

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 719 573**

51 Int. Cl.:

**C07D 401/14** (2006.01)

**C07D 498/10** (2006.01)

**A61K 31/437** (2006.01)

**A61K 31/537** (2006.01)

**A61P 25/06** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.10.2016 PCT/IB2016/056517**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.05.2017 WO17072721**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.10.2016 E 16791443 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.03.2019 EP 3368525**

54 Título: **Antagonistas del receptor CGRP**

30 Prioridad:

**30.10.2015 GB 201519196**

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

**11.07.2019**

73 Titular/es:

**HEPTARES THERAPEUTICS LIMITED (100.0%)  
Granta Park Great Abington  
Cambridge CB21 6DG, GB**

72 Inventor/es:

**CHRISTOPHER, JOHN ANDREW;  
CONGREVE, MILES STUART;  
BUCKNELL, SARAH JOANNE;  
DEFLORIAN, FRANCESCA;  
PICKWORTH, MARK y  
MASON, JONATHAN STEPHEN**

74 Agente/Representante:

**SÁEZ MAESO, Ana**

**ES 2 719 573 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

Antagonistas del receptor CGRP

Referencia cruzada a la solicitud relacionada

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud de la Patente de Gran Bretaña No. 1519196.8, presentada el 30 de octubre de 2015.

Campo técnico

10 Esta solicitud se refiere a nuevos compuestos y su uso como antagonistas del receptor de CGRP. Los compuestos descritos en este documento pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de trastornos cerebrovasculares o vasculares tales como migraña. La solicitud también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y a la fabricación y uso de estos compuestos y composiciones en la prevención o tratamiento de tales trastornos cerebrovasculares o vasculares.

Antecedentes de la invención

15 La migraña es un trastorno neurovascular altamente incapacitante caracterizado por ataques de cefalea moderada a severa que a menudo se asocian con náuseas, vómitos, fotofobia y fonofobia. Los ataques pueden durar desde 4 a 72 h, y la frecuencia promedio de ataque es de 1 o 2 por mes. Aproximadamente 20-30% de los pacientes con migraña experimentan síntomas neurológicos focales transitorios conocidos como aura, que generalmente son visuales y pueden preceder o acompañar el dolor de cabeza. La migraña afecta aproximadamente al 11% de los adultos en todo el mundo y genera una carga socioeconómica significativa, tanto en términos de calidad de vida como de pérdida de productividad.

20 Aunque el mecanismo patogénico de la migraña todavía no está claro, una de las hipótesis principales se basa en la activación del sistema trigeminovascular (TS). Varios neuropéptidos participan en esta activación, el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) juega un papel crucial entre ellos. El CGRP ejerce diversos efectos biológicos a través del sistema nervioso central y periférico (CNS). El complejo funcional receptor de CGRP (CGRP-R) ha sido bien caracterizado, y los nuevos enfoques terapéuticos se centran en el propio CGRP y sus receptores. Esta invención se refiere al desarrollo de antagonistas del receptor de CGRP (CGRP-RA).

30 El CGRP, un neuropéptido de 37 aminoácidos derivado del gen que codifica la calcitonina, se forma a partir del empalme alternativo del gen de la calcitonina/CGRP ubicado en el cromosoma 11. En los seres humanos, el CGRP tiene dos isoformas:  $\alpha$  y  $\beta$ -CGRP. La  $\beta$ -isoforma difiere de la  $\alpha$ -isoforma en los aminoácidos ubicados en las posiciones 3, 22 y 25. La estructura química de CGRP implica un puente disulfuro entre los residuos 2 y 7 y un C-terminal amidado. El motivo cisteína<sub>2</sub>-cisteína<sub>7</sub> cíclico tiene un papel básico en la activación del receptor. En los ganglios del trigémino humano (TRIG), las neuronas inmunorreactivas al CGRP representan hasta el 50% de todas las neuronas. Se ha demostrado mediante una técnica de hibridación in situ que el 40% de todos los cuerpos de células nerviosas contienen ARNm de CGRP y CGRP. La doble inmunotinción ha demostrado que, en el TRIG humano, el CGRP se colocaliza con óxido nítrico sintasa, sustancia P (SP), péptido activador de adenilato ciclasa pituitaria (PACAP) y nociceptina, que puede desempeñar un papel en el mecanismo patológico de la migraña.

35 El CGRP-R funcional consiste en tres proteínas: i) un receptor como el receptor de calcitonina (conocido como CRLR, CALCRL o CLR) es una proteína que abarca siete transmembranas, que forma el sitio de unión del ligando con; ii) RAMP1, determinando la especificidad del receptor; y iii) la proteína componente CGRP-R (RCP) acopla el receptor a las vías de transducción de señales intracelulares y a la adenilil ciclasa.

40 Se cree que la región C-terminal de CGRP se une inicialmente al gran dominio extracelular N-terminal (ECD) del receptor, lo que probablemente genere interacciones con ambos CLR y RAMP1. Este evento de unión inicial aumenta en gran medida la concentración local de la región N-terminal de CGRP en la vecindad de la porción yuxtamembrana de CLR, permitiendo que se produzca su interacción relativamente débil y que dé como resultado la activación del receptor. Dado que los experimentos de mutagénesis indicaron que la mayoría de los antagonistas de moléculas pequeñas interactuaron con el ECD de CLR/RAMP1, se planteó la hipótesis de que se unen a esta región del receptor y evitan la unión inicial de CGRP al receptor. Una notable excepción a este modelo de unión a péptidos y al antagonismo de los receptores de moléculas pequeñas es la clase de antagonistas de la hidroxipiridina, que aparentemente interactúan con el dominio transmembrana 7 (TM7) en CLR y no con el dominio extracelular (Bell IM, J. Med. Chem., 2014, 57(19), 7838-58).

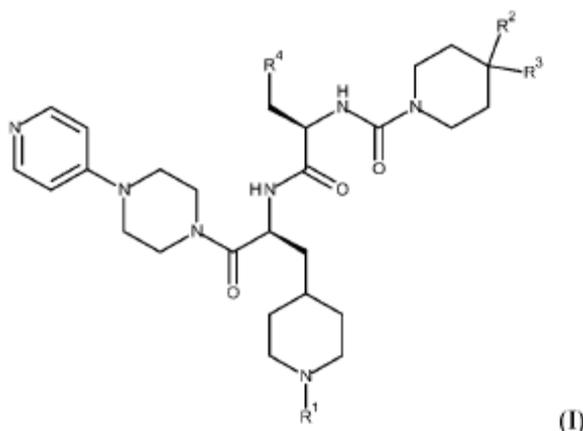
50 El primer CGRP-RA analizado clínicamente, olcegepant, se basó en un esqueleto dipeptídico, tenía un alto peso molecular y no estaba biodisponible por vía oral. No obstante, cuando se administró por vía intravenosa, el olcegepant demostró ser un agente antimigrañoso eficaz, y este estudio de prueba de concepto aumentó considerablemente el interés en el campo. Tras el éxito de olcegepant, una serie de CGRP-RA de acción oral se adelantaron a los ensayos clínicos. El telcagepant y los compuestos BI 44370, MK-3207 y BMS-927711 se han usado para el tratamiento agudo de la migraña como agentes orales. En conjunto, los resultados de estos estudios clínicos demuestran que los CGRP-RA pueden exhibir una eficacia antimigrañosa similar a la de los fármacos

triptanos estándar de oro, pero con una incidencia de eventos adversos significativamente menor que la observada por lo general con un triptano. Vale la pena señalar que los datos disponibles indican que estos bloqueadores de CGRP no causan vasoconstricción y sugieren que pueden tener un perfil de seguridad cardiovascular superior a los triptanos. Una posible preocupación que se ha reportado con algunos CGRP-RA es la observación de niveles elevados de transaminasas hepáticas en algunos pacientes, y esto supuestamente llevó a la suspensión de MK-3207. Aunque también se encontraron enzimas hepáticas elevadas en un pequeño número de sujetos después de la dosificación de telcagepant durante un período prolongado, no está claro si estos hallazgos se basan de alguna manera en mecanismos o son específicos de estos dos compuestos. En los ensayos clínicos para el tratamiento de la migraña aguda, los CGRP-RA mostraron efectos favorables, pero su administración frecuente se asoció con toxicidad hepática (la elevación de las transaminasas hepáticas), lo que limitó su uso clínico. Por consiguiente, existe la necesidad de desarrollar nuevos CGRP-RA que no induzcan daño hepático.

#### Resumen de la invención

Una posibilidad de abordar el riesgo de lesión hepática es apuntar a una vía de administración no oral para una molécula pequeña que supondrá una carga menor para el hígado a través de la exposición de primer paso. Los compuestos de la invención se pueden usar para vías de administración subcutánea, intravenosa y/o intranasal. El perfil molecular para un CGRP-RA destinado a tales vías de administración difiere del perfil requerido para una molécula oral: se requiere una afinidad extremadamente alta y una potencia funcional, junto con una solubilidad extremadamente alta. En este documento se describen nuevos compuestos y el primer uso médico de dichos compuestos como antagonistas del receptor de CGRP.

Los compuestos de la invención incluyen compuestos de fórmula (I)



o sales de los mismos, en la que  $R^1$  se selecciona de H o Q- alquilo ( $C_1-C_6$ ); donde Q es un enlace, C(O) o C(O)O y donde el alquilo ( $C_1-C_6$ ) puede estar opcionalmente sustituido con N(alquilo  $C_1-C_3$ )<sub>2</sub> o CO<sub>2</sub>H;  $R^2$  es H o forma un anillo heterocíclico espirocíclico con  $R^3$ ;

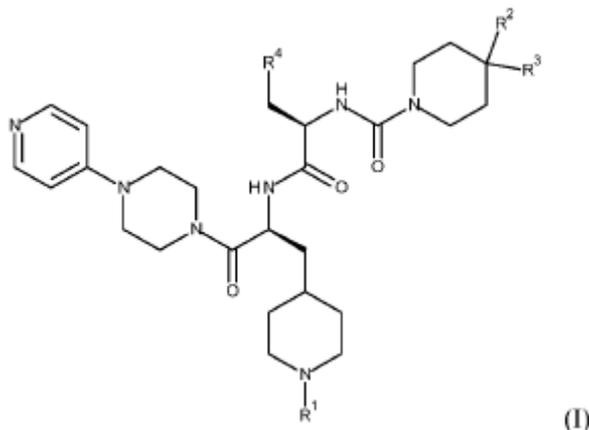
$R^3$  forma un anillo heterocíclico espirocíclico con  $R^2$  o es un anillo heterocíclico si  $R^2$  es H; y

$R^4$  es un grupo arilo opcionalmente sustituido que puede ser monocíclico o fusionado a un anillo adicional.

#### Descripción detallada de la invención

La invención se refiere a nuevos compuestos. La invención también se refiere al uso de nuevos compuestos como antagonistas del receptor de CGRP. La invención se refiere además al uso de compuestos en la fabricación de medicamentos para uso como antagonistas del receptor de CGRP. La invención se refiere además a compuestos, composiciones y medicamentos para el tratamiento de trastornos cerebrovasculares o vasculares, tal como migraña (incluidos subtipos tales como: migraña sin aura, migraña crónica, migraña menstrual pura, migraña relacionada con la menstruación, migraña con aura, migraña hemipléjica familiar, migraña hemipléjica esporádica, migraña tipo basilar, vómitos cíclicos, migraña abdominal, vértigo paroxístico benigno de la infancia, migraña retiniana), estado migrañoso, cefalea en racimo, cefalea en diálisis, hemicraxia paroxística, osteoartritis, sofocos asociados con menopausia o menopausia inducida médicamente debido a cirugía o tratamiento farmacológico, hemicrania continua, síndrome de vómitos cíclicos, rinitis alérgica o rosácea. La invención se refiere además a compuestos, composiciones y medicamentos para el tratamiento de estados de dolor más amplios y enfermedades que implican inflamación neurogénica, incluyendo dolor dental, dolor de oído, inflamación del oído medio, quemadura solar, dolor en las articulaciones asociado con osteoartritis y artritis reumatoide, dolor por cáncer, fibromialgia, neuropatía diabética, dolor asociado con enfermedad inflamatoria intestinal: enfermedad de Crohn, gota, síndrome de dolor regional complejo, enfermedad de Behçet, dolor por endometriosis, dolor de espalda o tos.

Los compuestos ejemplificados en este documento se basan en la estructura:



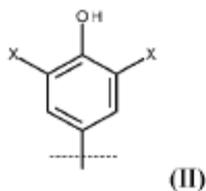
en la que R<sup>1</sup> se selecciona de H o Q- alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); donde Q es un enlace, C(O) o C(O)O y donde el alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) puede estar opcionalmente sustituido con N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o CO<sub>2</sub>H;

5 R<sup>2</sup> es H o forma un anillo heterocíclico espirocíclico con R<sup>3</sup>;

R<sup>3</sup> forma un anillo heterocíclico espirocíclico con R<sup>2</sup> o es un anillo heterocíclico si R<sup>2</sup> es H; y

R<sup>4</sup> es un grupo arilo opcionalmente sustituido que puede ser monocíclico o fusionado a un anillo adicional.

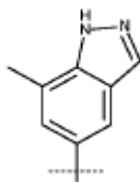
10 Los sustituyentes opcionales para R<sup>4</sup> se pueden seleccionar de halo, hidroxilo o metilo. Más particularmente, el sustituyente para R<sup>4</sup> es un grupo fenilo sustituido en el que los sustituyentes se seleccionan de halo o hidroxilo. En una realización particular, R<sup>4</sup> es una unidad estructural según la fórmula II



en la que X es halo.

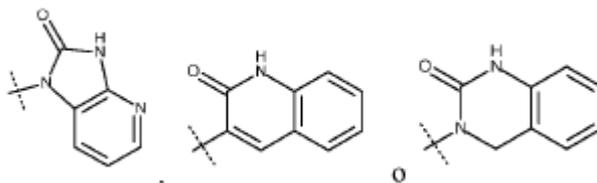
En una realización más particular, X es Br.

En una realización particular, el sustituyente para R<sup>4</sup> es

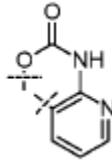


15

En una realización particular, el sustituyente para R<sup>2</sup> es H y R<sup>3</sup> se selecciona de:

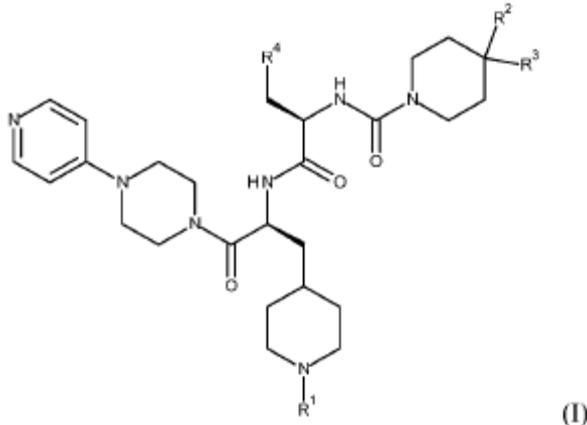


En una realización particular, R<sup>2</sup> forma un anillo heterocíclico espirocíclico con R<sup>3</sup> para formar:



En una realización particular, el sustituyente para R<sup>1</sup> es H, CO<sub>2</sub><sup>t</sup>Bu, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o COCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H. En una realización más particular, el sustituyente para R<sup>1</sup> es H.

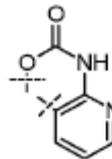
Los compuestos de la invención incluyen los de fórmula (I)



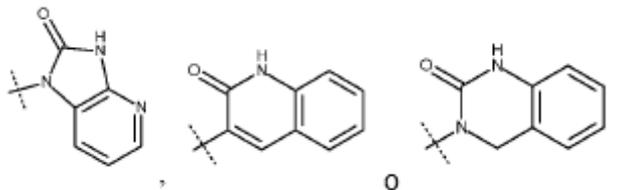
5

en la que R<sup>1</sup> se selecciona de H o Q-alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); donde Q es un enlace, C(O) o C(O)O y donde el alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) puede estar opcionalmente sustituido con N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o CO<sub>2</sub>H;

R<sup>2</sup> es H o forma un anillo heterocíclico espirocíclico con R<sup>3</sup> para formar:

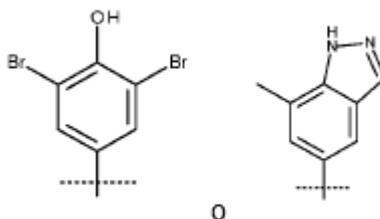


10 y en la que cuando R<sup>2</sup> es H, R<sup>3</sup> se selecciona de:



y

R<sup>4</sup> se selecciona de

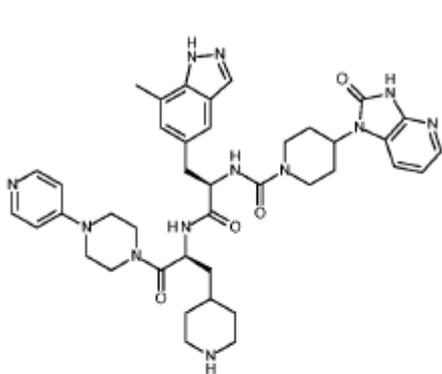


En una realización más particular, el sustituyente para R<sup>1</sup> es H.

