

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 681 218**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)

A61K 31/519 (2006.01)

A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.12.2011 PCT/US2011/063928**

87 Fecha y número de publicación internacional: **14.06.2012 WO12078855**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.12.2011 E 11810714 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.04.2018 EP 2649075**

54 Título: **Pirazolopirimidinas sustituidas como activadoras de la glucocerebrosidasa**

30 Prioridad:

08.12.2010 US 420946 P

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

12.09.2018

73 Titular/es:

**THE U.S.A. AS REPRESENTED BY THE
SECRETARY, DEPARTMENT OF HEALTH AND
HUMAN SERVICES (100.0%)
6001 Executive Boulevard, Suite 325 Msc 7660
Bethesda, MD 20892-7660, US**

72 Inventor/es:

**MARUGAN, JUAN JOSE;
SOUTHALL, NOEL;
GOLDIN, EHUD;
PATNAIK, SAMARJIT;
SIDRANSKY, ELLEN;
MOTABAR, OMID;
WESTBROOK, WENDY y
ZHENG, WEI**

74 Agente/Representante:

CURELL AGUILÁ, Mireia

ES 2 681 218 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

Pirazolopirimidinas sustituidas como activadoras de la glucocerebrosidasa.

5 **Declaración de apoyo gubernamental**

La presente invención se realizó en parte con el apoyo gubernamental de los National Institutes of Health. El gobierno presenta determinados derechos sobre la presente invención.

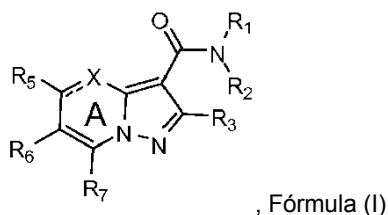
10 **Antecedentes**

La enfermedad de Gaucher es una enfermedad rara que afecta a 1 de cada 40.000 bebés nacidos, con una frecuencia particularmente elevada en los judíos Askenazi con ascendencia en Europa oriental (alrededor de 1 en 800 nacidos vivos). Está causada por mutaciones genéticas hereditarias en el gen de GBA (glucosidasa, beta ácido), que da como resultado una actividad reducida de la glucocerebrosidasa (GCasa o ácido beta-glucocerebrosidasa), una enzima presente en los orgánulos celulares denominados lisosomas, responsables de la degradación de un material graso denominado glucocerebrósido (o glucosilceramida). La acumulación de este lípido en el interior de las células provoca que éstas se dilaten de manera anormal generando problemas en todo el cuerpo. La enfermedad se ha clasificado en tres tipos: neuropática (tipos 2, 3) y no neuropática (tipo 1), con síntomas de leves a graves que pueden aparecer en cualquier momento desde la infancia hasta la edad adulta. Las manifestaciones clínicas incluyen el agrandamiento del bazo/hígado, anemia, falta de plaquetas, neurodegeneración, y enfermedad ósea con gravedad variable dependiendo del tipo de enfermedad y del momento del diagnóstico. La reducción en la actividad de GCasa se ha atribuido a la falta de proteína en el lisosoma. Después de su producción en el retículo endoplasmático (RE), las proteínas que no se pliegan correctamente se degradan dentro del RE, y no son transportadas al lisosoma, donde pueden hidrolizar glucocerebrósido.

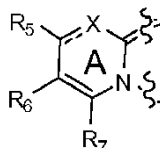
Las opciones de tratamiento existentes para la enfermedad de Gaucher incluyen la terapia de sustitución enzimática (CEREZYME) o la terapia de reducción del sustrato (ZAVESCA), que cuestan entre \$100.000 hasta > \$200.000 al año. El desarrollo del iminosacárido isofagomina (PLICERA) como chaperona molecular se detuvo después de que ensayos clínicos de fase 2 mostrasen un incremento en la cantidad de GCasa en leucocitos, pero una ausencia de reducción en los síntomas viscerales. Así, existe una necesidad no satisfecha de desarrollar nuevos tratamientos con chaperonas para la enfermedad de Gaucher. La presente descripción satisface esta necesidad y ofrece ventajas adicionales expuestas en la siguiente descripción.

35 **Sumario**

Se describen en la presente memoria pirazolopirimidinas y dihidropirazolopirimidinas y compuestos relacionados, sus métodos de fabricación, composiciones que contienen los compuestos descritos, y métodos de uso de los compuestos descritos. Se describe un compuesto de Fórmula (I) y las sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto de Fórmula (I)

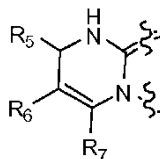


45 en la que el anillo



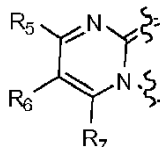
50 es un sistema de anillo de la fórmula

(i)



5 en la que R₅ es un grupo alquilideno opcionalmente sustituido, y R₆ y R₇ presentan las definiciones expuestas a continuación, o

(ii)



10 en la que R₅, R₆, y R₇ tienen las definiciones expuestas a continuación.

15 R₁ es alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₂-C₆, alquinilo de C₂-C₆, (carbociclo mono- o bicíclico)alquilo de C₀-C₄ o (heterociclo mono- o bicíclico)alquilo de C₀-C₄, cada uno de R₁ está no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, -CHO, -COOH, alquilo de C₁-C₆, alquenilo de C₂-C₆, alquinilo de C₂-C₆, alcoxi de C₁-C₆, alcanóilo de C₂-C₆, (mono- o di-alquil C₁-C₆-amino)alquilo de C₀-C₄, mono- o di-alquil C₁-C₆-carboxamida, éster de alquilo C₁-C₆, alquiltio de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-sulfonilo, haloalquilo de C₁-C₂, y haloalcoxi de C₁-C₂, y con 0 o 1 sustituyente escogido de Y-Z- en el que Z es un enlace covalente, alquileo de C₁-C₄, -S-, -O-, -NR-, -C(O)-, -NHC(O)-, o -C(O)NH-, en el que R es hidrógeno o alquilo de C₁-C₄, e Y es fenilo o piridilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, trifluorometilo, difluorometilo, y trifluorometoxi; y R₂ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₆, cicloalquilo de C₃-C₇, y (fenil)-alquilo de C₀-C₂.

25 O, R₁ y R₂ se unen para formar un anillo heterocicloalquílico de 5 a 7 miembros que tiene 0 o 1 heteroátomo adicional escogido de N, O, y S, anillo heterocicloalquílico de 5 a 7 miembros el cual está opcionalmente condensado con un fenilo o piridilo; anillo heterocicloalquílico de 5 a 7 miembros el cual está no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, alquilo de C₁-C₂, y alcoxi de C₁-C₂.

30 R₃ es hidrógeno o alquilo de C₁-C₂.

35 R₅ es halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C₁-C₄, vinilo, ciclopropilo, ciclopropilidenilo, alcoxi de C₁-C₄, difluorometilo, trifluorometilo, o fenilo.

R₆ es halógeno, hidroxilo, alquilo de C₁-C₄, o alcoxi de C₁-C₄.

40 R₇ es halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, difluorometilo, o trifluorometilo, o

45 R₇ es fenilo o un anillo heterocicloalquílico de 5 a 7 miembros que tiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados de entre N, O, y S, cada uno de R₇ está unido directamente vía un enlace covalente o está unido vía un grupo alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, o alquil C₁-C₄-amino, y cada uno de R₇ está no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, (mono- y di-alquil C₁-C₂-amino)alquilo de C₀-C₄, haloalquilo de C₁-C₂, y haloalcoxi de C₁-C₂; o

50 R₆ y R₇ se toman juntos para formar un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros sin puntos de insaturación adicionales, anillo el cual está no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de alquilo de C₁-C₂ y alcoxi de C₁-C₂.

55 En ciertas formas de realización, R₁ es fenilo no sustituido, dihidroindenilo, benci[b][1,4]dioxolilo, benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo, ciclohexilo, piridilo, o fenilo sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados independientemente de cloro, fluoro, alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₂, acetilo, y trifluorometilo, cuando R₆ es hidrógeno, R₅ y R₇ son ambos metilo, o cuando R₆ es hidrógeno y uno de R₅ y R₇ es metilo y el otro es fenilo. También, R₁ no es 1-(4-fluorobencil)-1H-pirazol-4-ilo cuando R₆ es hidrógeno y uno de R₅ y R₇ es metilo y el otro es fenilo.

Se describe una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I, o una sal del mismo, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 La invención se refiere a una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y 6.

La invención se refiere a un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se reivindica en las reivindicaciones 4 y 5.

10 La invención se refiere a un compuesto de Fórmula (I), o a una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher en un paciente, o en la prevención de los síntomas de la enfermedad de Gaucher en un paciente que tiene una mutación del gen de GBA, como se reivindica en la reivindicación 7.

15 Se describe un método para el tratamiento de la enfermedad de Gaucher en un paciente o para la prevención o reducción de la gravedad de los síntomas de la enfermedad de Gaucher en un paciente que tiene una mutación en el gen de GBA, que comprende proporcionar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 Se describe un método para incrementar la cantidad de beta-glucocerebrosidasa en los leucocitos de pacientes que tienen una mutación en el gen de GBA, que comprende proporcionar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula (I).

Descripción detallada

25 Se describen en la presente memoria pirazolopirimidinas y dihidropirazolopirimidinas sustituidas y compuestos relacionados útiles como chaperonas de glucocerebrosidasa. Ciertas pirazolopirimidinas y dihidropirazolopirimidinas sustituidas y compuestos relacionados descritos en esta solicitud son activadores potentes y selectivos de glucocerebrosidasa. Estos compuestos son útiles en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher y en la prevención de los síntomas de la enfermedad de Gaucher en personas que presentan un gen de GBA mutado.

Terminología

35 Los compuestos se describen utilizando la nomenclatura convencional. A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado como se entiende habitualmente por el experto en la materia a la que pertenece esta invención.

40 Los términos “un” y “una” no denotan una limitación de la cantidad, sino más bien denotan la presencia de al menos uno de los artículos mencionados. El término “o” significa “y/o”. Las expresiones “que comprende”, “que tiene”, “que incluye”, y “que contiene” se deben interpretar como términos abiertos (es decir, que significan “incluyendo, pero no está limitado a”). La mención de intervalos de valores sólo pretende servir como método abreviado para referirse individualmente a cada uno de los valores por separado que entran dentro del intervalo, a menos que se indique de otro modo en la presente memoria, y cada valor por separado se incorpora en la memoria descriptiva como si se citara individualmente en la presente memoria. Los extremos de todos los intervalos están incluidos dentro del intervalo, y se pueden combinar de forma independiente. Todos los métodos descritos en la presente memoria se pueden llevar a cabo en un orden adecuado a menos que se indique de otro modo en la presente memoria o entre claramente de otro modo en contradicción por el contexto. El uso de todos y cada uno de los ejemplos, o de lenguaje ejemplar (por ejemplo, “tal como”), está destinado únicamente a ilustrar mejor la invención, y no supone una limitación del alcance de la invención a menos que se reivindique de otro modo. Ninguna expresión en la memoria descriptiva se debe interpretar como la indicación de cualquier elemento no reivindicado como esencial para la práctica de la invención tal y como se utiliza en la presente memoria. A menos que se defina de otro modo, los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado entendido habitualmente por el experto en la materia a la que pertenece esta invención.

55 Se entiende que todos los compuestos incluyen todos los posibles isótopos de los átomos que aparecen en los compuestos. Los isótopos incluyen aquellos átomos que tienen el mismo número atómico pero diferente número másico. A modo de ejemplo general, y sin limitación, los isótopos de hidrógeno incluyen el tritio y deuterio, y los isótopos de carbono incluyen ^{11}C , ^{13}C , y ^{14}C .

60 El término “sustituido” significa que uno cualquiera o más hidrógenos en el átomo o grupo designado es reemplazado con una selección del grupo indicado, siempre que no se supere la valencia normal del átomo designado. Cuando el sustituyente es oxo (es decir, =O), entonces se reemplazan 2 hidrógenos en el átomo. Cuando los restos aromáticos son sustituidos por un grupo oxo, el anillo aromático es reemplazado por el anillo parcialmente insaturado correspondiente. Por ejemplo, un grupo piridilo sustituido por oxo es una piridona. Las

combinaciones de sustituyentes y/o variables son permisibles sólo si dichas combinaciones dan como resultado compuestos estables o intermedios sintéticos útiles. Un compuesto estable o estructura estable se entiende que implica un compuesto que es suficientemente robusto para sobrevivir al aislamiento a partir de una mezcla de reacción, y su formulación posterior en un agente terapéutico eficaz.

5 Los grupos adecuados que pueden estar presentes en una posición "opcionalmente sustituida" incluyen, pero no están limitados a, por ejemplo, halógeno, ciano, hidroxilo, amino, nitro, oxo, azido, alcanoílo (tal como un grupo alcanoílo de C₂-C₆, tal como acilo o similar); carboxamido; alquilcarboxamida; grupos alquilo, grupos alcoxi, grupos alquiltio, que incluyen aquellos que tienen uno o más enlaces tioéter, grupos alquilsulfinilo, que incluyen aquellos que tienen uno o más enlaces sulfonilo, grupos alquilsulfonilo, que incluyen aquellos que tienen uno o más enlaces sulfonilo, grupos mono- y di-aminoalquilo, que incluyen grupos que tienen uno o más átomos de N, todos los sustituyentes alquílicos opcionales anteriores que pueden tener uno o más grupos metileno sustituidos por un átomo de oxígeno o -NH-, y tienen de alrededor de 1 a alrededor de 8, de alrededor de 1 a alrededor de 6, o de alrededor de 1 a alrededor de 4 átomos de carbono, cicloalquilo; fenilo; fenilalquilo, siendo el bencilo un grupo fenilalquilo ejemplar, fenilalcoxi, siendo el benciloxi un grupo fenilalcoxi ejemplar.

Un guión ("-") que no se encuentra entre dos letras o símbolos se usa para indicar un punto de unión para un sustituyente.

20 "Alquilo" incluye grupos hidrocarbonados alifáticos saturados de cadena tanto lineal como ramificada, que tienen el número especificado de átomos de carbono. El término alquilo de C₁-C₂ significa un grupo alquilo que tiene de 1 a alrededor de 2 átomos de carbono, por ejemplo metilo y etilo, respectivamente. Del mismo modo, "alqueno" es un grupo hidrocarbonado insaturado de cadena lineal o ramificada que tiene el número especificado de átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono, y alquino es un grupo hidrocarbonado insaturado de cadena lineal o ramificada que tiene el número especificado de átomos de carbono y al menos un triple enlace carbono-carbono.

"Alquileo" es una cadena de carbono bivalente saturada, lineal o ramificada, que tiene el número indicado de átomos de carbono.

30 "Alquiléster" es un grupo alquilo como se ha definido anteriormente unido a través de un enlace de éster. El enlace de éster puede estar en cualquier orientación, por ejemplo un grupo de la fórmula -O(C=O)-alquilo o un grupo de la fórmula -(C=O)O-alquilo.

35 "Alquiléster" es un grupo alquilo como se ha definido anteriormente unido a través de un enlace de éster. El enlace de éster puede estar en cualquier orientación, por ejemplo un grupo de la fórmula -O(C=O)-alquilo o un grupo de la fórmula -(C=O)O-alquilo.

40 "Alquiléster" es un grupo alquilo como se ha definido anteriormente unido a través de un enlace de éster. El enlace de éster puede estar en cualquier orientación, por ejemplo un grupo de la fórmula -O(C=O)-alquilo o un grupo de la fórmula -(C=O)O-alquilo.

