR-alfa, agonistas de PPAR-gamma, agonistas de PPAR alfa/gamma duales, inhibidores de glucógeno fosforilasa, inhibidores de la proteína de unión a ácidos grasos (aP2), péptido-1 similar a glucagón (GLP-1) u otros agonistas del receptor de GLP-1, inhibidores de dipeptidil peptidasa IV (DPP4) e inhibidores del cotransportador 2 de sodio-glucosa (SGLT2) (por ejemplo, dapagliflozina, canagliflozina y LX-4211).

50 5.5. COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

Las formulaciones farmacéuticas pueden adaptarse para su administración por cualquier vía adecuada, por ejemplo, por la vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica), vaginal o parenteral (incluyendo inyecciones o infusiones subcutáneas, intracutáneas, intramusculares, intraarticulares, intrasinoviales, intraesternales, intratecales, intralesionales, intravenosas o intradérmicas). Dichas formulaciones pueden prepararse mediante cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo, asociando el principio activo con los vehículos o excipientes. Se prefiere la administración oral o la administración por inyección.

60 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración oral pueden presentarse como unidades individuales, tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o batidos comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones de agua en aceite.

65 Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o una cápsula, el componente de fármaco activo puede combinarse con un transportador inerte oral, no tóxico, farmacéuticamente aceptable, tal como etanol, glicerol, agua y similares. Los polvos se prepararon triturando el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y

mezclándolo con un transportador farmacéutico triturado de forma similar tal como un hidrato de carbono comestible, tal como, por ejemplo, almidón o manitol. Pueden estar también presentes agentes aromatizantes, conservante, dispersantes y colorantes.

5 Las cápsulas se producen preparando una mezcla en polvo, como se ha descrito anteriormente y rellenando vainas de gelatina formadas. Se pueden añadir agentes deslizantes y lubricantes, tales como sílice coloidal, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido a la mezcla de polvo antes de la operación de relleno. Se puede añadir también un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio para mejorar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

10 Además, cuando se desee o sea necesario, también pueden incorporarse a la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas, tales como goma arábiga, tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol y similares. Los lubricantes
15 usados en estas formas farmacéuticas incluyen oleato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla de polvo, granulando o aglomerando, añadiendo un lubricante y disgregante y prensando para formar comprimidos. Una mezcla de polvo se prepara mezclando el compuesto, triturado de forma adecuada, con un diluyente o base como se ha descrito anteriormente y opcionalmente, con un
20 aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinil pirrolidona, una solución retardante tal como parafina, un acelerador de la resorción tal como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla de polvo puede granularse humectándola con un aglutinante, tal como un jarabe, pasta de almidón, mucílago de acacia o soluciones de materiales celulósicos o poliméricos y forzándola a pasar a través de un tamiz. Como una alternativa a la granulación, la mezcla de polvo se puede
25 procesar a través de la empastilladora y el resultado son piezas brutas formadas imperfectamente rotas en gránulos. Los gránulos pueden lubricarse para impedir que se adhieran a los moldes para la formación de comprimidos mediante la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral. A continuación, la mezcla lubricada se comprime formando comprimidos. Los compuestos de la presente divulgación también pueden combinarse con un vehículo inerte de flujo libre y se comprimen en forma de comprimidos directamente sin pasar por
30 los pasos de granulación o aglomeración. Se puede proporcionar un revestimiento protector transparente u opaco que consiste en un revestimiento sellador de goma laca, un revestimiento de azúcar o material polimérico y un revestimiento de barniz de cera. Se pueden añadir colorantes a estos revestimientos para distinguir diferentes dosificaciones unitarias.

35 Pueden prepararse fluidos orales, tales como soluciones, jarabes y elixires en forma farmacéutica unitaria, de tal forma que una cantidad dada contiene una cantidad predeterminada del compuesto. Se pueden preparar jarabes disolviendo el compuesto en una solución acuosa aromatizada adecuada, mientras que los elixires se preparan mediante el uso de un vehículo no tóxico. Pueden añadirse también solubilizantes y emulsionantes tales como alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de sorbitol polioxi-etileno, conservantes, aditivos aromatizantes tales como
40 aceite de menta piperita o edulcorantes naturales, o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

Cuando sea adecuado, las formulaciones farmacéuticas unitarias para la administración oral pueden microencapsularse. La formulación también puede prepararse para prolongar o mantener la liberación, tal como, por
45 ejemplo, recubriendo o incluyendo el material en partículas en polímeros, cera o similares.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, también pueden administrarse en forma de sistemas de administración liposómicos, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Los liposomas pueden formarse a partir de una variedad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

50 Los compuestos de fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos también pueden suministrarse mediante el uso de anticuerpos monoclonales como portadores individuales a los que se acoplan las moléculas del compuesto. Los compuestos también pueden acoplarse con polímeros solubles como vehículos farmacológicos direccionables. Dichos polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamidafenol, polihidroxietilaspártamidafenol o polietilenoóxido polilisina sustituidos con restos de palmitoilo. Además, los compuestos pueden acoplarse a una clase de polímeros biodegradables útiles para lograr una liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, poliépsilon caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque de hidrogeles reticulados o anfipáticos.

60 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración transdérmica pueden presentarse como parches individuales previstos para permanecer en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un periodo prolongado de tiempo. Por ejemplo, el principio activo puede suministrarse a través del parche mediante iontoforesis, tal como se describe de manera general en Pharmaceutical Research 1986, 3(6), 318.

65 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica pueden formularse como pomadas,

cremas, suspensiones, lociones, polvos, soluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración rectal pueden presentarse como supositorios o como enemas.

5 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración nasal, en donde el vehículo es un sólido, incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 20 a 500 micrómetros que se administran por aspiración por la nariz, *es decir*, mediante inhalación rápida a través de las fosas nasales a partir de un envase con el polvo sujetado cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas en donde el vehículo es un líquido, para su administración como aerosol nasal o gotas nasales, incluyen soluciones acuosas o soluciones oleosas del principio activo.

15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para su administración por inhalación incluyen partículas finas de polvo o nebulizaciones, que pueden generarse mediante diversos tipos de aerosoles, nebulizadores o insufladores de dosis medida.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol.

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen disoluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del destinatario previsto; y suspensiones acuosas y no acuosas estériles que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las formulaciones pueden presentarse en contenedores monodosis o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados y pueden almacenarse en un estado criodesecado (liofilizado) que requiere únicamente de la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Se pueden preparar soluciones y suspensiones para inyección improvisada a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

30 Debe entenderse que además de los ingredientes particularmente mencionados anteriormente, las formulaciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, los adecuados para la administración oral pueden incluir agentes saborizantes.

5.6. EJEMPLOS

35 Ciertos aspectos de la invención podrán entenderse a partir de los siguientes ejemplos.

5.6.1. Ratones *knockout* para AAK1

40 Se prepararon ratones homocigotos (-/-) para la supresión de AAK1 mediante dos métodos; atrapamiento génico y recombinación de homólogos.

45 El atrapamiento génico es un método de mutagénesis por inserción aleatoria que usa un fragmento de ADN que codifica un indicador o un marcador de selección como mutágeno. Se han diseñado vectores de atrapamiento génico para que se integren en intrones o genes de un modo que permite que la maquinaria de corte y empalme celular corte y empalme los exones codificados por el vector en ARNm celulares. Habitualmente, los vectores de atrapamiento génico contienen secuencias de marcador de selección que van precedidas de secuenciasceptoras de corte y empalme fuertes y no están precedidas por un promotor. Por lo tanto, cuando dichos vectores se integran en un gen, la maquinaria de corte y empalme celular corta y empalma los exones del gen atrapado en el extremo 5' de la secuencia de marcador de selección. Normalmente, dichos genes marcadores de selección pueden expresarse únicamente si el vector que codifica el gen se ha integrado en un intrón. Posteriormente, se identifican los eventos de atrapamiento génico resultantes seleccionando células que pueden sobrevivir a un cultivo selectivo.

55 Se mutaron células madre embrionarias (células Lex-1 procedentes de la cepa murina A129) mediante un proceso que implica la inserción de al menos una porción de una secuencia génica diseñada por ingeniería genética en el gen de interés, las células madre embrionarias mutadas se microinyectaron en blastocistos que posteriormente se introdujeron en hospedadores hembra pseudopreñadas que se llevaron a término usando métodos establecidos. Véase, por ejemplo, "Mouse Mutagenesis", 1998, Zambrowicz et al., eds., Lexicon Press, The Woodlands, TX. Los animales quiméricos resultantes se cruzaron posteriormente para producir descendencia capaz de transmitir por la línea germinal un alelo que contenía la mutación diseñada por ingeniería genética en el gen de interés.

60 Los ratones con supresión génica de AAK1 también se produjeron mediante recombinación de homólogos. En este caso, se eliminó el segundo exón codificante del gen de AAK1 murina (véase el número de referencia de GenBank NM_177762) mediante métodos conocidos en la técnica. Véanse, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos n.º 5.487.992, 5.627.059 y 5.789.215.

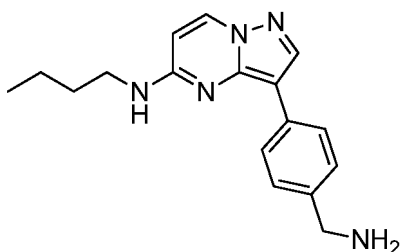
65 Se estudió a ratones homocigotos (-/-) para la supresión del gen de AAK1 conjuntamente con ratones heterocigotos

(+/-) para la supresión del gen de AAK1 y compañeros de camada de tipo silvestre (+/+). Durante este análisis, se sometió a los ratones a una exploración médica usando un conjunto integrado de procedimientos diagnósticos médicos diseñados para evaluar la función de los sistemas orgánicos principales en un sujeto mamífero. Los ratones "knockout" homocigotos (-/-) se estudiaron junto con sus compañeros de camada heterocigotos (+/-) y de tipo silvestre (+/+). La supresión del gen AAK1 se confirmó mediante análisis de Southern. La expresión del homólogo murino de AAK1 se detectó mediante RT-PCR en cerebro murino; médula espinal; ojo; timo; bazo; pulmón; riñón; hígado; músculo esquelético; hueso; estómago, intestino delgado y colon; corazón; tejido adiposo; pulmón asmático; hígado LPS; sangre; corazón bandeado; árbol aórtico; próstata; y glándula mamaria (virgen de 5 semanas, virgen madura, 12 DPC, 3 días después del parto (lactante), 3 días después del destete (involución temprana) y 7 días después del destete (involución tardía)).

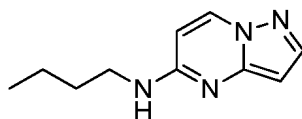
Los ratones homocigotos (-/-) para AAK1 y sus compañeros de camada de tipo silvestre (+/+) se evaluaron usando la prueba de formalina en la pata para evaluar sus respuestas nociceptivas agudas y tónicas. Para estas pruebas, se usaron analizadores de la nocicepción automáticos (adquiridos de Ozaki Lab, en la University of California, San Diego). Se colocó una banda metálica alrededor de la pata trasera izquierda de cada ratón 30 minutos antes de la prueba. Después del periodo de aclimatación de 30 minutos, se inyectaron por vía subcutánea 20 µl de formalina al 5% en la superficie dorsal de la pata trasera izquierda. Se alojó a los ratones de manera individual en cámaras cilíndricas durante 45 minutos. Se registró en un ordenador el número de gestos de dolor por minuto, lo gestos de dolor totales para la fase I (fase aguda = primeros 8 minutos) y los gestos de dolor totales para la fase II (fase tónica = tiempo entre los 20 - 40 minutos) mediante un campo electromagnético. Véase Yaksh TL, Ozaki G, McCumber D, Rathbun M, Svensson C, Malkmus S, Yaksh MC. An automated flinch detecting system for use in the formalin nociceptive bioassay. *J Appl Physiol.*, 2001; 90:2386-402.

Tal como se muestra en la figura 1, los datos de la fase 1 y la fase 2 se obtuvieron usando ratones hembra homocigotos (-/-) (n = 16), hembras de tipo silvestre (n = 15), ratones macho homocigotos (-/-) (n = 9) y machos de tipo silvestre (n = 18). En todos los grupos y en ambas fases, los ratones homocigotos (-/-) para AAK1 mostraron significativamente menos gestos de dolor en la pata registrados que sus compañeros de camada de tipo silvestre (+/+).

30 5.6.2. Síntesis de [3-(4-aminometil-fenil)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-butil-amina

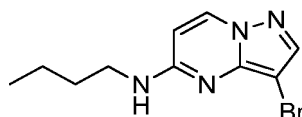


35 Parte A. Butil-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il-amina



Una solución de 5-cloro-pirazolo[1,5-a]pirimidina [29274-24-] (955,4 mg, 6,2 mmol) en butilamina [109-73-9] (6,2 ml, 62,7 mmol), en atmósfera de N₂, se agitó magnéticamente a 65 °C durante 17 h, después se repartió entre salmuera (el pH se ajustó a 10 con bicarbonato sódico acuoso saturado) y acetato de etilo. El extracto separado en fases se secó (MgSO₄) y se diluyó con heptano para precipitar butil-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il-amina en forma de 1,2 g de polvo de color amarillo, pf. 75-76 °C. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,91 (t, *J*=7,33 Hz, 3 H) 1,37 (dc, *J*=15,00, 7,29 Hz, 2 H) 1,47 - 1,59 (m, 2 H) 3,24 - 3,34 (m, 2 H) 5,94 (d, *J*=1,52 Hz, 1 H) 6,22 (d, *J*=7,58 Hz, 1 H) 7,35 (s a, 1 H) 7,74 (d, *J*=2,27 Hz, 1 H) 8,40 (d, *J*=7,58 Hz, 1 H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 13,69, 19,71, 30,65, 91,00, 99,95, 134,70, 143,45, 148,37, 155,43. LRMS (IEN) *m/z* 191,1 [(M+H)⁺], calculado para C₁₀H₁₄N₄: 190,25

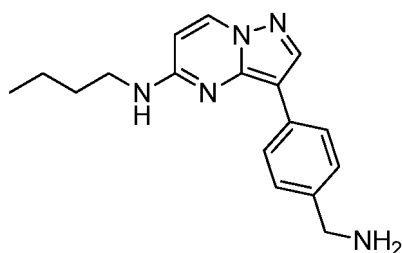
45 Parte B. (3-bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-butil-amina



50 Se añadió acetato de sodio [127-09-3] (0,7 g, 8,9 mmol) a una solución de butil-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-ilamina (1,1

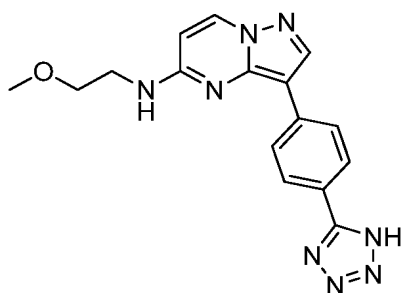
g, 5,9 mmol) en ácido acético glacial (100 ml) y se dejó en agitación a temperatura ambiente hasta que el sólido se disolvió completamente. Se añadió bromo [7726-95-6] (0,3 ml, 6,4 mmol) gota a gota a temperatura ambiente, tamponado a la solución de reacción de ácido acético durante 5 minutos. La suspensión se dejó en agitación durante otros 15 minutos hasta que se completó la adición de bromo, después se vertió lentamente en 500 ml de agua en agitación. Se añadió bicarbonato sódico acuoso saturado a la suspensión en agitación hasta que se determinó que el pH del sobrenadante era aproximadamente 8 mediante un papel de PH, después, la suspensión se extrajo con acetato de etilo. El extracto se secó (MgSO₄) y se sometió a cromatografía ultrarrápida (gel de sílice eluido con acetato de etilo al 60% (v/v) / heptano) para proporcionar 1,2 g de un sólido de color blanquecino, pf. 94-95 °C. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,93 (t, *J*=7,33 Hz, 3 H) 1,31 - 1,44 (m, 2 H) 1,56 (quin, *J*=7,20 Hz, 2 H) 3,31 - 3,38 (m, 2 H) 6,28 (d, *J*=7,58 Hz, 1 H) 7,61 (t, *J*=5,05 Hz, 1 H) 7,85 (s, 1 H) 8,42 (d, *J*=7,58 Hz, 1 H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 13,67, 19,64, 30,53, 76,99, 100,87, 135,14, 143,03, 145,13, 156,09. LRMS (IEN) *m/z* 269,0/271,0 [(M+H)⁺], calc. para C₁₀H₁₃BrN₄: 269,15.

Parte C. [3-(4-aminometil-fenil)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-butil-amina

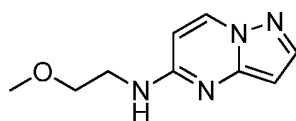


A una mezcla de (3-bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-butil-amina (350,3 mg, 1,3 mmol), ácido 4-aminometilfenilborónico, clorhidrato [75705-21-4] (337,1 mg, 1,8 mmol), fosfato de potasio tribásico monohidrato [27176-10-9] (601,6 mg, 2,6 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino) ferroceno] dicloropaladio (N), complejo con diclorometano [95464-05-4] (117,2 mg, 0,1 mmol) contenida en un matraz de fondo redondo de 50 ml se le añadió una solución de agua en 1,2-dimetoxietano (25 ml) al 30% (v/v) y una barra de agitación magnética. El recipiente de reacción se ajustó a un condensador de reflujo, se metió en un baño de aceite a temperatura ambiente y el sistema se sometió a 10 ciclos de vaciado/atmósfera de N₂ mientras se agitaba rápidamente. La reacción en agitación rápida, en atmósfera de N₂ se calentó en un baño de aceite a 85 °C de temperatura durante 17 h, después se enfrió y se dividió entre salmuera y acetato de etilo. El extracto separado en fases se secó (MgSO₄) y se evaporó para proporcionar un aceite de color pardo que se purificó por RP-HPLC preparativa para producir 71,9 mg de sal de monoacetato de [3-(4-aminometil-fenil)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-butil-amina en forma de un sólido de color blanco, pf. 171-172 °C. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 0,97 (t, *J*=7,39 Hz, 3 H) 1,43 (sxt, *J*=7,36 Hz, 2 H) 1,64 (quin, *J*=7,17 Hz, 2 H) 3,43 (c, *J*=6,47 Hz, 2 H) 3,71 - 3,84 (m, 2 H) 6,29 (d, *J*=7,50 Hz, 1 H) 7,34 (m, *J*=8,16 Hz, 2 H) 7,62 - 7,71 (m, 1 H) 8,05 (m, *J*=7,94 Hz, 2 H) 8,32 (s, 1 H) 8,46 (d, *J*=7,50 Hz, 1 H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 13,03, 14,11, 19,63, 29,11, 30,33, 44,34, 45,62, 103,75, 124,02, 124,14, 126,95, 127,86, 131,85, 135,07, 137,50, 141,15, 141,36, 144,46, 155,50, 172,52. LRMS (IEN) *m/z* 296,1 [(M+H)⁺], calculado para C₁₇H₂₁N₅: 295,39.

5.6.3. Síntesis de (2-metoxi-etil)-[3-[4-(1H-tetrazol-5-il)-fenil]-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-amina



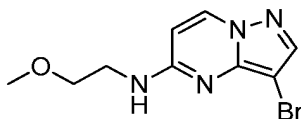
Parte A. N-(2-metoxietil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina



Una mezcla agitada de 5-cloro-pirazolo[1,5-a]pirimidina [29274-24-6], (525,5 mg, 3,4 mmol) y 2-metoxietilamina (3,0 ml, 34,5 mmol) se calentó a 65 °C durante 17 h, se enfrió y se repartió entre salmuera (el pH se ajustó a 8 con bicarbonato sódico acuoso saturado) y acetato de etilo. El extracto se secó (MgSO₄) y se evaporó para producir

706,4 mg de un sólido de color amarillo claro. LRMS (IEN) m/z 193,1[(M+H)]⁺, calculado para C₉H₁₂N₄O: 192,22.

Parte B. (3-bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-(2-metoxi-etil)-amina

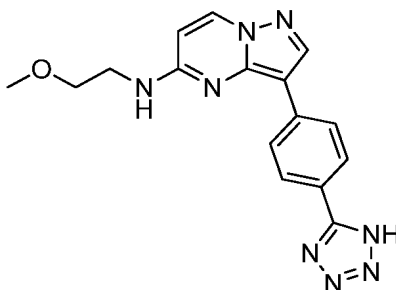


5

Se añadió acetato de sodio [127-09-3] (457,6 mg, 5,6 mmol) a una solución de N-(2-metoxietil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina (706,4 mg, 3,7 mmol) en ácido acético glacial (40 ml) y se dejó en agitación a temperatura ambiente hasta que el sólido se disolvió por completo. Se añadió bromo [7726-95-6] (0,2 ml, 3,7 mmol) a temperatura ambiente, solución de reacción de ácido acético tamponado durante 2 minutos, después la solución de reacción se vertió lentamente en agua en agitación (1 l). Se aumentó el pH mediante la adición de bicarbonato sódico sólido hasta que se determinó que el pH del sobrenadante era aproximadamente 8 según el papel tornasol. El producto precipitado se aisló por filtración, la torta de filtro se lavó con agua y se dejó secar para proporcionar 819,6 mg de un polvo de color blanco. LRMS (IEN) m/z 271,0/273,0 [(M+H)]⁺, calculado para C₉H₁₁BrN₄O: 271,12.