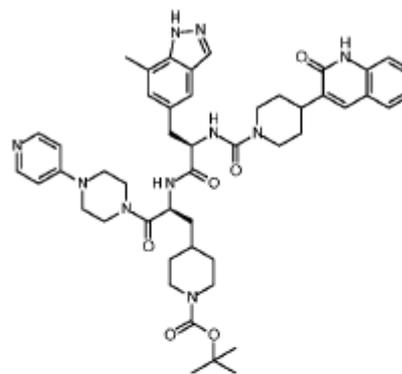
También se describen métodos de tratamiento que comprenden administrar un compuesto de fórmulas (I) como un antagonista del receptor de CGRP. El tratamiento con un compuesto de fórmulas (I) puede consistir en el tratamiento de trastornos cerebrovasculares o vasculares tales como la migraña (incluidos los subtipos tales como: migraña sin aura, migraña crónica, migraña menstrual pura, migraña relacionada con la menstruación, migraña con aura, migraña hemipléjica familiar, migraña hemipléjica esporádica, migraña tipo basilar, vómitos cíclicos, migraña abdominal, vértigo paroxístico benigno de la infancia, migraña retiniana), estado de migrañoso, cefalea en racimo, cefalea de diálisis, hemicrania paroxística, osteoartritis, sofocos asociados con la menopausia o la menopausia inducida médicamente debida a cirugía o tratamiento farmacológico, hemicránea continua, síndrome de vómitos cíclicos, rinitis alérgica o rosácea. La invención se refiere además a compuestos, composiciones y medicamentos para su uso en el tratamiento de estados de dolor más amplios y enfermedades que implican inflamación neurogénica que incluyen dolor dental, dolor de oído, inflamación del oído medio, quemadura solar, dolor en las articulaciones asociado con artrosis y artritis reumatoide, dolor por cáncer, fibromialgia, neuropatía diabética, dolor asociado con enfermedad inflamatoria intestinal: enfermedad de Crohn, gota, síndrome de dolor regional complejo, enfermedad de Behçet, dolor por endometriosis, dolor de espalda o tos.

Ciertos compuestos novedosos de la invención muestran actividades particularmente altas como antagonistas del receptor de CGRP.

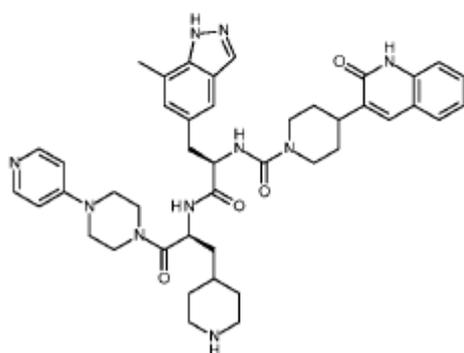
Los compuestos de ejemplo incluyen:



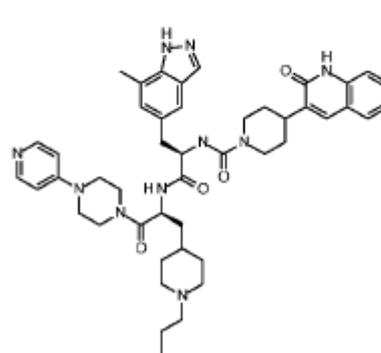
(1)



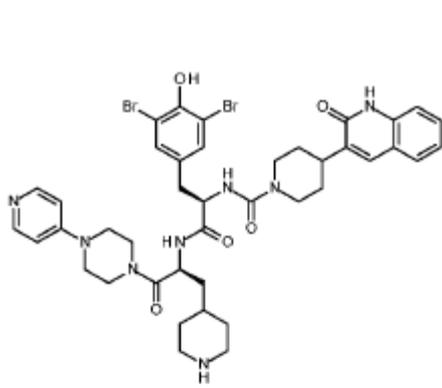
(2)



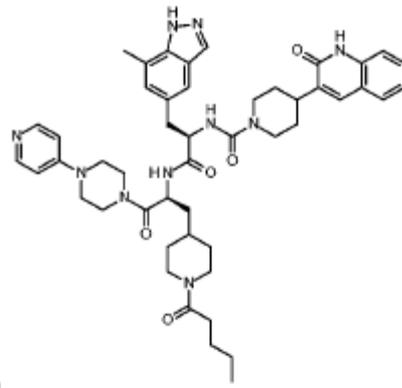
(3)



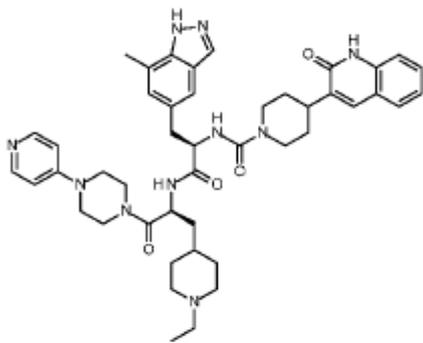
(4)



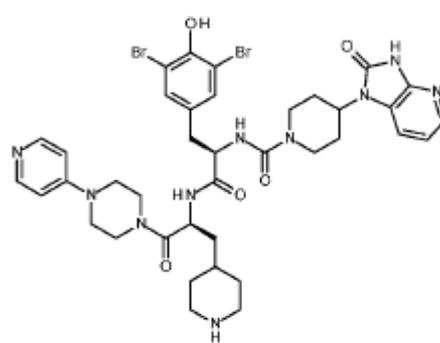
(5)



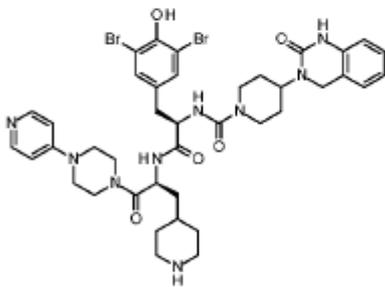
(6)



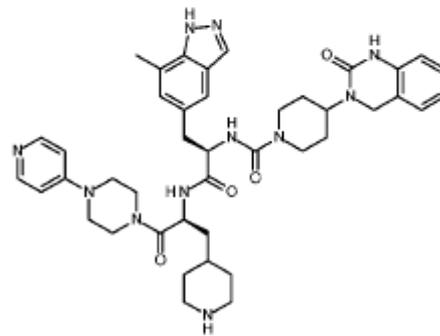
(7)



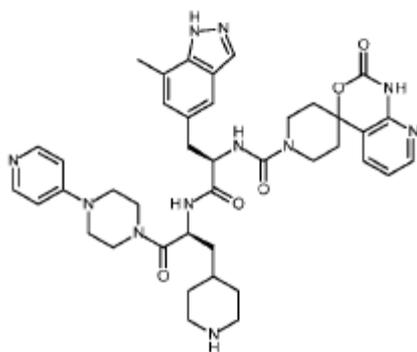
(8)



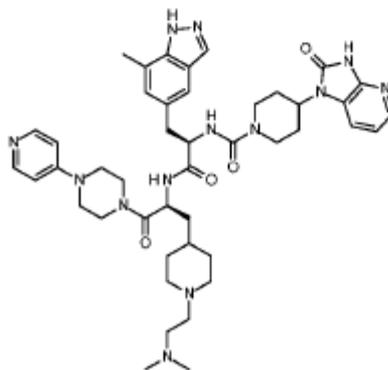
(9)



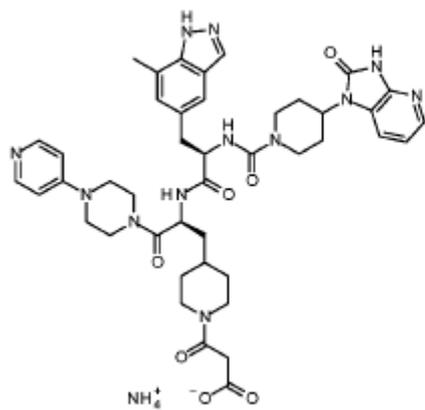
(10)



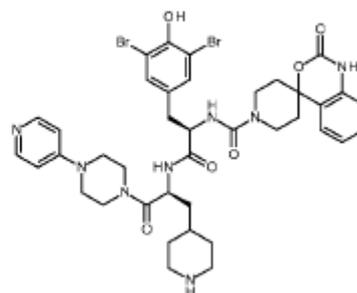
(11)



(12)



(13)



(14)

Las propiedades de RMN y LCMS, así como las actividades biológicas de estos compuestos se exponen en las tablas 2 y 3.

5 En la medida en que cualquiera de los compuestos descritos tenga centros quirales, la presente invención se extiende a todos los isómeros ópticos de tales compuestos, ya sea en forma de racematos o enantiómeros resueltos. La invención descrita en este documento se refiere a todas las formas cristalinas, solvatos e hidratos de cualquiera de los compuestos descritos, sin embargo, así preparados. En la medida en que cualquiera de los compuestos e intermedios descritos en este documento tengan centros ácidos o básicos, tales como carboxilatos o grupos amino, entonces todas las formas de sal de dichos compuestos se incluyen en este documento. En el caso de los usos farmacéuticos, la sal se debe considerar como una sal farmacéuticamente aceptable.

10 Las sales farmacéuticamente aceptables que se pueden mencionar incluyen sales de adición de ácidos y sales de adición de bases. Tales sales se pueden formar por medios convencionales, por ejemplo, por reacción de un ácido libre o una forma de base libre de un compuesto con uno o más equivalentes de un ácido o base apropiado, opcionalmente en un solvente, o en un medio en el que la sal es insoluble, seguido de la eliminación de dicho solvente, o dicho medio, usando técnicas estándar (por ejemplo, en vacío, por liofilización o por filtración). Las sales también se pueden preparar intercambiando un contraión de un compuesto en la forma de una sal con otro contraión, por ejemplo, usando una resina de intercambio iónico apropiada.

15 Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácido derivadas de ácidos minerales y ácidos orgánicos, y sales derivadas de metales tales como sodio, magnesio, o preferiblemente, potasio y calcio.

20 Los ejemplos de sales de adición de ácido incluyen sales de adición de ácido formadas con ácidos acético, 2,2-dicloroacético, adípico, algínico, arilsulfónico (por ejemplo, bencenosulfónico, naftaleno-2-sulfónico, naftaleno-1,5-disulfónico y p-toluensulfónico), ascórbico (por ejemplo, L-ascórbico), L-aspártico, benzoico, 4-acetamidobenzoico, butanoico, (+)-canfórico, canforsulfónico, (+)-(1S)-canfor-10-sulfónico, cáprico, caproico, caprílico, cinámico, cítrico, ciclámico, dodecilsulfúrico, etano-1,2-disulfónico, etanosulfónico, 2-hidroxietanosulfónico, fórmico, fumárico, galactárico, gentísico, glucoheptónico, glucónico (por ejemplo, D-glucónico), glucurónico (por ejemplo, D-glucurónico), glutámico (por ejemplo, L-glutámico),  $\alpha$ -oxoglutarico, glicólico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, hidriódico, isetiónico, láctico (por ejemplo, (+)-L-láctico y ( $\pm$ )-DL-láctico), lactobiónico, maleico, málico (por ejemplo, (-)-L-málico), malónico, ( $\pm$ )-DL-mandélico, metafosfórico, metanosulfónico, 1-hidroxi-2-naftoico, nicotínico, nítrico, oleico, orótico, oxálico, palmítico, pamoico, fosfórico, propiónico, L-piroglutámico, salicílico, 4-amino-salicílico, sebácico, esteárico, succínico, sulfúrico, tánico, tartárico (por ejemplo, (+)-L-tartárico), tiocianico, undecilénico y valérico.

25 Los ejemplos particulares de sales son sales derivadas de ácidos minerales tales como ácidos clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, metafosfórico, nítrico y sulfúrico; de ácidos orgánicos, tales como ácidos tartárico, acético, cítrico, málico, láctico, fumárico, benzoico, glicólico, glucónico, succínico, arilsulfónico, pamoico; y de metales tales como sodio, magnesio, o preferiblemente, potasio y calcio.

35 También se abarcan cualquiera de los solvatos de los compuestos y sus sales. Los solvatos preferidos son solvatos formados por la incorporación en la estructura del estado sólido (por ejemplo, la estructura cristalina) de los compuestos de la invención de moléculas de un solvente no tóxico farmacéuticamente aceptable (denominado a continuación el solvente de solvatación). Los ejemplos de tales solventes incluyen agua, alcoholes (tales como etanol, isopropanol y butanol) y dimetilsulfóxido. Los solvatos se pueden preparar recristalizando los compuestos de la invención con un solvente o mezcla de solventes que contienen el solvente de solvatación. Se puede determinar si se ha formado o no un solvato en cualquier caso dado al someter los cristales del compuesto a análisis usando

técnicas bien conocidas y estándar tales como el análisis termogravimétrico (TGE), la calorimetría de barrido diferencial (DSC) y la cristalografía de rayos X.

Los solvatos pueden ser solvatos estequiométricos o no estequiométricos. Los solvatos particulares pueden ser hidratos, y los ejemplos de hidratos incluyen hemihidratos, monohidratos y dihidratos.

- 5 Para una discusión más detallada de los solvatos y los métodos usados para elaborarlos y caracterizarlos, véase Bryn et al., *Solid-State Chemistry of Drugs*, Second Edition, published by SSCI, Inc of West Lafayette, IN, USA, 1999, ISBN0-967-06710-3.

10 Los "derivados farmacéuticamente funcionales" de los compuestos como se definen en este documento incluyen derivados de éster y/o derivados que tienen, o proporcionan, la misma función y/o actividad biológica que cualquier compuesto relevante de la invención. De este modo, para los fines de esta invención, el término también incluye profármacos de compuestos como se definen en este documento.

15 El término "profármaco" de un compuesto relevante incluye cualquier compuesto que, después de la administración oral o parenteral, se metabolice in vivo para formar ese compuesto en una cantidad detectable experimentalmente, y dentro de un tiempo predeterminado (por ejemplo, dentro de un intervalo de dosificación de entre 6 y 24 horas (esto es, una a cuatro veces al día)).

20 Los profármacos de los compuestos se pueden preparar modificando los grupos funcionales presentes en el compuesto de tal manera que las modificaciones se escindan, in vivo, cuando tal profármaco se administra a un sujeto mamífero. Las modificaciones por lo general se logran sintetizando el compuesto parental con un sustituyente profármaco. Los profármacos incluyen compuestos en los que un grupo hidroxilo, amino, sulfhidrilo, carboxilo o carbonilo en un compuesto está unido a cualquier grupo que puede escindirse in vivo para regenerar el grupo libre hidroxilo, amino, sulfhidrilo, carboxilo o carbonilo, respectivamente.

25 Los ejemplos de profármacos incluyen, pero no se limitan a, ésteres y carbamatos de grupos funcionales hidroxilo, grupos éster de grupos funcionales carboxilo, derivados de N-acilo y bases de N-Mannich. Se puede encontrar información general sobre profármacos, por ejemplo, en Bundegaard, H. "Design of Prodrugs" p. 1-92, Elsevier, New York-Oxford (1985).

#### Definiciones

##### Alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>

30 Alquilo significa un grupo hidrocarburo alifático. El grupo alquilo puede ser lineal o ramificado. "Ramificado" significa que al menos un punto de ramificación de carbono está presente en el grupo, por ejemplo isopropilo o butilo terciario. Los grupos alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> incluyen metilo, etilo, n-propilo, i-propilo. El grupo alquilo puede estar opcionalmente sustituido.

##### Heterocíclico

35 Heterocíclico significa un grupo cíclico que puede ser aromático en el que al menos un miembro del anillo es distinto de carbono. Por ejemplo, al menos un miembro del anillo (por ejemplo, uno, dos o tres miembros del anillo) se puede seleccionar entre nitrógeno, oxígeno y azufre. El punto de unión de los grupos heteroarilo puede ser a través de cualquier átomo del sistema de anillo. Los grupos heteroarilo de ejemplo incluyen piridilo, indazolilo, 1,4-dihidro-2H-pirido [2,3-d] [1,3] oxazin-2-ona, 1,3-dihidro-2H-imidazo [4,5-b ] piridin-2-ona, 3,4-dihidroquinazolin-2(1H)-ona, quinolin-2(1H)-ona, piperidinilo, piperazinilo, y similares.

##### Opcionalmente sustituido

40 "Opcionalmente sustituido" aplicado a cualquier grupo significa que dicho grupo puede, si se desea, estar sustituido con uno o más sustituyentes, que pueden ser iguales o diferentes.

45 El término "composición farmacéutica" en el contexto de esta invención significa una composición que comprende un agente activo y que comprende adicionalmente uno o más portadores farmacéuticamente aceptables. La composición puede contener además ingredientes seleccionados de, por ejemplo, diluyentes, adyuvantes, excipientes, vehículos, agentes conservantes, agentes de carga, agentes desintegrantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, agentes edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes perfumantes, agentes antibacterianos, agentes antifúngicos, agentes lubricantes y agentes dispersantes, según la naturaleza del modo de administración y las formas de dosificación. Las composiciones pueden tomar la forma, por ejemplo, de comprimidos, grageas, polvos, elixires, jarabes, preparaciones líquidas que incluyen suspensiones, pulverizadores, inhalantes, comprimidos, comprimidos para deshacer en la boca, emulsiones, soluciones, sellos, 50 gránulos, cápsulas y supositorios, así como preparaciones líquidas para inyección, incluidas las preparaciones de liposomas.