45 "Alcanoílo" es un grupo alquilo como se ha definido anteriormente, unido a través de un puente ceto (-C(=O)-). Los grupos alcanoílo tienen el número indicado de átomos de carbono, estando el carbono del grupo ceto incluido en los átomos de carbono numerados. Por ejemplo, un grupo alcanoílo de C₂ es un grupo acetilo que tiene la fórmula CH₃(C=O)-.

50 "Alquilsulfonilo" es un grupo de la fórmula alquil-(SO₂)-, en la que el grupo alquilo es un grupo alquilo como se ha definido anteriormente que tiene el número definido de átomos de carbono. Un ejemplo de grupo alquilsulfonilo es metilsulfonilo.

"Alquiltio" indica un grupo alquilo como se ha definido anteriormente unido a través de un enlace de azufre, es decir, un grupo de la fórmula alquil-S-. Los ejemplos incluyen etiltio y pentiltio.

55 "Alcoxi" significa un grupo alquilo, como se ha definido anteriormente, con el número indicado de átomos de carbono unido a través de un puente de oxígeno.

60 "Cicloalquilo" es un grupo anular hidrocarbonado saturado, que tiene el número especificado de átomos de carbono, por lo general de 3 a alrededor de 7 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo, así como grupos anulares saturados con puentes metileno o diamantoides tales como norborano o adamantano.

65 Un "carbociclo mono- o bicíclico" es un anillo saturado, parcialmente insaturado o aromático, de 3 a 8 miembros, que sólo contiene átomos anulares de carbono o un sistema de anillo carbocíclico bicíclico, saturado, parcialmente insaturado o aromático, de 6 a 11 miembros, que sólo contiene átomos anulares de carbono. Excepto que se indique de otro modo, el grupo carbocíclico puede estar unido a su grupo colgante en cualquier

- átomo de carbono que dé como resultado una estructura estable. Cuando se indique, los anillos carbocíclicos descritos en la presente memoria pueden estar sustituidos en cualquier carbono anular disponible si el compuesto resultante es estable. Los grupos carbocíclicos incluyen grupos cicloalquilo, tales como ciclopropilo y ciclohexilo; grupos cicloalqueno, tales como ciclohexenilo, grupos cicloalquilo con puentes metileno; y grupos arilo, tales como fenilo.
- 5 “Halo” o “halógeno” significa flúor, cloro, bromo, o yodo.
- 10 “Heterocicloalquilo” es un grupo cíclico saturado que tiene el número indicado de átomos anulares, que contiene de 1 a alrededor de 3 heteroátomos seleccionados de entre N, O, y S, siendo los átomos anulares restantes carbono. Los ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen grupos tetrahidrofurano y pirrolidino.
- 15 “Heterociclo mono- o bicíclico” es un anillo saturado, parcialmente insaturado, o aromático, de 5 a 8 miembros, que contiene de 1 a alrededor de 4 heteroátomos seleccionados de entre N, O, y S, siendo los átomos anulares restantes carbono, o un sistema de anillo heterocíclico bicíclico, saturado, parcialmente insaturado, o aromático, de 7 a 11 miembros, conteniendo cada uno al menos 1 heteroátomo en el sistema de múltiples anillos, escogido de N, O, y S, y que contiene hasta alrededor de 4 heteroátomos seleccionados independientemente de N, O, y S en cada anillo del sistema de múltiples anillos. Excepto que se indique de otro modo, el anillo heterocíclico puede estar unido al grupo que sustituye en cualquier heteroátomo o átomo de carbono que dé como resultado una estructura estable. Cuando se indique, los anillos heterocíclicos descritos en la presente memoria pueden estar sustituidos en un carbono o en un átomo de nitrógeno si el compuesto resultante es estable. Un átomo de nitrógeno en el heterociclo puede estar opcionalmente cuaternizado. Se prefiere que el número total de heteroátomos en un grupo heterocíclico no sea superior a 4, y que el número total de átomos de S y O en un grupo heterocíclico no sea superior a 2, más preferentemente no superior a 1. Los ejemplos de grupos heterocíclicos incluyen piridilo, indolilo, pirimidinilo, piridicinilo, pirazinilo, imidazolilo, oxazolilo, furanilo, tiofenilo, tiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, isoxazolilo, quinolinilo, pirrolilo, pirazolilo, benzo[*b*]tiofenilo, isoquinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, tienilo, isoindolilo, dihidroisoindolilo, 5,6,7,8-tetrahidroisoquinolina, piridinilo, pirimidinilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, pirrolidinilo, morfolinilo, piperazinilo, piperidinilo, y pirrolidinilo.
- 20 “Mono- y/o di-alquilamino” significa grupos alquilamino secundarios o terciarios, en los que los grupos alquilo son como se han definido anteriormente y tienen el número indicado de átomos de carbono. El punto de unión del grupo alquilamino está sobre el nitrógeno. Los grupos alquilo se escogen independientemente. Los ejemplos de grupos mono- y di- alquilamino incluyen etilamino, dimetilamino, y metil-propil-amino.
- 25 “Mono- o di-alquilcarboxamida” es un grupo de la fórmula $-(C=O)N$ -alquilo₁alquilo₂, en la que los grupos alquilo₁ y alquilo₂ son grupos alquilo seleccionados independientemente como se definen en la presente memoria, unidos a través de un enlace de carboxamida. El enlace de carboxamida puede estar en cualquier orientación, por ejemplo $-NH(C=O)-$ o $-(C=O)NH-$.
- 30 “Haloalquilo” significa grupos alquilo tanto de cadena lineal como ramificada que tienen el número especificado de átomos de carbono, sustituidos con 1 o más átomos de halógeno, en general hasta el número máximo admisible de átomos de halógeno. Los ejemplos de haloalquilo incluyen, pero no están limitados a, trifluorometilo, difluorometilo, 2-fluoroetilo, y penta-fluoroetilo.
- 35 “Haloalcoxi” indica un grupo haloalquilo como se define anteriormente unido a través de un puente de oxígeno (oxígeno de un radical alcohol).
- 40 “Composiciones farmacéuticas” significa composiciones que comprenden al menos un agente activo, tal como un compuesto o sal de Fórmula I, y al menos otra sustancia, tal como un vehículo. Las composiciones farmacéuticas cumplen con las normas GMP (Good Manufacturing Practice) de la FDA de los Estados Unidos de América para medicamentos de uso en seres humanos o no humanos.
- 45 “Vehículo” se refiere a un diluyente, excipiente, o portador con el que se administra un compuesto activo. Un “vehículo farmacéuticamente aceptable” significa una sustancia, por ejemplo excipiente, diluyente, o portador, que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que en general es segura, no tóxica y ni biológicamente ni de otro modo indeseable, e incluye un vehículo que es aceptable para uso veterinario así como para uso farmacéutico en seres humanos. Un “vehículo farmacéuticamente aceptable” incluye tanto uno como más de uno de dichos vehículos.
- 50 Un “paciente” significa un ser humano o un animal que necesita tratamiento médico. El tratamiento médico puede incluir el tratamiento de una dolencia existente, tal como una enfermedad o trastorno, tratamiento profiláctico o preventivo, o tratamiento diagnóstico. En algunas formas de realización, el paciente es un paciente humano.
- 55 “Proporcionar” significa dar, administrar, vender, distribuir, transferir (con ánimo de lucro o no), fabricar, componer, o dispensar.
- 60
- 65

“Tratamiento” o “tratar” significa proporcionar un compuesto activo a un paciente en una cantidad suficiente para reducir de forma medible cualquier síntoma de un trastorno mediado por la beta-glucocerebrosidasa, por ejemplo provocar la regresión del trastorno, la función hepática, reducir la anemia, incrementar el recuento de plaquetas, o disminuir la velocidad de neurodegeneración o degeneración ósea. En ciertas formas de realización, el tratamiento de la enfermedad de Gaucher se puede iniciar antes de que el paciente presente los síntomas de la enfermedad.

Una “cantidad terapéuticamente eficaz” de una composición farmacéutica significa una cantidad eficaz, cuando se administra a un paciente, para proporcionar un beneficio terapéutico tal como una mejora de los síntomas, por ejemplo una cantidad eficaz para reducir los síntomas de la enfermedad de Gaucher.

Un cambio significativo es cualquier cambio detectable que sea estadísticamente significativo en una prueba paramétrica estándar de significancia estadística, tal como la prueba de la t de Student, en la que $p < 0,05$.

15 Descripción química

Los compuestos de fórmula I pueden contener uno o más elementos asimétricos, tales como centros estereogénicos, ejes estereogénicos y similares, por ejemplo átomos de carbono asimétricos, de manera que los compuestos pueden existir en diferentes formas estereoisoméricas. Estos compuestos pueden ser, por ejemplo, racematos o formas ópticamente activas. Para los compuestos con dos o más elementos asimétricos, estos compuestos además pueden ser mezclas de diastereómeros. Para compuestos que tienen centros asimétricos, están englobados todos los isómeros ópticos en forma pura y sus mezclas. En estas situaciones, se pueden obtener enantiómeros únicos, es decir, formas ópticamente activas mediante síntesis asimétrica, síntesis a partir de precursores ópticamente puros, o mediante resolución de los racematos. La resolución de los racematos también se puede lograr, por ejemplo, por métodos convencionales tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, usando, por ejemplo, una columna de HPLC quiral. Todas las formas están contempladas en la presente memoria, independientemente de los métodos usados para obtenerlas.

Todas las formas (por ejemplo solvatos, isómeros ópticos, formas enantioméricas, polimorfos, compuestos libres y sales) de un agente activo se pueden emplear solas o en combinación.

El término “quiral” se refiere a moléculas que tienen la propiedad de no superponerse con la imagen especular de su pareja.

Los “estereoisómeros” son compuestos que tienen la misma constitución química, pero difieren con respecto a la disposición de los átomos o grupos en el espacio.

Un “diastereómero” es un estereoisómero con dos o más centros de quiralidad y cuyas moléculas no son imágenes especulares la una de la otra. Los diastereómeros tienen propiedades físicas diferentes, por ejemplo puntos de fusión, puntos de ebullición, propiedades espectrales, y reactividades. Las mezclas de diastereómeros pueden separarse mediante procedimientos analíticos de alta resolución tales como electroforesis, cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, usando, por ejemplo, una columna de HPLC quiral.

“Enantiómeros” se refiere a dos estereoisómeros de un compuesto, que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Una mezcla 50:50 de enantiómeros se denomina mezcla racémica o racemato, que puede aparecer cuando no ha habido una estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o proceso químico.

Las definiciones y convenciones estereoquímicas usadas en la presente memoria siguen en general las de S. P. Parker, Ed., McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984) McGraw-Hill Book Company, Nueva York; y Eliel, E. y Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., Nueva York. Muchos compuestos orgánicos existen en formas ópticamente activas, es decir, tienen la capacidad de rotar el plano de la luz polarizada. Al describir un compuesto ópticamente activo, se usan los prefijos D y L o R y S para denotar la configuración absoluta de la molécula alrededor de su centro(s) quiral(es). Los prefijos d y l, o (+) y (-) se emplean para designar el signo de rotación del plano de la luz polarizada por el compuesto, significando (-) o l que el compuesto es levógiro. Un compuesto con el prefijo (+) o d es dextrógiro.

Un “mezcla racémica” o “racemato” es una mezcla equimolar (o 50:50) de dos especies enantioméricas, desprovista de actividad óptica. Una mezcla racémica puede aparecer cuando no ha habido una estereoselección o estereoespecificidad en una reacción o proceso químico.

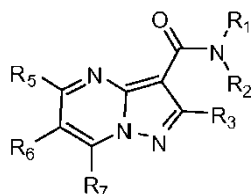
Las “sales farmacéuticamente aceptables” incluyen derivados de los compuestos descritos, en los que el compuesto precursor se modifica preparando una sal de adición de ácidos o bases, no tóxica, inorgánica y orgánica. Las sales de los presentes compuestos se pueden sintetizar a partir de un compuesto progenitor que contenga un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. En general, tales sales se pueden preparar haciendo reaccionar las formas de ácido libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica

de la base apropiada (tal como hidróxido, carbonato, bicarbonato de Na, Ca, Mg, o K, o similar), o haciendo reaccionar las formas de base libre de estos compuestos con una cantidad estequiométrica del ácido apropiado. Tales reacciones normalmente se llevan a cabo en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos. En general, se usan medios no acuosos tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo, cuando sea posible. Las sales de los presentes compuestos incluyen además solvatos de los compuestos y de las sales de los compuestos.

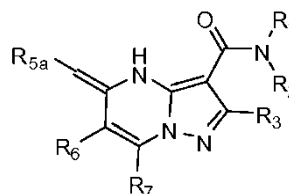
Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no están limitados a, sales de ácidos minerales u orgánicos de restos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de restos ácidos tales como ácidos carboxílicos, y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las sales no tóxicas convencionales y las sales de amonio cuaternario del compuesto progenitor formado, por ejemplo, a partir de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos. Por ejemplo, las sales de ácidos no tóxicos convencionales incluyen aquellas derivadas de ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares; y las sales preparadas a partir de ácidos orgánicos tales como ácido acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, pamoico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, mesílico, esílico, besílico, sulfanílico, 2-acetoxibenzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etanodisulfónico, oxálico, isetiónico, HOOC-(CH₂)_n-COOH en el que n es 0-4, y similares. Se pueden encontrar listados de sales adecuadas adicionales, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17^a ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa., p. 1418 (1985).

Se describen en la presente memoria moléculas pequeñas que activan la enzima GCasa. Los datos sugieren que estas moléculas pequeñas pueden actuar como chaperonas que ayudan a que la enzima mal plegada se pliegue correctamente y se pueda transportar desde el retículo endoplasmático al lisosoma. La mayoría de chaperonas que son moléculas pequeñas descritas en la bibliografía son inhibidores de la GCasa, y así pueden inhibir potencialmente la actividad enzimática en el lisosoma. La presente serie química es ventajosa ya que los compuestos no inhiben, sino que más bien activan la GCasa. La clase química de pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamidas también es estructuralmente distinta de los iminosacáridos, con frecuencia descritos como chaperonas en la bibliografía, y parece prometedora en cuanto a la selectividad frente a otras glicosidasas.

Además de los compuestos de Fórmula (I) mostrados más arriba en la sección del SUMARIO, también se describen los Compuestos de II y III, que son subfórmulas de la Fórmula I, y los compuestos en los que las variables, por ejemplo R₁-R₇, emplean las siguientes definiciones.



Fórmula II



Fórmula III

En la Fórmula III, se describe que R_{5a} es hidrógeno, alquilo de C₁-C₄, cicloalquilo de C₃-C₇, o heterocicloalquilo unido a carbono de 4 a 7 miembros, que tiene 1 o 2 heteroátomos seleccionados independientemente de N, S, y O.

En algunas formas de realización de la Fórmula III, se describe que R_{5a} es hidrógeno o ciclopropilo.

Se incluyen en la presente memoria compuestos y sales para la Fórmula II en la que:

R₂ es hidrógeno o metilo.

Se incluyen en la presente memoria además compuestos y sales para la Fórmula II en la que:

R₅ y R₇ son ambos metilo; o

uno de R₅ y R₇ es metilo y el otro es fenilo; o

uno de R₅ y R₇ es metilo y el otro es difluorometilo.