15

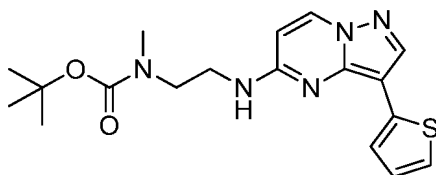
Parte C. (2-metoxi-etil)-{3-[4-(1H-tetrazol-5-il)-fenil]-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il}-amina



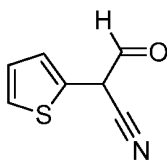
20 A una mezcla de (3-bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-(2-metoxi-etil)-amina (307,7 mg, 1,1 mmol), ácido (4-(1H-tetrazol-5-il)fenil)borónico [179942-55-3] (259,6 mg, 1,4 mmol), fosfato de potasio tribásico monohidrato [27176-10-9] (522,4 mg, 2,3 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] dicloropaladio (II), complejo con diclorometano [95464-05-4] (106,3 mg, 0,1 mmol) contenida en un matraz de fondo redondo de 50 ml se le añadió una solución de agua en 1,2-dimetoxietano (12 ml) al 30% (v/v) y una barra de agitación magnética. El recipiente de reacción se ajustó a un condensador de reflujo, se metió en un baño de aceite a temperatura ambiente y el sistema se sometió a 10 ciclos de vaciado/atmósfera de N₂ mientras se agitaba rápidamente. La reacción en agitación rápida, en atmósfera de N₂, se calentó en un baño de aceite a 85 °C de temperatura durante 4 h, después se enfrió, se diluyó con metanol y se filtró por gravedad. El filtrado se preabsorbió sobre gel de sílice y se sometió a cromatografía ultrarrápida (gel de sílice eluyendo con NH₄OH al 1% en metanol al 10% (v/v) / acetato de etilo). Las fracciones de cromatografía deseadas se combinaron, se evaporaron, se volvieron a disolver en 2-propanol y se filtraron por gravedad en heptano en agitación para precipitar un producto purificado. (2-metoxi-etil)-{3-[4-(1H-tetrazol-5-il)-fenil]-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il}-amina se aisló por filtración en forma de 96,3 mg de material sólido, pf. 264-265 °C (dec.). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 3,63 (t, *J*=4,29 Hz, 5 H) 6,41 (d, *J*=7,58 Hz, 1 H) 7,88 (s a, 1 H) 8,04 (m, *J*=8,59 Hz, 2 H) 8,31 (m, *J*=8,34 Hz, 2 H) 8,47 (s, 1 H) 8,53 (d, *J*=7,58 Hz, 1 H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 40,69, 58,48, 70,48, 100,86, 103,75, 119,86, 125,23, 127,61, 135,97, 137,08, 142,42, 145,63, 156,60, LRMS (IEN) m/z 337,2 [(M+H)]⁺, calculado para C₁₆H₁₆N₈O: 336,36.

40

5.6.4. Síntesis de éster *terc*-butílico del ácido metil-[2-(3-tiofen-2-il-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-ilamino)-etil]-carbámico

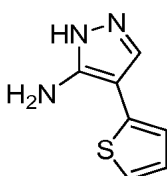


Parte A. 3-oxo-2-tiofen-2-il-propionitrilo



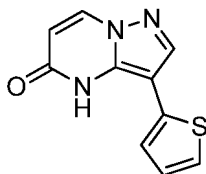
Se añadió tioen-2-il-acetonitrilo [20893-30-5] (6,7 ml, 62,6 mmol) a una solución en agitación en atmósfera de N₂, a 0 °C, de etóxido sódico al 21 % en peso (25,7 ml, 68,9 mmol) en etanol (100 ml). Después de 5 minutos, se añadió formiato de etilo [109-94-4] (12,6 ml, 156,7 mmol) y la solución resultante se agitó durante 20 minutos. Después se eliminó el baño de hielo y se sustituyó por una manta de calentamiento. La reacción se calentó a reflujo durante 2 h, se enfrió y se evaporó para proporcionar un sólido de color amarillo. El producto en bruto se disolvió en agua, la solución se enfrió a 0 °C y se acidificó con ácido clorhídrico acuoso para precipitar en un polvo de color blanquecino. El producto se aisló por filtración, se lavó con agua y se secó para proporcionar 7,4 g. LRMS (IEN) *m/z* 152,0 [(M+H)]⁺, calculado para C₇H₅NOS: 151,19

Parte B. 4-tiofen-2-il-2H-pirazol-3-ilamina



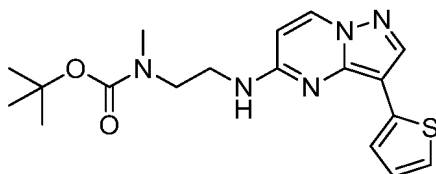
Se añadió hidrato de hidrazina [7803-57-8] (4,8 ml, 99,0 mmol) y después ácido acético [64-19-7] (5,6 ml, 97,8 mmol) a una solución de 3-oxo-2-tiofen-2-il-propionitrilo (7,4 g, 49,0 mmol) en etanol (100 ml). Después se calentó la solución a reflujo durante 2 h. La reacción enfriada se evaporó a sequedad y el sólido resultante se trituró en agua. El producto se aisló por filtración, se lavó con agua y se secó para proporcionar 4-tiofen-2-il-2H-pirazol-3-ilamina en forma de 7,1 g de un fino polvo de color blanquecino, pf. 183-184 °C. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 2,51 (s, 1 H) 7,01- 7,10 (m, 2 H) 7,27 (dd, *J*=5,05, 1,01 Hz, 1 H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 121,07, 121,47, 127,58, 135,85. LRMS (IEN) *m/z* 166,0[(M+H)]⁺, calculado para C₇H₇N₃S: 165,22.

Parte C. 3-tiofen-2-il-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-ona



Una solución al 21 % en peso de etóxido sódico en etanol (32,7 ml, 87,6 mmol) se añadió lentamente a una suspensión en agitación, a temperatura ambiente, de 4-tiofen-2-il-2H-pirazol-3-ilamina (4,1 g, 25,0 mmol) y 1,3-dimetilpirimidina-2,4(1H,3H)-diona [874-14-6] (3,9 g, 27,5 mmol) en etanol (217 ml). Según progresaba la adición, el sólido se disolvió para dar una solución de color pardo claro. La solución se calentó a reflujo durante 2 d, se dejó enfriar, después se vertió en cloruro de amonio acuoso al 5% (p/v). Se evaporó el etanol y la solución del producto de volumen reducido se enfrió, con agitación, en un baño de hielo para precipitar 3-tiofen-2-il-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-ona en forma de 3,2 g de un polvo fino cristalino de color pardo rojizo, pf. 231-232 °C. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 6,13 (s a, 1 H) 7,10 (dd, *J*=5,05, 3,54 Hz, 1 H) 7,38 - 7,46 (m, 2 H) 8,07 (s a, 1 H) 8,51- 8,73 (m, 1 H) 12,06 (s a, 1 H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 123,66, 127,71, 138,70, 142,47. LRMS (IEN) *m/z* 218,0[(M+H)]⁺, calculado para C₁₀H₇N₃OS: 217,25.

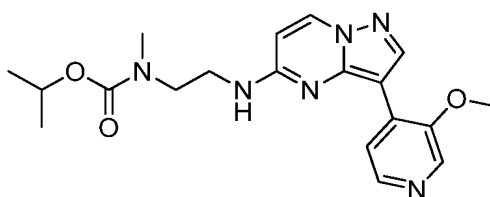
Parte D. Éster *terc*-butílico del ácido metil-[2-(3-tiofen-2-il-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-ilamino)-etil]-carbámico



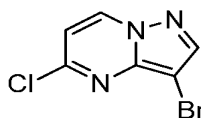
Se añadió 1,8-diazabicycloundec-7-eno (DBU) [6674-22-2] (0,4 ml, 2,5 mmol) a una solución turbia, en agitación, a temperatura ambiente, de 3-tiofen-2-il-4H-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-ona (354,3 mg, 1,6 mmol), éster *terc*-butílico del ácido (2-amino-etil)-metil-carbámico [121492-06-6] (852,2 mg, 4,9 mmol) y hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-

iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio (BOP) [56602-33-6] (937,7 mg, 2,1 mmol) en acetonitrilo (16 ml). Después de la adición del DBU, la turbidez se aclaró y la solución se dejó en agitación durante 2 d, después se repartió entre salmuera y acetato de etilo. El extracto se secó (MgSO_4) y se sometió a cromatografía ultrarrápida (gel de sílice, eluyendo con metanol al 10% (v/v) / acetato de etilo). La evaporación de las fracciones de producto proporcionó un aceite que se cristalizó en heptano para proporcionar éster *terc*-butilico del ácido metil-[2-(3-tiofen-2-il-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-ilamino)-etil]-carbámico en forma de 333,6 mg de un fino polvo cristalino de color amarillo, pf. 140-141 °C. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm (presencia de rotómeros) 1,16 - 1,28 (m, 5 H) 1,37 (s a, 3 H) 2,51 (s, 1 H) 2,85 (s a, 3 H) 3,47 (s a, 1 H) 3,55 (s a, 3 H) 6,28 (d, $J=6,82$ Hz, 1 H) 7,04 (dd, $J=5,05, 3,54$ Hz, 1 H) 7,30 (dd, $J=5,05, 1,01$ Hz, 1 H) 7,41 (s a, 1 H) 7,80 (s a, 1 H) 8,19 (s, 1 H) 8,48 (d, $J=7,07$ Hz, 1 H). RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 27,81, 27,96, 33,75, 38,41, 46,32, 78,13, 100,28, 100,76, 120,16, 121,75, 126,90, 135,01, 135,20, 140,78, 143,74, 154,91, 155,81. LRMS (IEN) m/z 374,1[(M+H)]⁺, calculado para $\text{C}_{18}\text{H}_{23}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$: 373,48.

5.6.5. Síntesis de (2-((3-(3-metoxipiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)-carbamato de isopropilo

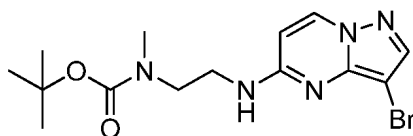


Parte A. 3-bromo-5-cloro-pirazolo[1,5-a]pirimidina



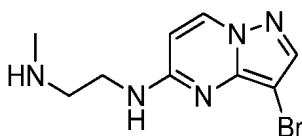
Se añadió acetato de sodio [127-09-3] (24,1 g, 293,9 mmol) a una solución de 5-cloro-pirazolo[1,5-a]pirimidina [29274-24-6], (30,1 g, 195,7 mmol) en ácido acético glacial (395 ml) y se dejó en agitación a temperatura ambiente hasta que se disolvió todo el sólido. Después se puso un baño de hielo y la solución se enfrió a 0 °C. Se añadió bromo [7726-95-6] (11,0 ml, 214,7 mmol) gota a gota en la solución de reacción de ácido acético tamponado a 0 °C durante 35 minutos, que gradualmente se convirtió en una suspensión espesa en agitación. Una vez completada la adición de bromo, la suspensión se dejó en agitación durante otros 15 minutos, después se vertió lentamente en una solución acuosa (5% p/v) (1 l) de metabisulfito de sodio [7681-57-4] y se agitó en un baño de hielo. Se añadió hidróxido de sodio sólido [1310-73-2] en gránulos a la suspensión en agitación, a una velocidad que mantenía una temperatura interna de menos de 40 °C, hasta que se determinó que el pH del sobrenadante era de aproximadamente 8 mediante papel de pH. El producto precipitado se aisló por filtración, la torta de filtro se lavó con agua y se dejó secar para proporcionar 39,8 g de un polvo de color amarillo claro, pf. 173-174 °C. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 7,22 (d, $J=7,33$ Hz, 1 H) 8,44 (s, 1 H) 9,21 (d, $J=7,07$ Hz, 1 H). RMN ^{13}C (100 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 82,84, 109,99, 138,94, 143,76, 145,61, 151,18. LRMS (IEN) m/z 231,8/233,8/235,8 [(M+H)]⁺, calculado para $\text{C}_6\text{H}_3\text{BrClN}_3$: 232,47.

Parte B. (2-((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)carbamato de *terc*-butilo



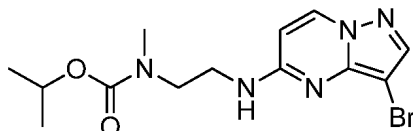
A 465 mg (2,00 mmol) de 3-bromo-5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina se le añadió (2-aminoetil)(metil)carbamato de *terc*-butilo (522 mg, 3,00 mmol), 4 ml de isopropanol y trietilamina (0,56 ml, 4,00 mmol). La mezcla resultante se calentó a 140 °C durante 0,5 h en el microondas. Se diluyó con EtOAc y se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO_4 , se concentró y se purificó en columna sobre gel de sílice eluyendo con 20 - 100% de EtOAc/Hex para obtener 607 mg (82%) del producto deseado.

Parte C. N1-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-N2-metiletan-1,2-diamina



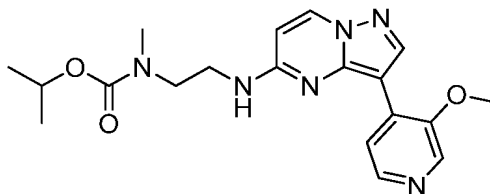
El *terc*-butoxicarbonil se eliminó resolviendo 600 mg (1,62 mmol) de (2-((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)carbamato de *terc*-butilo en 4 ml de DCM y añadiendo después 4 ml de TFA, agitando durante 0,5 h a ta y concentrando la mezcla para proporcionar la sal de TFA del producto deseado en un rendimiento del 100% (622 mg).

Parte D. (2-((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)carbamato de isopropilo



A 1,0 equivalente (384 mg, 1,000 mmol) de la amina (sal de TFA) disuelto en 20 ml de DCM se le añadió 3,0 equivalentes (368 mg, 3,000 mmol) de isopropilcloroformiato, 4,0 equivalentes trietilamina (404 mg, 4,000 mmol). La mezcla resultante se agitó a ta durante 0,5 h y después se diluyó con DCM (30 ml), se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo en bruto se purificó sobre gel de sílice (ISCO) eluyendo con 1-10% de MeOH/DCM para obtener el producto deseado (87% de rendimiento).

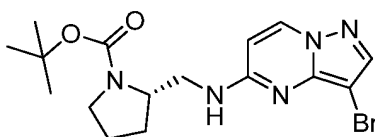
Parte E. (2-((3-(3-metoxipiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)-carbamato de isopropilo



A 80 mg (0,22 mmol) de (2-((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)-carbamato de isopropilo se le añadió ácido (3-metoxipiridin-4-il)borónico dihidrato (56 mg, 0,27 mmol), K₃PO₄ (143 mg, 0,67 mmol), PdCl₂(PPh₃)₂ (16,8 mg, 0,022 mmol), 3 ml de DME y 1 ml de agua. Esta mezcla se sometió a microondas a 140 °C durante 0,5 h. Después de un periodo de refrigeración, se diluyó con EtOAc y se lavó con agua y salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se concentró y se purificó por HPLC PREP para proporcionar el producto deseado con un rendimiento del 77% (66,4 mg). RMN ¹H (400 MHz, acetona) δ ppm 2,87 (s a, 3 H) 2,99 (s a, 3 H) 3,58 - 3,71 (m, 2 H) 3,73 - 3,82 (m, 2 H) 4,09 (s, 3 H) 4,82 (td, J=6,25, 2,91 Hz, 1 H) 6,45 (s a, 1 H) 8,21 (s a, 1 H) 8,35 (s, 1 H) 8,43 (d, J=6,06 Hz, 1 H) 8,58 (s, 1 H) 8,77 (s a, 1 H); LRMS (IEN) m/e 385,0 [(M + H)⁺, calc. para C₁₉H₂₄N₆O₃ 384,0].

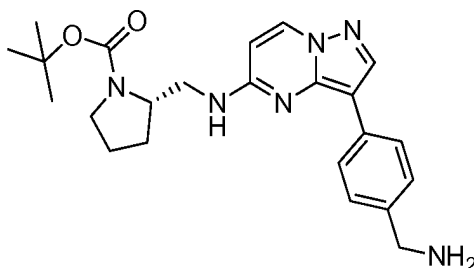
5.6.6. Síntesis de 2-((3-(4-(aminometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo

Parte A. 2-((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo



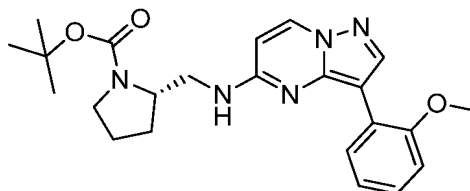
La reacción de 3-bromo-5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina y 2-(aminometil)pirrolidin-1-carboxilato de(S)-*terc*-butilo en condiciones de desplazamiento de amina se describe en el ejemplo 5.6.5 proporcionando un 74% de producto.

Parte B. 2-((3-(4-(aminometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)-pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo



El acoplamiento de Suzuki de 2-(((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo con ácido (4-(aminometil)fenil)borónico en las mismas condiciones que se han descrito en ejemplo 5.6.5 para dar un 73% del compuesto del título. RMN ¹H (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1,44 (s a, 9 H) 1,90 (dd, J=9,92, 5,51 Hz, 1 H) 1,96 - 2,11 (m, 3 H) 3,35 - 3,45 (m, 4 H) 4,07 - 4,21 (m, 3 H) 6,33 (s a, 1 H) 7,46 (d, J=8,38 Hz, 2 H) 8,19 (s a, 2 H) 8,25 - 8,36 (m, 2 H); LRMS (IEN) m/e 423,0 [(M + H)⁺, calc. para C₂₃H₃₀N₆O₂ 422,0].

5.6.7. Síntesis de 2-(((3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo



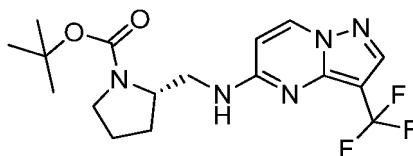
10

El acoplamiento de Suzuki de 2-(((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo con ácido (2-metoxifenil)borónico en las mismas condiciones que se han descrito en ejemplo 5.6.5 para dar un 68% del compuesto del título. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,50 (s, 9 H) 1,85 - 2,12 (m, 4 H) 3,40 (dd, J=7,58, 4,04 Hz, 2 H) 3,46 - 3,59 (m, 1 H) 3,59 - 3,67 (m, 1 H) 3,94 (s, 3 H) 4,19 (s a, 1 H) 6,07 (d, J=7,07 Hz, 1 H) 6,99 (d, J=7,58 Hz, 1 H) 7,06 (td, J=7,45, 1,01 Hz, 1 H) 7,15 - 7,22 (m, 1 H) 8,14 - 8,28 (m, 1 H) 8,45 (d, J=6,82 Hz, 1 H) 8,51 (s, 1 H); LRMS (IEN) m/e 424,0 [(M + H)⁺, calc. para C₂₃H₂₉N₅O₃ 423,0].

15

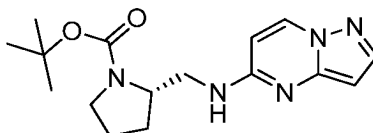
5.6.8. Síntesis de 2-(((3-(trifluorometil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo

20



Parte A. 2-((pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-ilamino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo

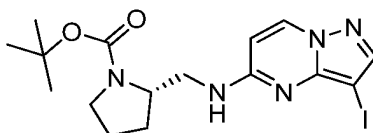
25



La 5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina disponible comercialmente se hace reaccionar con 2-(aminometil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo en condiciones de desplazamiento de amina se describen en el ejemplo 5.6.5 para dar un 96% del producto.

30

Parte B. 2-(((3-yodopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo

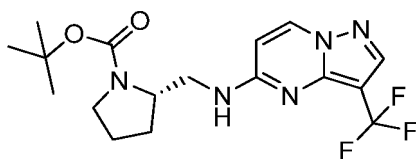


35

El 2-((pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-ilamino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-*terc*-butilo (790 mg, 2,490 mmol) se disolvió en 10 ml de DMF, se añadió NIS (617 mg, 2,740 mmol). Esta mezcla se agitó durante 4 h a ta y después se inactivó con 10 ml de agua. Después se diluyó con 50 ml de EtOAc y la capa orgánica se separó, se lavó dos veces con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Se concentró y se purificó sobre gel de sílice eluyendo con 20-100% de EtOAc/hex para obtener 1,03 g (93%) de un sólido de color blanquecino.