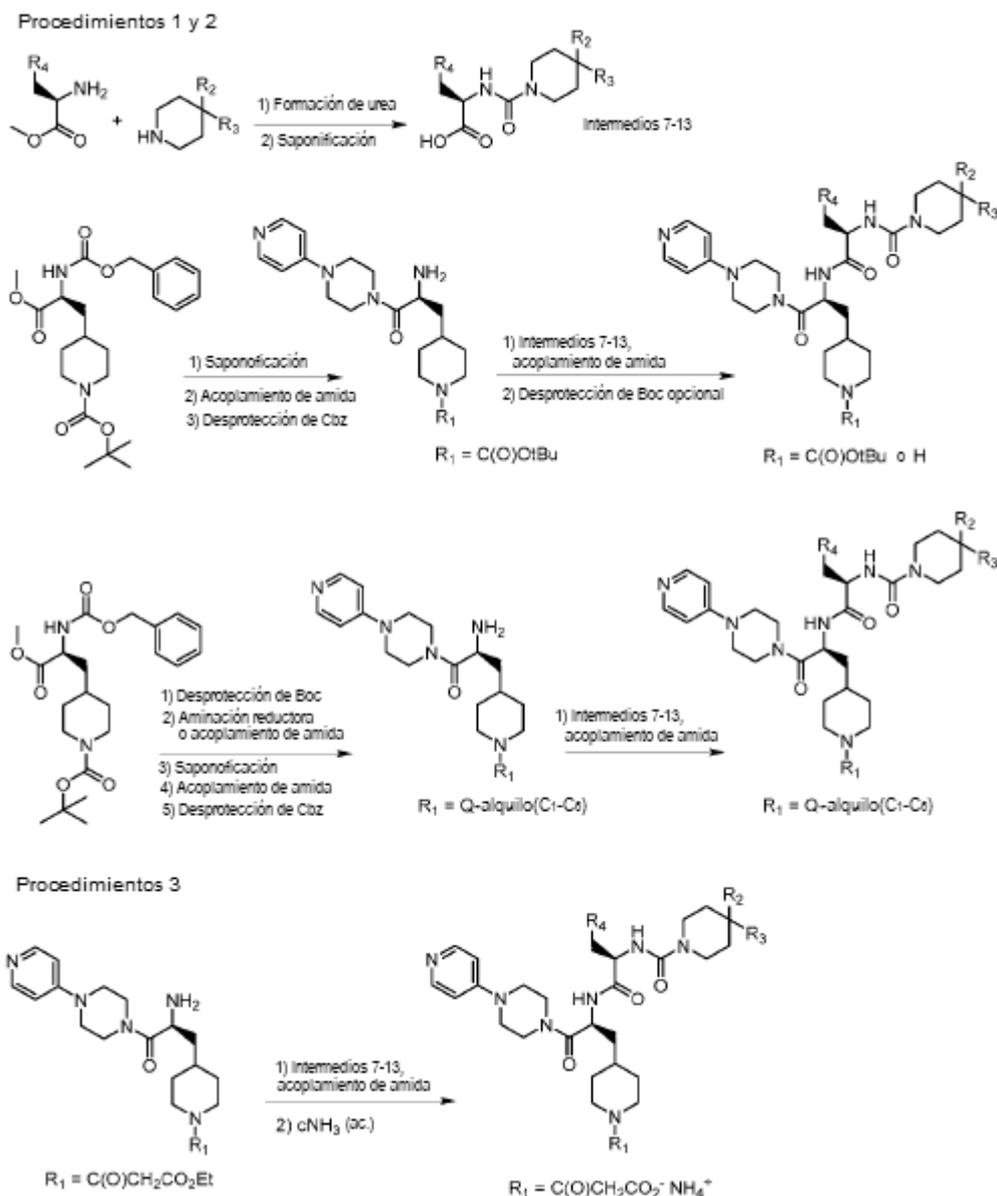
5 Las dosis pueden variar dependiendo de los requisitos del paciente, la gravedad de la afección que se está tratando y el compuesto que se está empleando. La determinación de la dosis apropiada para una situación particular está dentro de los conocimientos de la técnica. Generalmente, el tratamiento se inicia con las dosis más pequeñas que son menores que la dosis óptima del compuesto. Posteriormente, la dosis se incrementa en pequeños incrementos hasta que se alcanza el efecto óptimo en esas circunstancias. Por conveniencia, la dosis diaria total se puede dividir y administrar en porciones durante el día si se desea.

10 La magnitud de una dosis efectiva de un compuesto variará, por supuesto, con la naturaleza de la gravedad de la afección a tratar y con el compuesto particular y su vía de administración. La selección de las dosis apropiadas está dentro de la capacidad de un experto en esta técnica, sin una carga indebida. En general, el intervalo de dosis diarias puede ser de aproximadamente 10  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 30 mg por kg de peso corporal de un humano y animal no humano, preferiblemente de aproximadamente 50  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 30 mg por kg de peso corporal de un humano y animal no humano, por ejemplo desde aproximadamente 50  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal de un humano y animal no humano, por ejemplo desde aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 30 mg por kg de peso corporal de un humano y animal no humano, por ejemplo, desde aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 10 mg por kg de peso corporal de un humano y animal no humano y más preferiblemente de aproximadamente 100  $\mu\text{g}$  a aproximadamente 1 mg por kg de peso corporal de un humano y animal no humano.

Preparación de los compuestos de la invención.

20 Los compuestos de la invención se pueden preparar mediante procedimientos que incluyen los del esquema 1. Los detalles de muchas de las transformaciones estándar, tal como las de las rutas a continuación y otras que se podrían usar para realizar las mismas transformaciones, se pueden encontrar en los libros de texto de referencia estándar, tal como "Organic Synthesis", M. B. Smith, McGraw-Hill (1994) o "Advanced Organic Chemistry", 4th edition, J. March, John Wiley & Sons (1992).

Esquema 1



Las formaciones de urea entre intermedios de aminoácidos, por ejemplo, ésteres metílicos de aminoácidos, e intermedios de amina se pueden formar en condiciones que usan un agente de acoplamiento tal como DSC o CDI en presencia de una base tal como trietilamina o DIPEA en solventes tales como DMF y/o DCM. La porción de éster metílico de los derivados de urea formados posteriormente se puede saponificar usando bases acuosas tales como hidróxido de litio o hidróxido de sodio en un solvente apropiado tal como THF, MeOH, 1,4-dioxano, EtOAc o una mezcla de los mismos. Los intermedios ácidos formados de este modo se pueden convertir en ejemplos de amida en condiciones estándar, por ejemplo, usando un agente de acoplamiento tal como HATU o HBTU, en presencia de una base tal como DIPEA en un solvente apropiado tal como DMF. Alternativamente, un cloruro de ácido se puede acoplar con una amina para producir una amida, en presencia de una base tal como  $Et_3N$ , en un solvente apropiado tal como DCM. Los socios de amina para dichos acoplamientos de amida se pueden preparar usando una combinación apropiada de transformaciones estándar (por ejemplo, aminaciones reductoras que usan una amina, un aldehído o cetona, y un agente reductor tal como el triacetoxiborohidruro de sodio en un solvente tal como DCM en presencia de ácido acético; o formación de amida en condiciones tales como las detalladas anteriormente) y eliminación de grupos protectores estándar en condiciones que se pueden encontrar en los libros de referencia, por ejemplo, "Protecting Groups", 3rd edition, P. J. Kocienski, Georg Thieme Verlag (2005). Una transformación de este tipo es la eliminación de un grupo tert-butoxicarbonilo (comúnmente conocido como grupo Boc) de una amina en condiciones ácidas tal como HCl en un solvente tal como 1,4-dioxano, MeOH, EtOH, DCM o combinaciones de los mismos. Se puede apreciar que la desprotección de Boc de los intermediarios de amina que poseen centros básicos

adicionales puede dar como resultado sales de clorhidrato de diferentes estequiometrías. Por ejemplo, la desprotección de Boc de un intermedio con un centro básico adicional dará como resultado la formación de un nuevo intermedio de amina que es, por ejemplo, el monoclorhidrato o la sal de diclorhidrato, que a menudo se usará sin neutralización de la sal de clorhidrato para producir la libre base del intermedio, como se puede apreciar que en la formación de amidas posterior se usa por lo general un exceso de una base tal como DIPEA o trietilamina para neutralizar la sal de clorhidrato. Los intermedios de amina de la invención formados por desprotección de Boc que se usan sin neutralización para la base libre se denominan en este documento como el clorhidrato (x HCl), y la presente invención se extiende a todas las formas de sal de dichos intermedios. Otra eliminación del grupo protector es la desprotección de una amina protegida con carbobenciloxi (comúnmente conocida como grupo Cbz o Z) usando condiciones reductoras tal como la catálisis por paladio sobre carbono en un solvente tal como EtOH en presencia de H<sub>2</sub> gaseoso o usando un reactor de hidrogenación disponible comercialmente que combina la química de flujo continuo con la generación de hidrógeno in situ (por ejemplo, un reactor de hidrogenación de cubo H, ThalesNano Nanotechnology Inc., Budapest, Hungría). Las condiciones alternativas para la eliminación de un grupo de protección Cbz incluyen la hidrogenación por transferencia, por ejemplo, usar un catalizador de paladio sobre carbono en presencia de formiato de amonio o ciclohexa-1,4-dieno, o ambos formiato de amonio y ciclohexa-1,4-dieno, en un solvente tal como EtOH o EtOH acuoso a una temperatura elevada tal como 70 °C.

#### Procedimientos generales

Cuando no se incluyen rutas preparativas, el intermedio relevante está disponible comercialmente. Se usaron reactivos comerciales sin purificación adicional. La temperatura ambiente (rt) se refiere a aproximadamente 20-27 °C. Los espectros de <sup>1</sup>H RMN se registraron a 400 MHz en instrumentos Bruker, Varian o JEOL. Los valores de desplazamiento químico se expresan en partes por millón (ppm), esto es, valores-(δ). Las siguientes abreviaturas se usan para la multiplicidad de las señales de RMN: s = singlete, br = ancho, d = doblete, t = triplete, q = cuarteto, quin = quinteto, h = heptet, dd = doblete de dobletes, dt = doble de tripletes, m = multiplete. Las constantes de acoplamiento se enumeran como valores J, medidos en Hz. Los resultados de RMN y espectroscopia de masas se corrigieron para tener en cuenta los picos de fondo. La cromatografía se refiere a la cromatografía en columna realizada con sílice y ejecutada bajo condiciones de presión positiva (cromatografía instantánea). Los experimentos de LCMS se llevaron a cabo usando condiciones de electroaspersión en las condiciones a continuación. Los datos de LCMS se proporcionan en el formato: ion de masa, modo de electroaspersión (positivo o negativo), tiempo de retención (texto experimental y tabla 1); ion de masa, modo de electroaspersión (positivo o negativo), tiempo de retención, pureza aproximada (tabla 2).

Método A. Instrumentos: Hewlett Packard 1100 con G1315A DAD, Micromass ZQ; Columna: Waters X-Bridge C-18, 2.5 micras, 2.1 x 20 mm o Phenomenex Gemini-NX C-18, 3 micras, 2.0 x 30 mm; Gradiente [tiempo (min)/solvente D en C (%): 0.00/2, 0.10/2, 8.40/95, 10.00/95; Solventes: solvente C = 2.5 L H<sub>2</sub>O + 2.5 mL de amoníaco al 28% en solución acuosa; solvente D = 2.5 L MeCN + 135 mL de H<sub>2</sub>O + 2.5 mL de amoníaco al 28% en solución acuosa; volumen de inyección 1 µL; detección UV 230 a 400 nm; Temperatura de la columna 45 °C; Velocidad de flujo de 1.5 mL/min.

Método B. Instrumentos: Agilent Technologies 1260 Infinity LC con software Chemstation, detector de diodos en serie, Agilent 6120B Single Quadrupole MS con fuente API-ES; Columna: Phenomenex Gemini-NX C-18, 3 micras, 2.0 x 30 mm; Gradiente [tiempo (min)/solvente D en C (%): 0.00/5, 2.00/95, 2.50/95, 2.60/5, 3.00/5; solventes C y D son como se describen anteriormente en el método A; volumen de inyección 0.5 µL; detección UV de 190 a 400 nm; Temperatura de la columna 40 °C; Velocidad de flujo de 1.5 mL/min.

Método C. Según se detalla para el método A, excepto con gradiente [tiempo (min)/solvente D en C (%): 0.00/2, 0.10/2, 2.50/95, 3.50/95.

Método D. Instrumentos: Acquity UPLC acoplado con espectrómetro de masas SQD; Columna: Acquity UPLC BEH C18, 1.7 micras, 2.1 x 50 mm; Gradiente [tiempo (min)/solvente B en A (%): 0.00/3, 1.50/100, 1.90/100, 2.00/3; Solventes: solvente A = solución acuosa 10 mM de NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (ajustado a pH 10 con amoníaco); solvente B = MeCN; Volumen de inyección 1 µL; Detección UV 210 a 350 nm; Temperatura de la columna 40 °C; Velocidad de flujo de 0.9 mL/min.

#### Abreviaturas

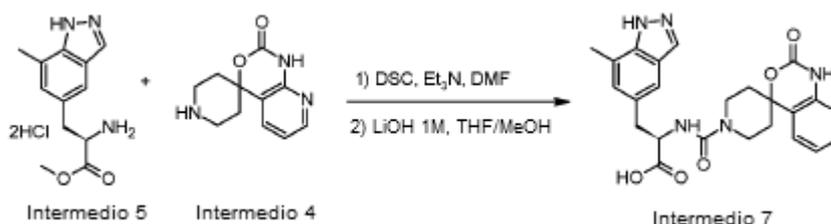
CDI = 1,1'-carbonildiimidazol  
 DCM = diclorometano  
 DIPEA = N, N-diisopropiletilamina  
 DMAC = N, N-dimetilacetamida  
 DMF = dimetilformamida  
 DSC = N, N'-disuccinimidil carbonato

- DMSO = dimetilsulfóxido  
 ES = electroaspersión  
 EtOAc = acetato de etilo  
 h = hora (s)
- 5 HATU = 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo [4,5-b] piridinio 3-oxid hexafluorofosfato  
 HBTU = *N,N,N',N'*-tetrametil-*O*-(1*H*-benzotriazol-1-il) hexafluorofosfato de uronio  
 L = litro  
 LC = cromatografía líquida  
 LCMS = cromatografía líquida - espectrometría de masas
- 10 MeCN = acetonitrilo  
 min = minuto (s)  
 MS = espectrometría de masas  
 RMN = resonancia magnética nuclear  
 rcf = fuerza centrífuga relativa
- 15 rpm = revoluciones por minuto  
 rt = temperatura ambiente  
 s = segundo (s)  
 TFA = ácido trifluoroacético  
 THF = tetrahidrofurano
- 20 Los prefijos *n*-, *s*-, *i*-, *t*- y *tert*- tienen sus significados habituales: normal, secundario, iso y terciario.

#### Síntesis de los intermedios

Preparación de productos intermedios de ácido carboxílico.

- 25 Procedimiento típico para la preparación de intermedios de ácido carboxílico a través de la formación de urea y la posterior saponificación, como se ejemplifica en la preparación del intermedio 7, ácido (*2R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-[[2'-(2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-1-il)carbonil]amino]propanoico.



- 30 Etapa 1) Se añadió  $\text{Et}_3\text{N}$  (2.26 mL, 16.3 mmol) a una solución de (*R*)-metil 2-amino-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)propanoato diclorhidrato (Intermedio 5, 995 mg, 3.3 mmol) y DSC (917 mg, 3.6 mmol) en DMF (20 mL) y la mezcla se agitó a rt, durante 30 min. Luego se añadió en porciones espiro[piperidina-4,4'-[4*H*]pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-2'(1'*H*)-ona (Intermedio 4, 785 mg, 3.6 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a rt, durante 18 h antes de concentrarse al vacío. El residuo se sometió a partición entre  $\text{H}_2\text{O}$  y MeOH/DCM (1: 9), las fases se separaron y la capa acuosa se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$ . El sólido residual de la etapa de separación se disolvió en MeOH y las capas orgánicas combinadas se concentraron al vacío y se purificaron por cromatografía instantánea, eluyendo con EtOAc en MeOH (20:1), para producir el metil (*2R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-[[2'-(2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-1-il)carbonil] amino]propanoato (1.06 g, 2.22 mmol) como un sólido de color blanco.
- 35

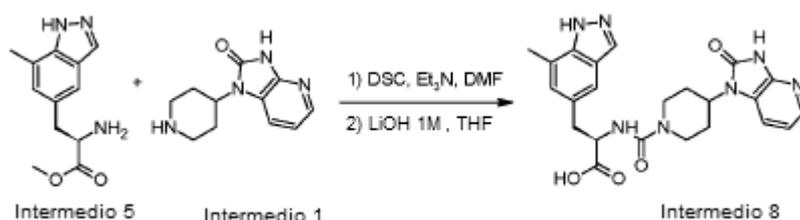
LCMS (Método A):  $m/z$  479.3 (ES+), at 2.61 min, 100%.

$^1\text{H}$  RMN: (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$ : 1.59-1.75 (m, 2H), 1.78-1.90 (m, 2H), 2.45 (s, 3H), 2.90-3.08 (m, 4H), 3.59 (s, 3H), 3.86-3.96 (m, 2H), 4.28-4.38 (m, 1H), 6.94-7.06 (m, 3H), 7.32 (dd,  $J=7.4, 1.2$ , 1H), 7.39 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.18 (dd,  $J=5.1, 1.6$ , 1H), 10.79 (s, 1H), 13.04 (s, 1H).

- 5 Etapa 2) Metil (2*R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-[[2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-1-il]carbonil]amino]propanoato (1.06 g, 2.22 mmol) se disolvió en THF (15 mL) y MeOH (3 mL) y se añadió gota a gota una solución acuosa de LiOH (1M, 4.4 mL, 4.4 mmol). Después de agitar a rt, durante 3.5 h, se añadió gota a gota más LiOH acuoso (1 M, 2.2 ml, 2.2 mmol) y la mezcla se agitó, durante 1 hora a rt antes de concentrarse en una corriente de nitrógeno. El residuo se disolvió en un volumen mínimo de  $\text{H}_2\text{O}$  y se enfrió a 0 °C. Se añadió gota a gota HCl acuoso 1 M para ajustar el pH a  $\leq 3$  y el precipitado resultante se aisló por filtración, se lavó con  $\text{H}_2\text{O}$  fría y  $\text{Et}_2\text{O}$  para producir el compuesto base (877 mg, 1.89 mmol) como un sólido de color amarillo pálido.