Se incluyen en la presente memoria compuestos y sales de fórmula II en la que:

R₁ es (fenil)alquilo de C₀-C₄, (piridil)alquilo de C₀-C₄, (pirimidinil)alquilo de C₀-C₄, (cicloalquil C₃-C₇)alquilo de C₀-C₄, (pirazolil)alquilo de C₀-C₂, (pirrolil)alquilo de C₀-C₂, (imidazolil)alquilo de C₀-C₂, (tienil)alquilo de C₀-C₂,

(furanil)alquilo de C₀-C₂, (oxazolil)alquilo de C₀-C₂, (tiazolil)alquilo de C₀-C₂, piperidinilo, naftilo, quinolinilo, isoquinolinilo, tetrahidronaftilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidrofuranilo, piperazinilo, morfolinilo, piperidinilo, tiomorfolinilo, dihidroindenilo, benzo[b][1,4]dioxinilo, o benzo[d][1,3]dioxolilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, -CHO, -COOH, alquilo de C₁-C₆, alcanoilo de C₂-C₆, mono- o di-alquil C₁-C₆-amino, mono- o di-alquil C₁-C₆-carboxamida, alquiltio de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-sulfonilo, haloalquilo de C₁-C₂, y haloalcoxi de C₁-C₂, y con 0 o 1 sustituyente escogido de Y-Z-, en el que Z es un enlace covalente, alquilenos de C₁-C₄, -S-, -O-, -NR-, -C(O)-, -NHC(O)-, o -C(O)NH-, en el que R es hidrógeno o alquilo de C₁-C₄, e Y es fenilo o piridilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo de C₁-C₄, y alcoxi de C₁-C₄.

Se incluyen en la presente memoria además compuestos y sales de Fórmula II en la que R₁ es ciclohexilo, sustituido con al menos un trifluorometilo, alquilo de C₃-C₆.

Se describen compuestos y sales de Fórmula I, II, y III en las que:

R₂ es hidrógeno o metilo; y R₇ es alquilo de C₁-C₄, difluorometilo, o fenilo. En algunas formas de realización, se describe que R₇ es difluorometilo.

Se describen compuestos y sales de Fórmula I, II, y III en las que:

R₂ es hidrógeno o metilo; y R₇ es metilo o difluorometilo; y

R₁ es (fenil)alquilo de C₀-C₂, (piridil)alquilo de C₀-C₂, (ciclohexil)alquilo de C₀-C₂, pirazolilo, furanilnaftilo, quinolinilo, isoquinolinilo, tetrahidronaftilo, tetrahidroquinolinilo, tetrahidroisoquinolinilo, tetrahidrofuranilo, morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo, tiomorfolinilo, dihidroindenilo, benzo[b][1,4]dioxinilo, o benzo[d][1,3]dioxolilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, -CHO, -COOH, alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, alcanoilo de C₂-C₄, mono- o di-alquil C₁-C₄-amino, mono- o di-alquil C₁-C₄-carboxamida, éster de alquilo de C₁-C₄, alquil C₁-C₂-sulfonilo, trifluorometilo, trifluorometoxi, y difluorometilo, y con 0 o 1 sustituyente escogido de Y-Z-, en el que Z es un enlace covalente, alquilenos de C₁-C₄, -S-, -O-, -NR-, -C(O)-, -NHC(O)-, o -C(O)NH-, en el que R es hidrógeno o alquilo de C₁-C₄, e Y es fenilo o piridilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, hidroxilo, alquilo de C₁-C₂, y alcoxi de C₁-C₂.

Los compuestos de Fórmula I tienen las siguientes fórmulas tautoméricas:



Preparaciones farmacéuticas

Las pirazolopirimidinas y dihidropirazolopirimidinas sustituidas descritas en la presente memoria se pueden administrar en forma de compuestos químicos puros, pero específicamente se administran como una composición farmacéutica, por ejemplo una formulación farmacéutica que comprende un compuesto de pirazolopirimidinas o dihidropirazolopirimidinas sustituidas de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica se puede formular como un fluido inyectable, un aerosol, una crema, un gel, un comprimido, una pastilla, una cápsula, un jarabe, o un parche transdérmico.

Las pirazolopirimidinas y dihidropirazolopirimidinas sustituidas se pueden administrar oralmente, tópicamente, parenteralmente, por inhalación o pulverización, sublingualmente, transdérmicamente, vía administración bucal, rectalmente, o como una disolución oftálmica, o por otros medios, en formulaciones de dosificación unitaria que contienen vehículos farmacéuticamente aceptables convencionales. La composición farmacéutica se puede formular en cualquier forma farmacéuticamente útil, por ejemplo como un aerosol, una crema, un gel, una pastilla, una cápsula, un comprimido, un jarabe, un parche transdérmico, o una disolución oftálmica. Algunas formas de dosificación, tales como los comprimidos y cápsulas, se subdividen en dosis unitarias de tamaño adecuado que contienen cantidades apropiadas de los componentes activos, por ejemplo una cantidad eficaz para lograr el propósito deseado.

Los vehículos incluyen excipientes y diluyentes, y deben ser de una pureza suficientemente alta y una toxicidad suficientemente baja para hacerlos adecuados para su administración al paciente que se esté tratando. El vehículo puede ser inerte, o puede tener beneficios farmacéuticos por sí mismo. La cantidad de vehículo empleada junto con el compuesto es suficiente para proporcionar una cantidad práctica de material para su administración por dosis unitaria del compuesto.

Las clases de vehículos incluyen, pero no están limitados a, aglutinantes, agentes amortiguadores, agentes colorantes, diluyentes, disgregantes, emulsionantes, aromatizantes, deslizantes, lubricantes, conservantes, estabilizantes, tensioactivos, agentes para la formación de comprimidos, y agentes humectantes. Algunos vehículos se pueden clasificar en más de una clase; por ejemplo, el aceite vegetal se puede usar como lubricante en algunas formulaciones y como diluyente en otras. Los ejemplos de vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen azúcares, almidones, celulosas, tragacanto en polvo, malta, gelatina, talco y aceites vegetales. En las composiciones farmacéuticas se pueden incluir agentes activos y/o inactivos opcionales, siempre que tales agentes no interfieran sustancialmente con la actividad de la hidrazona y los compuestos de diacil hidrazina usados en las composiciones farmacéuticas. El compuesto activo opcional es un agente activo adicional que no es un compuesto o sal de la Fórmula I.

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular para administración oral. Estas composiciones contienen entre 0,1 y 99% en peso (% en peso) de una hidrazona o un compuesto de diacil hidrazina, y normalmente al menos alrededor de 5% en peso de una hidrazona o de un compuesto de diacil hidrazina. Algunas formas de realización contienen de alrededor de 25% en peso a alrededor de 50% en peso, o de alrededor de 5% en peso a alrededor de 75% en peso de la hidrazona o de compuesto de diacil hidrazina.

Métodos de tratamiento

Los compuestos de Fórmula I o una sal de los mismos, así como las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, son útiles para tratar enfermedades del almacenamiento lisosómico, incluyendo la enfermedad de Gaucher. Los compuestos de Fórmula I o una sal de los mismos, así como las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, también son útiles para prevenir la aparición de los síntomas de un trastorno del almacenamiento lisosómico, tal como la enfermedad de Gaucher, en un paciente que tiene una mutación en el gen de GBA. Se describe que el método para tratar una enfermedad del almacenamiento lisosómico en un paciente comprende proporcionar al paciente una cantidad eficaz de un compuesto o una sal de Fórmula I: En una forma de realización, el paciente es un mamífero, específicamente un primate, más específicamente un ser humano. Una cantidad eficaz de una composición farmacéutica puede ser una cantidad suficiente para inhibir la progresión de una enfermedad o trastorno; o provocar la regresión de una enfermedad o trastorno.

Una cantidad eficaz de un compuesto o composición farmacéutica descrita en la presente memoria también proporcionará una concentración suficiente de un compuesto de pirazolopirimidinas o dihidropirazolopirimidinas sustituidas cuando se administra a un paciente. Una concentración suficiente es una concentración del compuesto o sal de Fórmula I en el cuerpo del paciente, necesaria para prevenir o combatir el trastorno. Tal cantidad se puede determinar experimentalmente, por ejemplo sometiendo a ensayo la concentración en sangre del compuesto, o teóricamente, calculando su biodisponibilidad.

Se describe que los métodos de tratamiento incluyen proporcionar a un paciente ciertas cantidades de dosificación de un compuesto, o sal, de pirazolopirimidina o dihidropirazolopirimidina sustituida. Los niveles de dosificación de cada compuesto de alrededor de 0,1 mg a alrededor de 140 mg por kilogramo de peso corporal al día son útiles en el tratamiento de las dolencias indicadas anteriormente (alrededor de 0,5 mg a alrededor de 7 g por paciente y día). La cantidad de compuesto que se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del paciente tratado y del modo particular de administración. Las formas unitarias de dosificación en general contienen entre alrededor de 1 mg y alrededor de 500 mg de cada compuesto activo. En ciertas formas de realización, a un paciente se le proporcionan 25 mg a 500 mg, o 25 mg a 200 mg al día de un compuesto de Fórmula I. La frecuencia de la dosificación también puede variar dependiendo del compuesto usado y de la enfermedad particular tratada. No obstante, para el tratamiento de la mayoría de enfermedades y trastornos, se puede usar un régimen de dosificación de 4 veces al día o menos, y en ciertas formas de realización se usa un régimen de dosificación de 1 o 2 veces al día.

Sin embargo, se entiende que el nivel de dosificación específico para cualquier paciente particular dependerá de una serie de factores que incluyen la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo, la dieta, el período de administración, la vía de administración, y la velocidad de excreción, la combinación de fármacos y la gravedad de la enfermedad particular que se está sometiendo a terapia.

Se describe un método para el tratamiento de un trastorno del almacenamiento lisosómico en un paciente que se ha identificado que necesita dicho tratamiento, comprendiendo el método proporcionar al paciente una cantidad

eficaz de un compuesto de Fórmula I. Los compuestos y sales de Fórmula I proporcionados en la presente memoria se pueden administrar solos o en combinación con uno o más de otros agentes activos.

Estos métodos de tratamiento descritos también son útiles para el tratamiento de otros mamíferos distintos de los seres humanos, que incluyen para aplicaciones veterinarias tales como para el tratamiento de caballos y ganado, por ejemplo ganado vacuno, ovejas, vacas, cabras, cerdos y similares, y mascotas (animales de compañía) tales como perros y gatos.

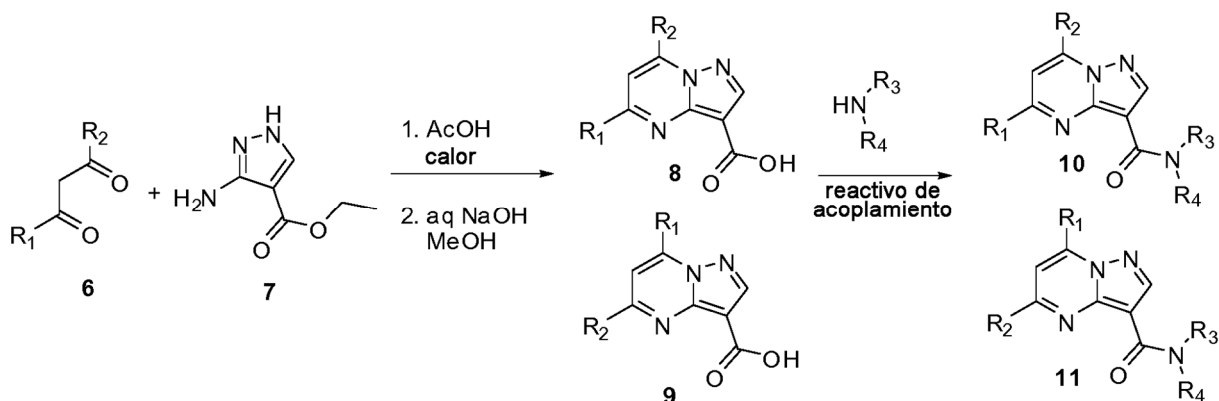
Para aplicaciones diagnósticas o de investigación, hay una amplia variedad de mamíferos que son sujetos adecuados, incluyendo roedores (por ejemplo, ratones, ratas, hámsteres), conejos, primates, y cerdos tales como cerdos endogámicos y similares. Además, para aplicaciones in vitro, tales como aplicaciones diagnósticas y de investigación in vitro, son adecuadas para su utilización las muestras de fluidos corporales (por ejemplo, sangre, plasma, suero, fluido intersticial celular, saliva, heces y orina) y de células y tejidos de los sujetos anteriores.

15 Ejemplos

Los siguientes Ejemplos se proporcionan a título ilustrativo y no limitativo. A menos que se especifique de otro modo, todos los reactivos y disolventes son de calidad comercial estándar, y se usan sin purificación adicional. Los materiales de partida están disponibles de proveedores comerciales, tales como Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), o se sintetizan usando procedimientos conocidos en la técnica.

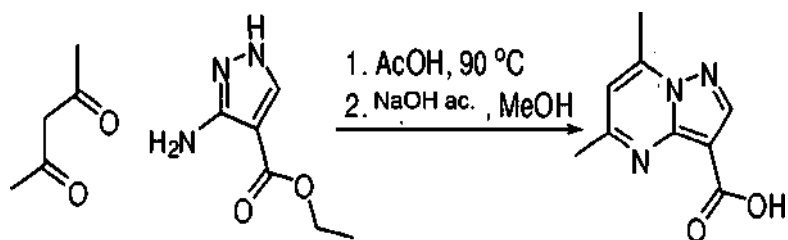
Ejemplo 1. Esquema sintético para la preparación de pirazolopirimidinas y dihidropirazolopirimidinas sustituidas

La secuencia sintética (Esquema 1) usada para generar las pirazolopirimidinas y dihidropirazolopirimidinas sustituidas proporcionadas en la presente memoria comienza con la condensación de una 1,3-dicetona 6 con 3-amino-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo 7 en ácido acético. Tales reacciones se han dado a conocer anteriormente. Véanse, por ejemplo, el documento WO 2008/134035 y Huppatz, J.L. Aust. J. Chem. 1985, 38, 221-230. Los esfuerzos iniciales para simplificar la evaluación de la amida SAR se centraron en el uso de acetilacetona como la dicetona, para eliminar la formación de regioisómeros ($R_1=R_2=CH_3$). Con cetonas asimétricas, se forma una mezcla de regioisómeros (8, 9), que normalmente se separa por cromatografía. La hidrólisis del éster proporciona entonces un ácido, que se acopla con aminas o anilinas para generar los compuestos (10, 11) para el análisis biológico.