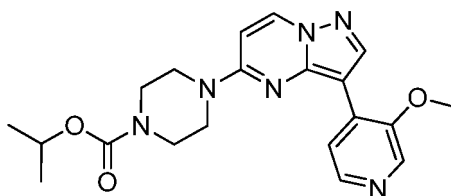
40

Parte C. 2-(((3-(trifluorometil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-isopropilo

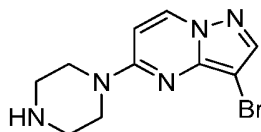


5 A 221,5 mg (0,50 mmol) del yoduro de arilo disuelto en 2 ml de DMF se le añadió 2,2-difluoro-2-(fluorosulfonil)acetato de metilo (0,77 g, 4,00 mmol), CuI (762 mg, 2,00 mmol), HMPA (0,41 ml, 3,50 mmol). Esta mezcla se agitó en un baño de aceite precalentado a 90 °C durante 0,75 h. La reacción se enfrió a ta y se inactivó con solución acuosa saturada de NH₄Cl. Se extrajo con 30 ml de EtOAc, se lavó con salmuera y se secó sobre MgSO₄. Se concentró y se purificó por la HPLC PREP para obtener 81 mg (42%) del producto deseado. RMN ¹H (400 MHz, METANOL-d₄) δ ppm 1,44 (s, 9 H) 1,86 - 1,99 (m, 3 H) 1,99 - 2,07 (m, 1 H) 3,40 (s a, 3 H) 3,61 (s a, 1 H) 4,11 (s a, 1 H) 6,37 (s a, 1 H) 7,98 (s, 1 H) 8,33 (s a, 1 H); LRMS (IEN) m/e 386,0 [(M + H)⁺, calc. para C₁₇H₂₂F₃N₅O₂ 385,0].

5.6.9. Síntesis de éster isopropílico del ácido 4-[3-(3-metoxi-piridin-4-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-piperazin-1-carboxílico

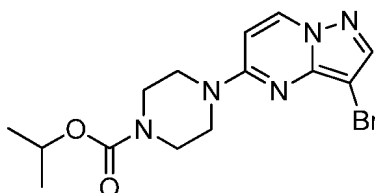


Parte A. 3-bromo-5-piperazin-1-il-pirazolo[1,5-a]pirimidina



20 3-bromo-5-cloro-pirazolo[1,5-a]pirimidina (15,4 g, 66,2 mmol) y piperazina [110-85-0] (56,8 g, 659,5 mmol) se molieron juntos en un mortero hasta una mezcla íntima y se transfirió a un matraz de fondo redondo de 250 ml que contenía una barra de agitación magnética. El matraz se ajustó a un condensador de reflujo, atmósfera de N₂ y el recipiente de reacción se sumergió en un baño de aceite a temperatura ambiente. Mientras la mezcla de sólido puro se agitaba, el baño se calentó a 120 °C durante 0,5 h y se mantuvo a la temperatura nominal durante un total de 2 h. El baño se eliminó y la reacción fundida se dejó enfriar hasta aproximadamente 75 °C. Se añadió acetato de etilo con cuidado por el condensador para evitar su transformación en una masa sólida. La solución de reacción se transfirió a un embudo de decantación, se diluyó de nuevo con acetato de etilo y se lavó con agua. El extracto de acetato de etilo se secó (MgSO₄) y se evaporó para obtener 16,1 g de un aceite de color amarillo. El aceite se cristalizó en metanol para proporcionar 15,8 g de un polvo cristalino de color amarillo claro en dos cultivos, pf. 108-109 °C. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 2,51 (s, 1 H) 3,16 - 3,24 (m, 3 H) 3,38 (s, 1 H) 3,93 - 4,00 (m, 3 H) 6,85 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 8,03 (s, 1 H) 8,78 (d, J=8,08 Hz, 1 H) 9,61 (s a, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 41,25, 42,16, 77,73, 97,78, 136,77, 144,01, 144,18, 155,53. LRMS (IEN) m/z 282,0/284,0 [(M+H)⁺, calculado para C₁₀H₁₂BrN₅:282,14.

Parte B. Éster isopropílico del ácido 4-(3-Bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-piperazin-1-carboxílico

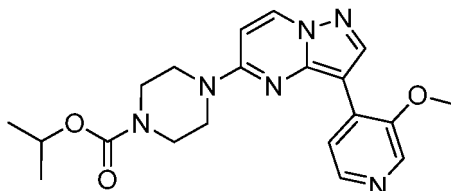


40 A una solución en agitación rápida, a 0 °C, en atmósfera de N₂, de 3-bromo-5-piperazin-1-il-pirazolo[1,5-a]pirimidina (15,8 g, 56,0 mmol) y base de Hunig [7087-68-5] (20,0 ml, 114,8 mmol) en acetato de etilo (280 ml) se le añadió de manera continua una solución 1,0 M de cloroformiato de isopropilo cloroformiato en tolueno (67,0 ml) durante el transcurso de 10 minutos. La reacción se dejó en agitación y se calentó a temperatura ambiente durante una noche, al tiempo que se lavó con salmuera, se secó (MgSO₄), se precargó sobre gel de sílice, se sometió a cromatografía (gel de sílice, eluyendo con acetato de etilo al 100%) y se cristalizó a partir de acetato de etilo / heptano para

proporcionar 13,2 g de un polvo de color blanco, pf. 78-79 °C. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,22 (d, *J*=6,32 Hz, 6 H) 3,44 - 3,54 (m, 4 H) 3,67 - 3,79 (m, 4 H) 4,82 (spt, *J*=6,23 Hz, 1 H) 6,77 (d, *J*=7,83 Hz, 1 H) 7,97 (s, 1 H) 8,69 (d, *J*=7,83 Hz, 1 H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 21,94, 42,80, 43,87, 68,17, 77,32, 97,66, 136,47, 143,87, 144,40, 154,29, 155,64. LRMS (IEN) *m/z* 368,0/370,0 [(M+H)]⁺, calculado para C₁₄H₁₈BrN₅O₂: 368,24.

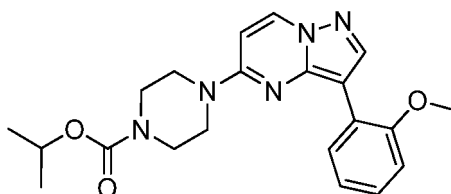
5

Parte C. Éster isopropílico del ácido 4-[3-(3-metoxi-piridin-4-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-piperazin-1-carboxílico



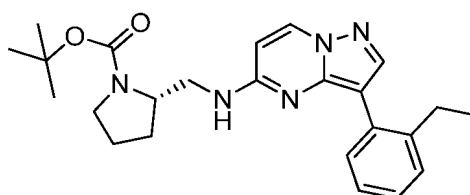
10 A una mezcla de éster isopropílico del ácido 4-(3-bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-piperazin-1-carboxílico (385,0 mg, 1,1 mmol), hidrato de ácido 3-metoxipiridin-4-borónico [1072952-50-1] (229,7 mg, 1,34 mmol), fosfato de potasio tribásico monohidrato [27176-10-9] (516,3 mg, 2,2 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano [95464-05-4] (102,4 mg, 0,1 mmol) contenida en un matraz de fondo redondo de 50 ml se le añadió una solución de agua en 1,2-dimetoxietano (25 ml) al 30% (v/v) y una barra de agitación magnética. El recipiente de reacción se ajustó a un condensador de reflujo, se metió en un baño de aceite a temperatura ambiente y el sistema se sometió a 10 ciclos de vaciado/atmósfera de N₂ mientras se agitaba rápidamente. La reacción en agitación rápida, atmósfera de N₂, se calentó en un baño de aceite a 85 °C de temperatura durante 17 h, después se enfrió y se dividió entre salmuera (el pH se ajustó a 10 con hidróxido sódico acuoso 3 N) y acetato de etilo. El extracto separado en fases se secó (MgSO₄) y se evaporó para proporcionar un aceite de color naranja que se purificó por RP-HPLC preparativa. El producto aislado se disolvió en metanol, se diluyó con ácido clorhídrico concentrado, se evaporó a sequedad, se volvió a disolver en metanol y se precipitó mediante la adición de éter dietílico. La filtración del precipitado proporcionó 100,5 mg del producto sal de monoclóridato en forma de un polvo de color amarillo. pf. 206-207 °C (dec.) RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,23 (d, *J*=6,39 Hz, 6 H) 2,51 (s, 2 H) 3,53 - 3,59 (m, 4 H) 3,85 (s a, 3 H) 4,13 (s, 3 H) 4,84 (spt, *J*=6,25 Hz, 1 H) 6,96 (d, *J*=7,94 Hz, 1 H) 8,42 (d, *J*=6,39 Hz, 1 H) 8,48 (s, 1 H) 8,76 (s, 1 H) 8,86 (d, *J*=7,94 Hz, 1 H) 9,06 (d, *J*=6,17 Hz, 1 H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 21,97, 42,79, 44,23, 57,17, 68,25, 97,56, 98,39, 120,03, 123,90, 137,27, 137,05, 137,95, 146,48, 147,00, 151,80, 154,26, 156,66. LRMS (IEN) *m/z* 397,1 [(M+H)]⁺, calculado para C₂₀H₂₄N₆O₃: 396,45.

30 **5.6.10. Síntesis de éster isopropílico del ácido 4-[3-(2-metoxi-fenil)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-piperazin-1-carboxílico**



35 Preparado de forma similar a la preparación del ejemplo 5.6.9 a partir de éster isopropílico del ácido 4-(3-bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-piperazin-1-carboxílico (385,0 mg, 1,1 mmol) y ácido 2-metoxifenilborónico [5720-06-9] (191,8 mg, 1,3 mmol) para proporcionar 76,4 mg de un polvo de color amarillo en forma de base libre, pf. 57-59 °C. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 1,22 (d, *J*=6,32 Hz, 6 H) 3,48 - 3,54 (m, 4 H) 3,68 - 3,77 (m, 4H) 3,87 (s, 3 H) 4,77 - 4,85 (m, 1 H) 6,76 (d, *J*=7,83 Hz, 1 H) 6,94 - 7,07 (m, 2 H) 7,10 - 7,18 (m, 1 H) 8,38 (dd, *J*=7,71, 1,64 Hz, 1 H) 8,43 (s, 1 H) 8,71 (d, *J*=8,08 Hz, 1 H). RMN ¹³C (100 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm 21,95, 44,07, 55,32, 68,14, 96,93, 101,10, 111,29, 120,48, 121,64, 125,83, 127,67, 136,28, 145,00, 154,31, 155,25, 155,51. LRMS (IEN) *m/z* 396,1 [(M+H)]⁺, calculado para C₂₁H₂₅N₅O₃: 395,47.

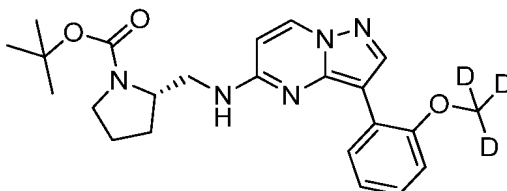
45 **5.6.11. Síntesis de 2-(((3-(2-etilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo**



El acoplamiento de Suzuki de 2-(((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-

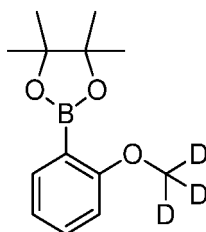
5 butilo con ácido (2-etilfenil)borónico en las mismas condiciones que se han descrito en ejemplo 5.6.5 para dar un 77% del compuesto del título. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,20 (t, J=7,58 Hz, 3 H) 1,49 (s, 9 H) 1,79 -1,95 (m, 3 H) 1,95 - 2,05 (m, 1 H) 2,82 (c, J=7,58 Hz, 2 H) 3,34 - 3,44 (m, 3 H) 3,44 - 3,53 (m, 1 H) 4,15 (s a, 1 H) 6,08 (d, J=6,82 Hz, 1 H) 7,23 - 7,31 (m, 3 H) 7,32 - 7,38 (m, 1 H) 7,51 (dd, J=7,20, 1,39 Hz, 1 H) 7,91 (s, 1 H) 8,20 (d, J=6,32 Hz, 1 H); LRMS (IEN) m/e 422,0 [(M + H)⁺, calc. para C₂₄H₃₁N₅O₂ 421,0].

5.6.12. Síntesis de 2-(((3-(2-[D3]metoxi fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo



10

Parte A. 2-(2-[D3]metoxifenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano

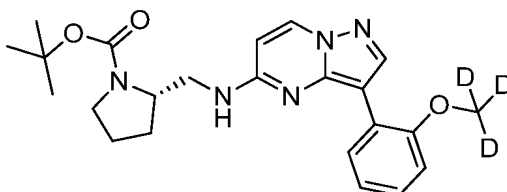


15

Al 2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenol (100 mg, 0,455 mmol) disuelto en 6 ml de DMSO se le añadió yoduro de metilo deuterado (132 mg, 0,909 mmol) seguido de NaH al 60% (22 mg, 0,909 mmol). La mezcla resultante se agitó durante una noche a ta. Se diluyó con 25 ml de EtOAc y se lavó con agua y salmuera. Se secó sobre MgSO₄ y se concentró para dar 108 mg (100%) del producto de éter.

20

Parte B. 2-(((3-(2-[D3]metoxi fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)-pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo

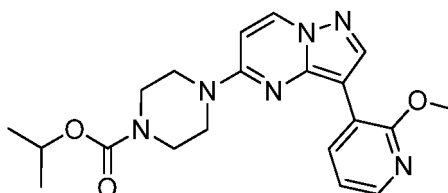


25

La reacción del 2-(2-[D3]metoxi fenil)-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano con 2-(((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-terc-butilo en condiciones de Suzuki descrita en ejemplo 5.6.5 proporcionó el compuesto del título con un rendimiento del 70%. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,51 (s, 9 H) 1,83 - 2,11 (m, 4 H) 3,40 (dd, J=7,45, 3,92 Hz, 2 H) 3,47 - 3,59 (m, 1 H) 3,59 - 3,66 (m, 1 H) 4,20 (s a, 1 H) 6,07 (d, J=7,07 Hz, 1 H) 6,96 - 7,02 (m, 1 H) 7,06 (td, J=7,52, 1,14 Hz, 1 H) 7,15 - 7,24 (m, 1 H) 8,19 (d, J=6,32 Hz, 1 H) 8,46 (d, J=6,82 Hz, 1 H) 8,51 (s, 1 H); LRMS (IEN) m/e 427,0 [(M + H)⁺, calc. para C₂₃H₂₆D₃N₅O₃ 426,0].

30

5.6.13. Síntesis de éster isopropílico del ácido 4-[3-(2-metoxi-piridin-3-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-piperazin-1-carboxílico



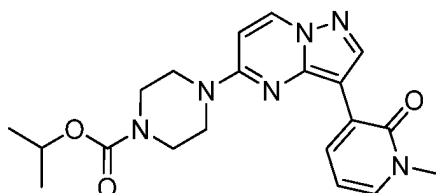
35

Preparado de forma similar a la preparación de ejemplo 5.6.9 a partir de éster isopropílico del ácido 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-piperazin-1-carboxílico (338,7 mg, 0,9 mmol) y ácido 2-metoxi-3-piridinaborónico [163105-90-6] (169,4 mg, 1,1 mmol) para proporcionar 76,0 mg de un polvo amarillo en forma de una base libre, pf. 131-132 °C. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ ppm 1,22 (d, J=6,06 Hz, 6 H) 3,47 - 3,56 (m, 4 H) 3,71 - 3,80 (m, 4 H) 4,00 (s, 3 H) 4,82 (spt, J=6,23 Hz, 1 H) 6,81 (d, J=8,08 Hz, 1 H) 7,08 (dd, J=7,45, 4,93 Hz, 1 H) 7,98 (dd, J=4,93,

40

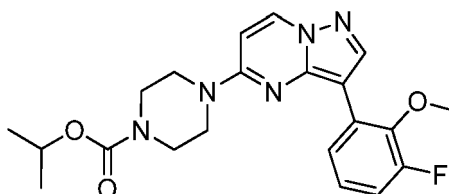
1,89 Hz, 1 H) 8,51 (s, 1 H) 8,76 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 8,82 (dd, $J=7,58, 2,02$ Hz, 1 H). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 21,95, 42,85, 44,06, 53,10, 68,16, 97,21, 98,90, 116,40, 117,17, 134,55, 136,43, 141,99, 144,65, 144,71, 154,26, 155,46, 158,89. LRMS (IEN) m/z 397,1 [(M+H)] $^+$, calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_3$ 396,45.

5 **5.6.14. Síntesis de éster isopropílico del ácido 4-[3-(1-metil-2-oxo-1,2-dihidro-piridin-3-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-piperazin-1-carboxílico**



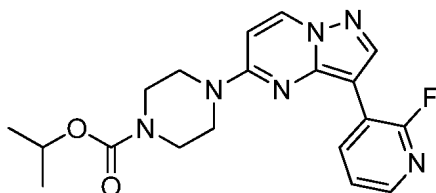
10 Preparado de forma similar a la preparación del ejemplo 5.6.9 a partir de éster isopropílico del ácido 4-(3-bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-piperazin-1-carboxílico y ácido (1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)borónico para proporcionar un polvo de color amarillo en forma de una base libre, pf. 206-207 °C. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,23 (d, $J=6,32$ Hz, 6 H) 3,53 (s, 7 H) 3,70 - 3,82 (m, 4 H) 4,83 (spt, $J=6,23$ Hz, 1 H) 6,37 (t, $J=6,82$ Hz, 1 H) 6,78 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 7,55 (dd, $J=6,57, 1,26$ Hz, 1 H) 8,64 (dd, $J=7,20, 1,14$ Hz, 1 H) 8,72 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 8,96 (s, 1 H). RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 21,97, 37,39, 42,84, 44,11, 68,16, 96,94, 100,56, 105,49, 122,80, 132,49, 135,00, 136,42, 144,40, 144,56, 154,29, 155,46, 160,29. LRMS (IEN) m/z 397,1 [(M+H)] $^+$, calculado para $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_3$: 396,45.

20 **5.6.15. Síntesis de éster isopropílico del ácido 4-[3-(3-fluoro-2-metoxi-fenil)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-piperazin-1-carboxílico**

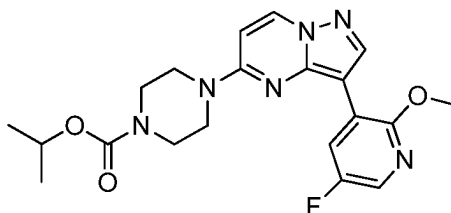


25 Preparado de manera similar a la preparación del ejemplo 5.6.9 a partir de éster isopropílico del ácido 4-(3-bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-piperazin-1-carboxílico (389,9 mg, 1,1 mmol) y ácido 3-fluoro-2-metoxifenilborónico [762287-59-2] (216,2 mg, 1,3 mmol) para proporcionar 153,8 mg de un polvo amarillo claro en forma de una base libre, pf. 52-53 °C. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 1,22 (d, $J=6,32$ Hz, 6 H) 3,49 - 3,56 (m, 4 H) 3,75 (dd, $J=6,44, 4,17$ Hz, 4 H) 3,83 (d, $J=1,01$ Hz, 3 H) 4,82 (spt, $J=6,23$ Hz, 1 H) 6,81 (d, $J=8,08$ Hz, 1 H) 7,06 (ddd, $J=11,37, 8,08, 1,52$ Hz, 1 H) 7,16 (td, $J=8,08, 5,81$ Hz, 1 H) 8,23 (dt, $J=7,89, 1,36$ Hz, 1 H) 8,42 (s, 1 H). RMN ^{19}F (377 MHz, DMSO- d_6) δ ppm -131,42. RMN ^{13}C (100 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 21,95, 42,83, 44,05, 60,38, 68,16, 97,24, 99,94, 99,98, 112,72, 112,90, 123,22, 124,06, 127,98, 136,39, 143,40, 143,51, 144,25, 144,49, 154,28, 154,63, 155,53, 157,04. LRMS (IEN) m/z 414,1 [(M+H)] $^+$, calc. para $\text{C}_{21}\text{H}_{24}\text{FN}_5\text{O}_3$: 413,46.

35 **5.6.16. Síntesis de 4-(3-(2-fluoropiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropílico**



40 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo (4 g, 10,86 mmol), hidrato del ácido 2-fluoropiridin-3-borónico (3,44 g, 21,7 mmol), carbonato potásico (4,5 g, 32,6 mmol), Pd(OAc) $_2$ (24 mg, 0,1086 mmol) y x-Phos (146 mg, 0,217 mmol) se pusieron en dioxano y agua con atmósfera de nitrógeno y se agitó a 80 °C durante 2 horas. Después la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través tapón de celite con acetato de etilo. Se redujo al vacío y se hizo pasar a través de una columna de sílice isco con hexano:acetato de etilo al 75-100%. El producto más el producto de desbromo eluyen conjuntamente, reducido al vacío. El producto se recrystalizó 3 veces con IPAC, se lavó con heptanos, se secó para conseguir 889 mg de producto. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,95 (t, $J = 2,15$ Hz, 1H), 8,78 (d, $J = 7,83$ Hz, 1H), 8,29 (d, $J = 4,29$ Hz, 1H), 8,00 (d, $J = 4,80$ Hz, 1H), 7,43 (dt, $J = 2,40, 4,99$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J = 7,83$ Hz, 1H), 4,78 - 4,87 (m, 1H), 3,73 - 3,83 (m, 4H), 3,48 - 3,58 (m, 4H), 3,31 (s, 1H), 1,22 (d, $J = 6,06$ Hz, 6H) LRMS (IEN) m/z 385 [(M+H)] $^+$, calculado para $\text{C}_{19}\text{H}_{21}\text{FN}_6\text{O}_2$: 384,42.