Datos en la tabla 1.

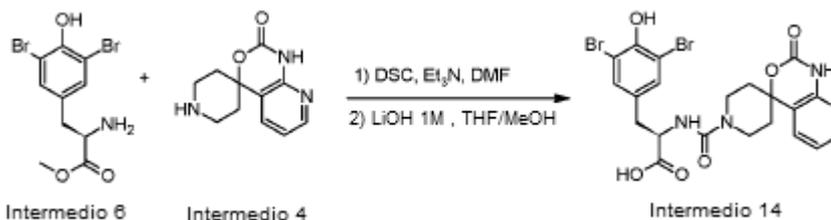
Intermedio 8, ácido (2*R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-[[4-(2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-1-il)piperidin-1-il]carbonil]amino]propanoico



- 15 El compuesto base (1.50 g, 3.2 mmol) se preparó en dos etapas a partir de (*R*)-metil 2-amino-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)propanoato (Intermedio 5, 1.00 g, 4.3 mmol) y 1-(piperidin-4-il)-1,3-dihidro-2*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-ona (Intermedio 1, 1.02 g, 4.7 mmol) usando los métodos del intermedio 7.

Datos en la tabla 1.

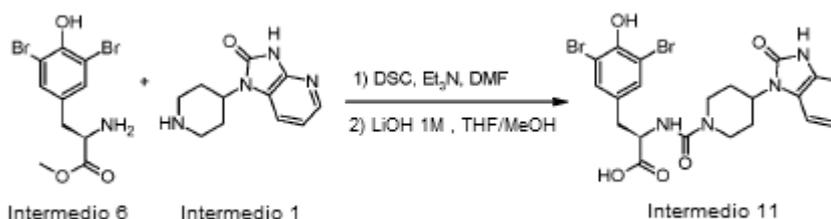
- 20 Intermedio 14,3,5-dibromo-*N*-[[2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-1-il]carbonil]-*D*-tirosina



- 25 El compuesto base (561 mg, 1.0 mmol) se preparó en dos etapas a partir de éster metílico del 3, 5-dibromo-*D*-tirosina (Intermedio 6, 530 mg, 1.5 mmol) y espiro[piperidina-4,4'-[4*H*]pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-2'(1'*H*)-ona (Intermedio 4, 362 mg, 1.7 mmol) usando los métodos del intermedio 7.

Datos en la tabla 1.

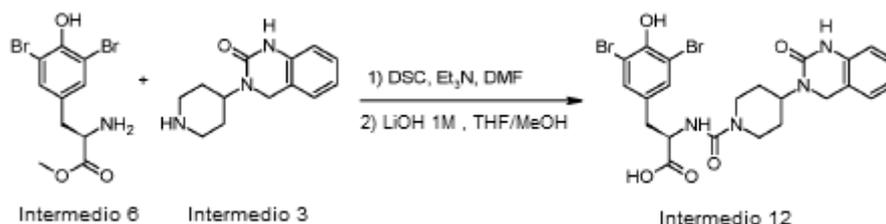
Intermedio 11,3,5-dibromo-*N*-[[4-(2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-1-il)piperidin-1-il]carbonil]-*D*-tirosina



El compuesto base (214 mg, 0.37 mmol) se preparó en dos etapas a partir de éster metílico de 3,5-dibromo-D-tirosina (Intermedio 6, 357 mg, 1.01 mmol) y 1-(piperidin-4-il)-1,3-dihidro-2*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-2-ona (Intermedio 1, 362 mg, 1.42 mmol) usando los métodos del intermedio 7.

Datos en la tabla 1.

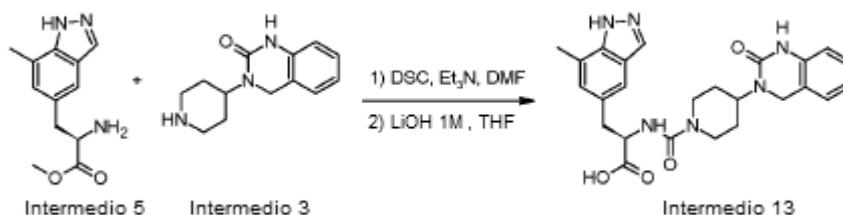
- 5 Intermedio 12, 3,5-dibromo-*N*-[[4-(2-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2*H*)-il)piperidin-1-il]carbonil]-D-tirosina



El compuesto base (224 mg, 0.38 mmol) se preparó en dos etapas a partir de éster metílico de 3,5-dibromo-D-tirosina (Intermedio 6, 353 mg, 1.00 mmol) y 3-(piperidin-4-il)-3,4-dihidroquinazolin-2(1*H*)-ona (Intermedio 3, 254 mg, 1.10 mmol) usando los métodos del intermedio 7.

- 10 Datos en la tabla 1.

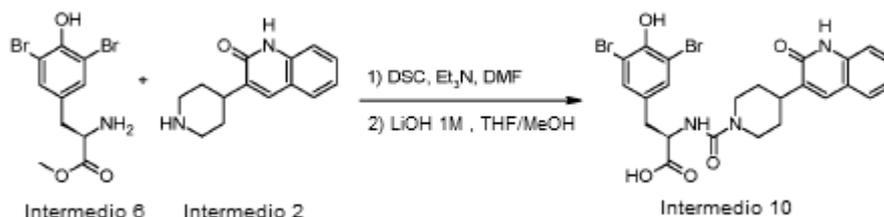
Intermedio 13, ácido (2*R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-([4-(2-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2*H*)-il)piperidin-1-il]carbonil)amino)propanoico



- 15 El compuesto base (561 mg, 1.18 mmol) se preparó en dos etapas a partir de (*R*)-metil 2-amino-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)propanoato (Intermedio 5, 917 mg, 3.93 mmol) y 3-(piperidin-4-il)-3,4-dihidroquinazolin-2(1*H*)-ona (Intermedio 3, 1.00 g, 4.32 mmol) usando los métodos del intermedio 7.

Datos en la tabla 1.

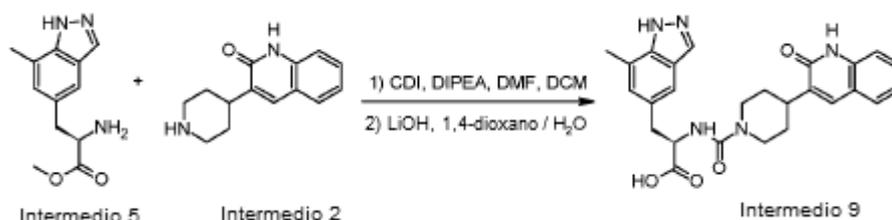
Intermedio 10, 3,5-dibromo-*N*-[[4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidin-1-il]carbonil]-D-tirosina



- 20 El compuesto base (77 mg, 0.13 mmol) se preparó en dos etapas a partir de éster metílico de la 3, 5-dibromo-D-tirosina (Intermedio 6, 103 mg, 0.29 mmol) y 3-(piperidin-4-il)quinolin-2(1*H*)-ona (Intermedio 2, 73 mg, 0.32 mmol) usando los métodos del intermedio 7.

Datos en la tabla 1.

- 25 Intermedio 9, ácido (2*R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-([4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidin-1-il]carbonil)amino)propanoico



Etapa 1) A una solución de (*R*)-metil 2-amino-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il) propanoato (Intermedio 5, 6.05 g, 25.9 mmol) en DMF (60 mL) bajo N<sub>2</sub> a aproximadamente -20 °C se le añadió CDI (8.40 g, 51.8 mmol) y la mezcla se agitó durante 15 minutos mientras se mantenía la temperatura por debajo de -10 °C. Se añadió una solución de H<sub>2</sub>O (2.34 mL) en unos pocos ml de DMF y se continuó agitando durante 15 minutos mientras se mantenía la temperatura por debajo de -10 °C. Luego se añadieron 3-(Piperidin-4-il)quinolin-2(1*H*)-ona (Intermedio 2, 6.99 g, 30.6 mmol), DIPEA (4.93 mL, 28.2 mmol) y DCM (20 mL) en ese orden y la mezcla se calentó a 40°C bajo N<sub>2</sub>, durante 12 h. Después de enfriar a rt, se añadió HCl 2 M (ac.) (38.7 mL) y la mezcla se extrajo dos veces con DCM. Los extractos orgánicos combinados se lavaron tres veces con H<sub>2</sub>O, se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se concentraron al vacío. La purificación por cromatografía instantánea, eluyendo con MeOH/DCM (5:95), produjo metil (2*R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-((4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidin-1-il)carbonyl) amino)propanoato (10.4 g, 21.3 mmol) como un sólido de color castaño claro.

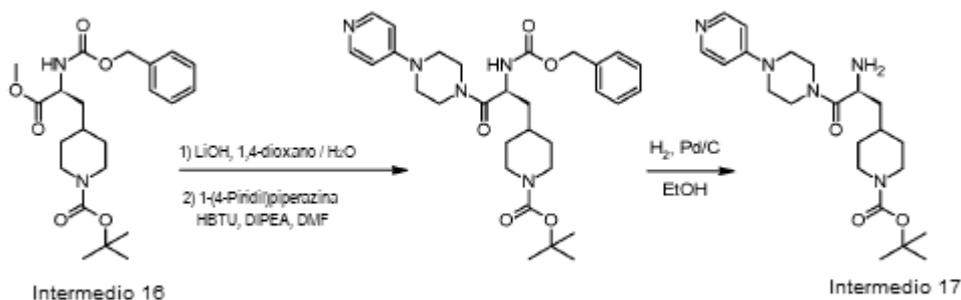
<sup>1</sup>H RMN: (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 1.40-1.60 (m, 2H), 1.95-1.97 (m, 2H), 2.46 (s, 3H), 2.90-3.00 (m, 2H), 3.11-3.26 (m, 3H), 3.76 (s, 3H), 4.07-4.12 (m, 2H), 4.86-4.91 (m, 1H), 5.18 (d, J=7.6, 1H), 6.93 (s, 1H), 7.17-7.21 (m, 1H), 7.24 (s, 1H), 7.32 (s, 1H), 7.43-7.54 (m, 3H), 7.95 (s, 1H), 10.70 (s, 2H).

Etapa 2) A una solución de metil (2*R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-((4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidin-1-il)carbonyl)amino)propanoato (9.79 g, 20.1 mmol) en 1,4-dioxano (150 mL) se le añadió una solución de LiOH·H<sub>2</sub>O (1.26 g, 30.0 mmol) en H<sub>2</sub>O (150 mL) y la mezcla se agitó a rt, durante 2 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío hasta casi sequedad y se volvió a disolver en H<sub>2</sub>O antes de acidificarse con HCl 2 M acuoso (aproximadamente 15 mL) mientras se agitaba rápidamente. El precipitado de color blanco espeso resultante se aisló por filtración y se lavó con H<sub>2</sub>O hasta que los lavados estuvieron cerca de un pH neutro. El secado al vacío produjo el compuesto base (8.11 g, 17.1 mmol) como un sólido de color blanco crema.

Datos en la tabla 1.

Preparación de intermedios de amina.

Intermedio 17, *tert*-butil 4-((2*S*)-2-amino-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil)piperidina-1-carboxilato



Etapa 1) A una solución de *tert*-butil 4-((2*S*)-2-((benciloxi)carbonyl)amino)-3-metoxi-3-oxopropil]piperidina-1-carboxilato (Intermedio 16, 4.29 g, 10.2 mmol) en 1,4-dioxano (50 mL) se le añadió una solución de LiOH·H<sub>2</sub>O (856 mg, 20.4 mmol) en H<sub>2</sub>O (50 mL) y la mezcla se agitó durante 5 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío hasta casi sequedad y se volvió a disolver en H<sub>2</sub>O antes de acidificarse con NaHSO<sub>4</sub> 0.5 M (ac). El precipitado de color blanco espeso resultante se extrajo en EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se concentraron al vacío para producir el *N*-[(benciloxi)carbonyl]-3-[1-(*tert*-butoxicarbonyl)piperidin-4-il]-L-alanina como una espuma de color blanco (4.01 g, 9.87 mmol).

<sup>1</sup>H RMN: (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ: 0.85-1.07 (m, 2H), 1.39 (s, 9H), 1.45-1.68 (m, 5H), 2.55-2.71 (m, 2H), 3.86-3.94 (m, 1H), 4.85-4.98 (m, 2H), 5.04 (s, 2H), 7.28-7.39 (m, 5H), 7.53 (d, J=8.3, 1H), 12.5 (br s, 1H).

Etapa 2) A una solución de *N*-[(benciloxi)carbonyl]-3-[1-(*tert*-butoxicarbonyl)piperidin-4-il]-L-alanina (4.00 g, 9.84 mmol) en DMF (80 mL) se le añadió HBTU (4.10 g, 10.81 mmol) seguido de DIPEA (3.74 mL, 21.47 mmol) y 1-(4-piridil) piperazina (Intermedio 15, 1.69 g, 10.35 mmol) y la mezcla se agitó a rt durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró al vacío hasta casi sequedad y el residuo se disolvió en EtOAc, se lavó dos veces con H<sub>2</sub>O, dos veces

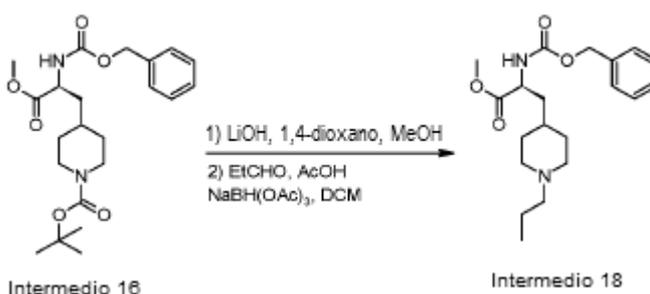
con  $\text{NaHCO}_3$  (ac.) y salmuera, se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentró al vacío. La purificación por cromatografía instantánea, eluyendo con  $\text{MeOH}/\text{DCM}$  (5:95), produjo el *tert*-butil 4-((2*S*)-2-((benciloxi)carbonil)amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidina-1-carboxilato (4.51 g, 8.18 mmol) como una espuma de color blanco crema.

- 5  $^1\text{H}$  RMN: (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.07-1.16 (br m, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.54-1.60 (br m, 2H), 1.88-1.91 (m, 1H), 2.62-2.65 (br m, 2H), 3.47-3.65 (br m, 6H), 3.81-3.86 (br m, 2H), 4.05 (br m, 2H), 4.26 (br m, 2H), 4.70-4.74 (m, 1H), 5.04-5.12 (m, 2H), 5.70 (d,  $J=8.8$ , 1H), 6.82 (d,  $J=6.0$ , 2H), 7.26-7.34 (m, 5H), 8.10 (br s, 2H).

- 10 Etapa 3) Una solución de *tert*-butil 4-((2*S*)-2-((benciloxi)carbonil)amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidina-1-carboxilato (557 mg, 1.01 mmol) en  $\text{EtOH}$  (20 mL) se eluyó cinco veces a través de un cartucho de Pd/C a 50 °C usando un reactor de hidrogenación de flujo continuo (H-Cube, ThalesNano Nanotechnology Inc., Budapest, Hungría) en presencia de  $\text{H}_2$  (modo  $\text{H}_2$  completo), controlando la conversión al producto deseado por LCMS. Tras una conversión > 95%, la mezcla de reacción se concentró al vacío para producir el compuesto base (455 mg, 1.09 mmol) como un sólido vítreo de color amarillo.

Datos en la tabla 1.

- 15 Intermedio 18, metil *N*-[(benciloxi)carbonil]-3-(1-propilpiperidin-4-il)-*L*-alaninato



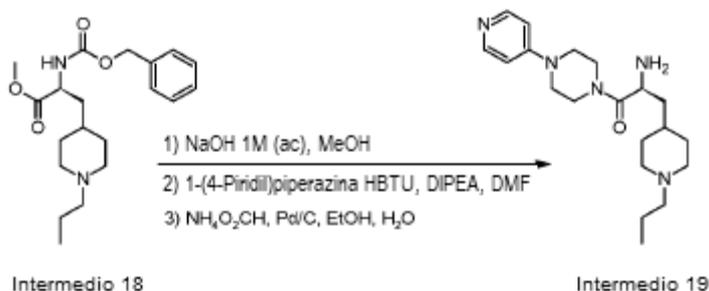
- 20 Etapa 1) Se añadió HCl en 1,4-dioxano (4M, 10 mL, 40 mmol) a una solución de *tert*-butil 4-((2*S*)-2-((benciloxi)carbonil) amino)-3-metoxi-3-oxopropil]piperidina-1-carboxilato (Intermedio 16, 1.00 g, 2.38 mmol) en  $\text{MeOH}$  (10 mL). Después de agitar a rt, durante 2 h, la mezcla de reacción se concentró al vacío para producir clorhidrato de metil *N*-[(benciloxi)carbonil]-3-piperidin-4-il-*L*-alaninato (850 mg) que se usó sin purificación en la siguiente etapa.

LCMS (Método C):  $m/z$  321.2 ( $\text{ES}^+$ ) a 1.66 min.