Ejemplo 2. Síntesis de n-(4-etilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida

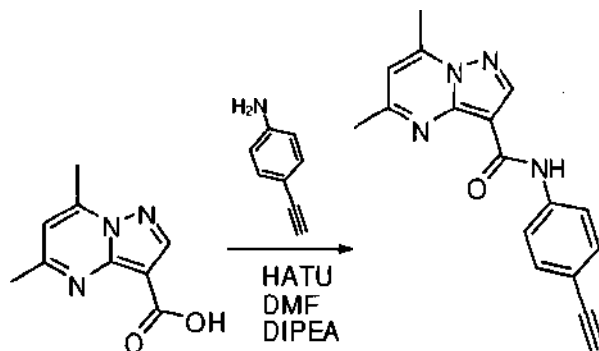
Etapa 1. Síntesis del ácido 5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico (12)



Se calentaron en un tubo cerrado herméticamente pentano-2,4-diona (1,46 ml, 14,2 mmoles), y 3-amino-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (2,00 g, 12,9 mmoles) con ácido acético (10 ml) a 110°C durante toda la noche. La reacción llegó a su final por LCMS (LC-MS: rt (min) = 3,08). El ácido acético se eliminó haciendo pasar

aire, calentándose el matraz a 75°C. El residuo bruto de 5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxilato de etilo (que se supone que son 12,89 mmoles) se suspendió en MeOH (15 ml) y se trató con hidróxido sódico 7,2 M (5,37 ml, 38,7 mmoles). La mezcla se calentó hasta 80°C (a esta temperatura el sólido se disolvió) y a continuación se agitó durante 3 h. La reacción se enfrió y se neutralizó hasta pH 6-7. La suspensión se filtró a través de un embudo de Büchner a vacío, el residuo sólido se lavó con agua y a continuación con éter dietílico para obtener ácido 5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico (1,4 g, 7,3 mmoles, 57% de rendimiento). LC-MS: rt (min) = 2,61. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2,57 ppm (s, 3 H), 2,71 (s, 3 H), 7,10 (s, 1 H), 8,50 (s, 1 H).

10 Etapa 2. Síntesis de N-(4-etinilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida (13)



15 Se recogieron ácido 5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxílico (722 mg, 3,78 mmoles), 4-etinilanilina (442 mg, 3,78 mmoles), y HATU (1436 mg, 3,78 mmoles) en DMF (10 ml), y a continuación se trataron con diisopropiletilamina (1,979 ml, 11,33 mmoles). El contenido se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. El producto habla precipitado de la mezcla de reacción. La reacción se diluyó con agua, y se filtró a través de un embudo de Büchner a vacío. El residuo se lavó con agua (X2), a continuación con CH₂Cl₂, éter dietílico, y se secó al aire para obtener N-(4-etinilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida (500 mg, 1,72 mmoles, rendimiento del 46%). LC-MS: rt (min) = 3,65. RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 2,71 ppm (s, 3 H), 2,77 (s, 3 H), 4,11 (s, 1 H), 7,21 (s, 1 H), 7,49 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 7,77 (d, J = 8,6 Hz, 2 H), 8,65 (s, 1 H), 10,31 (s, 1 H).

25 **Ejemplo 3. Protocolo de ensayo para determinar la actividad glucocerebrosidasa**

25 Ensayo qHTS para inhibidores y activadores de la glucocerebrosidasa N370S como posible tratamiento con chaperonas de la enfermedad de Gaucher: Confirmación de cribado primario

30 Se trata de un ensayo enzimático fluorogénico con 4-metilumbeliferil-beta-D-glucopiranosido como sustrato y glucocerebrosidasa N370S procedente de homogeneizado de bazo humano como preparación enzimática. Después de la hidrólisis de este sustrato fluorogénico, el producto resultante, 4-metilumbeliferona, se puede excitar a 365 nm y emite a 440 nm, que se puede detectar con un lector de placas de fluorescencia estándar. Los datos se normalizaron a los controles para la actividad basal (sin enzima) y la actividad del 100% (con enzima). Los valores de AC50 se determinaron a partir de los datos de respuesta frente a la concentración, modelados con la ecuación de Hill estándar.

40 El homogeneizado de bazo humano se prepara de la manera siguiente, homogeneizando el bazo con amortiguador de ensayo que contiene ácido cítrico 50 mM (valorado con fosfato de potasio a pH 5,0), cloruro de potasio 100 mM, cloruro sódico 10 mM, cloruro de magnesio 1 mM y Tween-20 al 0,01%. La concentración de proteínas del homogeneizado de bazo humano es aproximadamente 1,35 ug/ul.

45 El ensayo se realiza en placas de 1536 pocillos de acuerdo con el siguiente protocolo. (1) Se añaden 2 ul de homogeneizado de bazo (27 ug finales) a cada pocillo. (2) Se añaden a cada pocillo 23 nl de compuesto de ensayo en disolución de DMSO. La concentración final de compuesto en el pocillo de ensayo es 0,5 nM a 58 uM. (3) Se añaden a cada pocillo 2 ul de sustrato (1 mM final). (4) Las placas de ensayo se incuban a 37°C durante 40 min. (5) Se añaden a cada pocillo 2 ul de disolución de parada (mezcla de NaOH 1 M y glicina 1 M, pH 10). (6) La placa de ensayo se somete a detección en un lector de placas ViewLux (Perkin Elmer) usando excitación a 365 nm, con emisión a 440 nm.

50 **Ejemplo 4. Actividad de chaperona de la n-(4-etinilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida (ngc00188758-01)**

Se evaluó la actividad de chaperona de NGC00188758-1 (1 μM y 5 μM), isofagomina (1 μM), y un vehículo de control en un fibroblasto procedente de un paciente N370S, para determinar la actividad de chaperona. La

GCasa se visualizó con tinción roja (anticuerpo dirigido contra GCasa R386), el lisosoma con tinción verde (LAMP), y el núcleo con tinción azul (DAPI). Una superposición de todas las tinciones muestra un color amarillo brillante (debido a la superposición del color rojo y verde), que indica la presencia de GCasa en el lisosoma. Todos los ajustes del láser se mantuvieron constantes entre todas las imágenes tomadas. Tanto la isofagomina como la NGC00188758-1 mostraron una actividad de GCasa significativamente mayor en el lisosoma con respecto al vehículo de control.

Ejemplo 5. Ensayo de selectividad: ensayo qhts para inhibidores y activadores de la glucocerebrosidasa n370s como posible tratamiento con chaperonas de la enfermedad de gaucher: contra-cribado de la alfa-glucosidasa

Para caracterizar la selectividad del compuesto, se cribaron determinados resultados procedentes del cribado primario frente a alfa-glucosidasa purificada, una hidrolasa de azúcares relacionada. La alfa-glucosidasa es responsable de la hidrólisis de restos de alfa-D-glucosa terminales no reductores enlazados 1,4, con liberación de alfa-D-glucosa. Este es un ensayo enzimático fluorogénico que usa 4-metilumbeliferil-alfa-D-piranosido como sustrato y alfa-glucosidasa humana como preparación enzimática. Después de la hidrólisis de este sustrato fluorogénico, el producto resultante, 4-metilumbeliferona, se puede excitar a 365 nm y emite a 440 nm. La emisión se detecta mediante un lector de placas de fluorescencia estándar. Los datos se normalizaron a los controles para la actividad basal (sin enzima) y la actividad del 100% (con enzima). Los valores de AC_{50} se determinaron a partir de los datos de respuesta frente a la concentración modelados con la ecuación de Hill estándar.

El ensayo se realiza en placas de 1536 pocillos de acuerdo con el siguiente protocolo. (1) Se añaden a cada pocillo 2 ul/pocillo de enzima alfa-glucosidasa humana (4 nM final) en amortiguador de ensayo (ácido cítrico 50 mM (valorado con fosfato de potasio a pH 5,0), Tween-20 al 0,005%, pH 5,0). (2) Se añaden 23 nl de compuestos en disolución de DMSO. La valoración del compuesto final es 0,7 nM a 77 uM. (3) Se añade 1 ul de sustrato (400 uM final). (4) Se incuba a temperatura ambiente durante 20 min. (5) Se añaden 2 ul de disolución de parada (mezcla de NaOH 1 M y glicina 1 M, pH 10). (6) La placa de ensayo se somete a detección en un lector de placas ViewLux (Perkin Elmer) con $Ex = 365$ nm y $Em = 440$ nm.

Ejemplo 6. Ensayo de traslocación lisosómica: actividad de chaperona en fibroblastos de gaucher después de incubar durante varios días con el compuesto

Este ensayo cuantifica la proteína glucocerebrosidasa traslocada en fibroblastos procedentes de pacientes después de una incubación prolongada con el compuesto. Los fibroblastos sometidos a ensayo en este experimento eran homocigóticos para la glucocerebrosidasa N370S.

Se cultivaron fibroblastos dérmicos primarios procedentes de biopsias de piel de dos pacientes con Gaucher N370S/N370S (Goker-Alpan et al., 2008) descritos anteriormente, y un control, en portaobjetos con cámara Lab-Tek 4 (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA). Después del tratamiento con el compuesto, los fibroblastos se fijaron en paraformaldehído al 3%. Las células se permeabilizaron con 0,1% de Triton-X durante 10 min, y se bloquearon en PBS que contenía saponina al 0,1%, glicina 100 μ M, BSA al 0,1% y suero de burro al 2%, seguido de la incubación con anticuerpo monoclonal de ratón dirigido anti-LAMP-1 o LAMP-2 (1:100, banco del Developmental Studies Hybridoma, Universidad de Iowa, Iowa City, IA) y anticuerpo policlonal de conejo anti-GCasa R386 (1:500). Las células se lavaron y se incubaron con anticuerpos secundarios de burro anti-ratón o anti-conejo conjugados con ALEXA-488 o ALEXA-555, respectivamente (Invitrogen, Carlsbad, CA), se lavaron de nuevo, y se montaron en VectaShield con DAPI (Vector Laboratories, Burlingame, CA).

Las células fueron fotografiadas con un microscopio de barrido de láser confocal 510 META Zeiss (Carl Zeiss, Microimaging Inc., Alemania) utilizando un láser de argón (458, 477, 488, 514 nm) de 30 mW, un láser de HeNe (543 nm) de 1 mW, y un láser de diodo (405 nm). Se obtuvieron imágenes de gran y bajo aumento usando un objetivo Plan-Apochromat 20X/0,75 y un objetivo Plan-Apochromat 100x/1,4 DIC para aceite, respectivamente. Las imágenes se tomaron con los mismos ajustes del láser, y todas las imágenes están apiladas colapsadas. Las imágenes sugieren una traslocación significativa de la proteína glucocerebrosidasa hacia los lisosomas en fibroblastos tratados con compuesto, con respecto a fibroblastos sin tratar.

Ejemplo 8. Compuestos adicionales

Los siguientes compuestos se prepararon de acuerdo con los procedimientos proporcionados en los Ejemplos 1 y 2. Los expertos en la técnica reconocerán que los reactivos y condiciones de reacción se deberán variar para conseguir los compuestos enumerados. Tales variaciones son fácilmente evidentes para los expertos en la técnica de síntesis química orgánica. Los compuestos de la presente invención son aquellos que caen dentro del alcance de las reivindicaciones. Los otros compuestos se describen como referencia.

Los datos del tiempo de retención de LCMS se obtuvieron de la siguiente manera:

ES 2 681 218 T3

Método 1. Columna: Phenomenex Luna C18 (3 micrómetros, 3 x 75 mm). Tiempo de recorrido: 8 min. Gradiente: acetonitrilo 4% a 100% en agua durante 7 min. Fase móvil: Acetonitrilo (0,025% de TFA), agua (0,05% de TFA). Caudal: 1 ml/min. Temperatura: 50°C. Longitud de onda UV: 220 nm, 254 nm

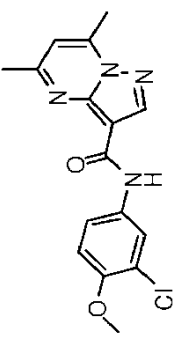
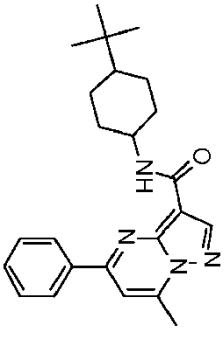
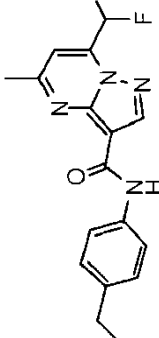
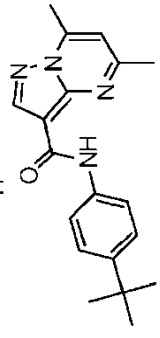
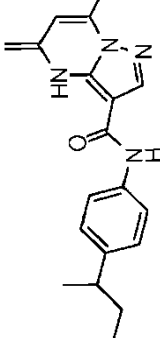
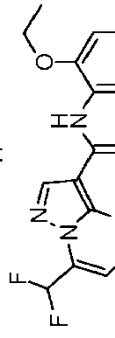
5 Método 2: Detección UV214, columna Gemini, el Disolvente A es agua, el Disolvente B es acetonitrilo al 90% y agua al 10%; 0,1% de modificador AcOH. Las condiciones iniciales del gradiente son 100% de A con un tiempo de retención de 0,5 minutos; el tiempo de gradiente es 3 minutos. La concentración final del gradiente es 100% de B. La retención final del gradiente es 0,5 min. El tiempo de recorrido es 5 min. Caudal 1,5 ml/min.

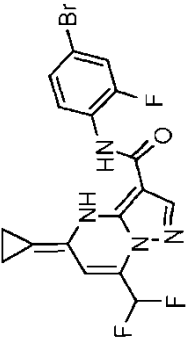
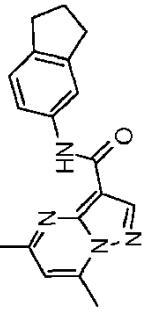
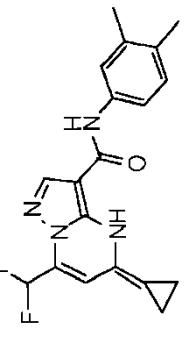
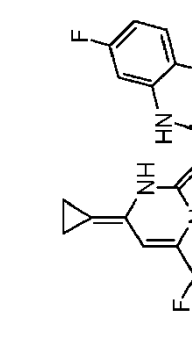
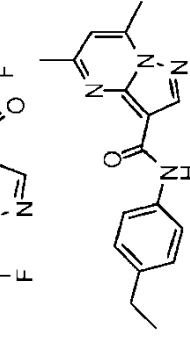

10 Método 3: Detección UV220, columna Phenomenex Luna 2,5 micrómetros C18 100 x 2,00 mm, el Disolvente A es agua (0,05% de TFA), el Disolvente B es acetonitrilo (0,025% de TFA). Las condiciones iniciales del gradiente son 95% de A, 5% de B, con un tiempo de retención de 0,5 minutos; el tiempo de gradiente es 2,1 minutos. La concentración final del gradiente es 100% de B y 5% de A. La retención final del gradiente es 0,5 min. A continuación se produce otro periodo de retención durante 0,3 min con 98% de A, 2% de B. El tiempo de recorrido es 3 min. Caudal 0,30 a 0,5 ml/min.