5.6.17. Síntesis de 4-(3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo

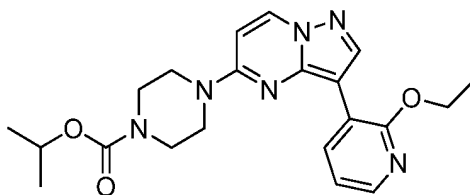
5 A un matraz de fondo redondo de 200 ml se le añadió 4,00 g (10,87 mmol) de 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo, 2,89 g (11,41 mmol) de ácido (5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)borónico, 0,38 g (0,33 mmol) de Pd(PPh₃)₄ y una varilla de agitación. Después de añadir todos los sólidos, se añadió 60 ml de solución al 2% de TPGS-750-M, seguido de la adición de 7,56 ml (54,35 mmol) de trietilamina.

10 El matraz de reacción se introdujo en un baño de aceite precalentado a 90 °C y se agitó vigorosamente. Estuvo alrededor de 0,25 h en agitación hasta que todos los sólidos suspendidos se disolvieron completamente. Se observaron varios cambios de color, el último color que permaneció durante el resto de la reacción fue un color pardo muy oscuro.

15 Después de 1,5 h, la CLEM mostró que la reacción se había completado. Se dejó enfriar a TA y se diluyó con 100 ml de EtOAc. La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo dos veces con 40 ml de EtOAc en porciones. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. Se usó un pequeño volumen de DCM para disolver la mezcla en bruto y después se cargó directamente en una columna de gel de sílice de 120 g para separación en el ISCO. Se llevó a cabo un gradiente de EtOAc al 40%/hex a EtOAc al 100% durante los primeros 25 minutos. El producto deseado no se eluyó, solo se eluyeron algunas impurezas. Sin embargo, aproximadamente a los 10 minutos de procesado con EtOAc al 100%, el producto secundario de desbromo comenzó a eluir junto con el producto deseado. Aun cuando el compuesto de desbromo se extiende a través de todas las fracciones que contienen el producto deseado, el porcentaje de producto de desbromo disminuye drásticamente en el tiempo. Por lo tanto, las fracciones iniciales que contienen los porcentajes elevados del producto de desbromo se desecharon y las fracciones restantes se concentraron para obtener 3,4 g de aproximadamente 87% de pureza a 254 nm. (con aproximadamente un 13% del compuesto de desbromo). [Basado en la RMN ¹H, el producto está sobreestimado en el UV a 254 nm e infraestimado en el UV a 220 nm]. El material se recrystalizó dos veces usando IPAC y heptanos para obtener 3,16 g (70% de rendimiento) del producto deseado con una pureza superior al 99% en el UV a 254 nm. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,31 (d, J=6,32 Hz, 6 H) 3,61 - 3,70 (m, 4 H) 3,77 (s a, 4 H) 4,08 (s, 3 H) 5,00 (quin, J=6,19 Hz, 1 H) 6,41 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 7,83 (d, J=3,03 Hz, 1 H) 8,37 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 8,63 - 8,71 (m, 2 H). LRMS (IEN) m/e 415 [(M + H)⁺, calc. para C₂₀H₂₃FN₆O₃ 414].

5.6.18. Síntesis de 4-(3-(2-etoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo

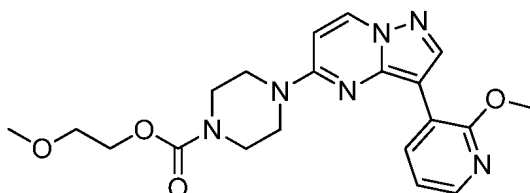
35



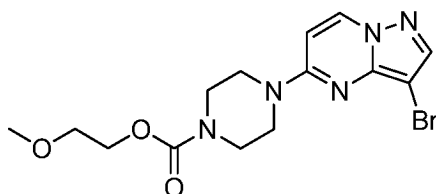
40 A un matraz de fondo redondo de 1 litro se le añadió 15,00 g (40,76 mmol) de 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo, 8,85 g (52,99 mmol) de ácido (2-etoxipiridin-3-il)borónico, 14,06 g (101,90 mmol) de K₂CO₃, 1,41 g (1,22 mmol) de P(PPh₃)₄ y una varilla de agitación. Después de añadir todos los sólidos, se añadió 200 ml de MeCN, seguido de la adición de 100 ml de agua. El matraz de reacción se introdujo en un baño de aceite precalentado a 85 °C y se agitó vigorosamente. Esta reacción se configuró a reflujo. Después de agitar a 85 °C durante aproximadamente 16 h, se dejó enfriar a TA y se diluyó con 200 ml de EtOAc. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo dos veces con porciones de 80 ml de EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. Se usó un pequeño volumen de DCM para disolver la mezcla en bruto y después se cargó directamente en una columna de gel de sílice de 750 g para separación en el ISCO-XL. Se llevó a cabo un gradiente de EtOAc al 50%/hex a EtOAc al 100% durante los primeros 35 minutos. El producto deseado no se eluyó, solo se eluyeron algunas impurezas. Sin embargo, aproximadamente a los 10 minutos de procesado con EtOAc al 100%, el producto secundario de desbromo comienza a eluir junto con el producto deseado. Aun cuando el compuesto de desbromo se extiende a través de todas las fracciones que contienen el producto deseado, el porcentaje del compuesto de desbromo parece disminuir con el tiempo. Por lo tanto, las fracciones iniciales que contienen los porcentajes elevados del producto de desbromo se desecharon y las fracciones restantes se concentraron para obtener 13,46 g de aproximadamente 86% de pureza a 254 nm. (con

aproximadamente un 14% del compuesto de desbromo). Este material se recrystalizó dos veces, usando IPAC y heptanos, para obtener 11,4 g (68%) del producto deseado. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,30 (d, J=6,32 Hz, 6 H) 1,53 (t, J=7,07 Hz, 3 H) 3,59 - 3,70 (m, 4 H) 3,70 - 3,81 (m, 4 H) 4,53 (c, J=7,07 Hz, 2 H) 5,00 (dt, J=12,44, 6,28 Hz, 1 H) 6,38 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 6,98 (dd, J=7,45, 4,93 Hz, 1 H) 8,01 (dd, J=4,93, 1,89 Hz, 1 H) 8,37 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 8,70 (s, 1 H) 8,76 (dd, J=7,45, 1,89 Hz, 1 H). LRMS (IEN) m/e 411 [(M + H)⁺, calc. para C₂₁H₂₆N₆O₃ 410].

5.6.19. Síntesis de 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo

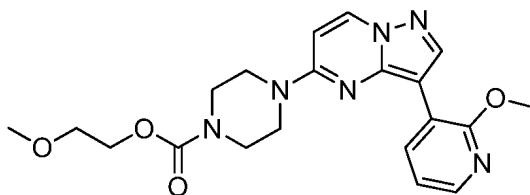


Parte A. 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo



A 10,00 g (35,44 mmol) de 3-bromo-5-(piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina disuelta en 120 ml de EtOAc, a 0 °C se le añadió 5,40 g (38,99 mmol) de carbonoclorhidrato de 2-metoxietilo, seguido de 9,86 ml (70,88 mmol) de TEA. Después de 5 minutos, el baño de hielo se retiró y la mezcla de reacción se agitó a TA. Después de 5 h, la CLEM mostró que la reacción se completó. Se diluyó con EtOAc, se inactivó con salmuera y la capa orgánica se secó sobre MgSO₄. Se concentró y se purificó en el ISCO con una columna de 330 g eluyendo con 0-9% de MeOH/DCM para obtener el producto deseado, 12,63 g (93%). RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 3,42 (s, 3 H) 3,62 - 3,69 (m, 6 H) 3,73 - 3,82 (m, 4 H) 4,26 - 4,35 (m, 2 H) 6,36 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 7,86 (s, 1 H) 8,27 (d, J=7,83 Hz, 1 H). LRMS (IEN) m/e 384 [(M + H)⁺, (doblete), calc. para C₁₄H₁₈BrN₅O₃ 383].

Parte B. 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo

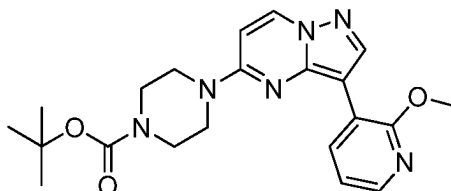


A un matraz de fondo redondo de 100 ml se le añadió 15,00 g (39,06 mmol) de 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo, 7,17 g (46,88 mmol) de ácido (2-metoxipiridin-3-il)borónico, 38 ml (273,44 mmol) de TEA, 200 ml de MeCN, se añadió 100 ml de agua, seguido de la adición de 0,21 g (0,29 mmol) de Pd-132. El matraz de reacción se introdujo en un baño de aceite precalentado a 85 °C y se agitó. Después de 1 h, se completó la reacción y se dejó enfriar a TA y después se diluyó con 200 ml de EtOAc. La capa orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo dos veces con porciones de 150 ml de EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se filtraron a través de un lecho fino de gel de sílice y el filtrado se concentró para obtener 14 g de producto sólido, [90% de producto deseado y 10% de producto de desbromo secundario, según UV a 254 nm].

El sólido resultante se sometió a tratamiento con carbón, disolviendo los 14 g en 100 ml DCE y añadiendo 500 mg de Darco. Se calentó y se agitó durante aproximadamente 1,5 h, se enfrió y se filtró a través de celite y se concentró. El producto obtenido parecía estar lo suficientemente limpio para volver a cristalizar sin someterlo a cromatografía sobre gel de sílice. La recrystalización se llevó a cabo disolviéndolo en un volumen pequeño de IPAC a aproximadamente 75 °C (se usaron unos pocos mililitros de MeOH para ayudar a la disolución de los sólidos). Después de completar la disolución, se añadió heptano y comenzó la formación de precipitados y se dejó enfriar a 0 °C durante 1 h. Estos se filtraron y se secaron 13,1 g de producto con una pureza de aproximadamente 97%. Este material se volvió a cristalizar, para obtener un sólido de color amarillo pálido 12,45 g (77% de rendimiento, pureza por encima del 99%) del producto deseado. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 3,42 (s, 3 H) 3,61 - 3,71

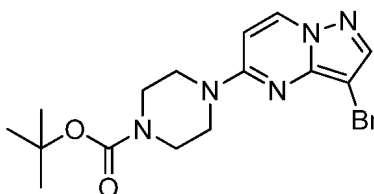
(m, 6 H) 3,72 - 3,80 (m, 4 H) 4,10 (s, 3 H) 4,29 - 4,34 (m, 2 H) 6,38 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 7,00 (dd, $J=7,45, 4,93$ Hz, 1 H) 8,04 (dd, $J=4,93, 1,89$ Hz, 1 H) 8,37 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 8,64 (s, 1 H) 8,74 (dd, $J=7,45, 1,89$ Hz, 1 H). RMN ^{13}C (101 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 43,49, 44,87, 53,51, 59,15, 64,96, 71,07, 76,92, 77,24, 77,56, 96,37, 100,99, 116,93, 117,05, 135,42, 136,16, 142,79, 145,37, 146,26, 155,46, 155,52, 160,08. LRMS (IEN) m/e 413 $[(M + H)^+]$, calc. para $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_6\text{O}_4$ 412].

5.6.20. Síntesis de 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo



10

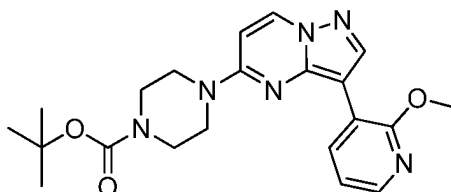
Parte A. 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo



15 3-bromo-5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina (10 g, 43 mmol) recogido en isopropanol. Se añadió carboxilato de T-butilpiperazina (9,61 g, 51,6 mmol), diisopropiletilamina (22,4 ml, 129 mmol) y se agitó a 65°C durante una noche. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y se eliminó el producto sólido por filtración. El sólido se lavó con agua, se secó para obtener 15,84 g de producto en bruto para una reacción adicional, tal cual. LRMS (IEN) m/z 382/384 $[(M+H)^+]$, calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{BrN}_5\text{O}_2$:382,2.

20

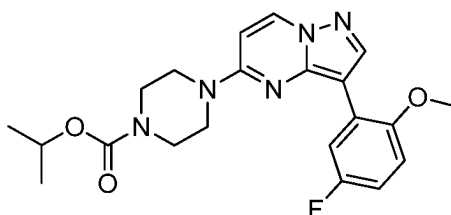
Parte B. 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo



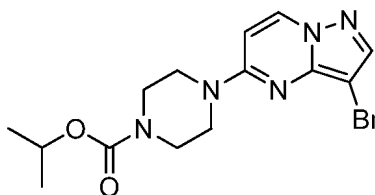
25 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de *terc* butilo (15,84 g, 41,5 mmol), ácido 2-metoxipiridin-3-borónico (12,68 g, 82,9 mmol), carbonato potásico (17,16 g, 124,5 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (92 mg, 4,15 mmol) y x-Phos (394 mg, 8,3 mmol) se suspendieron en 60 ml de dioxano y 30 ml de agua en atmósfera de nitrógeno y se agitó a 75°C durante 2 horas. Después se enfrió la reacción a temperatura ambiente, se diluyó con tolueno, se lavó con salmuera. La capa orgánica se filtró a través de sulfato de magnesio y tapón de celite. Se redujo al vacío y se hizo pasar a través de una columna de sílice ISCO con hexano:acetato de etilo al 0-100%. El producto mas el producto de desbromo eluyen conjuntamente, se concentran al vacío. El producto se recristalizó 2 veces con IPAC:Heptano 30:70, se lavó con heptanos, se secó para conseguir 12 g de producto. RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,78 - 8,85 (m, 1H), 8,74 (d, $J = 8,08$ Hz, 1H), 8,50 (s, 1H), 7,92 - 8,02 (m, 1H), 7,04 - 7,13 (m, 1H), 6,80 (d, $J = 8,08$ Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,70 - 3,78 (m, 4H), 3,49 (d, $J = 5,31$ Hz, 4H), 1,44 (s, 9H). LRMS (IEN) m/z 411 $[(M+H)^+]$, calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_6\text{O}_3$: 410,48.

35

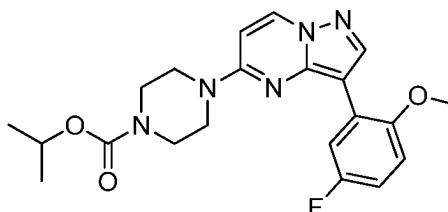
5.6.21. Síntesis de 4-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazob[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo



40

Parte A. 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo

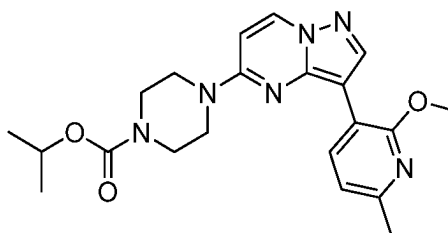
- 5 3-bromo-5-(piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina (2,5 g, 8,87 mmol) se recogió en DCM. Se añadió isopropilcloroforniato 1M en tolueno (13,3 ml, 13,3 mmol) y trietilamina (2,47 ml, 17,7 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La reacción se lavó con agua, la capa DCM se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, se redujo al vacío. Se pasó por una columna de sílice Isco con DCM:MeOH 0-5%. Las fracciones de producto se combinaron y se redujeron al vacío para obtener 2,86 g de producto en bruto para una reacción adicional tal cual.
- 10 LRMS (IEN) m/z 368/370 [(M+H)]⁺, calculado para C₁₄H₁₈BrN₅O: 368,24.

Parte B. 4-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo

- 15 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo (2,86 g, 7,8 mmol), ácido 5-fluoro-2-metoxifenil borónico (2,64 g, 15,5 mmol), carbonato potásico (3,22 g, 23,3 mmol), Pd(OAc)₂ (35 mg, 0,155 mmol) y x-Phos (146 mg, 0,31 mmol) se suspendieron en 15 ml de dioxano y 7 ml de agua en atmósfera de nitrógeno y se agitó a 80°C durante 2 horas. Después la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través tapón de celite con acetato de etilo. Se redujo al vacío y se hizo pasar a través de una columna de sílice isco con hexano:acetato de etilo al 75-100%. El producto más el producto de desbromo eluyen conjuntamente, se reducen al vacío. El producto se recrystalizó 2 veces con acetato de etilo:Hexano, se lavó con heptanos, se secó para conseguir 12 g de producto.
- 20 RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,73 (d, *J* = 7,78 Hz, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,29 (dd, *J* = 3,14, 11,17 Hz, 1H), 7,04 (dd, *J* = 5,02, 9,03 Hz, 1H), 6,95(dd, *J* = 3,26, 7,78 Hz, 1H), 6,79 (d, *J* = 8,03 Hz, 1H), 4,77 - 4,85 (m, 1H), 3,87 (s, 3H), 3,70 - 3,78 (m, 4H), 3,48 - 3,56 (m, 4H), 1,21 (d, *J* = 6,27 Hz, 6H). LRMS (IEN) m/z 414 [(M+H)]⁺, calculado para C₂₁H₂₄N₅O₃: 413,4.

5.6.22. Síntesis de 4-(3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo

30



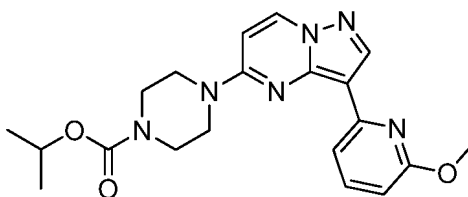
- 35 A un matraz de fondo redondo de 100 ml se le añadió 2,00 g (5,43 mmol) de 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo, 1,00 g (5,98 mmol) de ácido (2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)borónico, 0,19 g (0,16 mmol) de Pd(PPh₃)₄ y una varilla de agitación.

- Después de añadir todos los sólidos, se añadió 30 ml de solución al 2% de TPGS-750-M, seguido de la adición de 3,80 ml (27,15 mmol) de trietilamina. El matraz de reacción se introdujo en un baño de aceite precalentado a 85°C y se agitó vigorosamente. Estuvo alrededor de 0,25 h en agitación hasta que todos los sólidos suspendidos se disolvieron completamente. Después de agitar a 85 °C durante aproximadamente 2 h, la CLEM mostró que la reacción se completó. Se dejó enfriar a TA, se diluyó con 40 ml de EtOAc. La capa orgánica se separó, y la capa acuosa se extrajo dos veces con porciones de 30 ml de EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron. Se usó un pequeño volumen de DCM para disolver la mezcla en bruto y después se cargó directamente en una columna de gel de sílice de 80 g para separación en el ISCO.
- 45 Se ejecutó un gradiente de EtOAc al 50%/hex a EtOAc al 100% durante los primeros 15 minutos y después la columna se ejecutó solo con EtOAc. El producto deseado comenzó a eluir aproximadamente a los 8 minutos de ejecutarse

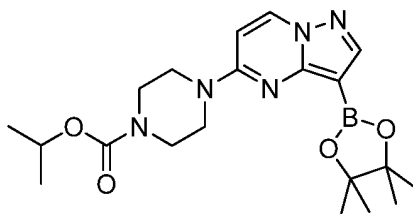
solo con EtOAc. El producto secundario de desbromo se eluye junto con el producto deseado. Aun cuando el compuesto de desbromo se extiende a través de todas las fracciones que contienen el producto deseado, el porcentaje del compuesto de desbromo parece disminuir con el tiempo. Por lo tanto, los pocos primeros tubos que contenían los porcentajes más altos de producto de desbromo se descartaron y las fracciones restantes se concentraron para obtener 1,73 g de aproximadamente 84% de pureza a 254 nm (con aproximadamente el 16% de compuesto de desbromo). [Basado en la RMN ¹H, el producto está sobreestimado en el UV a 254 nm e infraestimado en el UV a 220 nm].

El material se recrystalizó dos veces usando IPAC y heptanos, para proporcionar 1,45 g (65% de rendimiento) del producto deseado. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,30 (d, J=6,32 Hz, 6 H) 2,49 (s, 3 H) 3,59 - 3,68 (m, 4 H) 3,73 (dd, J=6,19, 3,66 Hz, 4 H) 4,07 (s, 3 H) 4,99 (dt, J=12,44, 6,28 Hz, 1 H) 6,36 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 6,85 (d, J=7,58 Hz, 1 H) 8,35 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 8,55 - 8,63 (m, 2 H); RMN ¹³C (101 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 22,48, 24,10, 43,39, 44,94, 53,38, 69,37, 96,32, 101,34, 113,40, 116,03, 135,94, 136,12, 145,14, 146,15, 152,13, 155,35, 155,45, 159,49. LRMS (IEN) m/e 411 [(M + H)⁺, calc. para C₂₁H₂₆N₆O₃ 410].