- 25 Etapa 2) Una mezcla de clorhidrato de metil *N*-[(benciloxi)carbonil]-3-piperidin-4-il-*L*-alaninato (500 mg, 1.40 mmol), propionaldehído (120  $\mu\text{l}$ , 1.68 mmol) y ácido acético glacial (96  $\mu\text{l}$ , 1.68 mmol) en  $\text{DCM}$  (10 mL) se agitó a rt, durante 1 h, antes de la adición de triacetoxiborohidruro de sodio (356 mg, 1.68 mmol). Después de agitar durante la noche a temperatura ambiente, la mezcla se concentró al vacío y se purificó por cromatografía en columna instantánea, eluyendo con  $\text{MeOH}$  al 0-10% en  $\text{DCM}$  para producir el compuesto base (400 mg, 1.10 mmol) como un aceite incoloro.

Datos en la tabla 1.

- 30 Intermedio 19, (2*S*)-2-amino-3-(1-propilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-1-ona



Etapa 1) Se añadió hidróxido de sodio acuoso (1M, 5 mL, 5.0 mmol) a una solución de metil *N*-[(benciloxi)carbonil]-3-(1-propilpiperidin-4-il)-*L*-alaninato (Intermedio 18, 400 mg, 1.10 mmol) en  $\text{MeOH}$  (5 mL). Después de agitar a rt, durante la noche, la mezcla de reacción se concentró parcialmente al vacío para eliminar  $\text{MeOH}$  y se acidificó a pH

2 con HCl acuoso 1M. La concentración al vacío produjo *N*-[(benciloxi)carbonil]-3-(1-propilpiperidin-4-il)-L-alanina (385 mg) en bruto que se usó sin purificación en la siguiente etapa.

LCMS (Método B): *m/z* 349.0 (ES<sup>+</sup>) a 0.79 min.

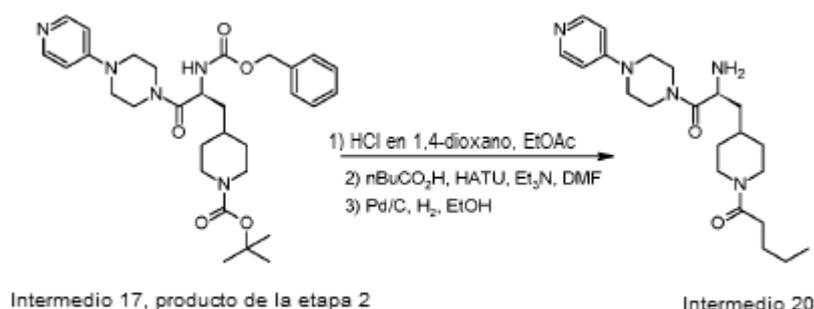
- 5 Etapa 2) Una mezcla de *N*-[(benciloxi)carbonil]-3-(1-propilpiperidin-4-il)-L-alanina (385 mg) en bruto, 1-(4-piridil)piperazina (Intermedio 15, 215 mg, 1.32 mmol), HATU (505 mg, 1.33 mmol) y DIPEA (383  $\mu$ L, 2.20 mmol) en DMF (5 mL) se agitó a rt, durante 3 h. La concentración al vacío produjo el bencil {(2*S*)-1-oxo-3-(1-propilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il}carbamato (542 mg) como un aceite viscoso de color naranja pálido que se usó sin purificación en la siguiente etapa.

LCMS (Método B): *m/z* 493.9 (ES<sup>+</sup>) a 1.45 min.

- 10 Etapa 3) Se añadió formiato de amonio (643 mg, 11.0 mmol) a una solución bencil {(2*S*)-1-oxo-3-(1-propilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il}carbamato (en bruto, 542 mg) en EtOH (40 mL) y H<sub>2</sub>O (10 mL). Se añadió paladio sobre carbono (10%, 10 mg) y la mezcla se calentó a 70 °C bajo N<sub>2</sub> durante la noche. Después de enfriar a rt, la mezcla se filtró a través de celite y el filtrado se concentró al vacío para producir el compuesto base como un aceite viscoso de color amarillo (115 mg) que se usó sin purificación en la formación del ejemplo 4.

- 15 Datos en la tabla 1.

Intermedio 20, 1-(4-((2*S*)-2-amino-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil)piperidin-1-il)pentan-1-ona



- 20 Etapa 1) Se añadió HCl en 1,4-dioxano (4M, 2.30 mL, 9.20 mmol) a una solución de *tert*-butil 4-((2*S*)-2-((benciloxi)carbonil) amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil}piperidina-1-carboxilato (Intermedio 17, producto de la etapa 2) (1.30 g, 2.30 mmol) en EtOAc (23 mL) y la mezcla se agitó a rt, durante la noche. Después de concentrar al vacío la purificación por cromatografía en columna instantánea eluyendo con DCM/MeOH/NH<sub>3</sub> 7N (90:5:5) en MeOH, se produjo el bencil {(2*S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il}carbamato (740 mg, 1.64 mmol).

LCMS (Método B): *m/z* 452.2 (ES<sup>+</sup>) a 1.30 min.

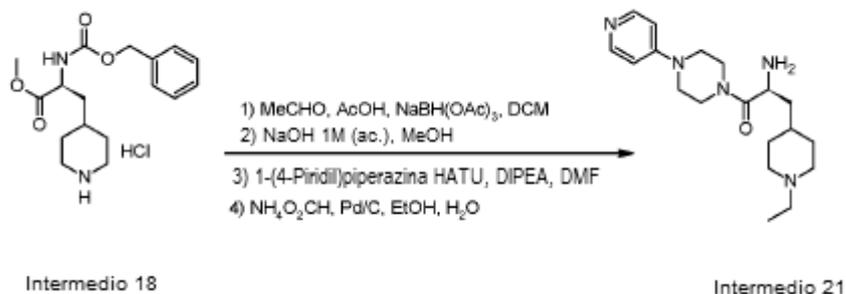
- 25 Etapa 2) Una mezcla de ácido pentanoico (137 mg, 0.36 mmol) bencil {(2*S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il}carbamato (146 mg, 0.32 mmol), trietilamina (209  $\mu$ L, 1.50 mmol) y HATU (137 mg, 0.36 mmol) en DMF (3 mL) se agitó a rt, durante la noche. Se añadió solución acuosa de carbonato de sodio 1 M (20 mL), la mezcla se concentró al vacío y se purificó por cromatografía en columna instantánea de gradiente, eluyendo con 0-10% (MeOH/NH<sub>3</sub> 7N en MeOH 1:1) en DCM, para producir el bencil {(2*S*)-1-oxo-3-(1-pentanoilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il}carbamato.

LCMS (Método B): *m/z* 536.2 (ES<sup>+</sup>) a 1.38 min.

- 35 Etapa 3) Una solución de bencil {(2*S*)-1-oxo-3-(1-pentanoilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il}carbamato en EtOH se eluyó a través de un cartucho de Pd/C a 50 °C usando un reactor de hidrogenación de flujo continuo (H-Cube, ThalesNano Nanotechnology Inc., Budapest, Hungría) en presencia de H<sub>2</sub> (modo H<sub>2</sub> completo), controlando la conversión al producto deseado por LCMS. Tras una conversión > 95%, la mezcla de reacción se concentró al vacío para producir el compuesto base que se usó en su totalidad (se suponía que era 0.32 mmol) sin purificación en la formación del ejemplo 6.

Datos en la tabla 1.

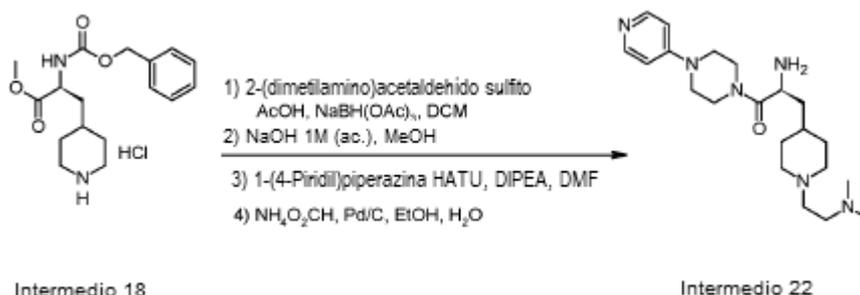
Intermedio 21, (2*S*)-2-amino-3-(1-etilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-1-ona



El compuesto base (286 mg, 0.83 mmol) se preparó en cuatro etapas a partir de clorhidrato de metil N-[(benciloxi)carbonil]-3-piperidin-4-il-L-alaninato (Intermedio 18, producto de la etapa 1) (320 mg, 0.90 mmol) y acetaldehído (62  $\mu$ L, 1.10 mmol) usando los métodos de los intermedios 18 y 19.

5 Datos en la tabla 1.

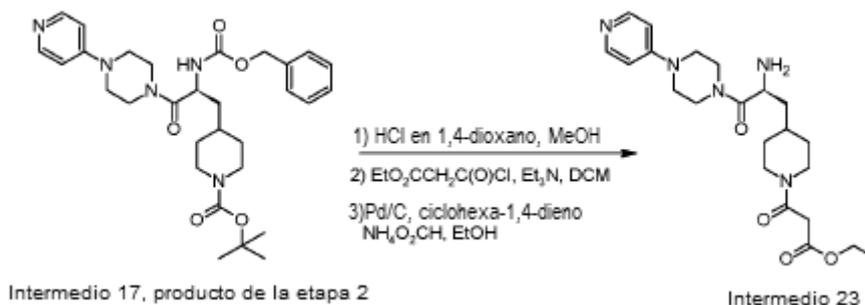
Intermedio 22, (2S)-2-amino-3-{1-[2-(dimetilamino)etil]piperidin-4-il}-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-1-ona



10 El compuesto base (306 mg, usado en bruto sin purificación en la formación del ejemplo 12) se preparó en cuatro etapas a partir de clorhidrato de metil N-[(benciloxi)carbonil]-3-piperidin-4-il-L-alaninato (Intermedio 18, producto de la etapa 1) (1.0 g, 2.81 mmol) y 2-(dimetilamino)acetaldehído sulfito (568 mg, 3.36 mmol) usando los métodos de los intermedios 18 y 19.

Datos en la tabla 1.

Intermedio 23, 3-(4-((2S)-2-amino-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil)piperidin-1-il)-3-oxopropanoato de etilo



15 Etapa 1) Se añadió HCl en 1,4-dioxano (4M, 10.0 mL, 40.0 mmol) a una solución de *tert*-butil 4-((2S)-2-[(benciloxi)carbonil] amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil)piperidina-1-carboxilato (Intermedio 17, producto de la etapa 2) (600 mg, 1.09 mmol) en MeOH (10 mL) y la mezcla se agitó a rt, durante la noche. La concentración al vacío produjo diclorhidrato de bencil{[(2S)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il]carbamato (570 mg, 1.09 mmol) como un sólido de color blanco pegajoso.

20 LCMS (Método B): m/z 452.2 (ES<sup>+</sup>) a 1.72 min.

Etapa 2) Se añadió 3-cloro-3-oxopropanoato de etilo (151  $\mu$ L, 1.20 mmol) a una solución de Et<sub>3</sub>N (608  $\mu$ L, 4.36 mmol) y diclorhidrato de bencil{[(2S)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il]carbamato (570 mg, 1.09 mmol) en DCM (20 mL) y la mezcla se agitó a rt, durante la noche. Después de concentrar al vacío la purificación por cromatografía en columna instantánea en gradiente, eluyendo con 0-10% de MeOH en DCM produjo

5 el material deseado (3-(4-((2S)-2-(((benciloxi) carbonil) amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il] propil] piperidin-1-il)-3-oxopropanoato de etilo, sólido pegajoso de color amarillo pálido, 510 mg), como una mezcla 2: 1 aproximada con subproducto bisacilado (3-(4-1(2S)-2-(((benciloxi)carbonil](3-etoxi-3-oxopropanoil)amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidin-1-il)-3-oxopropanoato de etilo). La mezcla se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

LCMS (Método B): m/z 566.2 (ES<sup>+</sup>) a 1.18 min (material deseado); m/z 680.2 (ES<sup>+</sup>) a 0.79 min (subproducto bisacilado).

10 Etapa 3) Una mezcla de 3-(4-((2S)-2-(((benciloxi)carbonil]amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidin-1-il)-3-oxopropanoato de etilo en bruto (510 mg) y ciclohexa-1,4-dieno (0.85 mL, 9.00 mmol) en EtOH (20 mL) se purgó con N<sub>2</sub> antes de la adición de 10% Pd/C (10 mg). Después de calentar a 70 °C, durante 1 h, la mezcla de reacción se enfrió a rt y se añadió formiato de amonio (568 mg, 9.00 mmol). La mezcla se calentó a 70 °C bajo N<sub>2</sub> durante la noche antes de enfriar a rt y filtrar. El filtrado se concentró al vacío para producir el compuesto base en bruto (194 mg) que se usó sin purificación en la formación del ejemplo 13.

Datos en la tabla 1.

15

Tabla 1. Intermedios

Intermedio	Nombre	Datos
1	1-(piperidin-4-il)-1,3-dihidro-2 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i> ]piridin-2-ona	Disponible comercialmente, CAS No. 185961-99-3
2	3-(piperidin-4-il)quinolin-2(1 <i>H</i> )-ona	Disponible comercialmente, CAS No. 205058-78-2
3	3-(piperidin-4-il)-3,4-dihidroquinazolin-2(1 <i>H</i> )-ona	Disponible comercialmente, CAS No. 79098-75-2
4	espiro[piperidina-4,4'-[4 <i>H</i> ]pirido[2,3- <i>d</i> ][1,3]oxazin]-2'(1' <i>H</i> )-ona	Disponible comercialmente, CAS No. 753440-87-8
5	( <i>R</i> )-metil 2-amino-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)propanoato	Disponible comercialmente, CAS No. 890044-58-3 (base libre), CAS No. 1414976-14-9 (sal diclorhidrato)
6	éster metílico de 3,5-dibromo-D-tirosina	Disponible comercialmente, CAS No. 173383-29-4
7	ácido (2 <i>R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-2-(((2'-oxo-1',2'-dihidro-1 <i>H</i> -espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3- <i>d</i> ][1,3]oxazin]-1-il)carbonil]amino)propanoico	LCMS (Método A): m/z 463.5 (ES <sup>-</sup> ), 465.3 (ES <sup>+</sup> ), a 0.10 min. <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ: 1.53-1.91 (m, 4H), 2.44 (s, 3H), 2.89-3.14 (m, 5H), 3.89 (t, J=11.5, 2H), 4.23 (brs, 1H), 6.73 (d, J=7.8, 1H), 6.93-7.06 (m, 2H), 7.31 (d, J=7.4, 1H), 7.38 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 8.17 (dd, J=5.1, 1.2, 1H), 10.78 (s, 1H), 13.00 (br s, 1H)
8	ácido (2 <i>R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-2-(((4-(2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i> ]piridin-1-il) piperidin-1-il]carbonil]amino)propanoico	LCMS (Método A): m/z 464.1 (ES <sup>+</sup> ), a 1.14 min. <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ: 1.62-1.67 (m, 2H), 1.87-2.12 (m, 2H), 2.38-2.52 (m, 1H), 2.46 (s, 3H), 2.70-2.80 (m, 2H), 2.98 (dd, J=13.7, 9.8, 1H), 3.09 (dd, J=13.7, 4.3, 1H), 4.08 (br d, J=12.9, 2H), 4.20-4.27 (m, 1H), 4.28-4.38 (m, 1H), 6.75 (d, J=8.2, 1H), 6.88 (dd, J=7.8, 5.5, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.27 (d, J=7.8, 1H), 7.42 (s, 1H), 7.88 (dd, J=5.1, 1.2, 1H), 7.96 (s, 1H), 11.54 (br s, 1H), 12.99 (br s, 1H)