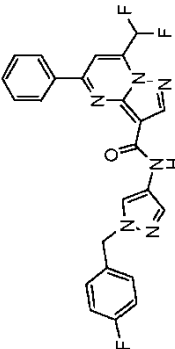
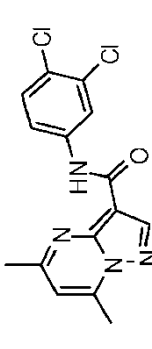
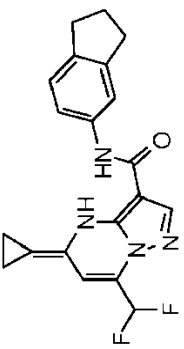
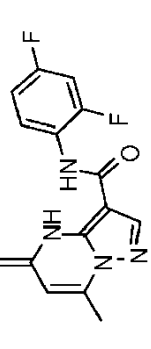
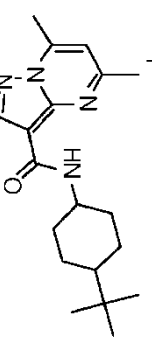
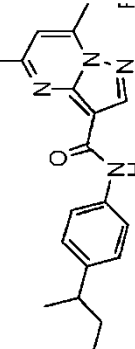
15

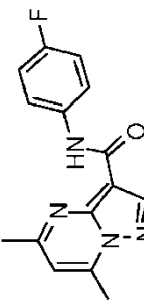
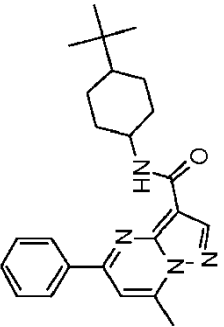
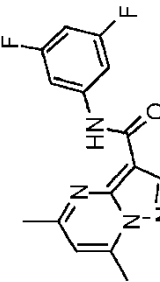
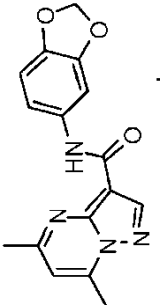
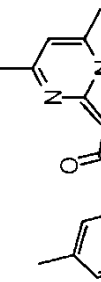
Los tiempos de retención de LCMS son los del Método 1, excepto que se indique de otro modo.

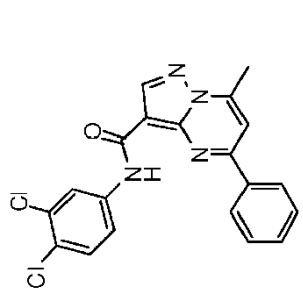
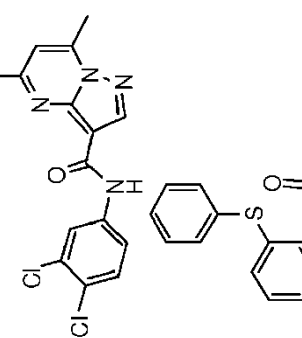
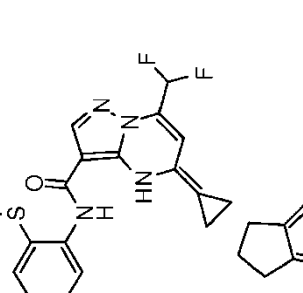
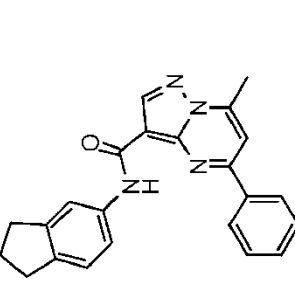
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00188758-01		N-(4-etilifenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	0,3659	5,784
NCGC00188783-01		N-(3,4-dimetilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	1,4566	6,094
NCGC00188787-01		5,7-dimetil-N-(4-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	1,4566	6,434
NCGC00188776-01		N-(3-fluoro-4-metoxifenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	1,4566	5,519
NCGC00188772-01		5,7-dimetil-N-p-tolilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	1,6343	5,823
NCGC00188782-01		N-(3-cloro-4-metilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	1,8338	6,437
NCGC00188756-01		N-(4-bromofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	2,0575	6,208

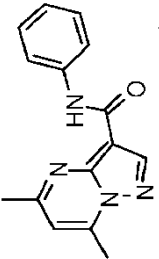
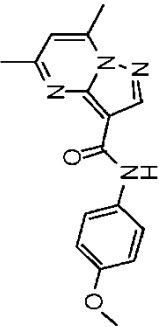
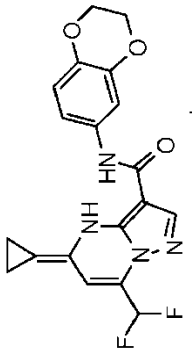
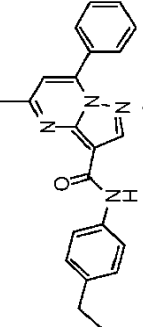
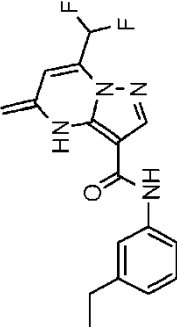
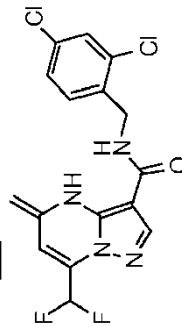
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00188780-01		N-(3-cloro-4-metoxifenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	2,0575	5,793
NCGC00229708-01		N-(4-terc-butilciclohexil)-7-metil-5-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	2,0575	7,439
MLS000708974-01		7-(difluorometil)-N-(4-etilfenil)-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	2,2387	2,47 Método 2
NCGC00188764-01		N-(4-terc-butilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	2,3086	6,745
NCGC00182141-01		N-(4-sec-butilfenil)-7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	2,5119	2,67 Método 3
NCGC00182160-01		7-(difluorometil)-N-(2-etoxifenil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	2,5119	2,44 Método 3

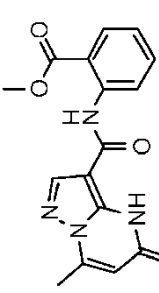
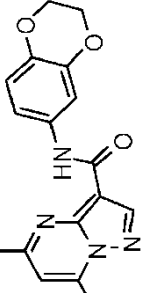
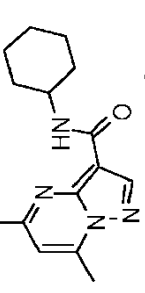
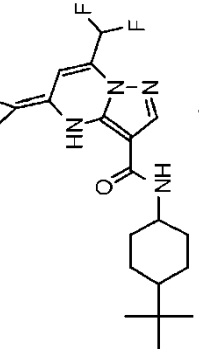
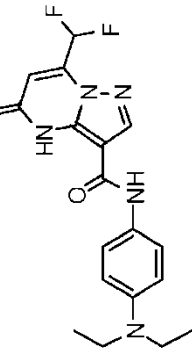
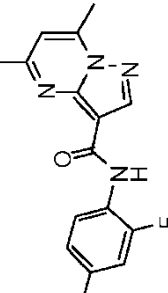
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182179-01		N-(4-bromo-2-fluorofenil)-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	2,5119	2,71 Método 3
NCGC00187969-01		N-(2,3-dihidro-1H-inden-5-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	2,5902	6,328
NCGC00182133-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(3,4-dimetilfenil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	3,1623	2,59 Método 3
NCGC00182171-01		N-(5-cloropiridin-2-il)-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	3,1623	2,58 Método 3
NCGC00182172-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(2,5-difluorofenil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	3,1623	2,57 Método 3
NCGC00187970-01		N-(4-etilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	3,2609	6,231

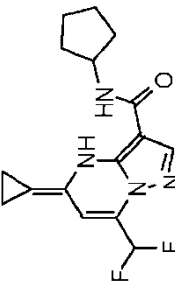
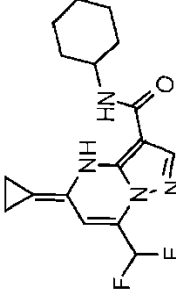
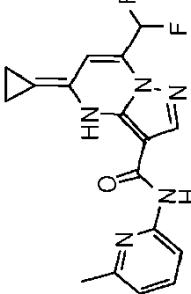
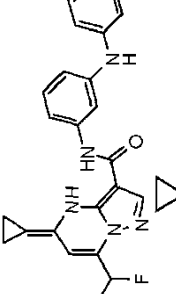
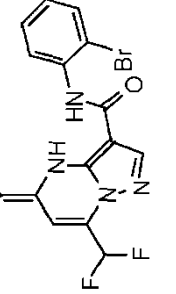
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
MLS000662187-01		7-(difluorometil)-N-(1-(4-fluorobencil)-1H-pirazol-4-il)-5-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	3,2609	2,34 Método 2
NCGC00229713-01		N-(3,4-diclorofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	3,6588	6,462
NCGC00182174-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(2,3-dihidro-1H-inden-5-il)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	3,9811	2,64 Método 3
NCGC00182166-01		N-(2,4-difluorofenil)-7-metil-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	3,9811	
NCGC00188755-01		N-(4-terc-butilciclohexil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	4,1053	6,939
MLS000662237-01		N-(4-sec-butifenil)-7-(difluorometil)-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	5,0119	2,76 Método 2

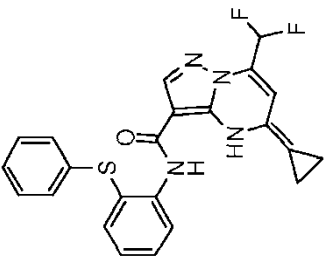
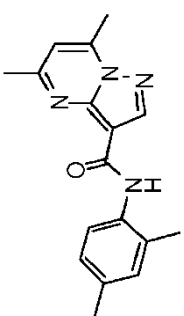
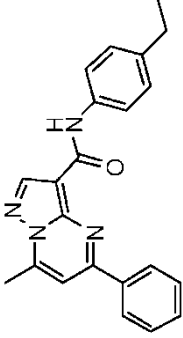
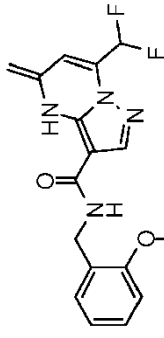
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00188766-01		N-(4-fluorofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	5,7988	5,581
NCGC00229707-01		N-(4-terc-butilciclohexil)-7-metil-5-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	5,7988	7,298
NCGC00187967-01		N-(3,5-difluorofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	6,1783	6,129
NCGC00054856-02		N-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	6,5064	5,329
NCGC00188771-01		5,7-dimetil-N-m-tolilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	6,5064	5,841

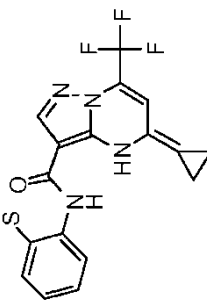
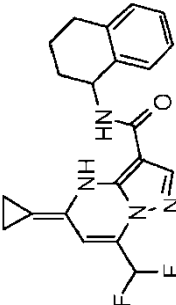
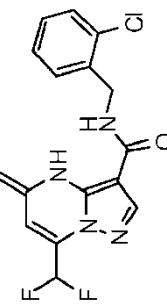
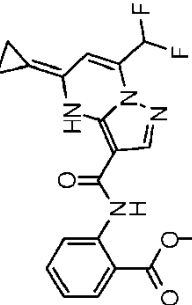
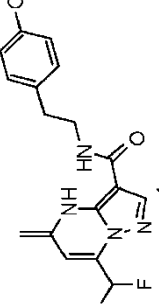
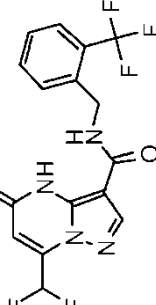
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00229715-01		N-(3,4-diclorofenil)-7-metil-5-fenilpirazolol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	6,5064	7,257
MLS000765493-01		N-(3,4-diclorofenil)-5,7-dimetilpirazolol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	7,0795	2,66 Método 2
NCGC00182186-01		N-(2-(5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(2-fenilitio)fenil)-4,5-dihidropirazolol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	7,0795	2,72 Método 3
NCGC00229719-01		N-(2,3-dihidro-1H-inden-5-il)-7-metil-5-fenilpirazolol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	8,1911	7,025

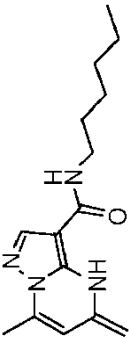
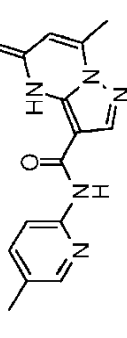
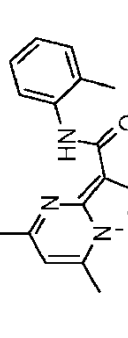
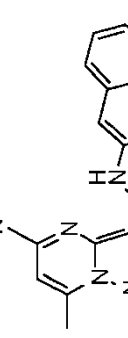
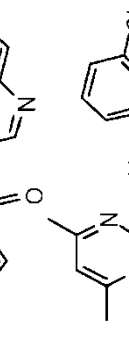
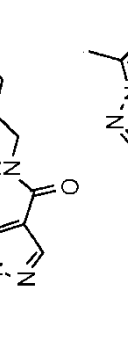
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00187975-01		5,7-dimetil-N-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	8,1911	5,522
NCGC00188768-01		N-(4-metoxifenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	8,1911	5,328
NCGC00182167-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(2,3-dihidrobencol[1,4]dioxin-6-il)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	8,9125	2,37 Método 3
NCGC00229717-01		N-(4-etilfenil)-5-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	9,1905	6,884
NCGC00182142-01		7-(difluorometil)-N-(3-etilfenil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	10	2,50 Método 3
NCGC00182146-01		N-(2,4-diclorobencil)-7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	10	2,48 Método 3

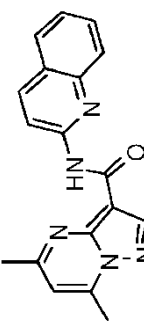
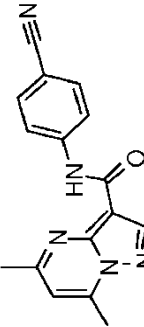
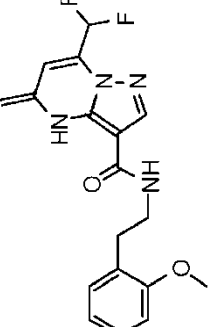
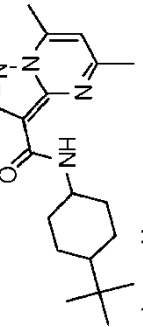
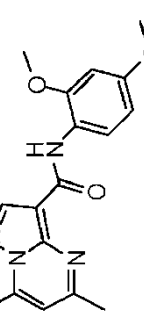
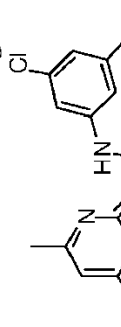
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182165-01		2-(7-metil-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamido)benzoato de metilo	10	2,36 Método 3
NCGC00188773-01		N-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	10,3119	5,301
NCGC00187971-01		N-ciclohexil-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	10,3119	5,551
NCGC00182182-01		N-(4-terc-butilciclohexil)-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	11,2202	2,83 Método 3
NCGC00182154-01		N-(4-(dietilamino)fenil)-7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	11,2202	1,75 Método 3
NCGC00188779-01		N-(2-fluoro-4-metilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	11,5702	6,112

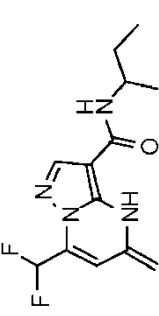
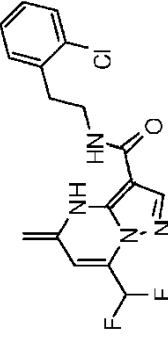
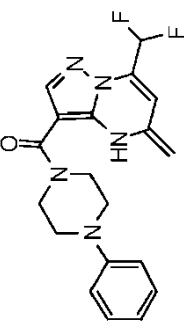
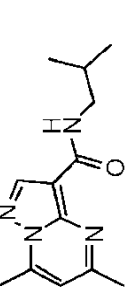
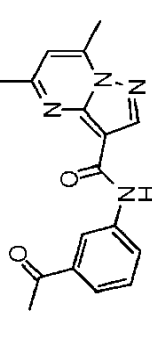
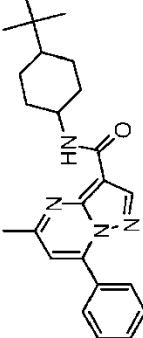
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182170-01		N-ciclopentil-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	12,5893	2,39 Método 3
NCGC00182175-01		N-ciclohexil-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	12,5893	2,48 Método 3
NCGC00182139-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(6-metilpiridin-2-il)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	12,5893	2,15 Método 3
NCGC00182185-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(3-(fenilamino)fenil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	12,5893	2,55 Método 3
NCGC00182188-01		N-(2-bromofenil)-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	12,5893	2,60 Método 3