5.6.23. Síntesis de 4-(3-(6-metoxipiridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo



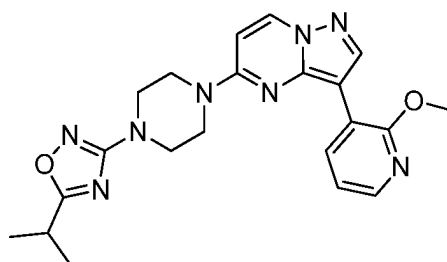
20 Parte A. 4-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo



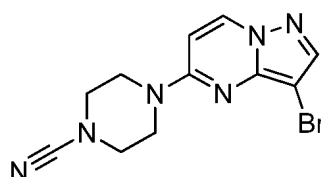
25 A 184 mg (0,50 mmol) de 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo en un matraz de fondo redondo de 50 ml se le añadió 191 mg (0,75 mmol) de 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano), 147 mg (1,50 mmol) de KOAc, 8 ml de DMSO seguido de 41 mg (0,05 mmol) de PdCl₂(dppf)₂.DCM. Se sustituyó el aire con N₂ y la mezcla se calentó a 80 °C con agitación. La siguiente mañana la CLEM muestra que la reacción se ha completado. Se enfrió a TA, se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera y la capa orgánica se secó sobre MgSO₄. Se concentró y se purificó en el ISCO usando una columna de 12 g y eluyendo con 25 -100% de EtOAc/hex para obtener 107 mg del producto deseado [la pureza fue solo de aproximadamente 85%, aproximadamente el 15% se hidrolizó en el ácido borónico correspondiente].

35 Parte B. 4-(3-(6-metoxipiridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo. A 65 mg (0,157 mmol) de 4-(3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo en un microondas vial se le añadió, 29 mg (0,157 mmol) de 2-bromo-6-metoxipiridina, 43 mg (0,313 mmol) de K₂CO₃, 18 mg (0,016 mmol) Pd(PPh₃)₄, 3 ml de DME y después 1 ml de agua. La mezcla resultante se sometió a microondas a 125 °C durante 0,33 h. Se diluyó con EtOAc, se lavó con salmuera, y la capa orgánica se secó sobre MgSO₄. Se concentró y se purificó en la HPLC PREP neutra para obtener 42 mg del producto deseado. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,30 (d, J=6,32 Hz, 6 H) 3,60 - 3,74 (m, 4 H) 3,81 (s a, 4 H) 4,04 (s, 3 H) 5,00 (quin, J=6,25 Hz, 1 H) 6,39 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 6,55 (dd, J=8,08, 0,76 Hz, 1 H) 7,62 (dd, J=8,08, 7,58 Hz, 1 H) 7,83 - 7,93 (m, 1 H) 8,37 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 8,66 (s, 1 H). LRMS (IEN) m/e 397 [(M + H)⁺, calc. para C₂₀H₂₄N₆O₃ 396].

45 **5.6.24. Síntesis de 5-isopropil-3-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-1,2,4-oxadiazol**



Parte A. 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carbonitrilo



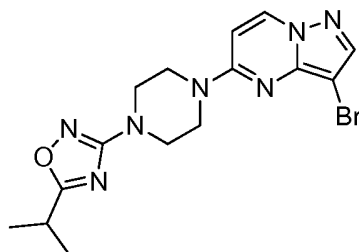
5

3-bromo-5-(piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina (500 mg, 1,77 mmol) se suspendió en 20 ml de DCM y se agitó a 0 °C en un baño de hielo. Se añadió bicarbonato sódico (744 mg, 8,86 mmol) en 6 ml de agua y se agitó. Se añadió bromuro de cianógeno (225 mg, 2,12 mmol) y se agitó a 0 °C durante 30 minutos, después se le dejó alcanzar la temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La reacción se diluyó con DCM, se lavó con agua, la capa DCM se secó sobre sulfato de magnesio, se redujo al vacío para dar 500 mg de producto en bruto para una reacción adicional tal cual. LRMS (IEN) m/z 307/309 [(M+H)]⁺, calculado para C₁₁H₁₁BrN₆: 307,15.

10

Parte B. 3-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-5-isopropil-1,2,4-oxadiazol

15



20

4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carbonitrilo (450 mg, 1,46 mmol) en 9 ml de DMF y carbonato sódico (155 mg, 1,46 mmol) se agitaron a temperatura ambiente 15 minutos, se añadió hidroxilamina HCl (203 mg, 2,9 mmol) y la reacción se agitó 30 minutos a 80 °C. Después se añadió 12 ml de tolueno y piridina (474 ul, 5,86 mmol) y anhídrido isobutírico (973 ul, 5,86 mmol) y la reacción se agitó a 80 °C durante 1,5 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se redujo al vacío y se suspendió en acetato de etilo y se lavó con agua, salmuera, agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio y se redujo al vacío. Para 250 mg de producto en bruto para usar tal cual en reacciones adicionales. LRMS (IEN) m/z 392/394[(M+H)]⁺, calculado para C₁₅H₁₈BrN₇O: 392,26.

25

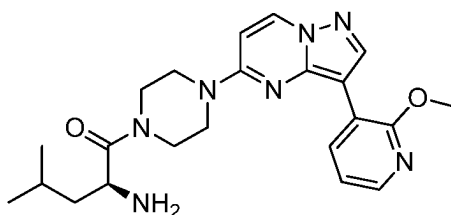
Parte C. 5-isopropil-3-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-1,2,4-oxadiazol. 3-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-5-isopropil-1,2,4-oxadiazol (200 mg, 0,51 mmol), ácido 2-metoxipiridin-3-borónico (156 mg, 1,0 mmol), carbonato potásico (211 mg, 1,53 mmol), Pd(OAc)₂ (3 mg, 0,01 mmol) y x-Phos (10 mg, 0,02 mmol) se suspendieron en 2 ml de dioxano y 1 ml de agua en un tubo cerrado herméticamente y se calentó a 85 °C durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de un tapón de celite con acetonitrilo y DCM, reducido al vacío. Se purificó en fase neutra prep. Shimadzu, se liofilizó para obtener 12 mg de producto. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,83 (dd, *J* = 1,77, 7,58 Hz, 1H), 8,77 (d, *J* = 7,83 Hz, 1H), 8,51 (s, 1H), 7,99 (dd, *J* = 1,89, 4,93 Hz, 1H), 7,10 (dd, *J* = 4,80, 7,58 Hz, 1H), 6,86 (d, *J* = 8,08 Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,84 - 3,90 (m, 4H), 3,48 - 3,53 (m, 4H), 3,15 (t, *J* = 7,07 Hz, 1H), 1,29 (d, *J* = 6,82 Hz, 6H). LRMS (IEN) m/z 421 [(M+H)]⁺, calculado para C₂₁H₂₄N₈O₂: 420,48.

30

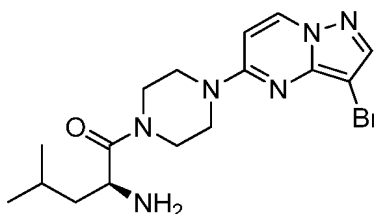
35

5.6.25. Síntesis de (S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona

40



Parte A. (S)-2-amino-1-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona



5

3-bromo-5-(piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina (200 mg, 0,71 mmol), Boc-L-Leu (196 mg, 0,85 mmol), HATU (245 mg, 1,06 mmol) y trietilamina (394 μ l, 2,83 mmol) se suspendieron en DMF y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se redujo al vacío. El residuo se recogió en 20 ml de una solución de TFA al 40% en DCM y se agitó a 35 °C durante una noche. La mezcla se concentró al vacío y se filtró a través de un lecho de sílice con MeOH al 10% en DCM. El disolvente se retiró y el residuo se secó para dar 600 mg de producto en forma de sal de TFA para reacciones adicionales. LRMS (IEN) m/z 395/397 [(M+H)]⁺, calculado para C₁₆H₂₃BrN₆O: 395,31.

10

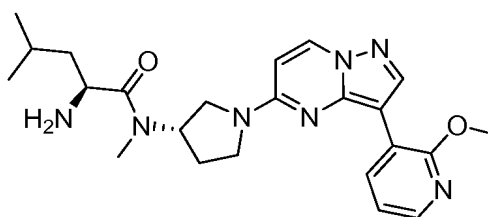
15

Parte B. (S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona. (S)-2-amino-1-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona (300 mg, 0,59 mmol), ácido 2-metoxipiridin-3-borónico (135 mg, 0,88 mmol), carbonato potásico (326 mg, 2,36 mmol), Pd(OAc)₂ (3 mg, 0,011 mmol) y x-Phos (11 mg, 0,022 mmol) se suspendieron en 2 ml de agua en un tubo cerrado herméticamente y se calentó a 85°C durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de un tapón de celite con acetonitrilo y DCM, reducido al vacío. Se purificó en fase neutra preparativa Shimadzu, se liofilizó para conseguir 28,1 mg de producto de sal de ácido fórmico. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 8,82 (dd, J = 2,02, 7,58 Hz, 1H), 8,77 (d, J = 7,83 Hz, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,27 (s, 1H), 7,99 (dd, J = 1,77, 4,80 Hz, 1H), 7,09 (dd, J = 4,80, 7,58 Hz, 1H), 6,83 (d, J = 8,08 Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,62 - 3,93 (m, 9H), 1,72 - 1,88 (m, 1H), 1,23 -1,42 (m, 2H), 0,91 (dd, J = 6,57, 10,11 Hz, 6H). LRMS (IEN) m/z 424 [(M+H)]⁺, calculado para C₂₂H₂₉N₇O₂: 423,52.

20

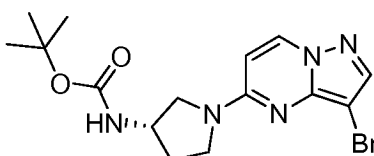
25

5.6.26. Síntesis de (S)-2-amino-N-((S)-1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N,4-dimetilpentanamida



30

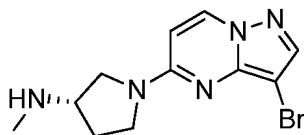
Parte A. (1-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)carbamato de (S)-terc-butilo



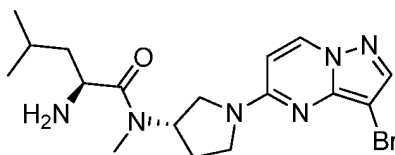
35

3-bromo-5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina (2,2 g, 9,5 mmol) (S)-3-Boc-aminopirrolidina (2,6 g, 14,2 mmol) y trietilamina (5,27 ml, 37,9 mmol) se suspendieron en isopropanol en un tubo cerrado herméticamente y se sometieron a microondas a 140 °C durante 30 minutos. La reacción de concentró al vacío, se suspendió en acetato de etilo, se lavó con agua, después se pasó a través de un lecho de sílice con acetato de etilo. El disolvente se eliminó al vacío para dar 3,6 g de producto en bruto que se usó tal cual en la parte B. LRMS (IEN) m/z 382/384 [(M+H)]⁺, calculado para C₁₅H₁₉BrN₅O₂: 382,2.

40

Parte B. (S)-1-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-N-metilpirrolidin-3-amina

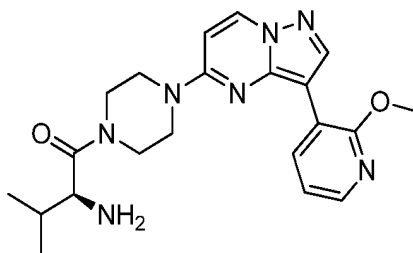
- 5 (1-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)carbamato de (S)-*tert*-butilo (3,6 g, 9,4 mmol) se suspendió en 15 ml de DMF y se enfrió a 0°C en un baño de hielo. se añadió yodometano (1,026 ml, 16,5 mmol) y se agitó 5 minutos. Después se añadió lentamente hidruro sódico al 60% en aceite (754 mg, 18,8 mmol). La reacción se agitó 5 minutos a 0°C, después se sacó del baño de hielo y se agitó 30 minutos a temperatura ambiente. La reacción se inactivó con hielo y después se extrajo con acetato de etilo 2x. Las fracciones combinadas de acetato de etilo se
- 10 secaron sulfato de magnesio, se filtraron, se redujeron al vacío. Se suspendió en 26 ml de DCM y se añadió 4 ml de TFA. Se agitó 1 hora hasta que la CL/EM se completó. La reacción se lavó con NaOH 1 N, se eliminó la capa de DCM, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, se redujo al vacío para obtener 2,72 g de producto en bruto que se usó tal cual en la parte C. LRMS (IEN) m/z 296/298 [(M+H)⁺], calculado para C₁₁H₁₄BrN₅: 296,17.

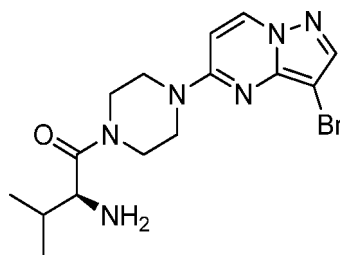
15 Parte C. (S)-2-amino-N-((S)-1-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N,4-dimetilpentanamida

- (S)-1-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-N-metilpirrolidin-3-amina (200 mg, 0,68 mmol) Boc-L-Leu (187 mg, 0,81 mmol), HATU (385 mg, 1,01 mmol) y trietilamina (375 μ l, 2,7 mmol) se suspendieron en DMF y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se diluyó con DCM, se lavó con agua, después la capa DCM se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se redujo al vacío. Se suspendió en 26 ml de DCM y se añadió 4 ml de TFA. Se agitó 1 hora hasta que la CL/EM se completó. La reacción se lavó con NaOH 1 N, se eliminó la capa de DCM, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, se redujo al vacío para 226 mg de producto en bruto usado tal
- 20 cual en la parte D. LRMS (IEN) m/z 409/411 [(M+H)⁺], calculado para C₁₇H₂₄BrN₆O: 409.
- 25

Parte D. (S)-2-amino-N-((S)-1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N,4-dimetilpentanamida.

- (S)-2-amino-N-((S)-1-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N,4-dimetilpentanamida (220 mg, 0,54 mmol), ácido 2-metoxipiridin-3-borónico (164 mg, 1,1 mmol), carbonato potásico (291 mg, 2,15 mmol), Pd(OAc)₂ (2 mg, 0,011 mmol) y x-phos (10 mg, 0,022 mmol) se suspendieron en 2 ml de acetonitrilo y 1 ml de agua y calentó en un tubo cerrado herméticamente a 85°C durante 2 horas. Después se filtró la reacción a través de celite con acetonitrilo y DCM, se redujo al vacío, después se purificó en fase neutra preparativa Shimadzu y las fracciones de producto se liofilizaron para conseguir (S)-2-amino-N-((S)-1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N,4-dimetilpentanamida, 41,3 mg en forma de sal fórmica 0,5 eq. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ
- 30 8,87 - 8,97 (m, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,30 (s, 1H), 7,96 (dd, J = 2,02, 4,80 Hz, 1H), 7,00 - 7,11 (m, 1H), 6,51 (d, J = 7,83 Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,48 - 3,64 (m, 1H), 3,43 (s. a., 3H), 2,96 (s, 2H), 2,81 (s, 1H), 2,11-2,28 (m, 2H), 1,72 - 1,89 (m, 1H), 1,19 - 1,39 (m, 2H), 0,90 (dd, J = 1,89, 6,69 Hz, 6H). (IEN) m/z 438 [(M+H)⁺], calculado para C₂₃H₃₁N₇O₂: 437,5.
- 35

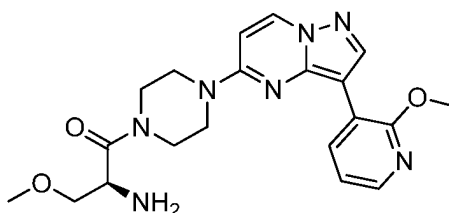
40 **5.6.27. Síntesis de (S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona**45 Parte A. (S)-2-amino-1-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona



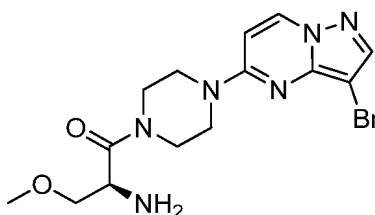
3-bromo-5-(piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina (400 mg, 1,42 mmol) Boc-L-leucina (392 mg, 1,7 mmol), HATU (490 mg, 2,13 mmol) y trietilamina (788 ul, 5,7 mmol) se suspendieron en DMF y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se diluyó con DCM, se lavó con agua, después la capa DCM se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se redujo al vacío. Se suspendió en 26 ml de DCM y se añadió 4 ml de TFA. Se agitó 1 hora hasta que la CL/EM se completó. La reacción se lavó con NaOH 1 N, se eliminó la capa de DCM, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, se redujo al vacío para obtener 349 mg de producto en bruto para siguientes reacciones tal cual. LRMS (IEN) m/z 381/383 $[(M+H)]^+$, calculado para $C_{15}H_{21}BrN_6O$: 381,28.

Parte B. (S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona. (S)-2-amino-1-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona (110 mg, 0,29 mmol), ácido (2-metoxipiridin-3-il)borónico (88 mg, 0,58 mmol), carbonato potásico (120 mg, 0,87 mmol), $Pd(OAc)_2$ (1 mg, 0,0058 mmol) y x-Phos (5 mg, 0,012 mmol) se suspendieron en 3 ml de dioxano y 1 ml de agua en atmósfera de nitrógeno y se agitó a 85°C durante 2 horas. Después la reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de un tapón de celite con acetonitrilo y DCM. Se redujo al vacío y se purificó en fase neutra preparativa shimadzu, se liofilizó para conseguir 18 mg de producto de sal fórmica 1.5eq. RMN 1H (400 MHz,MSO- d_6) δ 8,83 (dd, $J = 1,77, 7,58$ Hz, 1H), 8,78 (d, $J = 7,83$ Hz, 1H), 8,52 (s, 1H), 8,35 (s, 2H), 7,99 (dd, $J = 1,89, 4,93$ Hz, 1H), 7,09 (dd, $J = 4,93, 7,45$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J = 7,83$ Hz, 1H), 4,01 (s, 3H), 3,81-3,89 (m, 1H), 3,74 (d, $J = 5,31$ Hz, 3H), 3,68 (d, $J = 7,58$ Hz, 3H), 1,76 - 1,89 (m, 1H), 0,94 (d, $J = 6,82$ Hz, 3H), 0,86 (d, $J = 6,82$ Hz, 3H). LRMS (IEN) m/z 410 $[(M+H)]^+$, calculado para $C_{21}H_{27}N_7O_2$:409,5.

5.6.28. Síntesis de (S)-2-amino-3-metoxi-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)propan-1-ona



Parte A. (S)-2-amino-1-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metoxipropan-1-ona

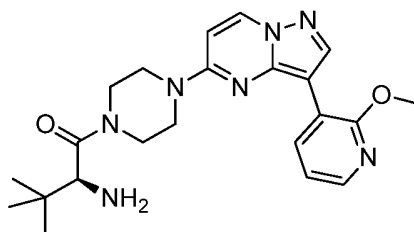


3-bromo-5-(piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina (300 mg, 1,1 mmol) suspendida en 10 ml de DMF. Boc-Ser(Me)-OH (280 mg, 1,3 mmol), HATU (368 mg, 1,6 mmol) y trietilamina (590 ul, 4,25 mmol) se añadió y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se diluyó con DCM y se lavó con agua. La capa DCM se secó sobre sulfato de magnesio y se redujo al vacío. Esto se suspendió en solución de TFA al 30% en DCM y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después se enfrió a 0 °C y se añadió lentamente NaOH ac. hasta que la capa acuosa permaneció básica. La capa DCM se extrajo, se secó sobre sulfato de magnesio, se redujo al vacío para 405 mg de producto en bruto para reacciones adicionales tal cual. LRMS (IEN) m/z 383/385 $[(M+H)]^+$, calculado para $C_{14}H_{19}BrN_6O_2$: 383,25.

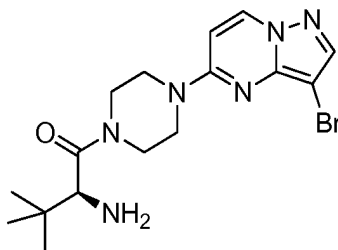
Parte B. (S)-2-amino-3-metoxi-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)propan-1-ona. 3(S)-2-amino-1-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metoxipropan-1-ona (400 mg, 1,04 mmol), ácido 2-metoxipiridin-3-borónico (240 mg, 1,56 mmol), carbonato potásico (435 mg, 3,12 mmol), $Pd(OAc)_2$ (5 mg, 0,021 mmol) y x-Phos (14 mg, 0,042 mmol) se suspendieron en 2 ml de dioxano y 1 ml de agua en un tubo cerrado

herméticamente y se calentó a 85 °C durante 2 horas. Después se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de un tapón de celite con acetonitrilo y DCM, reducido al vacío. Se purificó en fase prep. neutra de Shimadzu, se liofilizó para obtener 39 mg de producto en forma de sal de ácido fórmico. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 8,82 (dd, *J* = 1,89, 7,45 Hz, 1H), 8,76 (d, *J* = 7,83 Hz, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,99 (dd, *J* = 1,89, 4,93 Hz, 1H), 7,09 (dd, *J* = 4,93, 7,45 Hz, 1H), 6,84 (d, *J* = 7,83 Hz, 1H), 3,98 - 4,02 (m, 4H), 3,61- 3,85 (m, 8H), 3,31 - 3,45 (m, 2H) LRMS (IEN) *m/z* 412 [(M+H)]⁺, calculado para C₂₀H₂₅N₇O₃: 411,47.