9	ácido (2 <i>R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)- 2-({[4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidin-1-il]carbonil}amino) propanoico	LCMS (Método A): m/z 474.3 (ES+), a 1.82 min. <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 1.25-1.36 (m, 2H), 1.72-1.78 (m, 2H), 2.48 (s, 3H), 2.66-2.78 (m, 2H), 2.88-2.94 (m, 1H), 2.97-3.03 (m, 1H), 3.10 (dd, J=8.4, 3.4, 1H), 4.08 (d, J=12.0, 2H), 4.24-4.30 (m, 1H), 6.57 (d, J=8.0, 1H), 7.04 (s, 1H), 7.15 (dd, J=12.4, 1.2, 1H), 7.27 (d, J=8.4, 1H), 7.41-7.45 (m, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.62 (dd, J=6.8, 1.2, 1H), 7.97 (s, 1H), 11.69 (s, 1H), 12.1-13.1 (br s, 2H).
10	3,5-dibromo- <i>N</i> -{[4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidin-1-il] carbonil}-D-tirosina	LCMS (Método A): m/z 592.0, 594.0, 596.0 (ES+), a 0.14 min. <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 1.14-1.40 (m, 2H), 1.75-1.77 (m, 2H), 2.68-2.99 (m, 5H), 3.97-4.19 (m, 3H), 6.71 (d, J=8.2 Hz, 1H), 7.14 (t, J=7.6 Hz, 1H), 7.26 (t, J=7.4, 1H), 7.36-7.49 (m, 3H), 7.53-7.70 (m, 2H), 9.74 (s, 1H), 11.77 (s, 1H), 12.54 (br s, 1H)
11	3,5-dibromo- <i>N</i> -{[4-(2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i> ]piridin-1-il)piperidin-1-il]carbonil}-D-tirosina	LCMS (Método A): m/z 580.3, 582.1, 584.0 (ES-), 582.1, 584.1, 586.1 (ES+), a 0.39 min. <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- d <sub>6</sub> ) δ: 1.53-1.76 (d, J=11.3, 2H), 1.91-2.21 (m, 2H), 2.72-2.89 (m, 3H), 2.97 (dd, J=13.7, 4.3, 1H), 4.10 (d, J=12.5, 2H), 4.15-4.26 (m, 1H), 4.38 (t, J=12.3, 1H), 6.82 (d, J=8.2, 1H), 6.96 (dd, J=7.8, 5.1, 1H), 7.34 (d, J=7.8, 1H), 7.47 (s, 2H), 7.89 (d, J=4.3, 1H), 9.72 (br s, 1H), 11.57 (br s, 1H) (1 protón intercambiable no observado)
12	3,5-dibromo- <i>N</i> -{[4-(2-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2 <i>H</i> )-il) piperidin-1-il]carbonil}-D-tirosina	LCMS (Método A): m/z 593.2, 595.3, 597.1 (ES-), 595.1, 597.1, 599.1 (ES+), a 0.41 min. <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO- d <sub>6</sub> ) δ: 1.41-1.68 (m, 4H), 2.65 (t, J=11.7, 1H), 2.70-2.96 (m, 3H), 3.80-3.95 (m, 2H), 4.01 (d, J=12.9, 1H), 4.23 (s, 2H), 4.24-4.38 (m, 1H), 6.24 (d, J=4.7, 1H), 6.74 (d, J=7.8, 1H), 6.84 (t, J=7.4, 1H), 7.02-7.16 (m, 2H), 7.24 (s, 2H), 9.21 (s, 1H) (2 protones intercambiables no observados)
13	ácido (2 <i>R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)- 2-({[4-(2-oxo-1,4-dihidroquinazolin -3(2 <i>H</i> )-il) piperidin-1-il]carbonil} amino) propanoico	LCMS (Método A): m/z 475.4 (ES-), 477.3 (ES+), a 0.66 min. <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 1.36-1.66 (m, 4H), 2.47 (s, 3H), 2.59-2.78 (m, 2H), 2.92-3.14 (m, 3H), 4.00 (t, J=16.0, 2H), 4.06-4.20 (m, 2H), 4.20-4.33 (m, 1H), 6.47 (br s, 1H), 6.75 (d, J=7.8, 1H), 6.86 (t, J=7.4, 1H), 7.01 (s, 1H), 7.06-7.17 (m, 2H), 7.36 (s, 1H), 7.96 (s, 1H), 9.21 (s, 1H), 12.99 (s, 1H) (1 protón intercambiable no observado)
14	3,5-dibromo- <i>N</i> -[(2'-oxo-1',2'-dihidro-1 <i>H</i> -espiro[piperidina-4,4'- pirido[2,3- <i>d</i> ][1,3]oxazin]-1-il) carbonil]-D-tirosina	LCMS (Método A): m/z 583.3, 585.0, 587.0 (ES+), a 0.13 min. <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 1.63-2.01 (m, 4H), 2.82 (t, J=10.9, 1H), 2.90-3.14 (m, 3H), 3.95 (t, J=12.3, 2H), 4.15-4.28 (m, 1H), 6.86 (d, J=8.2, 1H), 7.08 (dd, J=7.2, 5.3, 1H), 7.45 (s, 2H), 7.55 (d, J=7.4, 1H), 8.20 (d, J=4.7, 1H), 9.75 (br s, 1H), 10.83 (s, 1H) (1 protón intercambiable no observado)
15	1-(4-piridinil)piperazina	Disponible comercialmente, CAS No. 1008-91-9

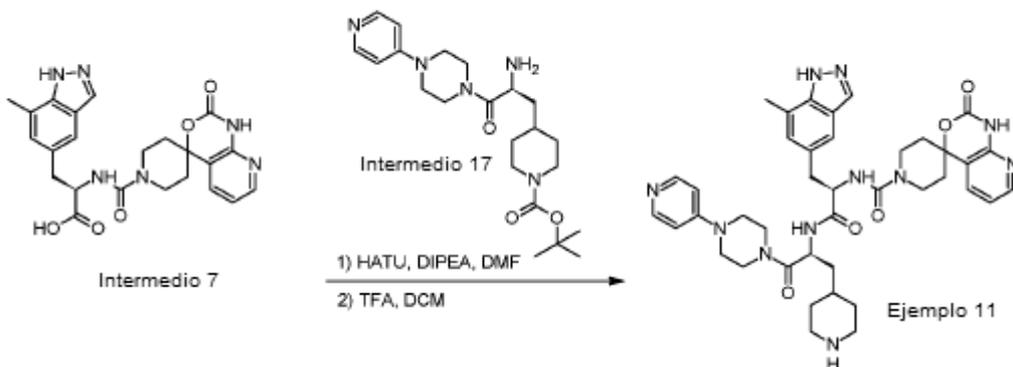
16	<i>tert</i> -butil 4-[(2 <i>S</i> )-2-[(benciloxi)carbonil]amino]-3-metoxi-3-oxopropil]piperidina-1-carboxilato	Disponible comercialmente, CAS No. 195877-54-4
17	<i>tert</i> -butil 4-[(2 <i>S</i> )-2-amino-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidina-1-carboxilato	LCMS (Método A): m/z 318.3, 362.2, 418.3 (ES+), a 2.70 min. <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, DMSO-d <sub>6</sub> ) δ: 0.89-1.09 (m, 2H), 1.38 (s, 9H), 1.43-1.69 (m, 5H), 1.80 (d, J=10.9, 1H), 2.67 (br s, 2H), 3.42-3.79 (m, 7H), 3.84-4.00 (m, 2H), 4.11-4.25 (m, 1H), 4.34 (br s, 2H), 6.84 (d, J=6.6, 2H), 8.19 (d, J=6.2, 2H)
18	metil <i>N</i> -[(benciloxi)carbonil]-3-(1-propilpiperidin-4-il)-L-alaninato	LCMS (Método B): m/z 363.0 (ES+), a 1.57 min. <sup>1</sup> H RMN (400 MHz, CDCl <sub>3</sub> ) δ:ppm 0.95 (t, J=7.4, 3H), 1.47-1.62 (m, 2H), 1.70-1.80 (m, 6H), 2.01-2.07 (m, 1H), 2.36-2.46 (m, 2H), 2.69-2.76 (m, 2H), 3.36-3.43 (m, 2H), 3.73 (s, 3H), 4.33-4.43 (m, 1H), 5.09-5.12 (m, 2H), 5.31-5.33 (m, 1H), 7.30-7.38 (m, 5H)
19	(2 <i>S</i> )-2-amino-3-(1-propilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-1-ona	LCMS (Método B): m/z 360.2 (ES+), a 0.97 min.
20	1-(4-[(2 <i>S</i> )-2-amino-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidin-1-il)pentan-1-ona	LCMS (Método B): m/z 402.2 (ES+), a 1.04 min.
21	(2 <i>S</i> )-2-amino-3-(1-etilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-1-ona	LCMS (Método B): m/z 346.2 (ES+), a 1.03 min.
22	(2 <i>S</i> )-2-amino-3-{1-[2-(dimetilamino)etil]piperidin-4-il}-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-1-ona	LCMS (Método B): m/z 389.2 (ES+), a 0.81 min.
23	3-(4-[(2 <i>S</i> )-2-amino-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidin-1-il)-3-oxopropanoato de etilo	LCMS (Método B): m/z 432.2 (ES+), a 0.85 min.

#### Síntesis de ejemplos

Los procedimientos típicos para la preparación de ejemplos a través del acoplamiento de amida, y cuando sea apropiado, la desprotección, como se ejemplifica mediante la preparación de los ejemplos a continuación.

#### 5 Procedimiento 1:

Ejemplo 11, *N*-[(2*R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-1-oxo-1-((2*S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino]propan-2-il]-2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazina]-1-carboxamida.



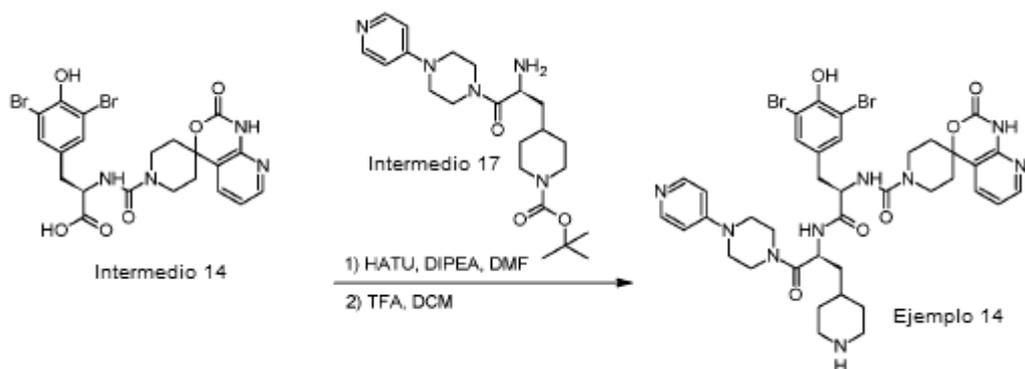
Etapa 1: HATU (4.57 g, 12.0 mmol) se añadió a una solución de una solución de ácido (2*R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-[[2'-(2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-1-il)carbonil]amino]propanoico (Intermedio 7, 4.65 g, 10.0 mmol) en DMF (150 mL), seguido después de 15 minutos por la adición de *tert*-butil 4-{{(2*S*)-2-amino-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidina-1-carboxilato (Intermedio 17, 4.60 g, 11.0 mmol) y DIPEA (6.86 mL, 40.1 mmol). La mezcla se agitó a rt, durante 17 h antes de la adición de H<sub>2</sub>O (600 mL). El precipitado resultante se aisló por filtración, se lavó con H<sub>2</sub>O y se disolvió en una pequeña cantidad de MeOH. La coevaporación dos veces con tolueno produjo *tert*-butil 4-{{(2*S*)-2-[[2-(2*R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-[[2'-(2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-1-il)carbonil]amino]propanoil]amino]-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil] piperidina-1-carboxilato en bruto (7.82 g) que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional. Se preparó un segundo lote de material (3.53 g) usando este método.

LCMS (Método D): *m/z* 864.7 (ES<sup>+</sup>) a 0.88 min.

Etapa 2: se añadió TFA (31 mL) a una solución de *tert*-butil 4-{{(2*S*)-2-[[2-(2*R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-[[2'-(2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-1-il)carbonil]amino]propanoil]amino]-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il) piperazin-1-il]propil]piperidina-1-carboxilato (Etapa 1, Lote 1, 7.82 g) en DCM (150 mL) y la solución se agitó a rt, durante 1 h. Se añadió tolueno (50 mL) y la mezcla se concentró al vacío. Se añadieron DCM (200 mL) y H<sub>2</sub>O (50 mL) y el pH se ajustó a aproximadamente 12 con una solución de NaOH 2 M (ac.). Las fases se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM/isopropanol (1:1, 5 x 200 mL). Las fases orgánicas combinadas se concentraron al vacío. La purificación por cromatografía en columna instantánea en gradiente, eluyendo con 0-100% (DCM/MeOH/NH<sub>3</sub> 7*N* en MeOH (4:1:0.4)) en DCM produjo el compuesto base. Se preparó un segundo lote de compuesto base usando este método a partir del material de la etapa 1, lote 2. El compuesto base purificado de ambos lotes se combinó, se disolvió en una mezcla de DCM, MeOH y diisopropil éter, se sometió a sonicación y se concentró al vacío para producir el compuesto base (5.30 g, 6.94 mmol).

Datos en la tabla 2.

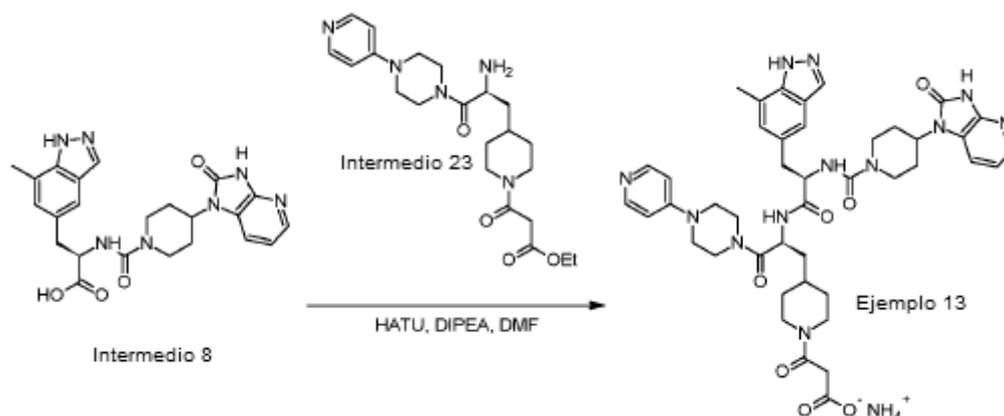
Ejemplo 14, 3,5-dibromo-*N*-[[2'-(2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-1-il)carbonil]- *N*-{{(2*S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il]-*D*-tirosinamida.



Etapa 1) Una solución de HATU (7.84 g, 20.6 mmol) y 3,5-dibromo-*N*-[[2'-(2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazin]-1-il)carbonil]-*D*-tirosina (Intermedio 14, 10.0 g, 17.2 mmol) en DMF (75 mL) se agitó a rt durante 30 minutos antes de adición de *tert*-butil 4-{{(2*S*)-2-amino-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidina-1-carboxilato (Intermedio 17, 7.72 g, 18.5 mmol) y DIPEA (11.8 mL, 68.8 mmol). La mezcla de reacción se agitó a rt, durante la noche antes de que se añadieran H<sub>2</sub>O fría (500 mL), NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado y



Ejemplo 13, ácido 3-(4-((2S)-2-(((2R)-3-(7-metil-1H-indazol-5-il)-2-(((4-(2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-1-il)piperidin-1-il)carbonil)amino)propanoil)amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil)piperidin-1-il)-3-oxopropanoico, sal de amonio.



- 5 Etapa 1: Una mezcla de DIPEA (0.27 mL, 1.52 mmol), HATU (172 mg, 0.45 mmol), ácido (2R)-3-(7-metil-1H-indazol-5-il)-2-(((4-(2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-1-il)piperidin-1-il)carbonil)amino)propanoico (Intermedio 8, 176 mg, 0.38 mmol) y 3-(4-((2S)-2-amino-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil)piperidin-1-il)-3-oxopropanoato de etilo (Intermedio 23, 194 mg, 0.45 mmol) en DMF (10 mL) se agitó a rt, durante la noche antes de concentrarse al vacío. El material en bruto se filtró a través de un tapón corto de SiO<sub>2</sub>, eluyendo con MeOH, antes de la purificación adicional por HPLC preparativa (columna Phenomenex Gemini-NX 5µm C18, 100 x 30 mm, eluyendo con 15 a 35% de MeCN/solvente B durante 12.5 min. 30 mL/min [donde el solvente B es 0.2% de (28% de NH<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>O) en H<sub>2</sub>O], recolectando las fracciones mediante el control a 205 nm). Durante la purificación, se observó la escisión del éster etílico. Las fracciones que contenían ácido carboxílico se combinaron y se añadieron a 10 mL de amoníaco acuoso concentrado, y la mezcla se dejó reposar a rt, durante la noche antes de concentrarse al vacío para producir el compuesto base (10 mg, 0.01 mmol) como un sólido incoloro.
- 10
- 15

Datos en la tabla 2.

Ejemplos adicionales preparados por los procedimientos anteriores se detallan en la tabla 2.