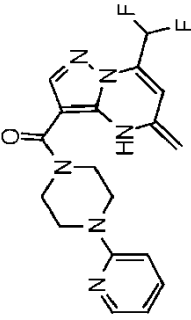
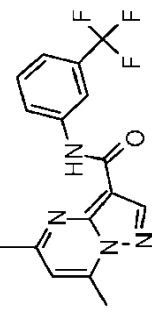
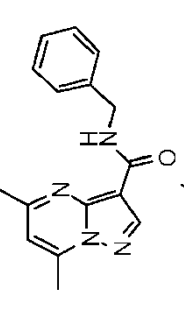
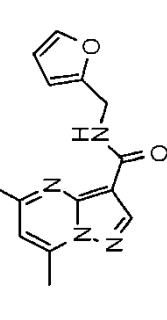
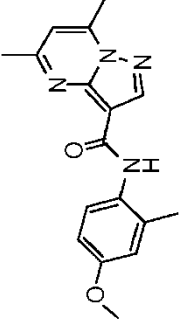
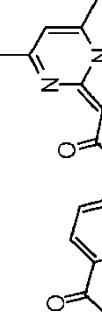
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182186-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(2-(fenil)fenil)-4,5-dihidropirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	12,982	2,72 Método 3
NCGC00188778-01		N-(2,4-dimetilfenil)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	12,982	6,112
NCGC00229714-01		N-(4-etilfenil)-7-metil-5-fenilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	12,982	6,914
NCGC00182162-01		7-(difluorometil)-N-(2-metoxibencil)-5-metilen-4,5-dihidropirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	14,1254	2,26 Método 3

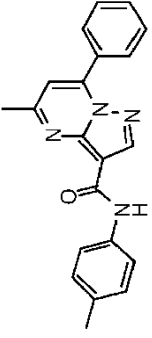
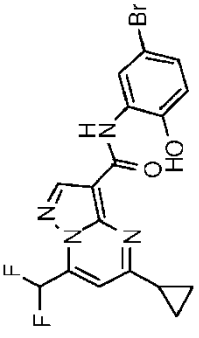
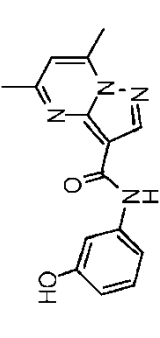
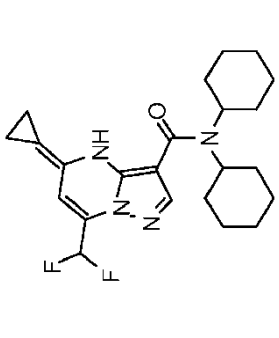
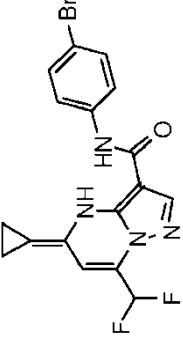
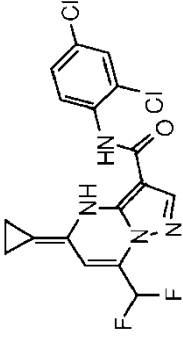
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182190-01		5-(ciclopropiliden-N-(2-(fenilitio)fenil)-7-(trifluorometil)-4,5-dihidropirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	14, 1254	2,76 Método 3
NCGC00182176-01		5-(ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(1,2,3,4-tetrahidronaftalen-1-il)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	14, 1254	2,35 Método 3
NCGC00182148-01		N-(2-clorobencil)-7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	14, 1254	2,35 Método 3
NCGC00182132-01		2-(5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamido)benzoato de metilo	15, 8489	2,54 Método 3
NCGC00182159-01		N-(4-clorofenil)-7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	15, 8489	2,40 Método 3
NCGC00182161-01		7-(difluorometil)-5-metilen-N-(2-(trifluorometil)encil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	15, 8489	2,39 Método 3

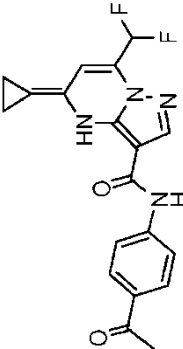
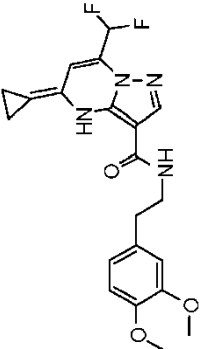
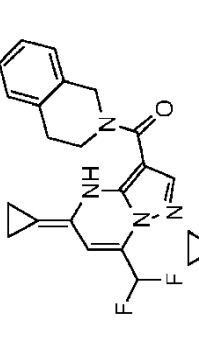
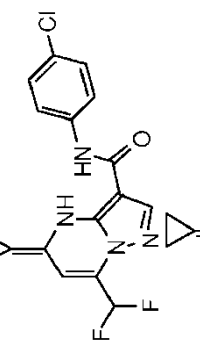
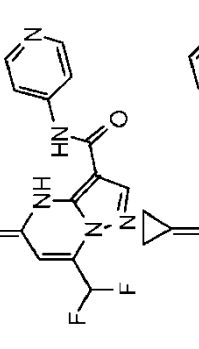
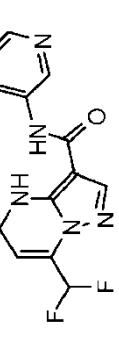
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182197-01		N-hexil-7-metil-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	15,8489	2,47 Método 3
NCGC00182198-01		7-metil-5-metilen-N-(5-metilpiridin-2-il)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	15,8489	1,78 Método 3
NCGC00188770-01		5,7-dimetil-N-o-tolilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	16,3433	5,730
NCGC00188762-01		5,7-dimetil-N-(quinolin-3-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	16,3433	4,266
NCGC00187965-01		N-(3-clorobencil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	18,3375	5,639
NCGC00229712-01		5,7-dimetil-N-(2-(fenilitio)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	18,3375	6,590

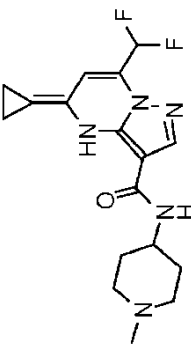
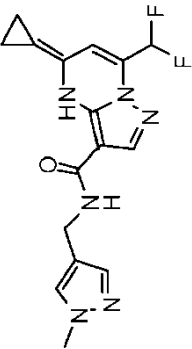
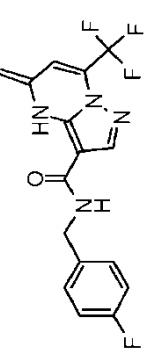
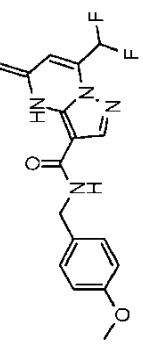
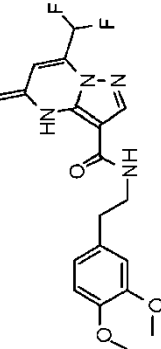
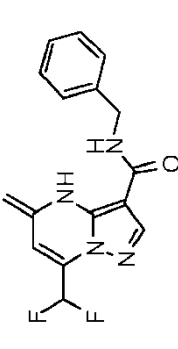
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00188763-01		5,7-dimetil-N-(quinolin-2-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	20,575	4,637
NCGC00188769-01		N-(4-cianofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	20,575	5,441
NCGC00182147-01		7-(difluorometil)-N-(2-metoxifenetil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	25,1189	2,31 Método 3
NCGC00188754-01		N-(4-terc-butilciclohexil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	25,9024	6,816
NCGC00188781-01		N-(2,4-dimetoxifenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	25,9024	5,483
NCGC00229716-01		N-(3,5-diclorofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	25,9024	6,715

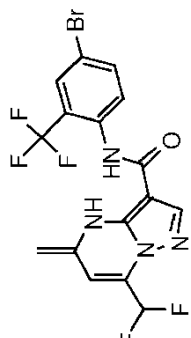
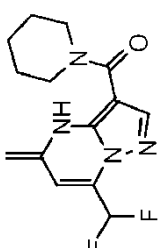
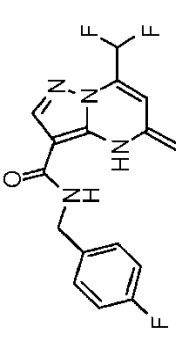
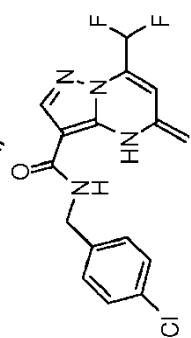
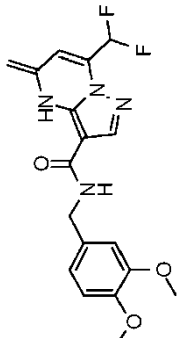
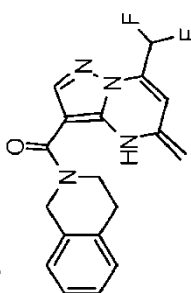
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182145-01		N-sec-butil-7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	31,6228	2,22 Método 3
NCGC00182151-01		N-(2-clorofenetil)-7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	31,6228	2,38 Método 3
NCGC00182152-01		N-(7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(4-fenilpiperazin-1-il)metanona	31,6228	2,08 Método 3
NCGC00187978-01		N-isobutil-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	32,6092	5,075
NCGC00188785-01		N-(3-acetilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	32,6092	5,266
NCGC00229711-01		N-(4-terc-butilciclohexil)-5-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	32,6092	7,407

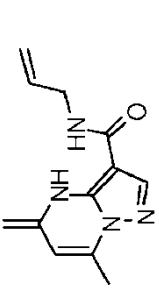
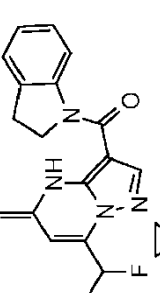
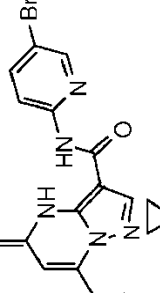
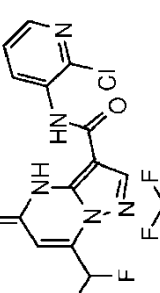
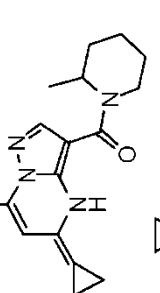
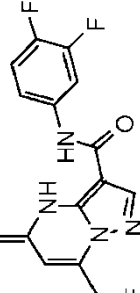
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182144-01		(7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(4-(piridin-2-il)piperazin-1-il)metanona	35,4813	1,59
NCGC00188786-01		5,7-dimetil-N-(3-(trifluorometil)fenil)pirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	41,0526	6,364
NCGC00187976-01		N-bencil-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	51,6821	5,189
NCGC00188759-01		N-(furan-2-ilmetil)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	51,6821	4,723
NCGC00188774-01		N-(4-metoxi-2-metilfenil)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	51,6821	5,530
NCGC00188784-01		N-(4-acetilfenil)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	163,4332	5,250

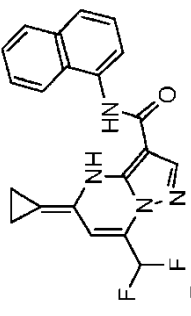
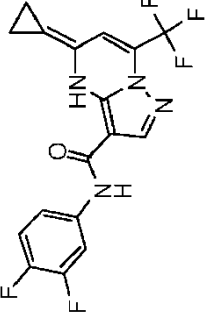
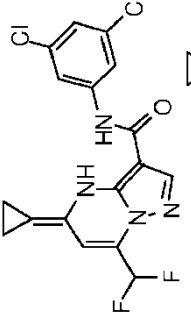
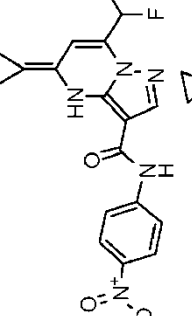
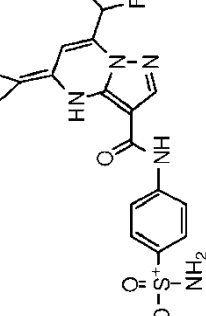
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00229718-01		5-metil-7-fenil-N-p-tolilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	205,7502	6,585
MLS000663265-01		N-(5-bromo-2-hidroxifenil)-5-ciclopropil-7-(difluorometil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,36 Método 2
MLS000716072-01		N-(3-hidroxifenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		1,86 Método 2
NCGC00182126-01		N,N-diciclohexil-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,84 Método 3
NCGC00182127-01		N-(4-bromofenil)-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,60 Método 3
NCGC00182128-01		5-ciclopropiliden-N-(2,4-diclorofenil)-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,78 Método 3

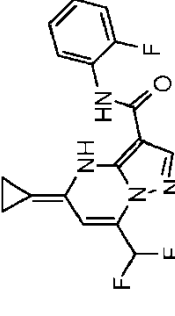
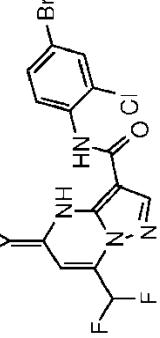
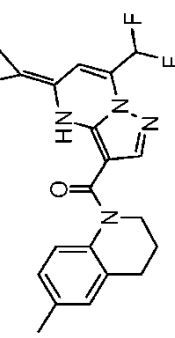
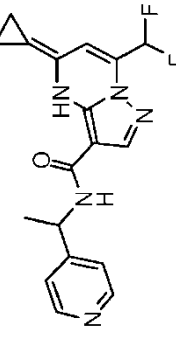
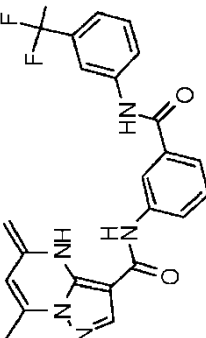
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182129-01		N-(4-acetilfenil)-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,35 Método 3
NCGC00182130-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(3,4-dimetoxifenetil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,25 Método 3
NCGC00182131-01		(5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(3,4-dihidroisoquinolin-2(1H)-il)metanona		2,37 Método 3
NCGC00182134-01		N-(4-clorofenil)-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,57 Método 3
NCGC00182135-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(piridin-4-il)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		1,71 Método 3
NCGC00182136-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(piridin-3-il)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		1,73 Método 3

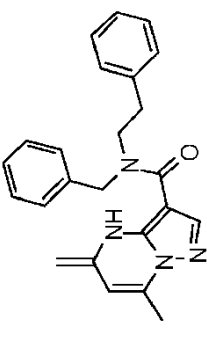
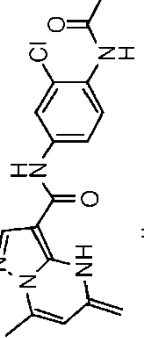
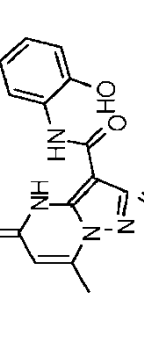
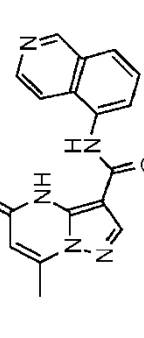
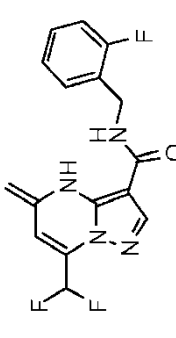
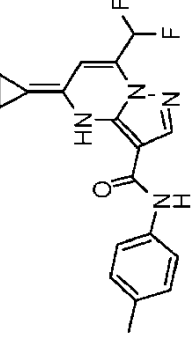
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182137-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(1-metilpiperidin-4-il)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		1,65 Método 3
NCGC00182138-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-((1-metil-1H-pirazol-4-il)metil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		1,99 Método 3
NCGC00182140-01		N-(4-fluorobencil)-5-metilen-7-(trifluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,29 Método 3
NCGC00182143-01		7-(difluorometil)-N-(4-metoxibencil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,21 Método 3
NCGC00182149-01		7-(difluorometil)-N-(3-(4-dimetoxifenetil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,16 Método 3
NCGC00182150-01		N-bencil-7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,23 Método 3