5.6.29. Síntesis de (S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3,3-dimetilbutan-1-ona



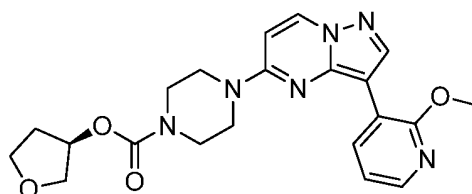
Parte A. (S)-2-amino-1-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3,3-dimetilbutan-1-ona



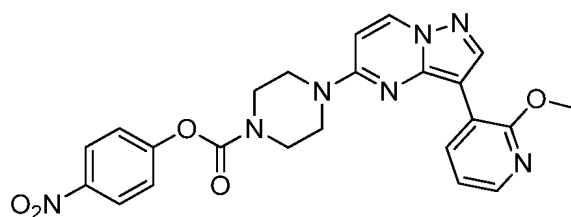
3-bromo-5-(piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina (300 mg, 1,1 mmol) N-Boc-L-*terc*-leucina (295 mg, 1,28 mmol), HATU (368 mg, 1,6 mmol) y trietilamina (590 ul, 4,26 mmol) se suspendieron en DMF y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se diluyó con DCM, se lavó con agua, después la capa DCM se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se redujo al vacío. Se suspendió en 26 ml de DCM y se añadió 4 ml de TFA. Se agitó 1 hora hasta que la CL/EM se completó. La reacción se lavó con NaOH 1 N, se eliminó la capa de DCM, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, se redujo al vacío para obtener 420 mg de producto en bruto para siguientes reacciones tal cual. LRMS (IEN) *m/z* 395/397 [(M+H)]⁺, calculado para C₁₆H₂₃BrN₆O: 395,31.

Parte B. (S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3,3-dimetilbutan-1-ona. (S)-2-amino-1-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3,3-dimetilbutan-1-ona (420 mg, 1,1 mmol), ácido (2-metoxipiridin-3-il)borónico (240 mg, 1,6 mmol), carbonato potásico (435 mg, 3,2 mmol), Pd(OAc)₂ (5 mg, 0,021 mmol) y x-Phos (14 mg, 0,043 mmol) se suspendieron en 4 ml de dioxano y 1 ml de agua en atmósfera de nitrógeno y se agitó a 85°C durante 2 horas. Después se enfrió la reacción a temperatura ambiente, se filtró a través de tapón de celite con acetonitrilo y DCM. Se redujo al vacío y se purificó en fase neutra preparativa shimadzu, se liofilizó para conseguir 18 mg de producto de sal fórmica 1eq. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*6) δ 8,81 (dd, *J* = 1,77, 7,58 Hz, 1H), 8,75 (d, *J* = 7,83 Hz, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 7,97 - 8,03 (m, 1H), 7,06 - 7,09 (m, 1H), 6,83 (d, *J* = 7,83 Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,69 - 3,78 (m, 3H), 3,80 (s, 4H), 3,84 (s, 2H), 0,94 (s, 9H) LRMS (IEN) *m/z* 424 [(M+H)]⁺, calculado para C₂₂H₂₉N₇O₂:423,52.

5.6.30. Síntesis de 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahidrofuran-3-ilo

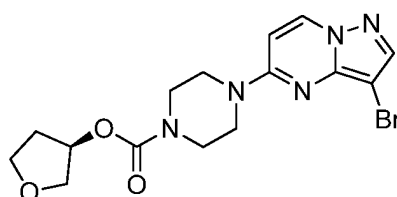


Parte A. Éster 4-nitro-fenilo del ácido 4-(3-Bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-piperazin-1-carboxílico



5 A 2,00 g (7,09 mmol) de 3-bromo-5-piperazin-1-il-pirazolo[1,5-a]pirimidina disuelta en 40 ml de EtOAc a 0 °C, se le añadió 1,71 g (8,51 mmol) de carbonohidrato de 4-nitrofenilo, seguido de 1,97 ml (14,18 mmol) de TEA. Después de 5 minutos de agitación a 0 °C, el baño de hielo se retiró y la agitación se continuó a TA durante aproximadamente 2 h. Se diluyó con 50 ml de EtOAc al 50%/hex. El producto deseado se filtró y se secó para obtener 3,17 g (100% de rendimiento) de un sólido de color blanquecino.

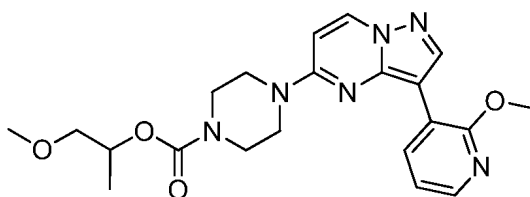
10 Parte B. Éster (R)-(tetrahidrofuran-3-ilo) del ácido 4-(3-bromo-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-piperazin-1-carboxílico



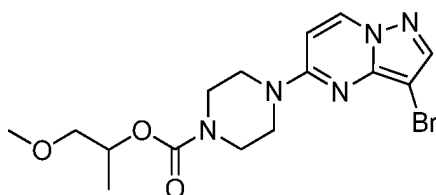
15 A 112 mg (0,25 mmol) de 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 4-nitrofenilo disuelto en 10 ml de THF, se le añadió (R)-tetrahidrofuran-3-ol (44 mg, 0,5 mmol), seguido de NaH al 60% (40 mg, 1,0 mmol) y se agitó a TA durante 2 h. Después de 2 h se diluyó con 20 ml de EtOAc y se inactivó lentamente con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró, se purificó en una columna de gel de sílice de 12 gramos eluyendo con 0-10% de MeOH/DCM para obtener 71 mg (72% de rendimiento) del producto deseado.

20 Parte C. 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahidrofuran-3-ilo. La reacción de acoplamiento de Suzuki se realizó en las mismas condiciones que se describen para la síntesis de 6-[1-(2,2-dimetil-propil)-1H-pirazol-4-il]-3-(2-metoxi-piridin-3-il)-imidazo-[1,2-]piridazina produciendo un 72% del producto deseado. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,98 - 2,14 (m, 1 H) 2,23 (dtd, J=14,02, 8,17, 8,17, 6,27 Hz, 1 H) 3,66 (d, J=5,02 Hz, 4 H) 3,71- 3,82 (m, 4 H) 3,83 - 4,02 (m, 4 H) 4,10 (s, 3 H) 5,27 - 5,39 (m, 1 H) 6,38 (d, J=7,78 Hz, 1 H) 7,00 (dd, J=7,53, 5,02 Hz, 1 H) 8,04 (dd, J=4,77, 1,76 Hz, 1 H) 8,37 (d, J=7,78 Hz, 1 H) 8,63 (s, 1 H) 8,73 (dd, J=7,53, 1,76 Hz, 1 H).

5.6.31. Síntesis de 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 1-metoxipropan-2-ilo



30 Parte A. 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 1-metoxipropan-2-ilo

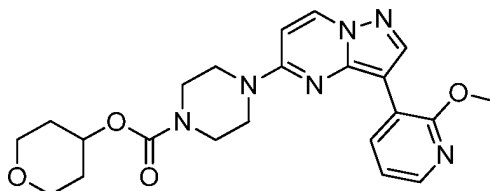


35 Este se fabricó usando 1-metoxipropan-2-ol y siguiendo la parte B del procedimiento descrito anteriormente para la fabricación de 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahidrofuran-3-ilo.

40 Parte B. 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 1-metoxipropan-2-ilo. La reacción de acoplamiento de Suzuki se realizó siguiendo el procedimiento que se usó para otros ejemplos. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,29 (d, J=6,57 Hz, 3 H) 3,40 (s, 3 H) 3,42 - 3,56 (m, 2 H) 3,61- 3,70 (m, 4 H)

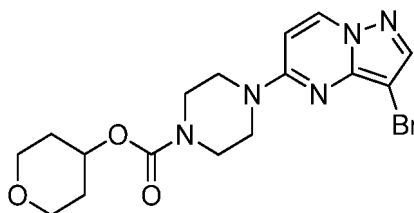
3,72 - 3,81 (m, 4 H) 4,10 (s, 3 H) 5,06 (td, $J=6,25, 4,17$ Hz, 1 H) 6,37 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 7,00 (dd, $J=7,58, 5,05$ Hz, 1 H) 8,03 (dd, $J=4,80, 1,77$ Hz, 1 H) 8,36 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 8,63 (s, 1 H) 8,73 (dd, $J=7,45, 1,89$ Hz, 1 H).

5.6.32. Síntesis de 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de tetrahidro-2H-piran-4-ilo



Parte A. 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de tetrahidro-2H-piran-4-ilo

10



Este se hizo usando tetrahidro-2H-piran-4-ol y siguiendo la parte B del procedimiento descrito anteriormente para hacer 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahydrofuran-3-ilo.

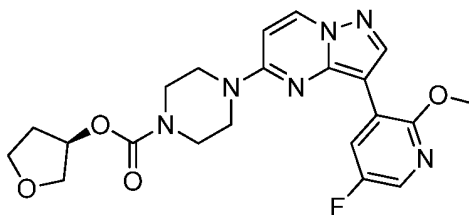
15

Parte B. 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de tetrahidro-2H-piran-4-ilo. Éste se sintetizó siguiendo el procedimiento de Suzuki descrito para la fabricación de 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahydrofuran-3-ilo. RMN ^1H (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ ppm 1,66 - 1,80 (m, 2 H) 1,95 - 2,02 (m, 2 H) 3,51 - 3,62 (m, 2 H) 3,67 (d, $J=4,55$ Hz, 4 H) 3,71 - 3,82 (m, 4 H) 3,88 - 4,00 (m, 2 H) 4,09 (s, 3 H) 4,94 (tt, $J=8,43, 3,95$ Hz, 1 H) 6,36 (d, $J=7,58$ Hz, 1 H) 6,99 (dd, $J=7,07, 5,31$ Hz, 1 H) 8,03 (d, $J=4,80$ Hz, 1 H) 8,35 (d, $J=7,58$ Hz, 1 H) 8,62 (s, 1 H) 8,72 (d, $J=7,33$ Hz, 1 H). LRMS (IEN) m/z 439 [(M + H) $^+$, calc. para $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{FN}_6\text{O}_4$ 438].

20

5.6.33. Síntesis de 4-(3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahydrofuran-3-ilo

25



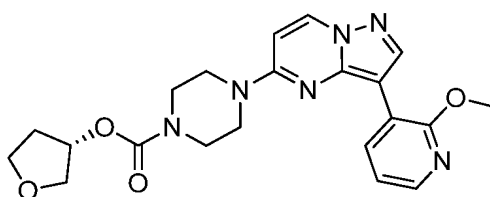
4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahydrofuran-3-ilo (100 mg, 0,25 mmol), 5-fluoro-2-metoxi-3-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (127 mg, 0,5 mmol), trietilamina (211 μl , 1,5 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1 mg, 0,0025 mmol) y x -Phos (5 mg, 0,005 mmol) se suspendieron en 4 ml de dioxano y 1 ml de agua en atmósfera de nitrógeno y se agitó a 85 $^\circ\text{C}$ durante 2 horas. Después se enfrió la reacción a temperatura ambiente, se filtró a través de tapón de celite con acetonitrilo y DCM. Se redujo al vacío y se purificó en fase neutra preparativa Shimadzu, se liofilizó para conseguir 30 mg de producto. RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ 8,80 (d, $J = 7,83$ Hz, 1H), 8,72 (dd, $J = 3,03, 10,36$ Hz, 1H), 8,56 (s, 1H), 7,94 (d, $J = 3,03$ Hz, 1H), 6,86 (d, $J = 7,83$ Hz, 1H), 5,18 (d, $J = 1,77$ Hz, 1H), 4,00 (s, 3H), 3,71 - 3,83 (m, 8H), 3,32 (s, 2H), 2,08 (s, 1H), 2,13 (s, 1H), 1,89 - 2,00 (m, 1H) LRMS (IEN) m/z 443 [(M+H) $^+$, calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{FN}_6\text{O}_4$:442,45].

30

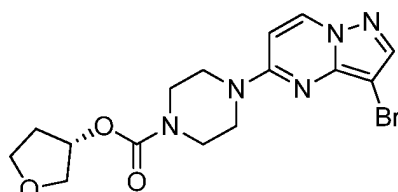
35

5.6.34. Síntesis de 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (S)-tetrahydrofuran-3-ilo

40



Parte A. 4-(3-bromopirazolopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (S)-tetrahidrofuran-3-ilo



5

A 224 mg (0,50 mmol) de 4-(3-bromopirazolopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 4-nitrofenilo disuelto en 18 ml de THF, se le añadió (S)-tetrahidrofuran-3-ol (88 mg, 1,0 mmol), seguido de NaH al 60% (80 mg, 2,0 mmol) y se agitó a TA durante 2 h. Después de 2 h se diluyó con 30 ml de EtOAc y se inactivó lentamente con salmuera. La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró, se purificó usando una columna de gel de sílice de 40 g eluyendo con 0-10% de MeOH/DCM para obtener 301 mg (76% de rendimiento) del producto deseado. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 2,01 - 2,13 (m, 1 H) 2,17 - 2,29 (m, 1 H) 3,57 - 3,70 (m, 4 H) 3,74 - 3,84 (m, 4 H) 3,86 - 4,01 (m, 4 H) 5,27 - 5,38 (m, 1 H) 6,37 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 7,87 (s, 1 H) 8,28 (d, J=7,83 Hz, 1 H)

10

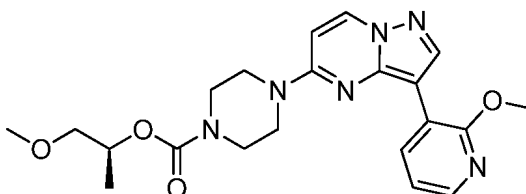
Parte B. 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (S)-tetrahidrofuran-3-ilo. La reacción de acoplamiento de Suzuki se llevó a cabo en las mismas condiciones que se han descrito para la síntesis de LP-943795, proporcionando un 61% del producto deseado. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 2,02 - 2,14 (m, 1 H) 2,16 - 2,30 (m, 1 H) 3,66 (d, J=4,80 Hz, 4 H) 3,72 - 3,82 (m, 4 H) 3,84 - 4,01 (m, 4 H) 4,10 (s, 3 H) 5,33 (td, J=3,85, 1,89 Hz, 1 H) 6,38 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 7,01 (dd, J=7,45, 4,93 Hz, 1 H) 8,04 (dd, J=5,05, 1,77 Hz, 1 H) 8,38 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 8,64 (s, 1 H) 8,73 (dd, J=7,33, 1,77 Hz, 1 H). LRMS (IEN) m/e 425 [(M + H)⁺, calc. para C₂₁H₂₄N₆O₄ 424].

15

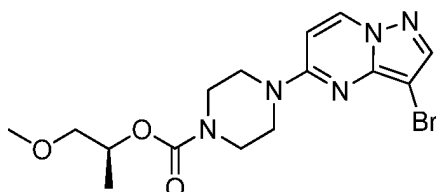
20

5.6.35. Síntesis de 4-(3-(2-metoxipiridin-3-y))pirazolopirimidin-5-il)piperazina -1-carboxilato de (S)-1-metoxipropan-2-ilo

25



Parte A. 4-(3-bromopirazolopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (S)-1-metoxipropan-2-ilo



30

Esta se realizó en las mismas condiciones y escala que se usa para el anterior [4-(3-bromopirazolopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (S)-tetrahidrofuran-3-ilo] para obtener un 71% del producto deseado. RMN ¹H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,29 (d, J=6,27 Hz, 3 H) 3,30 - 3,41 (m, 3 H) 3,41- 3,54 (m, 2 H) 3,58 - 3,69 (m, 4 H) 3,71- 3,83 (m, 4 H) 4,98 - 5,12 (m, 1 H) 6,35 (d, J=8,03 Hz, 1 H) 7,86 (s, 1 H) 8,26 (d, J=7,78 Hz, 1 H).

35

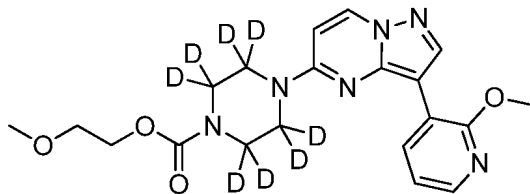
Parte B. 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolopirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (S)-1-metoxipropan-2-ilo. La reacción de acoplamiento de Suzuki se realizó en las condiciones habituales para la síntesis de otros ejemplos, proporcionando un 64% del producto deseado. ¹H RMN (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,29 (d, J=6,32 Hz, 3 H) 3,40 (s, 3 H) 3,42 - 3,54 (m, 2 H) 3,61 - 3,70 (m, 4 H) 3,71- 3,81 (m, 4 H) 4,09 (s, 3 H) 5,06 (quin, J=6,32, 6,32, 6,32, 4,04 Hz, 1 H) 6,38 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 7,00 (dd, J=7,45, 4,93 Hz, 1 H) 8,03 (dd, J=4,93, 1,89 Hz, 1 H) 8,36 (d, J=7,83 Hz, 1 H) 8,63 (s, 1 H) 8,74 (dd, J=7,58, 2,02 Hz, 1 H). LRMS (IEN) m/e 427 [(M + H)⁺, calc. para

40

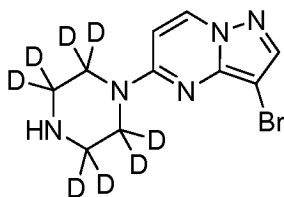
$C_{21}H_{26}N_6O_4$ 426].

5.6.36. Síntesis de 4-(3-(2-metoxipiridin-3-yl)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazina(d_8)-1-carboxilato de 2-metoxietilo

5



Parte A. 3-Bromo-5-(piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina(d_8)

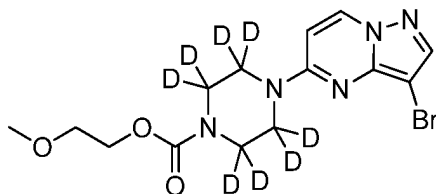


10

Una mezcla de 3-bromo-5-cloropirazolo[1,5-a]pirimidina (930 mg, 4 mmol), piperazin- d_8 HCl (1 g, 6 mmol) y TEA (2,23 ml, 16 mmol) en isopropanol (8 ml) se calentó en un horno microondas a 140 °C durante 30 min. La mezcla se concentró para dar el compuesto del título que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

15

Parte B. 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazina(d_8)-1-carboxilato de 2-metoxietilo



20

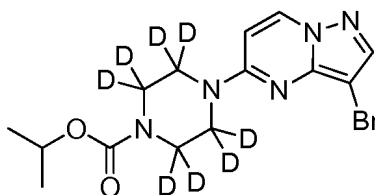
A una mezcla de 3-bromo-5-(piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin- d_8 (~ 2 mmol) y DIEA (1,74 ml, 10 mmol) en THF (20 ml) se le añadió cloroformiato de metoxietilo (279 μ l, 2,4 mmol). La mezcla resultante se agitó a ta durante una noche. La mezcla se concentró y el residuo se sometió a ISCO, después HPLC prep para dar el compuesto del título (382 mg). RMN 1H (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ ppm 3,39 (s, 3 H) 3,57 - 3,70 (m, 2 H) 4,24 - 4,31 (m, 2 H) 6,32 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 7,84 (s, 1 H) 8,24 (d, $J=8,08$ Hz, 1 H).

25

Parte C. 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazina(d_8)-1-carboxilato de 2-metoxietilo. En las condiciones habituales de acoplamiento de Suzuki con 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazina(d_8)-1-carboxilato de 2-metoxietilo y un ácido borónico apropiado para proporcionar el compuesto del título. RMN 1H (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ ppm 3,41 (s, 3 H) 3,58 - 3,70 (t, $J=3,40$ Hz, 2 H) 4,09 (s, 3 H) 4,27 - 4,32 (t, $J=3,40$ Hz, 2 H) 6,35 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 6,99 (dd, $J=7,58, 4,80$ Hz, 1 H) 8,02 (dd, $J=4,80, 1,77$ Hz, 1 H) 8,35 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 8,62 (s, 1 H) 8,72 (dd, $J=7,45, 1,89$ Hz, 1 H). LRMS (IEN) m/e 421,2 [(M + H) $^+$], calc. para $C_{21}H_{26}N_6O_4$ 420,5].

30

5.6.37. Síntesis de Parte A. 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazina(d_8)-1-carboxilato de isopropilo



35

A una mezcla de 3-bromo-5-(piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina- d_8 (~ 2 mmol) y DIEA (1,74 ml, 10 mmol) en THF (20 ml) se le añadió cloroformiato de isopropilo (solución 2 M, 1,2 ml, 2,4 mmol). La mezcla resultante se agitó a ta durante una noche. La mezcla se concentró y el residuo se sometió a ISCO para dar el compuesto del título (449 mg). RMN 1H (400 MHz, CLOROFORMO- d) δ ppm 1,26 (d $J=6,32$ Hz, 6 H) 4,90 - 5,00 (m, 1 H) 6,31 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 7,83 (s, 1 H) 8,23 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H).

40

Parte B. 4-(3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolof[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazina(d8)-1-carboxilato de isopropilo. En las condiciones habituales de acoplamiento de Suzuki con 4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazina(d8)-1-carboxilato de 2-isopropilo y un ácido borónico apropiado para proporcionar el compuesto del título. RMN 1H (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 1,29 (d, $J=6,32$ Hz, 6 H) 2,48 (s, 3 H) 4,07 (s, 3 H) 4,98 (quin, $J=6,25$ Hz, 1 H) 6,32 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 6,84 (d, $J=7,58$ Hz, 1 H) 8,33 (d, $J=7,83$ Hz, 1 H) 8,56 - 8,60 (m, 2 H). LRMS (IEN) m/e 419,2 [(M + H)⁺, calc. para C₂₁H₂₆N₆O₄ 418,5].