Tabla 2

Ej. No.	Nombre	Intermedios / Procedimiento	<sup>1</sup> H RMN	Datos LCMS (Método A)
1	<i>N</i> -[(2R)-3-(7-metil-1H-indazol-5-il)-1-oxo-1-((2S)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-2,3-dihidro-1H-imidazo[4,5-b]piridin-1-il)piperidina-1-carboxamida	8, 17 Procedimiento 2	(400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ: ppm 1.02-1.32 (m, 3H), 1.34-1.61 (m, 3H), 1.66-1.84 (m, 3H), 1.86-1.93(m, 1H), 1.96-2.10 (m, 1H), 2.17-2.26 (m, 1H), 2.43-2.53 (m, 2H), 2.70-2.73 (m, 1H), 2.80-2.93 (m, 2H), 2.99-3.08 (m, 2H), 3.10-3.24 (m, 2H), 3.25-4.42 (m, 1H), 3.44-3.56 (m, 4H), 3.60-3.80 (m, 3H), 3.84-3.93 (m, 2H), 4.11-4.15 (m, 2H), 4.44-4.36 (m, 1H), 4.54-4.57 (m, 1H), 6.80-6.87 (m, 2H), 6.96 (dd, J=8.0, 5.3, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.31 (d, J=7.8, 1H), 7.48 (s, 1H), 7.92 (m, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.08-8.15 (m, 2H) (5 protones intercambiables no observados)	m/z 763.2 (ES <sup>+</sup> ), a 1.10 min, 95%

2	<i>tert</i> -butil 4-((2 <i>S</i> )-2-((2 <i>R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-2-((4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il) piperidin-1-il]carbonil} amino)propanoil]amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il) piperazin-1-il]propil} piperidina-1-carboxilato	9, 17 Procedimiento 1, Etapa 1	(400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ: ppm 0.73-1.04 (m, 2H), 1.08-1.40 (m, 2H), 1.40-1.54 (m, 9H), 1.55-1.80 (m, 6H), 2.45 (s, 3H), 2.57-2.75 (m, 4H), 2.77-2.93 (m, 2H), 2.93-3.07 (m, 1H), 3.09-3.30 (m, 4H), 3.36-3.59 (m, 4H), 3.61-3.93 (m, 3H), 4.05 (d, J=12.5, 2H), 4.27-4.49 (m, 1H), 4.82 (q, J=7.3, 1H), 6.58 (d, J=8.6, 1H), 6.77 (d, J=6.2, 2H), 7.13 (t, J=8.2, 2H), 7.25 (d, J=8.2, 1H), 7.35-7.53 (m, 3H), 7.60 (d, J=7.8, 1H), 7.95 (s, 1H), 8.12 (d, J=5.9, 2H), 8.33 (d, J=9.0, 1H), 11.75 (s, 1H), 13.00 (s, 1H)	m/z 871.5 (ES <sup>-</sup> ), 873.5 (ES <sup>+</sup> ), a 2.54 min, 96%
3	<i>N</i> -[(2 <i>R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-1-oxo-1-((2 <i>S</i> )-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il) piperazin-1-il]propan-2-il} amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida	9, 17 Procedimiento 1	(400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ: ppm 1.00-1.32 (m, 4H), 1.32-1.43 (m, 1H), 1.43-1.57 (m, 2H), 1.57-1.78 (m, 3H), 1.84 (d, J=13.7, 1H), 2.52 (s, 3H), 2.60-2.78 (m, 4H), 2.78-3.07 (m, 3H), 3.07-3.27 (m, 3H), 3.75-3.93 (m, 6H), 3.93-4.14 (m, 2H), 4.17-4.45 (m, 1H), 4.81 (q, J=7.8, 1H), 6.59 (d, J=8.2, 1H), 7.00-7.22 (m, 4H), 7.25 (d, J=7.8, 1H), 7.35-7.55 (m, 3H), 7.59 (d, J=7.4, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.07-8.37 (m, 3H), 8.42 (d, J=8.6, 2H), 11.75 (s, 1H), 13.40 (br s, 1H)	m/z 771.6 (ES <sup>-</sup> ), 773.5 (ES <sup>+</sup> ), a 2.88 min, 96%
4	<i>N</i> -[(2 <i>R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-1-oxo-1-((2 <i>S</i> )-1-oxo-3-(1-propilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il} amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il) piperidina-1-carboxamida	9, 19 Procedimiento 1, Etapa 1	(400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ: ppm 0.89 (t, J=7.4, 3H), 0.98-1.21 (m, 2H), 1.27-1.36 (m, 1H), 1.37-1.52 (m, 5H), 1.57-1.67 (m, 3H), 1.76-1.86 (m, 2H), 2.01 (s, 3H), 2.18-2.22 (m, 2H), 2.46-2.53 (m, 2H), 2.76-2.79 (m, 1H), 2.80-2.90 (m, 2H), 2.98-3.06 (m, 2H), 3.16-3.22 (m, 1H), 3.34 (s, 3H), 3.37-3.40 (m, 1H), 3.43-3.55 (m, 3H), 3.59-3.65 (m, 1H), 3.84-3.91 (m, 2H), 4.07-4.16 (m, 2H), 4.63 (t, J=7.8, 1H), 6.79-6.81 (m, 2H), 7.14 (s, 1H), 7.21-7.23 (m, 1H), 7.25-7.32 (m, 1H), 7.45-7.48 (m, 2H), 7.55 (s, 1H), 7.62-7.64 (m, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.08-8.10 (m, 2H) (4 protones intercambiables no observados)	m/z 815.6 (ES <sup>+</sup> ), a 3.32 min, 95%

5	3,5-dibromo- <i>N</i> α -{[4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il) piperidin-1-il]carbonil}- <i>N</i> -{(2 <i>S</i> )-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il) piperazin-1-il]propan-2-il]- <i>D</i> -tirosinamida	10, 17 Procedimiento 1	(400 MHz, MeOD) δ: ppm 1.25-1.54 (m, 5H), 1.54-1.69 (m, 2H), 1.80-1.93 (m, 3H), 2.04 (d, J=13.3, 1H), 2.76-3.09 (m, 7H), 3.34-3.43 (m, 3H), 3.52-3.63 (m, 1H), 3.63-3.79 (m, 3H), 3.80-4.04 (m, 4H), 4.04-4.21 (m, 2H), 4.43 (t, J=7.8, 1H), 7.14 (d, J=7.4, 2H), 7.25 (t, J=7.6, 1H), 7.32 (d, J=8.2, 1H), 7.44 (s, 2H), 7.50 (t, J=7.4, 1H), 7.64-7.79 (m, 2H), 8.14 (d, J=7.4, 2H) (5 protones intercambiables no observados)	m/z 891.4, 893.2, 895.3 (ES <sup>+</sup> ), a 2.20 y 2.44 min, 100%
6	<i>N</i> -[(2 <i>R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-1-oxo-1-((2 <i>S</i> )-1-oxo-3-(1-pentanoilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il) piperidina-1-carboxamida	9, 20 Procedimiento 1, Etapa 1	(400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ: 0.78-1.11 (m, 6H), 1.14-1.61 (m, 13H), 1.63-1.82 (m, 3H), 2.12-2.34 (m, 3H), 2.63-3.10 (m, 7H), 3.35-3.85 (m, 7H), 3.90-4.48 (m, 4H), 4.70-4.91 (m, 1H) 6.52-6.91 (m, 3H), 7.06-7.33 (m, 3H), 7.36-7.69 (m, 4H), 7.95 (s, 1H), 8.09-8.15 (m, 2H), 8.34 (d, J=8.9, 1H), 11.58-11.94 (m, 1H), 12.81-13.16 (m, 1H)	m/z 857.7 (ES <sup>+</sup> ), a 1.76 min, 100%
7	<i>N</i> -[(2 <i>R</i> )-1-((2 <i>S</i> )-3-(1-etilpiperidin-4-il)-1-oxo-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-1-oxopropan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida	9, 21 Procedimiento 1, Etapa 1	(400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ: ppm 1.00-1.22 (m, 5H), 1.23-1.35 (m, 2H), 1.39-1.54 (m, 4H), 1.64-1.91 (m, 5H), 2.38-2.45 (m, 2H), 2.55 (s, 3H), 2.79-3.08 (m, 7H), 3.11-3.25 (m, 2H), 3.35-3.43 (m, 1H), 3.47-3.69 (m, 4H), 3.83-3.91 (m, 2H), 4.04-4.17 (m, 2H), 4.59-4.64 (m, 1H), 6.81-6.83 (m, 2H), 7.14 (s, 1H), 7.22-7.26 (m, 1H), 7.30-7.32 (m, 1H), 7.47-7.51 (m, 2H), 7.57 (s, 1H), 7.63-7.65 (m, 1H), 7.98 (s, 1H), 8.09-8.11 (m, 2H) (4 protones intercambiables no observados)	m/z 801.6 (ES <sup>+</sup> ), a 1.88, 95%
8	3,5-dibromo- <i>N</i> α -{[4-(2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -imidazo [4,5- <i>b</i> ]piridin-1-il)piperidin-1-il]carbonil}- <i>N</i> -{(2 <i>S</i> )-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il]- <i>D</i> -tirosinamida	11, 17 Procedimiento 1	(400 MHz, MeOD) δ: ppm 1.26-1.51 (m, 5H), 1.51-1.72 (m, 2H), 1.72-1.92 (m, 3H), 1.96-2.08 (m, 1H), 2.08-2.38 (m, 2H), 2.79-3.05 (m, 5H), 3.33-3.42 (m, 3H), 3.54-3.64 (m, 1H), 3.64-3.79 (m, 3H), 3.81-4.05 (m, 4H), 4.17 (d, J=12.9, 2H), 4.35-4.45 (m, 1H), 7.07 (dd, J=7.8, 5.5, 1H), 7.14 (d, J=7.4, 2H), 7.42-7.52 (m, 3H), 7.95 (d, J=4.3, 1H), 8.14 (d, J=7.4, 2H)	m/z 882.5, 884.2 (ES <sup>+</sup> ), a 2.47 min, 100%

9	3,5-dibromo- <i>N</i> α-[[4-(2-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2 <i>H</i> )-il)piperidin-1-il] carbonil]- <i>N</i> -{(2 <i>S</i> )-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il]- <i>D</i> - tirosinamida	12, 17 Procedimiento 1	(400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ: ppm 0.68-0.78 (m, 1H), 0.85-1.04 (m, 1H), 1.07-1.18 (m, 1H), 1.21-1.39 (m, 2H), 1.39-1.60 (m, 5H), 1.60-1.79 (m, 2H), 1.86-2.14 (m, 2H), 2.53-2.86 (m, 6H), 2.87-3.12 (m, 4H), 3.55-3.75 (m, 3H), 3.75-3.96 (m, 1H), 3.97-4.10 (m, 2H), 4.11-4.33 (m, 3H), 4.72-4.82 (m, 1H), 6.52 (t, J=8.6, 1H), 6.78 (td, J=7.4, 16.8, 4H), 7.00-7.18 (m, 2H), 7.22-7.29 (m, 2H), 7.58-7.65 (m, 1H), 7.88 (d, J=7.8, 1H), 7.99-8.06 (m, 1H), 8.07-8.25 (m, 2H), 9.16 (s, 1H)	m/z 894.4, 896.5, 898.4 (ES <sup>+</sup> ), a 2.26 y 2.47 min, 100%
10	<i>N</i> -[(2 <i>R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-1-oxo-1-((2 <i>S</i> )-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il) piperazin-1-il]propan-2-il) amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2 <i>H</i> )-il)piperidina-1- carboxamida	13, 17 Procedimiento 1	(400 MHz, DMSO- <i>d</i> <sub>6</sub> ) δ: ppm 1.12-1.57 (m, 8H), 1.66 (d, J=12.5, 1H), 1.85 (d, J=12.5, 1H), 2.52-2.78 (m, 4H), 2.89 (t, J=10.9, 1H), 2.95-3.06 (m, 1H), 3.10-3.30 (m, 2H), 3.42-3.54 (m, 1H), 3.61 (d, J=5.1, 4H), 3.72-3.90 (m, 4H), 3.91-4.13 (m, 4H), 4.14-4.37 (m, 3H), 4.78-4.92 (m, 2H), 6.65 (d, J=7.8, 1H), 6.74 (d, J=7.8, 1H), 6.85 (t, J=7.4, 1H), 7.03 (d, J=7.0, 1H), 7.08-7.20 (m, 4H), 7.45 (s, 1H), 7.98 (s, 1H), 8.27 (d, J=5.9, 3H), 8.43 (d, J=8.6, 1H), 8.55 (d, J=9.0, 1H), 9.21 (s, 1H), 13.53 (brs, 1H)	m/z 774.7 (ES <sup>-</sup> ), 776.6 (ES <sup>+</sup> ), a 3.62 min, 100%
11	<i>N</i> -[(2 <i>R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-1-oxo-1-((2 <i>S</i> )-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il) piperazin-1-il]propan-2-il) amino)propan-2-il]-2'-oxo-1',2'-dihidro-1 <i>H</i> -espiro [piperidina-4,4'-pirido[2,3- <i>d</i> ] [1,3]oxazina]-1- carboxamida	7, 17 Procedimiento 1	(400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ: ppm 1.06-1.20 (m, 4H), 1.22-1.32 (m, 1H), 1.39-1.58 (m, 5H), 1.76-1.83 (m, 2H), 1.84-1.95 (m, 2H), 2.45-2.56 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 3.02 (dd, J=13.8, 9.2, 2H), 3.15-3.27 (m, 2H), 3.38-3.42 (m, 1H), 3.48-3.59 (m, 3H), 3.59-3.74 (m, 2H), 3.83-3.99 (m, 4H), 4.63 (dd, J=9.0, 6.8, 1H), 6.80-6.86 (m, 2H), 7.06 (dd, J=7.7, 5.0, 1H), 7.12-7.21 (m, 2H), 7.48 (s, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.11-8.15 (m, 2H), 8.17-8.20 (m, 1H) (5 protones intercambiables no observados)	m/z 762.8 (ES <sup>-</sup> ), 764.7 (ES <sup>+</sup> ), a 3.41 min, 100%
12	<i>N</i> -[(2 <i>R</i> )-1-((2 <i>S</i> )-3-{1-[2-(dimetilamino)etil] piperidin-4-il}-1-oxo-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-1-oxopropan-2-il]-4-(2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i> ]piridin-1-il) piperidina-1-carboxamida	8, 22 Procedimiento 1, Etapa 1	(400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ: ppm 0.98-1.22 (m, 3H), 1.37-1.51 (m, 3H), 1.60-1.77 (m, 6H), 2.00-2.09 (m, 1H), 2.17-2.26 (m, 2H), 2.30 (s, 6H), 2.42-2.54 (m, 7H), 2.78-2.93 (m, 4H), 3.02-3.08 (m, 1H), 3.15-3.20 (m, 1H), 3.31-3.42 (m, 1H), 3.48-3.56 (m, 3H), 3.61-3.65 (m, 1H), 3.86-3.92 (m, 2H), 4.12-4.16 (m, 2H), 4.37-4.44 (m, 1H), 4.60 (t, J=7.8, 1H), 6.80-6.85 (m, 2H), 6.97 (dd, J=7.8, 5.1, 1H), 7.16 (s, 1H), 7.34 (dd, J=7.8, 1.2, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.92 (dd, J=5.1, 1.2, 1H), 7.97 (s, 1H), 8.08-8.19 (m, 2H) (4 protones intercambiables no	m/z 835.7 (ES <sup>+</sup> ), a 3.19, 95%

			observados)	
13	ácido 3-(4-((2S)-2-((2R)-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-2-((4-(2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i> ]piridin-1-il)piperidin-1-il)carbonil) amino)propanoil)amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil) piperidin-1-il)-3-oxopropanoico, sal de amonio	8, 23 Procedimiento 3	(400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ: ppm 0.57-0.73 (m, 2H), 0.86-1.10 (m, 4H), 1.21-1.40 (m, 2H), 2.16 (s, 3H), 2.26-2.44 (m, 4H), 2.52-2.67 (m, 2H), 2.74-2.95 (m, 3H), 3.03-3.41 (m, 7H), 3.46-3.62 (m, 6H), 3.79-4.06 (m, 4H), 6.32-6.36 (m, 2H), 6.56-6.59 (m, 1H), 6.68-6.83 (m, 2H), 7.15 (br s, 1H), 7.68 (br s, 1H), 7.69-7.74 (m, 2H), 7.90-7.93 (m, 1H) (8 protones intercambiables no observados)	m/z 849.8 (ES <sup>+</sup> ), a 1.82, 95%
14	3,5-dibromo- <i>N</i> α-[(2'-oxo-1', 2'-dihidro-1 <i>H</i> -espiro [piperidina-4,4'-pirido[2,3- <i>d</i> ][1,3]oxazin]-1-il) carbonil]- <i>N</i> -{(2S)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il]- <i>D</i> -tirosinamida	14, 17 Procedimiento 1	(400 MHz, CD <sub>3</sub> OD) δ: ppm 0.96-1.20 (m, 5H), 1.23-1.48 (m, 3H), 1.58 (ddd, J=14.3, 9.6, 4.3, 1H), 1.65-1.74 (m, 1H), 1.80-2.06 (m, 5H), 2.62 (td, J=12.7, 3.1, 1H), 2.77-2.99 (m, 3H), 3.45-3.64 (m, 4H), 3.81-4.04 (m, 4H), 4.48 (dd, J=9.4, 7.0, 1H), 6.82-6.85 (m, 2H), 7.08 (dd, J=7.6, 4.9, 1H), 7.28 (s, 2H), 7.34 (s, 1H), 7.56 (dd, J=7.6, 1.8, 1H), 8.11-8.20 (m, 3H) (2 protones oscurecidos por picos de solventes, 5 protones intercambiables no observados)	m/z 884.5 (ES <sup>+</sup> ), a 2.27 min, 100%

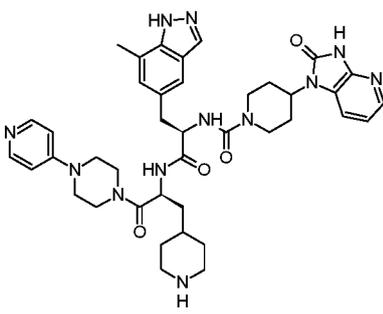
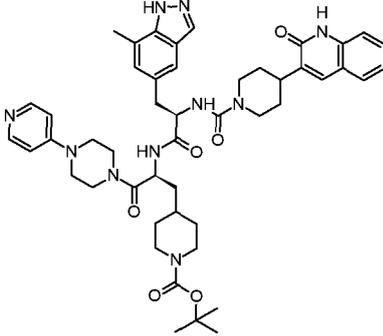
Métodos biológicos y biofísicos.