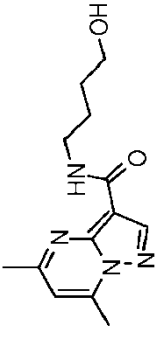
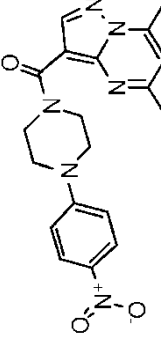
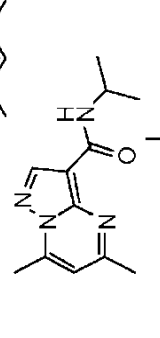
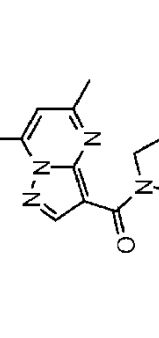
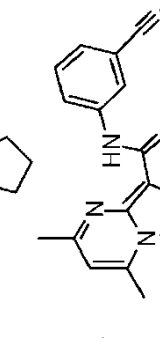
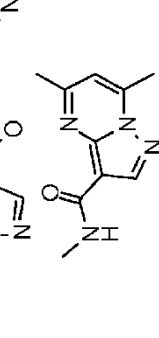
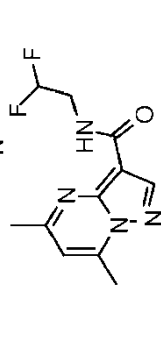
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182153-01		N-(4-bromo-2-(trifluorometil)fenil)-7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
NCGC00182155-01		(7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(piperidin-1-il)metanona		2,09 Método 3
NCGC00182156-01		7-(difluorometil)-N-(4-fluorobencil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,24 Método 3
NCGC00182157-01		N-(4-clorobencil)-7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,34 Método 3
NCGC00182158-01		7-(difluorometil)-N-(3,4-dimetoxibencil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
NCGC00182163-01		(7-(difluorometil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(3,4-dihidroisoquinolin-2(1H)-il)metanona		2,23 Método 3

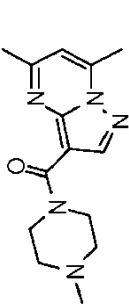
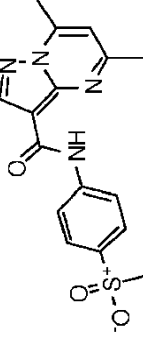
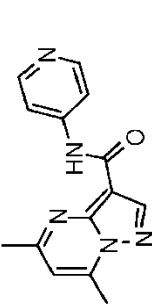
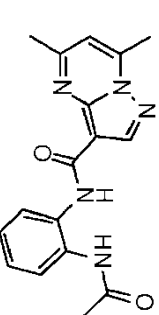
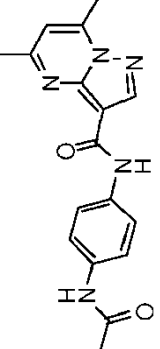
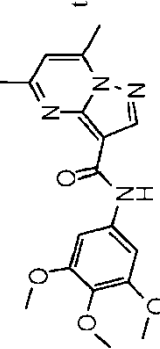
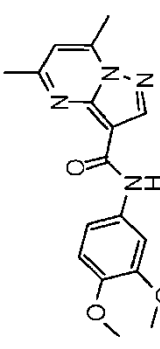
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182164-01		N-allyl-7-metil-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,00 Método 3
NCGC00182168-01		(5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(indolin-1-il)metanona		2,39 Método 3
NCGC00182169-01		N-(5-bromopiridin-2-il)-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,62 Método 3
NCGC00182173-01		N-(2-cloropiridin-3-il)-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,43 Método 3
NCGC00182177-01		(5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(2-metilpiperidin-1-il)metanona		2,35 Método 3
NCGC00182178-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(3,4-difluorofenil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,51 Método 3

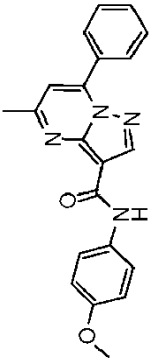
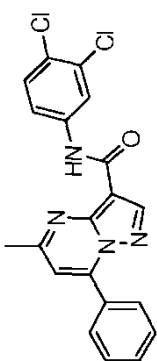
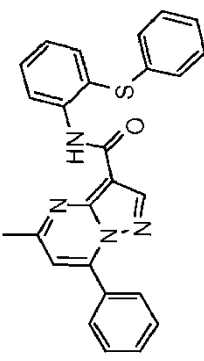
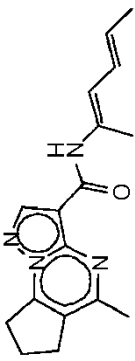
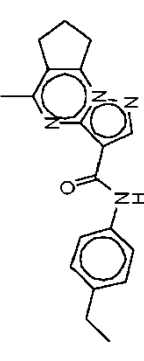
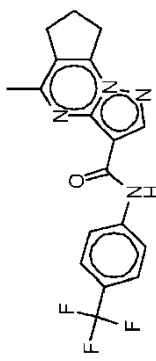
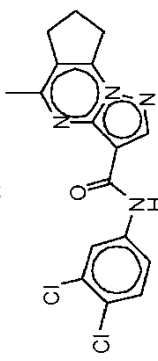
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182180-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(naftalen-1-il)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,58 Método 3
NCGC00182181-01		5-ciclopropiliden-N-(3,4-difluorofenil)-7-(trifluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,56 Método 3
NCGC00182183-01		5-ciclopropiliden-N-(3,5-diclorofenil)-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,77 Método 3
NCGC00182184-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(4-nitrofenil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,46 Método 3
NCGC00182187-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(4-sulfamolidenil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,07 Método 3

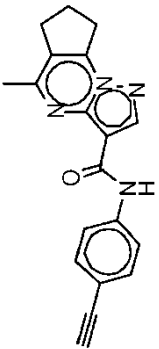
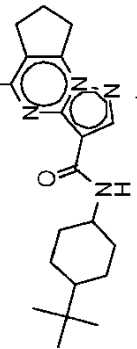
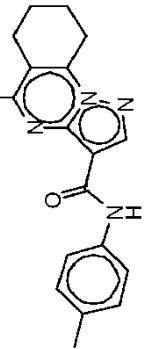
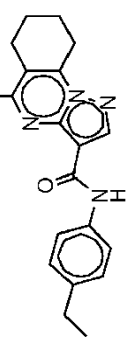
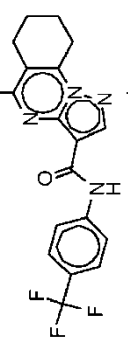
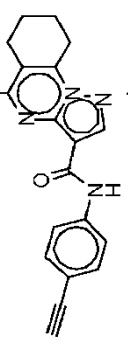
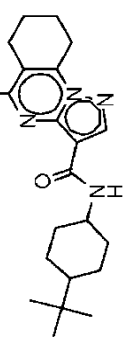
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182189-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(2-fluorofenil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,52 Método 3
NCGC00182191-01		N-(4-bromo-2-clorofenil)-5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
NCGC00182192-01		(5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(6-metil-3,4-dihidroquinolin-1(2H)-il)metanona		2,49 Método 3
NCGC00182193-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-(1-(piridin-4-il)etil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		1,71 Método 3
NCGC00182194-01		7-metil-5-metilen-N-(3-(3-(trifluorometil)fenilcarbamoi)fenil)-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,5 Método 3

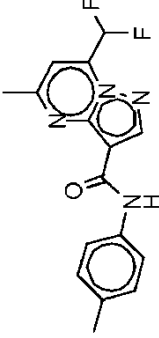
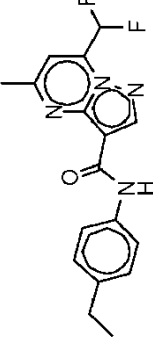
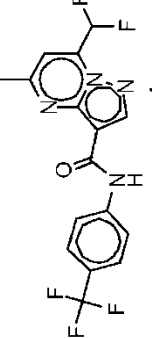
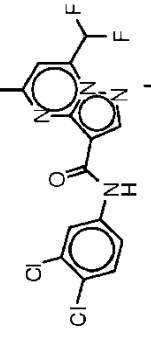
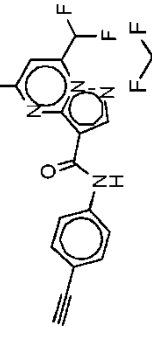
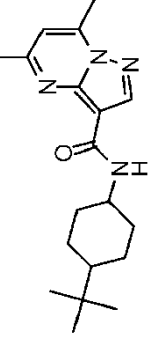
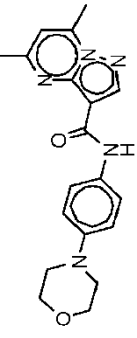
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00182195-01		N-bencil-7-metil-5-metilen-N-fenetil-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,47 Método 3
NCGC00182196-01		N-(4-acetamido-3-clorofenil)-7-metil-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,07 Método 3
NCGC00182199-01		N-(2-hidroxifenil)-7-metil-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		2,07 Método 3
NCGC00182200-01		N-(isoquinolin-5-il)-7-metil-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		1,68 Método 3
NCGC00182241-01		7-(difluorometil)-N-(2-fluorobencil)-5-metilen-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
NCGC00182242-01		5-ciclopropiliden-7-(difluorometil)-N-p-tolil-4,5-dihidropirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		

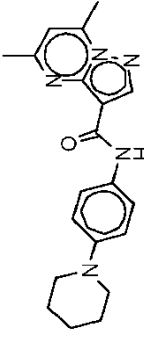
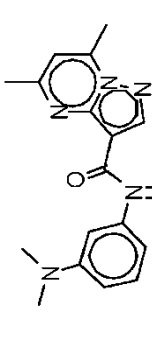
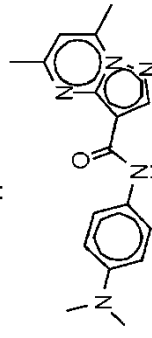
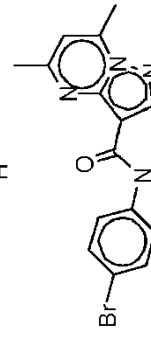
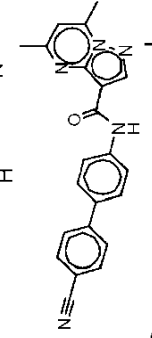
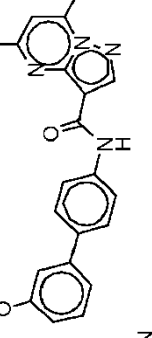
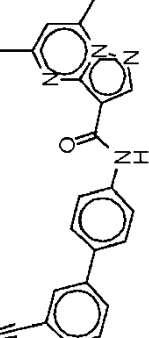
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00187966-01		N-(4-hidroxi-butil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		3,717
NCGC00187968-01		(5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(4-(4-nitrofenil)piperazin-1-il)metanona		5,079
NCGC00187972-01		N-isopropil-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		4,655
NCGC00187973-01		(5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(pirrolidin-1-il)metanona		3,843
NCGC00187974-01		N-(3-cianofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		5,472
NCGC00187977-01		N,5,7-trimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		3,709
NCGC00187979-01		N-(2,2-difluoroetil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		4,386

Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00188757-01		(5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-il)(4-metilpiperazin-1-il)metanona		2,543
NCGC00188760-01		5,7-dimetil-N-(4-(metilsulfonil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		4,759
NCGC00188761-01		5,7-dimetil-N-(piridin-4-il)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		3,326
NCGC00188765-01		N-(2-acetamidofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		4,169
NCGC00188767-01		N-(4-acetamidofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		4,385
NCGC00188775-01		5,7-dimetil-N-(3,4,5-trimetoxifenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		5,239
NCGC00188777-01		N-(3,4-dimetoxifenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		5,026

Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
NCGC00229709-01		N-(4-metoxifenil)-5-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		6,165
NCGC00229710-01		N-(3,4-diclorofenil)-5-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		7,215
NCGC00229720-01		5-metil-7-fenil-N-(2-(feniltio)fenil)pirazolo-1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		7,281
CCB2-5-1		N-((2E,4E)-hexa-2,4-dien-2-il)-5-metil-7,8-dihidro-6H-ciclopenta[e]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CCB2-6-1		N-(4-etilfenil)-5-metil-7,8-dihidro-6H-ciclopenta[e]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CCB2-7-1		5-metil-N-(4-(trifluorometil)fenil)-7,8-dihidro-6H-ciclopenta[e]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-8-1		N-(3,4-diclorofenil)-5-metil-7,8-dihidro-6H-ciclopenta[e]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		

Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
CGB2-9-1		N-(4-ethinifenil)-5-metil-7,8-dihidro-6H-ciclopenta[e]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-10-1		N-(4-terc-butilciclohexil)-5-metil-7,8-dihidro-6H-ciclopenta[e]pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-12-1		5-metil-N-p-tolil-6,7,8,9-tetrahidropirazolo[1,5-a]quinazolin-3-carboxamida		
CGB2-13-1		N-(4-etilfenil)-5-metil-6,7,8,9-tetrahidropirazolo[1,5-a]quinazolin-3-carboxamida		
CGB2-14-1		5-metil-N-(4-(trifluorometil)fenil)-6,7,8,9-tetrahidropirazolo[1,5-a]quinazolin-3-carboxamida		
CGB2-16-1		N-(4-etinilfenil)-5-metil-6,7,8,9-tetrahidropirazolo[1,5-a]quinazolin-3-carboxamida		
CGB2-17-1		N-(4-terc-butilciclohexil)-5-metil-6,7,8,9-tetrahidropirazolo[1,5-a]quinazolin-3-carboxamida		

Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
CGB2-18-1		7-(difluorometil)-5-metil-N-p-tolilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-19-1		7-(difluorometil)-N-(4-etilfenil)-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-20-1		7-(difluorometil)-5-metil-N-(4-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-21-1		N-(3,4-diclorofenil)-7-(difluorometil)-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-22-1		7-(difluorometil)-N-(4-etilfenil)-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-23-1		N-(4-terc-butilciclohexil)-5-(difluorometil)-7-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-32-1		5,7-dimetil-N-(4-morfolinofenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		

Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
CGB2-33-1		5,7-dimetil-N-(4-(piperidin-1-il)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-34-1		N-(3-(dimetilamino)fenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-35-1		N-(4-(dimetilamino)fenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-36-1		N-(4-bromofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-39-1		N-(4'-cianobifenil-4-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-41-1		N-(3'-metoxibifenil-4-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-42-1		N-(3'-cianobifenil-4-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		

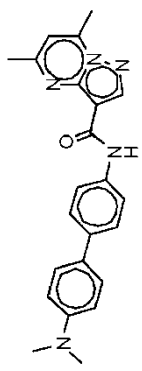
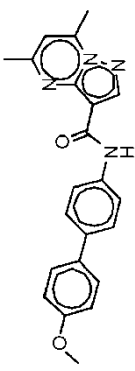
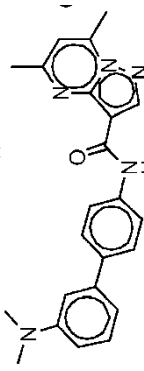
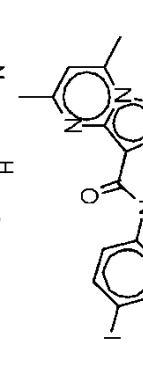
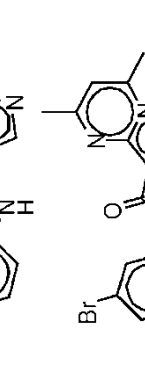
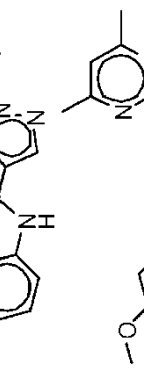
LCMS tiempo
de ret. (min.)