5.6.38. Ensayo en placa de filtro P81

10 Se diluyeron en serie los compuestos en una placa Labcyte LDV (Labcyte, n.º de Cat. LP-0200) usando Multiprobe (PerkinElmer) y Biomek FX (Beckman Coulter), de tal forma que la máxima concentración de compuesto fue de 96 μ M. Después, se añadieron los compuestos (75 nl por pocillo) en una placa de reacción de 384 pocillos Greiner (Greiner, n.º 781076) usando un manejador de líquidos ECHO 550 (Labcyte). Después, se añadió un total de 12 μ l de tampón de reacción (tampón IMAP que contiene Tween y DTT, de Molecular Devices) a cada pocillo de las
15 columnas 1 y 13 para los controles negativos y se añadieron 12 μ l de AAK1 2X (proteína humana de longitud completa 0,2 nM, n.º de referencia del NCBI NP_055726.2) a los pocillos restantes. Después, se preincubó la enzima con compuesto durante 10 minutos a TA. Las reacciones se iniciaron tras la adición en el dispositivo Minitrak (PerkinElmer) de 12 μ l de mezcla de sustrato que contenía Mu2 2X (0,2 μ M, proteína humana de longitud completa), ATP frío 2x (2 μ M) y 1,3 μ Ci de ³³P-ATP caliente. Las reacciones se produjeron durante una hora a TA. Mientras tanto, se colocaron placas de filtro P81 de 384 pocillos de Millipore (Millipore, n.º de catálogo MZPHNOW10) sobre un lavado de placas (Zoom ZW, de Titertek) y se prehumedecieron con 50 μ l de ácido fosfórico al 1%. Después, se detuvieron las reacciones de cinasa tras la adición de 24 μ l de ácido fosfórico al 2% a cada pocillo y después se usó el Minitrak para transferir 40 μ l de cada pocillo a las lacas de filtro P81 de 384 pocillos de Millipore prehumedecidas. Las mezclas de reacción se incubaron durante 10 minutos a TA en las placas P81, seguido de lavado cinco veces
20 con 100 μ l/pocillo de ácido fosfórico al 1% usando el lavador de filtro Zoom. Se selló el fondo de cada placa de filtro, seguido de la adición de 20 μ l de Microscint 40 a cada pocillo, sellando la parte superior de las placas con la cubierta Flashplate y después se esperó durante una hora hasta la lectura en el dispositivo TopCount (PerkinElmer).

5.6.39. Ensayo basado en células HEK281

30 Se cultivaron células HEK293F en medio que contenía DMEM (Gibco, n.º de cat. 11965), FBS al 10% (SAFC Biosciences, n.º de cat. 12103C), GPS 1X (glutamina, penicilina y estreptomina). En el día uno, se sembraron las células en una placa de 10 cm, de tal forma que tenían una confluencia de ~80% en el momento de la transfección. En el momento de la transfección, había aproximadamente 12 millones de células en una placa de 10 cm. En el día
35 dos, se transfectó cada placa con 48 μ g de ADN y 144 μ l de Lipofectamine 2000 (Invitrogen, n.º de cat. 11668-019). El ADN estaba formado por una mezcla (por cada placa de 10 cm) que contenía 3 μ g de AAK1/HA/pIRES (humano de longitud completa, n.º de referencia del NCBI NP_055726.2), 45 μ g de Flag/AP2MI/pcDNA (humano de longitud completa) y 1,5 ml de OPTI-MEM. La Lipofectamine 2000 está formada por una mezcla (por cada placa de 10 cm) que contiene 144 μ l de Lipofectamine 2000 y 1,5 ml de OPTI-MEM. Cada mezcla se transfirió a tubos individuales de
40 15 ml y se incubó a TA durante 5 minutos y después se combinaron e incubaron las dos mezclas a TA durante 20 minutos. Después, se aspiró el medio de crecimiento de cada placa de 10 cm y se reemplazó con 10 ml de DMEM+FBS al 10% (sin GPS). Finalmente, se añadieron 3 ml de mezcla de ADN/Lipofectamine a cada placa de 10 cm y se mezcló cuidadosamente seguido de incubación de la placa durante una noche a 37°C y CO₂ al 5%.

45 En el día tres, se diluyeron los compuestos en DMSO al 100% a una concentración final de 1000X, seguido de diluciones en serie de factor 3 hasta un total de 5 concentraciones ensayadas. Se evaluaron cuatro compuestos por cada placa de 10 cm. Después, se pipeteó un μ l de cada dilución de compuesto en una placa de 96 pocillos profundos, seguido de la adición de 500 μ l de DMEM + FBS al 0,5% en cada pocillo para una concentración final 2X de cada compuesto. Las células se suspendieron en una placa de 10 cm simplemente pipeteando (las células HEK293 se desprenden fácilmente de la placa en este punto) y después se transfirieron a un tubo cónico de 50 ml y se sedimentan por centrifugación a 1000 rpm durante 5 min. Después, se resuspendieron los sedimentos celulares en 2,75 ml de DMEM + FBS al 0,5% por cada placa de 10 cm y se transfirieron 100 μ l de la suspensión de células a cada pocillo de una placa TC de 96 pocillos. Finalmente, se añadieron 100 μ l de compuesto 2X diluido en DMEM + FBS al 0,5% a los pocillos que contenían la suspensión de células hasta una concentración final de 1X. Después, se
50 incubaron las placas a 37 °C y CO₂ al 5% durante 3 horas, seguido de la transferencia de las suspensiones celulares de cada pocillo a tiras para PCR de 12 tubos. Las tiras para PCR se centrifugaron en un soporte para puntas a 1000 rpm durante 5 minutos para sedimentar las células y después se retiró el medio pipeteando sin alterar el sedimento celular.

60 Para la preparación del análisis de transferencia de Western, se resuspendieron los sedimentos celulares en 40 μ l de tampón de muestra para LDS-PAGE 1X (Invitrogen, n.º de cat. NP0008) + cóctel inhibidor de fosfatasa y proteasas Halt 2X (Thermo Scientific, n.º de cat. 1861284) seguido de tratamiento de cada uno con ultrasonidos con un sonicador de micropunta ajustado a 5 durante 8-10 segundos. Después, se añadieron cinco μ l de agente reductor de muestra NuPage 10X (con DTT 50 mM) seguido de desnaturalización por calor a 70°C durante 10 min en la máquina de PCR. Se cargó un total de 10 μ l por muestra en cada carril de un gel de 26 pocillos Criterion de Tris-Glicina al 4-20% (Biorad, n.º de cat. 345-0034) para la transferencia de fosfo-mu2 y 10 μ l por carril en un gel de 26
65

pocillos NuPAGE de Bis-Tris al 4-12% (+tampón MES) (Invitrogen, n.º de cat. WG1403BX10) para la transferencia de mu2. Para los controles, se cargaron 2 ng de fosfo-mu2 o 20 ng de proteínas mu2/Flag en el último pocillo de cada gel. Después de la SDS-PAGE, se transfirieron las muestras en cada gel a una membrana de PVDF usando un dispositivo iBlot y se bloquearon las membranas durante una hora en TBST + leche al 5%, seguido de lavado 3X durante 5-10 min con TBST. Los geles Criterion se sondaron con anticuerpo de conejo anti-fosfo-mu2 (1:5000; un anticuerpo policlonal de conejo producido por New England Peptide y purificado por afinidad en Lexicon) en TBST + BSA al 5%, mientras que, los genes NuPage se sondaron con anticuerpo de ratón anti-Flag (1:500; Sigma, n.º de cat. F1804) en TBST + leche al 5% y estos anticuerpos primarios se incubaron durante una noche a 4°C en un balancín.

En el día cuatro, se lavaron las transferencias de Western 3X durante 5-10 minutos con TBST, se sondaron con anticuerpo anti-HRP de conejo (1:2000; BioRad, n.º de cat. 170-6515) o anticuerpo anti-HRP de ratón (1:2000; Biorad, n.º de cat. 170-6516) en TBST + leche al 5% durante 1 hora a TA, se lavaron 3X durante 10 minutos con TBST, y se revelaron con reactivo ECL (GE Healthcare, n.º de cat. RPN2132) en un dispositivo Versadoc. Finalmente, se configuró la cámara para tomar una fotografía cada 30 segundos durante 10 minutos y se guardó la mejor imagen para cada transferencia sin saturación de la señal (cuando la señal se satura, las bandas estarán resaltadas en rojo). Se efectuó un análisis de volumen en cada banda para obtener los valores de densidad. Para cada muestra, se calculó el porcentaje de inhibición normalizando en primer lugar a los niveles de expresión totales de Mu2 y después comparándolos con los controles del 0% y del 100%. Después, se calcularon los valores de CI₅₀ usando el programa de ajuste Excel.

5.6.40. Datos *in vitro*

Los datos *in vitro* obtenidos para diversos compuestos de la invención se proporcionan a continuación en la tabla 1, en donde "PM" significa peso molecular, "ensayo P81" se refiere al ensayo en placa de filtro P81 descrito anteriormente, "CBA" se refiere al ensayo basado en células HEK281 descrito anteriormente, "--" significa que no se obtuvieron resultados para el ensayo dado, "*" significa menor o igual a 1,0 µM, "***" significa un valor menor o igual a 0,1 µM y "****" significa menor o igual a 0,01 µM.

Tabla 1

Compuesto	PM	CI ₅₀ CEN µM	P81 CI ₅₀ µM
(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)(pirrolidin-1-il)metanona	407,5	**	***
(S)-1-(2-(((3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-il)butan-1-ona	393,5	**	***
(S)-1-(2-(((3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-il)-3,3-dimetilbutan-1-ona	421,5	***	***
(S)-1-(3,3-dimetilbutil)-5-(((3-(2-etoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-2-ona	435,6	**	***
(S)-1-(3,3-dimetilbutil)-5-(((3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-2-ona	421,5	***	***
(S)-1-(3,3-dimetilbutil)-5-(((3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-2-ona	422,5	**	***
(S)-1-(3,3-dimetilbutil)-5-(((3-(3-metoxipiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-2-ona	422,5	**	***
(S)-1-(3,3-dimetilbutil)-5-(((3-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-2-ona	391,5	--	***
(S)-2-(((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)-N-(<i>terc</i> -butil)pirrolidin-1-carboxamida	395,3	***	***
(S)-2-ciclopropil-N-metil-N-(1-(3-(piridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)acetamida	376,5	--	**
(S)-3,3,3-trifluoro-1-(2-(((3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona	433,4	**	***
(S)-3,3,3-trifluoro-1-(2-(((3-(piridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-il)propan-1-ona	404,4	**	***
(S)-3,3,3-trifluoro-N-(1-(3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N-metilpropanamida	433,4	--	**
(S)-3,3,3-trifluoro-N-(1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N-metilpropanamida	434,4	***	***
(S)-3,3,3-trifluoro-N-metil-N-(1-(3-(piridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)propanamida	404,4	***	***

Compuesto	PM	Cl ₅₀ CEN µM	P81 Cl ₅₀ µM
(S)-5-(((3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)-1-(3,3-dimetilbutil)pirrolidin-2-ona	394,3	**	***
2-(((3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-etilo	395,5	***	***
(1-(3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)(metil)carbamato de (S)-isopropilo	409,5	--	**
(1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)(metil)carbamato de (S)-isopropilo	410,5	--	**
2-(((3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-isopropilo	409,5	***	***
metil(1-(3-(piridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)carbamato de (S)-isopropilo	380,4	--	*
metil(1-(3-(piridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)carbamato de (S)-isopropilo	380,4	--	**
2-(((3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-metilo	381,4	**	***
(S)-N-(1-(3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N-metilbutiramida	393,5	*	***
(S)-N-(1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N-metilbutiramida	394,5	*	***
(S)-N-(1-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-3,3,3-trifluoro-N-metilpropanamida	406,2	--	**
(S)-N-(1-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N-metilpirrolidin-1-carboxamida	393,3	--	**
(S)-N-(<i>terc</i> -butil)-2-(((3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxamida	422,5	**	***
(S)-N-metil-N-(1-(3-(piridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)butiramida	364,4	--	*
(1-(3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)(metil)carbamato de (S)- <i>terc</i> -butilo	423,5	**	***
2-(((3-(2-(metoximetil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	437,5	**	***
2-(((3-(2-etilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	421,5	**	***
2-(((3-(2-hidroxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	409,5	**	***
2-(((3-(2-isopropoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	451,6	***	***
2-(((3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	423,5	***	--
2-(((3-(3-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	423,5	***	***
2-(((3-(4-(aminometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	422,5	***	***
2-(((3-(4-carbamoilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	436,5	*	***
2-(((3-(4-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	423,5	***	***
2-(((3-(4-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	424,5	***	***
2-(((3-(piridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	394,5	***	--
2-(((3-(piridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	394,5	***	--

Compuesto	PM	CI ₅₀ CEN µM	P81 CI ₅₀ µM
2-(((3-(trifluorometil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	385,4	**	***
2-(((3-yodopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	443,3	**	--
2-(((3-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	393,5	**	***
metil(1-(3-(2-metilpiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)carbamato de (S)- <i>terc</i> -butilo	408,5	**	***
metil(1-(3-(piridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)carbamato de (S)- <i>terc</i> -butilo	394,5	--	*
1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona	394,5	**	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il) piperazin-1-carboxilato de 2,2,2-trifluoroetilo	436,4	***	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-fluoroetilo	400,4	***	***
4-(3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo	411,5	--	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo	412,4	**	***
3-(2-metoxipiridin-3-il)-N-(4,4,4-trifluorobutil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	351,3	**	***
3-(3-metoxipiridin-4-il)-N-(2-(trifluorometoxi)fenetil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	429,4	***	--
3-(4-(aminometil)fenil)-N-(2-(ciclopentiloxi)etil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	351,4	**	--
3-(4-(aminometil)fenil)-N-(2-(neopentiloxi)etil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	353,5	**	--
3-(4-(aminometil)fenil)-N-(2-(<i>terc</i> -butoxi)etil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	339,4	**	--
3-(4-(aminometil)fenil)-N-(2-(trifluorometoxi)fenetil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	427,4	***	--
3-(4-(aminometil)fenil)-N-(2-metoxietil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	297,4	**	--
3-(4-(aminometil)fenil)-N-(3-(ciclopentiloxi)propil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	365,5	**	--
3-(4-(aminometil)fenil)-N-butilpirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	295,4	**	--
3-(4-metoxipiridin-3-il)-N-(2-(trifluorometoxi)fenetil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	429,4	**	--
3-bromo-N-((1-(2,2,2-trifluoroetil)pirrolidin-2-il)metil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	378,2	**	***
3-bromo-N-(3-(ciclopentiloxi)propil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	339,2	*	--
4-(5-(butilamino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)-N-(2-(metilamino)etil)benzamida	366,5	**	--
5-(4-(isobutilsulfonil)piperazin-1-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina	430,5		**
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de ciclopentilo	422,5	***	***
4-(3-(2-etoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de etilo	396,4	***	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de etilo	382,4	**	***
5-(4-(isopropoxicarbonil)piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina-3-carboxilato de etilo	361,4		**
metil(2-((3-(4-(metilcarbamoil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)carbamato de etilo	396,4	**	--

ES 2 676 224 T3

Compuesto	PM	Cl ₅₀ CEN μM	P81 Cl ₅₀ μM
(2-((3-(4-carbamoilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)carbamato de isobutilo	410,5	***	--
metil(2-((3-(4-(metilcarbamoil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)carbamato de isobutilo	424,5	*	--
(1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)azetidn-3-il)(metil)carbamato de isopropilo	396,4	--	**
(2-((3-(3-metoxipiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)carbamato de isopropilo	384,4	***	--
(2-((3-(4-(aminometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)carbamato de isopropilo	382,5	**	--
(2-((3-(4-carbamoilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)carbamato de isopropilo	396,4	***	--
(2-((3-(4-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)carbamato de isopropilo	384,4	**	--
4-(3-(1,3,5-trimetil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	397,5	--	**
4-(3-(1-isobutil-1H-pirazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	411,5	--	**
4-(3-(1-metil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	**	***
4-(3-(2-(metoximetil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	409,5	--	*
4-(3-(2-(metiltio)piridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	412,5	--	**
4-(3-(2,6-dimetoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	426,5	***	***
4-(3-(2-aminopiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	381,4	--	**
4-(3-(2-cloropiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	400,9	*	**
4-(3-(2-etoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	410,5	**	***
4-(3-(2-fluoropiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	384,4	**	***
4-(3-(2-hidroxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	382,4	**	***
4-(3-(2-isopropoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	424,5	**	***
4-(3-(2-metoxi-5-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	410,5	***	***
4-(3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	410,5	**	***
4-(3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	395,5	--	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	--	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-3-oxopiperazin-1-carboxilato de isopropilo	410,4	***	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-2,2-dimetilpiperazin-1-carboxilato de isopropilo	424,5	--	**
4-(3-(2-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	380,4	--	**
4-(3-(3,6-dimetoxipiridazin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	427,5	***	***

ES 2 676 224 T3

Compuesto	PM	CI ₅₀ CEN µM	P81 CI ₅₀ µM
4-(3-(3-etoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	409,5	--	***
4-(3-(3-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	413,4	--	**
4-(3-(3-metoxipiridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	--	*
4-(3-(3-metoxipiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	**	***
4-(3-(4-fluoropiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	384,4	--	**
4-(3-(4-metoxipiridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	--	***
4-(3-(4-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	**	***
4-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	413,4	***	***
4-(3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	414,4	**	***
4-(3-(5-fluoropiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	384,4	--	***
4-(3-(5-metoxipiridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	***	***
4-(3-(5-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	**	***
4-(3-(6-fluoropiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	384,4	--	**
4-(3-(6-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	*	***
4-(3-(etilcarbamoil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	360,4	--	**
4-(3-(isopropilcarbamoil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	374,4	--	*
4-(3-(metilcarbamoil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	346,4	--	**
4-(3-(pirazin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	367,4	--	**
4-(3-(piridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	366,4	**	***
4-(3-(piridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	366,4	--	***
4-(3-(piridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	366,4	**	***
4-(3-(pirimidin-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	367,4	--	**
4-(3-isopropilpirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	331,4	--	**
4-(pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	289,3	--	***
metil(2-((3-(4-((2-(metilamino)etil)carbamoil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)carbamato de isopropilo	453,5	**	--
metil(2-((3-(4-(metilcarbamoil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)carbamato de isopropilo	410,5	***	--
metil(2-((3-(4-(pirrolidin-2-il)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)carbamato de isopropilo	422,5	***	--
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de metilo	368,4	**	**

ES 2 676 224 T3

Compuesto	PM	CI ₅₀ CEN µM	P81 CI ₅₀ µM
N-(2-(ciclopentiloxi)etil)-3-(3-metoxipiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	353,4	**	--
N-(2-(<i>terc</i> -butoxi)etil)-3-(3-metoxipiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	341,4	**	--
N-(2-aminoetil)-4-(5-((2-metoxietil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)benzamida	354,4	*	--
N-(2-aminoetil)-4-(5-((3,3-dimetilbutil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)benzamida	380,5	*	--
N-(2-aminoetil)-4-(5-(butilamino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)benzamida	352,4	**	--
N-(2-metoxietil)-3-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	268,3	*	--
N-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-N-(4,4,4-trifluorobutil) acetamida	393,4	--	*
N-(3-(ciclopentiloxi)propil)-3-(3-metoxipiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	367,4	**	--
N-(<i>terc</i> -butil)-4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxamida	409,5	**	***
N-(<i>terc</i> -butil)-4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-N-metilpiperazin-1-carboxamida	423,5	**	***
N-isopropil-4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxamida	395,5	***	***
N-isopropil-4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-N-metilpiperazin-1-carboxamida	409,5	**	***
(1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)azetidid-3-il)(metil)carbamato de <i>terc</i> -butilo	410,5	--	*
(2-((3-(3-metoxipiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)carbamato de <i>terc</i> -butilo	398,5	***	--
(2-((3-(4-carbamoilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)(metil)carbamato de <i>terc</i> -butilo	410,5	***	--
(2-(4-(5-((2-metoxietil)amino)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)benzamido)etil)carbamato de <i>terc</i> -butilo	454,5	*	--
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo	410,5	***	***
metil(2-((3-(4-(metilcarbamoil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)carbamato de <i>terc</i> -butilo	424,5	***	--
(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)(piperidin-1-il)metanona	421,5	**	***
4-(3-(6-metoxipiridin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	**	***
4-(3-(5-fluoro-2-metoxi-4-metilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	427,5	***	***
4-(3-(2,4-dimetoxipirimidin-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	427,5	**	***
4-(3-(3-fluoro-4-metilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	397,4	--	**
4-(3-yodopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	415,2	--	**
2-((metil(pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-isopropilo	317,4	--	*
2-(((3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)(metil)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-isopropilo	424,5	***	***
4-(3-(2-metoxipiridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	--	**
4-(3-(3-metoxiprop-1-en-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (E)-isopropilo	359,4	--	*

Compuesto	PM	Cl ₅₀ CEN µM	P81 Cl ₅₀ µM
4-(3-(2-etoxivinil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (E)-isopropilo	359,4	--	**
4-(3-cloropirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	323,8	--	**
4-(3-(2-d ₃ -metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	399,4	***	***
2-(((3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)-isopropilo	410,5	***	***
4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-d ₈ -piperazin-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo	390,2	--	**
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-d ₈ -piperazin-1-carboxilato de isopropilo	404,4	***	***
4-(3-(1,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	410,5	--	***
3-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-2-oxoimidazolidin-1-carboxilato de isopropilo	396,4	--	*
4-(3-(1H-benzo[d]imidazol-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	405,5	--	**
2-isobutil-7-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)hexahidroimidazo[1,5-a]pirazin-3(2H)-ona	421,5	--	***
3-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptano-6-carboxilato de (1R,5S)- <i>terc</i> -butilo	422,5	--	**
4-(3-(2-metoxi-4-metilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	409,5	**	***
3-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptano-6-carboxilato de (1R,5S)-isopropilo	408,5	--	**
(2-(((3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)(metil)amino)etil)(metil)carbamato de isopropilo	398,5	--	**
4-(3-(2-(2-metoxietoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	439,5	--	**
4-(3-(2-(2-metoxietoxi)piridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	440,5	--	**
4-(3-(2-metoxi-5-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de etilo	396,4	**	***
(2-(((3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)etil)carbamato de isopropilo	370,4	--	**
(2-(((3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)(metil)amino)etil)(metil)carbamato de isopropilo	412,5	--	**
(2-(((3-(2-metoxi-5-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)(metil)amino)etil)(metil)carbamato de isopropilo	412,5	--	**
(2-(((3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)(metil)amino)etil)(metil)carbamato de isopropilo	416,4	--	***
4-(3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de etilo	400,4	**	***
4-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de etilo	399,4	--	***
4-(3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de etilo	396,4	**	***
4-(3-(2,6-dimetoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de etilo	412,4	--	***
(3-(((3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)(metil)amino)propil)(metil)carbamato de isopropilo	412,5	**	***
(3-(((3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)(metil)amino)propil)(metil)carbamato de isopropilo	426,5	**	***

Compuesto	PM	Cl ₅₀ CEN µM	P81 Cl ₅₀ µM
4-(3-(2-d ₃ -metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de etilo	385,4	**	***
4-(3-(2-(2-(dimetilamino)etoxi)piridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	453,5	--	**
(3-((3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)(metil)amino)propil)(metil)carbarnato de isopropilo	430,5	--	***
N-(2-(<i>terc</i> -butoxi)etil)-3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	341,4	--	***
N-(2-(<i>terc</i> -butoxi)etil)-3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	355,4	--	**
(2-((3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)oxi)etil)(metil)carbarnato de <i>terc</i> -butilo	399,4	--	***
(2-((3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)oxi)etil)(metil)carbarnato de isopropilo	385,4	--	**
(1-(3-(2,6-dimetoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)(metil)carbarnato de (S)-isopropilo	440,5	--	**
(1-(3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)(metil)carbarnato de (S)-isopropilo	428,5	--	**
(1-(3-(2-metoxi-5-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)(metil)carbarnato de (S)-isopropilo	424,5	--	***
(1-(3-(1,6-dimetil-2-oxo-1,2-dihidropiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)(metil)carbarnato de (S)-isopropilo	424,5	--	*
(1-(3-(2-d ₃ -metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)(metil)carbarnato de (S)-isopropilo	424,5	**	***
(1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)(metil)carbarnato de (S)-isopropilo	413,4	**	***
4-(3-(imidazo[1,2-a]piridin-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	405,5	--	**
(1-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)(metil)carbarnato de (S)-isopropilo	427,5	**	***
4-(3-(imidazo[1,2-a]piridin-8-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	405,5	--	**
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de propilo	396,4	**	
4-(3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de propilo	410,5		
4-(3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de propilo	414,4	**	...
3-(2-metoxipiridin-3-il)-5-(4-(3,3,3-trifluoropropil)piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina	406,4	--	*
3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)-5-(4-(3,3,3-trifluoropropil)piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina	424,4	--	*
3-bromo-5-(4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina	364,2	--	**
3-(2-metoxipiridin-3-il)-5-(4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina	392,4	--	**
3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)-5-(4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina	406,4	--	**
3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)-5-(4-(2,2,2-trifluoroetil)piperazin-1-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina	410,4	--	*
4-(3-(2-d ₃ -metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo	413,4	***	***
4-(3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo	424,5	***	***
4-(3-(2-etoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo	424,5	***	***

ES 2 676 224 T3

Compuesto	PM	Cl ₅₀ CEN µM	P81 Cl ₅₀ µM
4-(3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo	428,5	**	***
4-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de <i>terc</i> -butilo	427,5	***	***
N-(3-(<i>terc</i> -butoxi)propil)-3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	355,4	**	***
N-(3-(<i>terc</i> -butoxi)propil)-3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	369,5	--	***
3-bromo-N-(3-(<i>terc</i> -butoxi)propil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	327,2	-	*
4-(3-(trifluorometil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	357,3	-	*
4-(3-(piridazin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	367,4	--	*
N-(3-(<i>terc</i> -butoxi)propil)-3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)-N-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	383,5	--	**
N-(3-(<i>terc</i> -butoxi)propil)-3-(2-metoxipiridin-3-il)-N-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-5-amina	369,5	--	**
5-isopropil-3-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-1,2,4-oxadiazol	420,5	--	**
(S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona	423,5	***	***
4-(3-(4-(2-aminoetoxi)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	424,5	**	***
(S)-2-amino-N-((S)-1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)pirrolidin-3-il)-N,4-dimetilpentanamida	437,5	***	***
(S)-2-amino-N-(2-((3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)(metil)amino)etil)-N,4-dimetilpentanamida	425,5	--	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona	395,3	--	**
4-(3-(4-(metoxicarbonil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	423,5	--	**
(S)-2-amino-1-(4-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona	440,5	***	***
(S)-2-amino-4-metil-1-(4-(3-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona	392,5	***	***
4-(3-(4-(aminometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	394,5	***	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona	409,5	***	***
(R)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona	423,5	--	**
4-(3-(2-fluoro-6-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	414,4	--	**
(S)-2-amino-1-(4-(3-(2-fluorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona	396,5	***	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-cloropirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona	350,8	--	**
(S)-2-amino-1-(4-(3-fluoropirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-1-ona	334,4	--	*
4-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo	429,4	***	***
4-(3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo	430,4	**	***
4-(3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo	426,5	**	***

ES 2 676 224 T3

Compuesto	PM	Cl ₅₀ CEN µM	P81 Cl ₅₀ µM
(S)-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metil-2-(metilamino)pentan-1-ona	437,5	***	***
(S)-2-amino-3-metoxi-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)propan-1-ona	411,5	***	***
(1-aminociclopentil)(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)metanona	421,5	***	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3,3-dimetilbutan-1-ona	423,5	***	***
2-amino-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-2-metilpropan-1-ona	395,5	--	**
(S)-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)(pirrolidin-2-il)metanona	407,5	**	***
4-(3-(2-etoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo	426,5	--	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-(3-fluorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona	396,5	***	***
(S)-2-amino-3-metil-1-(4-(3-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)butan-1-ona	378,5	***	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-(4-fluorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona	396,5	***	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-(2,5-difluorofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona	414,5	***	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-(2-fluoro-4-metilfenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona	410,5	**	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona	408,5	***	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il) piperazin-1-carboxilato de 3-metoxipropilo	426,5	--	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-etoxietilo	426,5	--	**
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-(2-metoxietoxi)etilo	456,5	--	**
4-(3-(4-metoxipirimidin-5-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	397,4	--	**
(S)-2-amino-3,3-dimetil-1-(4-(3-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)butan-1-ona	392,5	**	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-(2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3,3-dimetilbutan-1-ona	422,5	***	***
(S)-2-amino-1-(4-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3,3-dimetilbutan-1-ona	440,5	***	***
(S)-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3,3-dimetil-2-(metilamino)butan-1-ona	437,5	**	***
(S)-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-4-metilpentan-2-amina	409,5	--	**
(S)-2-amino-1-(4-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)-3-metilbutan-1-ona	426,5	***	***
(1-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-1H-imidazol-4-il)metanol	322,3	--	**
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahidrofuran-3-ilo	424,5	***	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il) piperazin-1-carboxilato de 1-metoxipropan-2-ilo	426,5	***	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de tetrahidro-2H-piran-4-ilo	438,5	**	***

Compuesto	PM	CI ₅₀ CEN µM	P81 CI ₅₀ µM
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 1-metoxi-2-metilpropan-2-ilo	440,5	*	***
5-(4-(metoximetil)-1H-imidazol-1-il)-3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidina	336,3	--	**
(2S,3R)-2-amino-3-metoxi-1-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)butan-1-ona	425,5	**	***
(S)-(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)(morfolin-3-il)metanona	423,5	--	***
(3-aminotetrahidrofuran-3-il)(4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-il)metanona	423,5	**	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il) piperazin-1-carboxilato de 2-(dimetilamino)etilo	425,5	--	**
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il) piperazin-1-carboxilato de 2-(terc-butoxi)etilo	454,5	--	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 1,3-dimetoxipropan-2-ilo	456,5	--	**
4-(3-(5-fluoro-2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahidrofuran-3-ilo	442,4	***	***
4-(3-(5-fluoro-2-metoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahidrofuran-3-ilo	441,5	***	***
4-(3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-tetrahidrofurano-3-ilo	438,5	**	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de oxetan-3-ilo	410,4	***	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il) piperazin-1-carboxilato de (S)-tetrahidrofuran-3-ilo	424,5	***	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (S)-1-metoxipropan-2-ilo	426,5	***	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de (R)-1-metoxipropan-2-ilo	426,5	*	***
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxi-2-oxoetilo	426,4	--	**
4-(3-bromopirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-d ₈ -piperazin-1-carboxilato de isopropilo	376,2	--	**
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-d ₈ -piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo	420,4	**	***
4-(3-(2-metoxi-6-metilpiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)-d ₈ -piperazin-1-carboxilato de isopropilo	418,4	***	***
N-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)butiramida	311,3	--	**

5.6.41. Efectos farmacológicos

5 Los estudios en ratones *knockout* para AAK1 demostraron que la supresión del gen AAK1 afecta a la respuesta al dolor, según se mide usando la prueba de formalina en la pata. Véase el ejemplo 5.6.1, anterior. Se usó la misma prueba para confirmar que la administración de un inhibidor de AAK1 también puede afectar a la respuesta al dolor.

10 Se ensayó la nocicepción en ratones con analizadores de nocicepción automáticos (adquiridos de Ozaki Lab en la University of California, San Diego). Se colocó con pegamento instantáneo una banda metálica alrededor de la pata trasera izquierda de cada ratón 30 minutos antes de la prueba. Después del periodo de aclimatación de 30 minutos, se inyectaron por vía subcutánea 20 µl de formalina al 5% en la superficie dorsal de la pata trasera izquierda. Se alojó a los ratones de manera individual en cámaras cilíndricas durante 45 minutos. Se preparó solución fresca de formalina al 5 % diluyendo formaldehído (Formalde-fresh al 20%, Fisher Scientific, Fair Lawn, NJ) con agua destilada. Los compuestos de investigación se administraron 30 minutos antes de la inyección de formalina.

15 Se registró con un programa informático el número de gestos de dolor por minuto, lo gestos de dolor totales para la fase I (fase aguda = primeros 8 minutos) y los gestos de dolor totales para la fase II (fase tónica entre 20 - 40 minutos) mediante un campo electromagnético. Véase Yaksh TL, Ozaki G, McCumber D, Rathbun M, Svensson C, Malkmus S, Yaksh MC. *An automated flinch detecting system for use in the formalin nociceptive bioassay*. J Appl

Physiol., 2001; 90:2386-402.

5 Se evaluaron diversos compuestos de la invención a diferentes dosis. Como controles positivos se usaron gabapentina y pregabalina. Los resultados se muestran a continuación en la tabla 2, en donde "*" significa un efecto mayor o igual al 50 por ciento del de la gabapentina a 200 mpk, "**" significa un efecto mayor o igual al 100 por ciento del de la gabapentina a 200 mpk, "sc" significa administración subcutánea y "po" significa administración oral.

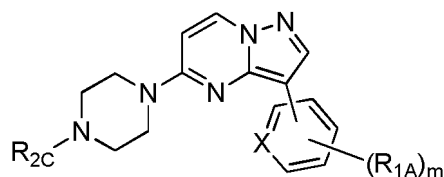
Tabla 2

Compuesto	Dosis (mpk)	Efecto
Gabapentina	50 sc	*
Gabapentina	200 sc	**
Pregabalina	50 sc	*
2-(((3-(2-metoxifenil)pirazol[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	10 sc	*
2-(((3-(2-metoxifenil)pirazol[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	60 sc	*
2-(((3-(piridin-4-il)pirazol[1,5-a]pirimidin-5-il)amino)metil)pirrolidin-1-carboxilato de (S)- <i>terc</i> -butilo	30 sc	**
4-(3-(2-metoxifenil)pirazol[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	30 sc	**
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazol[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	10 po	*
4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazol[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de isopropilo	30 po	**

10 Estos resultados demuestran que los inhibidores de AAK1 pueden usarse para tratar el dolor.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

X es CH o N;

10 cada R_{1A} es independientemente -OR_{1C}, -N(R_{1C})₂, -C(O)R_{1C}, -C(O)OR_{1C}, -C(O)N(R_{1C})₂, -N(R_{1C})C(O)OR_{1C}, ciano, halo o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más R_{1B};

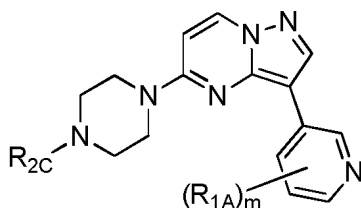
cada R_{1B} es independientemente -OR_{1C}, -N(R_{1C})₂, -C(O)R_{1C}, -C(O)OR_{1C}, -C(O)N(R_{1C})₂, -N(R_{1C})C(O)OR_{1C}, ciano o halo;

15 cada R_{1C} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de ciano, halo o hidroxilo;

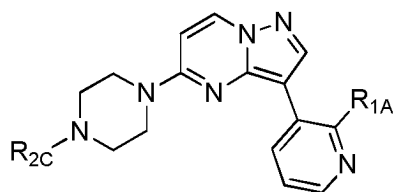
cada R_{2C} es independientemente -OR_{2D}, -N(R_{2D})₂, -C(O)R_{2D}, -C(O)OR_{2D}, -C(O)N(R_{2D})₂, -N(R_{2D})C(O)OR_{2D}, ciano, halo o hidrocarbilo C₁₋₂₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, ciano, halo, hidroxilo o R_{2D};

20 cada R_{2D} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido o heterocarbilo de 2-12 miembros, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, ciano, halo, hidroxilo; y m es 0-3.

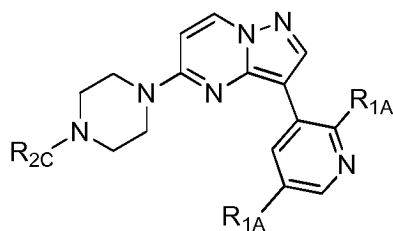
2. El compuesto de la reivindicación 1, que es de fórmula:



3. El compuesto de la reivindicación 2, que es de fórmula:



4. El compuesto de la reivindicación 2, que es de fórmula:



5. El compuesto de la reivindicación 1, en donde al menos un R_{1A} es halo.

6. El compuesto de la reivindicación 1, en donde al menos un R_{1A} es -OR_{1C}.

40 7. El compuesto de la reivindicación 6, en donde R_{1C} es hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido.

8. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R_{2c} es -C(O)OR_{2D}, -C(O)N(R_{2D})₂, o -N(R_{2D})C(O)OR_{2D}.
9. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R_{2c} es -C(O)R_{2D}.
- 5 10. El compuesto de la reivindicación 8, en donde cada R_{2D} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C₁₋₁₂.
11. El compuesto de la reivindicación 8, en donde al menos un R_{2D} es hidrocarbilo C₁₋₂₂ opcionalmente sustituido, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, ciano, halo, hidroxilo.
- 10 12. El compuesto de la reivindicación 8, en donde R_{2D} es heterocarbilo de 2-12 miembros que comprende al menos un átomo de nitrógeno.
13. El compuesto de la reivindicación 9, en donde R_{2D} es independientemente hidrógeno o hidrocarbilo C₁₋₁₂.
- 15 14. El compuesto de la reivindicación 9, en donde R_{2D} es hidrocarbilo C₁₋₁₂ opcionalmente sustituido, cuya sustitución opcional es con uno o más de amino, ciano, halo, hidroxilo.
15. El compuesto de la reivindicación 9, en donde R_{2D} es heterocarbilo de 2-12 miembros que comprende al menos un átomo de nitrógeno.
- 20 16. El compuesto de la reivindicación 1 donde el compuesto es 4-(3-(2-metoxipiridin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il)piperazin-1-carboxilato de 2-metoxietilo.
- 25 17. El compuesto de la reivindicación 1 donde el compuesto es éster isopropílico del ácido 4-[3-(2-Metoxi-piridin-3-il)-pirazolo[1,5-a]pirimidin-5-il]-piperazin-1-carboxílico.

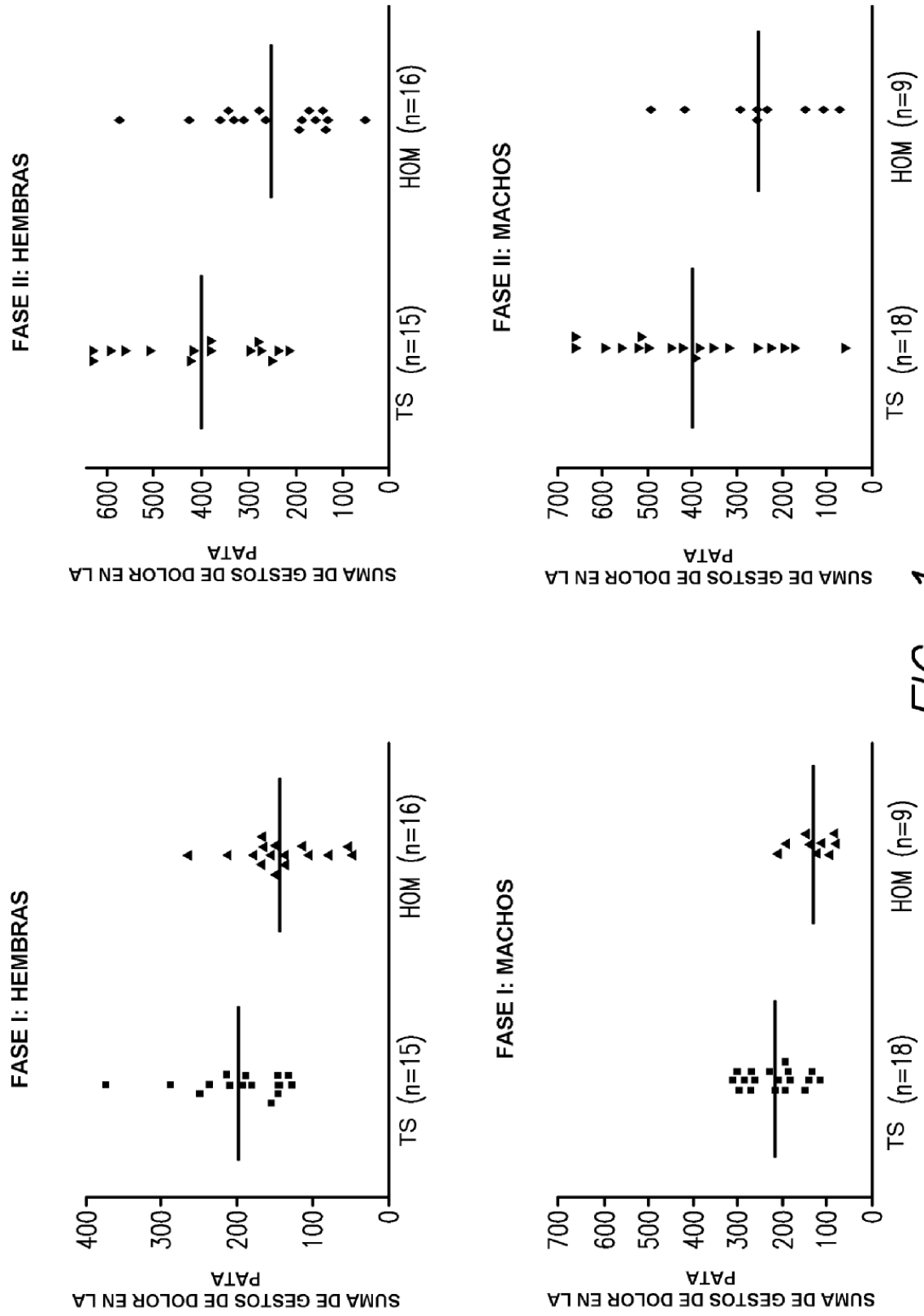


FIG. 1