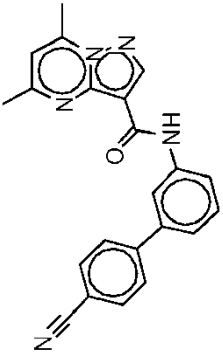
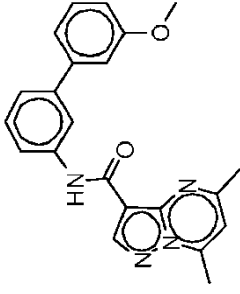
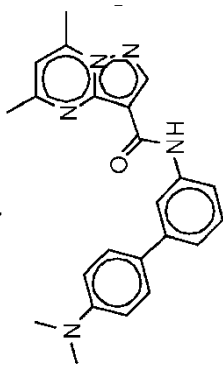
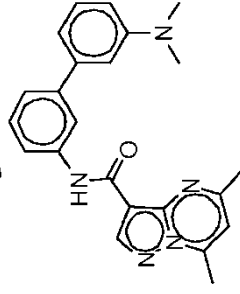
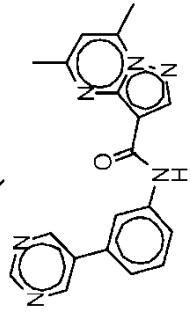
AC50

Nombre

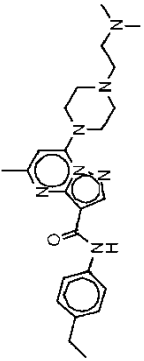
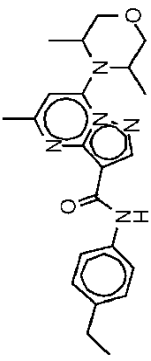
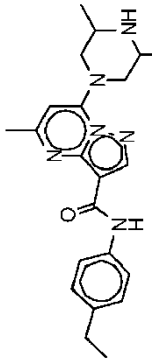
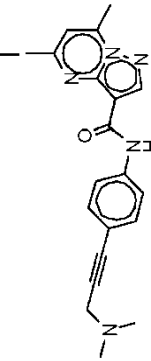
Estructura

Compuesto nº

CGB2-43-1		N-(4'-(dimetilamino)bifenil-4-yl)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	
CGB2-62-1		N-(4'-metoxibifenil-4-yl)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	
CGB2-63-1		N-(3'-(dimetilamino)bifenil-4-yl)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	
CGB2-68-1		N-(4-yodofenil)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	
CGB2-55-1		N-(3-bromofenil)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	
CGB2-56-1		N-(4'-metoxibifenil-3-yl)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida	

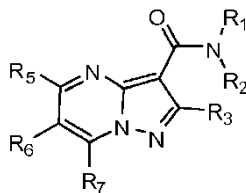
Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
CGB2-57-1		N-(4'-cianobifenil-3-yl)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-58-1		N-(3'-metoxibifenil-3-yl)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-59-1		N-(4'-(dimetilamino)bifenil-3-yl)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-60-1		N-(3'-(dimetilamino)bifenil-3-yl)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-61-1		5,7-dimetil-N-(3-(pirimidin-5-yl)fenil)pirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		

Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
CGB2-67-1		N-(3'-cianobifenil-3-il)-5,7-dimetilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-64-1		N-(4-etilfenil)-5-metil-7-(4-metilpiperazin-1-il)pirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-65-1		N-(4-etilfenil)-5-metil-7-(2-morfolinoetilamino)pirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-75-1		N-(4-etilfenil)-5-metil-7-(piperidin-1-il)pirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-77-1		N-(4-etilfenil)-5-metil-7-morfolinopirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-79-1		N-(4-etilfenil)-7-(4-isopropilpiperazin-1-il)-5-metilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-80-1		N-(4-etilfenil)-7-(4-isobutilpiperazin-1-il)-5-metilpirazol[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		

Compuesto nº	Estructura	Nombre	AC50	LCMS tiempo de ret. (min.)
CGB2-81-1		7-(4-(2-(dimetilamino)etil)piperazin-1-il)-N-(4-etilfenil)-5-metipirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-82-1		7-(3,5-dimetilmorfolino)-N-(4-etilfenil)-5-metipirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-83-1		7-(3,5-dimetilpiperazin-1-il)-N-(4-etilfenil)-5-metipirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		
CGB2-70-1		N-(4-(3-(dimetilamino)prop-1-inil)fenil)-5,7-dimetipirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida		

REIVINDICACIONES

1. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable, en la que se satisface una de las condiciones (a) y (b) a continuación:

10 (a) R₁ es fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, o dihidroindenilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de entre halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, -CHO, -COOH, alquilo de C₁-C₆, alqueno de C₂-C₆, alquino de C₂-C₆, alcanóilo de C₂-C₆, mono- o di-alquil C₁-C₆-amino, mono- o di-alquil C₁-C₆-carboxamida, alquilitio de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-sulfonilo, haloalquilo de C₁-C₂, y haloalcoxi de C₁-C₂, y con 0 o 1 sustituyentes seleccionados de entre Y-Z- en el que Z es un enlace covalente, alqueno de C₁-C₄, -S-, -O-, -NR-, -C(O)-, -NHC(O)-, o -C(O)NH-, en el que R es hidrógeno o alquilo de C₁-C₄, e Y es fenilo o piridilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo de C₁-C₄, y alcoxi de C₁-C₄; o

20 (b) R₁ es ciclohexilo, sustituido con por lo menos un trifluorometilo, o alquilo de C₃-C₆;

R₂ es hidrógeno o metilo;

R₃ es hidrógeno;

25 R₅ y R₇ son ambos metilo; o uno de R₅ y R₇ es metilo y el otro es fenilo; o uno de R₅ y R₇ es metilo y el otro es difluorometilo;

30 R₆ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo de C₁-C₄, o alcoxi de C₁-C₄; y

en la que R₁ no es fenilo no sustituido, dihidroindenilo, o fenilo sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre cloro, fluoro, alquilo de C₁-C₄, acetilo, y trifluorometilo, (1) cuando R₆ es hidrógeno, y R₅ y R₇ son ambos metilo, o (2) cuando R₆ es hidrógeno y uno de R₅ y R₇ es metilo y el otro es fenilo.

35 2. Composición farmacéutica según la reivindicación 1, en la que R₃ y R₆ son ambos hidrógeno.

3. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en la que R₁ es fenilo naftilo, tetrahidronaftilo, o dihidroindenilo, que está no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de entre halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, -CHO, -COOH, alquilo de C₁-C₆, alcanóilo de C₂-C₆, mono- o di-alquil C₁-C₆-amino, mono- o di-alquil C₁-C₆-carboxamida, alquilitio de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-sulfonilo, haloalquilo de C₁-C₂, y haloalcoxi de C₁-C₂, y con 0 o 1 sustituyentes seleccionados de entre Y-Z- en el que Z es un enlace covalente, alqueno de C₁-C₄, -S-, -O-, -NR-, -C(O)-, -NHC(O)-, o -C(O)NH-, en el que R es hidrógeno o alquilo de C₁-C₄, e Y es fenilo o piridilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo de C₁-C₄, y alcoxi de C₁-C₄.

4. Compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el compuesto es:

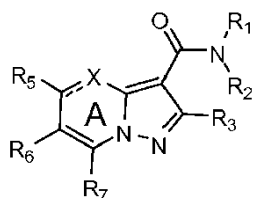
50 N-(4-etinilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-bromofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 5,7-dimetil-N-(2-(feniltio)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-cianofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-terc-butilciclohexil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-terc-butilciclohexil)-5-metil-7-fenilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 55 N-(3-cianofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 5,7-dimetil-N-(4-(metilsulfonil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(2-acetamidofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-acetamidofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 5-metil-7-fenil-N-(2-(feniltio)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 60 7-(difluorometil)-5-metil-N-p-tolilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;

- 7-(difluorometil)-N-(4-etilfenil)-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 7-(difluorometil)-5-metil-N-(4-(trifluorometil)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(3,4-diclorofenil)-7-(difluorometil)-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 7-(difluorometil)-N-(4-etinilfenil)-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 5 N-(4-terc-butilciclohexil)-5-(difluorometil)-7-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(3-(dimetilamino)fenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-(dimetilamino)fenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-bromofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4'-cianobifenil-4-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 10 N-(3'-metoxibifenil-4-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(3'-cianobifenil-4-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4'-(dimetilamino)bifenil-4-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4'-metoxibifenil-4-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 15 N-(3'-(dimetilamino)bifenil-4-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4-yodofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(3-bromofenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4'-metoxibifenil-3-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4'-cianobifenil-3-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 20 N-(3'-metoxibifenil-3-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(4'-(dimetilamino)bifenil-3-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(3'-(dimetilamino)bifenil-3-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 5,7-dimetil-N-(3-(pirimidin-5-il)fenil)pirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida;
 N-(3'-cianobifenil-3-il)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida.

25 5. Compuesto según la reivindicación 4, en el que el compuesto es la N-(4-etinilfenil)-5,7-dimetilpirazolo[1,5-a]pirimidin-3-carboxamida.

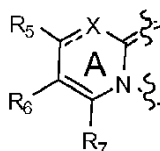
6. Composición farmacéutica según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o composición farmacéutica que comprende el compuesto según la reivindicación 4 o 5 o la sal del mismo junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable; en la que la composición está opcionalmente en forma de una forma de dosificación oral.

7. Compuesto de Fórmula (I) o sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la utilización en el tratamiento de la enfermedad de Gaucher en un paciente o la prevención de los síntomas de la enfermedad de Gaucher en un paciente que presenta una mutación en el gen de GBA, en el que la Fórmula (I) es:



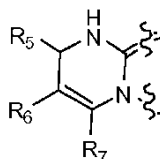
Fórmula (I)

40 en el que el anillo



es un sistema de anillo de la fórmula

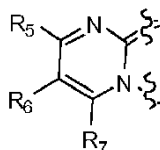
45 (i)



en la que R5 es un grupo alquideno opcionalmente sustituido, y R6 y R7 presentan las definiciones expuestas a continuación, o

50

(ii)



en la que R₅, R₆, y R₇ presentan las definiciones expuestas a continuación;

- 5 R₁ es alquilo de C₁-C₆, alqueno de C₂-C₆, alquino de C₂-C₆, (carbociclo mono- o bicíclico)alquilo de C₀-C₄ o (heterociclo mono- o bicíclico)alquilo de C₀-C₄, cada uno de los cuales R₁ está no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de entre halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, -CHO, -COOH, alquilo de C₁-C₆, alqueno de C₂-C₆, alquino de C₂-C₆, alcoxi de
- 10 C₁-C₆, alcanoilo de C₂-C₆, (mono- o di-alquil C₁-C₆-amino)alquilo de C₀-C₄, mono- o di-alquil C₁-C₆-carboxamida, éster de alquilo C₁-C₆, alquilo de C₁-C₆, alquil C₁-C₆-sulfonilo, haloalquilo de C₁-C₂, y haloalcoxi de C₁-C₂, y con 0 o 1 sustituyentes seleccionados de entre Y-Z- en el que Z es un enlace covalente, alqueno de C₁-C₄, alqueno de C₂-C₄, alquino de C₂-C₄, alquino de C₂-C₄, -S-, -O-, -NR-, -C(O)-, -NHC(O)-, o -C(O)NH-, en el que R es hidrógeno o alquilo de C₁-C₄, e Y es
- 15 fenilo, pirimidilo, heterocicloalquilo de 5 o 6 miembros, o piridilo, cada uno de los cuales está sustituido con 0 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, mono- y di-alquil C₁-C₄-amino, trifluorometilo, difluorometilo, trifluorometoxi, y fenilo;
- 20 R₂ es hidrógeno, alquilo de C₁-C₆, cicloalquilo de C₃-C₇, y (fenil)-alquilo de C₀-C₂; o
- R₁ y R₂ se unen para formar un anillo heterocicloalquílico de 5 a 7 miembros que presenta 0 o 1 heteroátomos adicionales seleccionados de entre N, O, y S, anillo heterocicloalquílico de 5 a 7 miembros el cual está opcionalmente condensado con un fenilo o piridilo; anillo heterocicloalquílico de 5 a 7
- 25 miembros el cual está no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados independientemente de entre halógeno, hidroxilo, alquilo de C₁-C₂, y alcoxi de C₁-C₂;
- R₃ es hidrógeno o alquilo de C₁-C₂;
- 30 R₅ es halógeno, hidroxilo, amino, ciano, vinilo, ciclopropilo, ciclopropilidenilo, alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, difluorometilo, trifluorometilo, o fenilo;
- R₆ es hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo de C₁-C₄, o alcoxi de C₁-C₄; y
- 35 R₇ es halógeno, hidroxilo, amino, ciano, alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, difluorometilo, o trifluorometilo, o
- R₇ es fenilo o un anillo heterocicloalquílico de 5 a 7 miembros que presenta 1 o 2 heteroátomos seleccionados de entre N, O, y S, cada uno de los cuales R₇ está unido directamente por un enlace covalente o unido por un grupo alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, o alquil C₁-C₄-amino, y cada uno de los
- 40 cuales R₇ está no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre halógeno, hidroxilo, alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₄, (mono- y di-alquil C₁-C₂-amino)alquilo de C₀-C₄, haloalquilo de C₁-C₂, y haloalcoxi de C₁-C₂; o
- 45 R₆ y R₇ se toman juntos para formar un anillo carbocíclico de 5 o 6 miembros sin puntos de insaturación adicionales, anillo el cual está no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre alquilo de C₁-C₂ y alcoxi de C₁-C₂;
- 50 en el que R₁ no es fenilo no sustituido, dihidroindenilo, benzo[b][1,4]dioxolilo, benzo[d][1,3]dioxol-5-ilo, ciclohexilo, piridilo, o fenilo sustituido con 1 o 2 sustituyentes seleccionados independientemente de entre cloro, fluoro, alquilo de C₁-C₄, alcoxi de C₁-C₂, acetilo, trifluorometilo, cuando R₆ es hidrógeno, R₅ y R₇ son ambos metilo, o cuando R₆ es hidrógeno y uno de R₅ y R₇ es metilo y el otro es fenilo; y R₁ no es 1-(4-fluorobencil)-1H-pirazol-4-ilo cuando R₆ es hidrógeno y uno de R₅ y R₇ es metilo y el otro es fenilo.