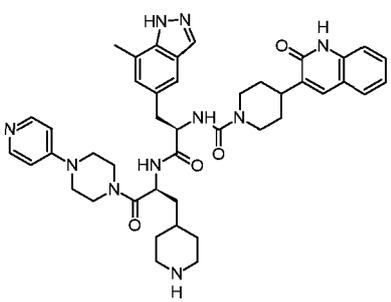
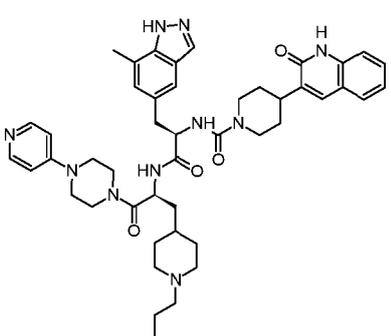
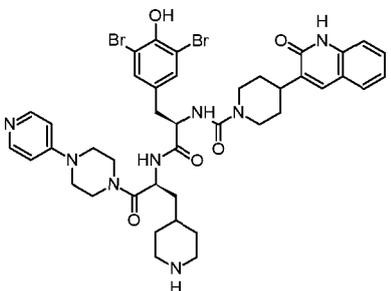
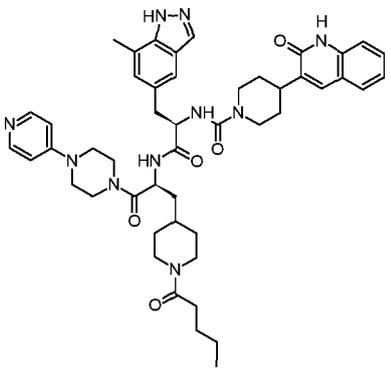
5 Clonación, generación de baculovirus, infección a gran escala de células Sf21 y preparación de membranas. El receptor similar a receptor de calcitonina humana (CRLR) y la RAMP1 humana se clonaron en el vector de expresión dual pFastBac de Invitrogen (ThermoFisher Scientific, Reino Unido). La transposición de ADN de CRLR/RAMP1 se realizó usando los sistemas de expresión de baculovirus Bac-to-Bac de Invitrogen. El baculovirus P0 se generó transfecando células SF9 con ADN de bacmid usando un reactivo de transfección Cellfectin® II (ThermoFisher Scientific, Reino Unido, número de catálogo 10362-100). Después de P0, la generación P1 el virus se generó luego listo para la infección a gran escala y la preparación de la membrana. Las células Sf21 se cultivaron en el medio de expresión ESF921 (Expression Systems, EE. UU., número de catálogo 96-001-01) suplementado con FBS al 10% inactivado con calor y 1% de Pen/Strep y se infectaron a una densidad celular de 2.5 x 10<sup>6</sup> células/mL y una MOI de 2. La expresión se llevó a cabo durante 48 h en una incubadora de agitación ajustada a 27 °C. El cultivo celular se centrifugó a 2,500 rcf durante 10 minutos a 4 °C. Las pellas se resuspendieron en PBS frío complementado con comprimidos de cóctel inhibidores de la proteasa sin EDTA completa de Roche (Roche Applied Sciences, número de catálogo 05056489001), PMSF 1 mM y EDTA 1 mM. La pasta de células resuspendida se centrifugó luego a 3,273 rcf durante 12 minutos a 4 °C. El sobrenadante se desechó y las pellas se congelaron a -80 °C. Las pellas celulares de un cultivo de 4 L se resuspendieron en una solución reguladora que contenía Hepes 50 mM, pH 7.5, NaCl 150 mM, 8 comprimidos de cóctel inhibidores de la proteasa sin EDTA Roche y PMSF 1 mM. La suspensión se dejó en agitación a rt, durante 1 h y luego se homogeneizó durante 90 s a 9,500 rpm usando un homogeneizador VDI 25 (VWR, EE. UU.). Las células se lisaron luego usando un procesador de microfluidizador M-110L Pneumatic (Microfluidics, EE. UU.). Después de la lisis, la mezcla se homogeneizó durante 90 s a 9,500 rpm y luego se centrifugó a 335 rcf durante 10 min. El sobrenadante fue luego ultracentrifugado a 42,000 rpm durante 90 minutos. Después de la ultracentrifugación, el sobrenadante se descartó y las pellas se resuspendió en 50 mL (25 mL por cada cultivo de 2 L) de solución reguladora que contenía Hepes 50 mM, pH 7.5, NaCl 150 mM, 3 comprimidos de cóctel con inhibidor de proteasa sin EDTA Roche y PMSF 1 mM. La suspensión se homogeneizó luego durante 90 segundos a 9,500 rpm. Las membranas resultantes se almacenaron luego a -80 °C.

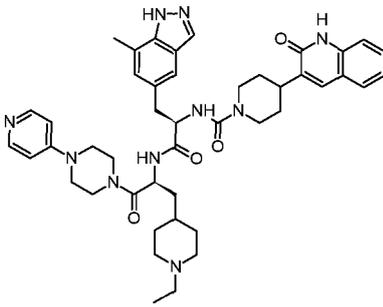
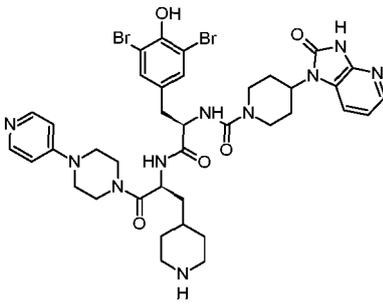
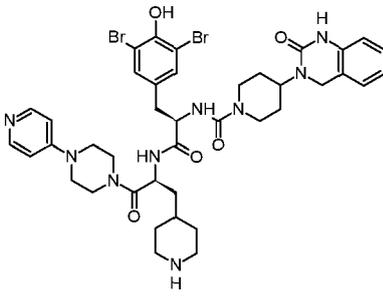
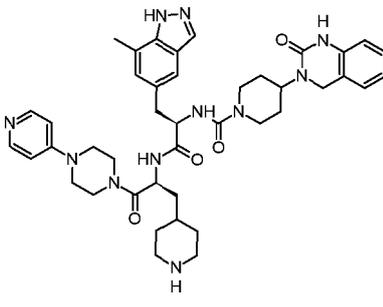
30 Ensayo de unión a radioligando. Los receptores CGRP humanos expresados (que consisten en CRLR y RAMP1) en homogeneizados de membrana de células Sf21 de insecto se resuspendieron en la solución reguladora de unión (HEPES 10 mM, pH 7.4, MgCl<sub>2</sub> 5 mM, BSA al 0.2%) hasta una concentración final de ensayo de 0.6 µg de proteína por pocillo. Las isotermas de saturación se determinaron mediante la adición de diversas concentraciones de <sup>3</sup>H-telcagepant (Ho et al, The Lancet, 2008, 372, 2115) (en un volumen de reacción total de 250 µL) durante 60 minutos a rt. Al final de la incubación, las membranas se filtraron en un unifiltro, una microplaca blanca de 96 pocillos con

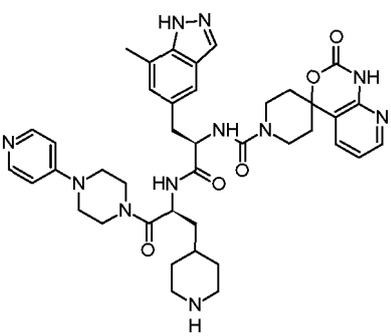
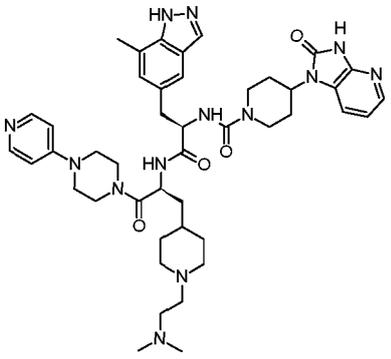
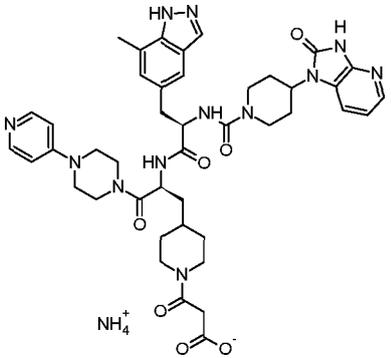
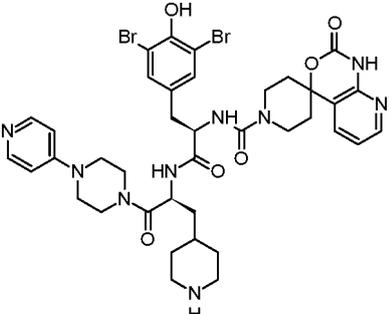
5 filtro GF/B unido preincubado con PEI al 0.5%, con un recolector de células Tomtec y se lavaron 5 veces con agua destilada. La unión no específica (NSB) se midió en presencia de clorhidrato de MK-3207 10 nM (número CAS 957116-20-0). La radioactividad en el filtro se contó (1 minuto) en un contador microbeta después de la adición de 50  $\mu$ L de líquido de centelleo. Para los experimentos de inhibición, las membranas se incubaron con  $^3$ H-telcagepant 0.5 nM y 10 concentraciones del compuesto inhibidor (0.001-10  $\mu$ M). Los valores de  $IC_{50}$  se derivaron de la curva de inhibición y los valores de la constante de afinidad ( $K_i$ ) se calcularon usando la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng et al, Biochem. Pharmacol. 1973, 22, 3099-3108). Los valores de  $pK_i$  (donde  $pK_i = -\log_{10} K_i$ ) de ciertos compuestos de la invención se tabulan a continuación.

10 Ensayo funcional de cAMP. La producción de cAMP después de la activación del receptor se determinó usando el ensayo dinámico-2 cAMP de fluorescencia homogénea resuelta en el tiempo (HTRF) (Cisbio, Francia). La línea celular de neuroblastoma humano SK-N-MC que expresaba de manera endógena el receptor de CGRP humano se sembró a una densidad de 12,500 células/pocillo en placas de media superficie de 96 pocillos de paredes sólidas (Costar, número de catálogo 3688, Corning Life Sciences, Alemania). Después de 16 h, se retiraron los medios a 37  $^{\circ}$ C y se incubaron las células a 37  $^{\circ}$ C durante 30 minutos en medios sin suero que contenían IBMX 500  $\mu$ M (Tocris, Abingdon, Reino Unido, número de catálogo 2845) y concentraciones crecientes de antagonista de prueba. Después de esto, las células se expusieron a una concentración de  $EC_{80}$  de CGRP humano (0.3 nM) durante 30 minutos más a 37  $^{\circ}$ C y luego se determinó la producción de cAMP según las instrucciones del fabricante antes de leer las placas en un lector de placas de fluorescencia PheraStar (BMG LabTech, Alemania). Los valores de  $IC_{50}$  se derivaron de la curva de inhibición. Los valores  $pIC_{50}$  (donde  $pIC_{50} = -\log_{10} IC_{50}$ ) se convirtieron en un valor  $pK_b$  funcional usando una ecuación de Cheng-Prusoff modificada donde  $K_d =$  agonista  $EC_{50}$  y  $L_{hot} =$  concentración de desafío agonista. Los valores de  $pK_b$  de ciertos compuestos de la invención se detallan en la tabla 3.

Ej. No.	Nombre	Estructura	$pK_i$ promedio	$pK_b$ promedio
1	<i>N</i> -[ <i>(2R)</i> -3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-1-oxo-1-(( <i>2S</i> )-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-2,3-dihidro-1 <i>H</i> -imidazo[4,5- <i>b</i> ]piridin-1-il)piperidina-1-carboxamida		10.7	11.2
2	<i>tert</i> -butil 4-(( <i>2S</i> )-2-((( <i>2R</i> )-3-(7-metil-1 <i>H</i> -indazol-5-il)-2-((4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidin-1-il)carbonil)amino)propanoil)amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil)piperidina-1-carboxilato		10.0	9.7

3	<p><i>N</i>-[(2<i>R</i>)-3-(7-metil-1<i>H</i>-indazol-5-il)-1-oxo-1-((2<i>S</i>)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida</p>		10.1	9.8
4	<p><i>N</i>-[(2<i>R</i>)-3-(7-metil-1<i>H</i>-indazol-5-il)-1-oxo-1-((2<i>S</i>)-1-oxo-3-(1-propilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida</p>		10.4	10.7
5	<p>3,5-dibromo-<i>N</i>α -[[4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidin-1-il]carbonil]-<i>N</i>-[(2<i>S</i>)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il]-<i>D</i>-tirosinamida</p>		10.2	9.6
6	<p><i>N</i>-[(2<i>R</i>)-3-(7-metil-1<i>H</i>-indazol-5-il)-1-oxo-1-((2<i>S</i>)-1-oxo-3-(1-pentanoilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida</p>		10.0	10.0

7	<p><i>N</i>-[(2<i>R</i>)-1-((2<i>S</i>)-3-(1-etilpiperidin-4-il)-1-oxo-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)-3-(7-metil-1<i>H</i>-indazol-5-il)-1-oxopropan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida</p>		10.4	10.6
8	<p>3,5-dibromo-<i>N</i>α-[[4-(2-oxo-2,3-dihidro-1<i>H</i>-imidazo[4,5-<i>b</i>]piridin-1-il)piperidin-1-il]carbonil]-<i>N</i>-{(2<i>S</i>)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il]-<i>D</i>-tirosinamida</p>		10.4	10.8
9	<p>3,5-dibromo-<i>N</i>α-[[4-(2-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2<i>H</i>)-il)piperidin-1-il]carbonil]-<i>N</i>-{(2<i>S</i>)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il]-<i>D</i>-tirosinamida</p>		10.1	11.2
10	<p><i>N</i>-[(2<i>R</i>)-3-(7-metil-1<i>H</i>-indazol-5-il)-1-oxo-1-((2<i>S</i>)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2<i>H</i>)-il)piperidina-1-carboxamida</p>		10.2	10.1

11	<p><i>N</i>-[(2<i>R</i>)-3-(7-metil-1<i>H</i>-indazol-5-il)-1-oxo-1-((2<i>S</i>)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-2'-oxo-1',2'-dihidro-1<i>H</i>-espiro[piperidina-4,4'-pirido [2,3-<i>d</i>][1,3]oxazina]-1-carboxamida</p>		10.5	10.3
12	<p><i>N</i>-[(2<i>R</i>)-1-((2<i>S</i>)-3-{1-[2-(dimetilamino) etil]piperidin-4-il)-1-oxo-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)-3-(7-metil-1<i>H</i>-indazol-5-il)-1-oxopropan-2-il]-4-(2-oxo-2,3-dihidro-1<i>H</i>-imidazo [4,5-<i>b</i>]piridin-1-il) piperidina-1-carboxamida</p>		10.6	10.6
13	<p>ácido 3-(4-((2<i>S</i>)-2-(((2<i>R</i>)-3-(7-metil-1<i>H</i>-indazol-5-il)-2-((4-(2-oxo-2,3-dihidro-1<i>H</i>-imidazo[4,5-<i>b</i>]piridin-1-il) piperidin-1-il)carbonil)amino)propanoil) amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il) piperazin-1-il]propil)piperidin-1-il)-3-oxopropanoico, sal de amonio</p>		10.0	9.9
14	<p>3,5-dibromo-<i>N</i>α-[(2'-oxo-1',2'-dihidro-1<i>H</i>-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-<i>d</i>][1,3]oxazin]-1-il)carbonil]-<i>N</i>-((2<i>S</i>)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il) piperazin-1-il]propan-2-il)-<i>D</i>-tirocinamida</p>		10.1	10.8

Perfil cinético del receptor. Se aprecia que el perfil cinético de una molécula pequeña en la diana biológica relevante puede tener un impacto sobre el efecto farmacodinámico de la molécula in vivo (Copeland, Expert Opin. Drug

- Discov., 2010, 5, 305). Por ejemplo, el olcegepant tiene una cinética lenta en el receptor de CGRP (Schindler, Doods, Eur. J. Pharmacol., 2002, 442, 187), un factor que puede contribuir a su eficacia prolongada en el tratamiento de la migraña en humanos (tasa de ausencia de cefalea del 47% a las 24 h después de la infusión intravenosa de una dosis de 2.5 mg; Olesen et al, N. Eng. J. Med., 2004, 350, 1104). De manera similar, también se ha demostrado que MK-3207 demuestra una disociación relativamente lenta para el receptor de CGRP (Salvatore et al, J. Pharmacol. Exp. Ther., 2010, 333, 152). La cinética del receptor de CGRP de los compuestos de la invención y los antagonistas del receptor de referencia de CGRP se han perfilado usando la técnica de resonancia de plasmón de superficie a continuación, y se detallan en la tabla 4.
- Los análisis cinéticos se realizaron en un instrumento Biacore T200 (GE Healthcare Bio-Sciences AB, Uppsala, Suecia) a 25 °C usando EDTA 0.05 mM, PBS (solución reguladora de fosfato 10 mM, KCl 2.7 mM, NaCl 137 mM) pH 7.4, Surfactante P20 al 0.005% v/v, DMSO al 5% como la solución reguladora de análisis. El complejo de ectodominio del receptor de CGRP purificado que contiene una etiqueta hexa-His (Moore et al, Structure, 2010, 18, 1083-1093) se inmovilizó en un chip sensor NTA (GE Healthcare Bio-Sciences AB) mediante la técnica de parejap-captura (Rich et al, Anal. Biochem., 2011, 409, 267-272). El chip se cargó con Ni<sup>2+</sup> y los grupos carboxilo de la matriz de dextrano se activaron mediante EDC/NHS. El complejo de ectodominio del receptor (100 nM en solución reguladora de análisis) luego se inyectó e inmovilizó a través de la etiqueta His y los grupos amino. Se inyectaron series de dilución dos veces de cada compuesto (cinco concentraciones, en el intervalo de 25-40 nM). Los datos en blanco restados se ajustaron a un modelo de interacción 1:1 para obtener parámetros cinéticos que se expresan en la tabla 4 como semivida de disociación ( $t_{1/2} = (\ln 2/\text{off-rate } (k_d))/60$ ).
- Los datos presentados indican que cada uno de los ejemplos 2, 4, 6, 7, 8, 9, 11, 12 y 14 tienen la propiedad de una lenta disociación del receptor que es comparable o más lenta en la velocidad de desconexión que el olcegepant o MK- 3207.

Tabla 4

Compuesto de referencia/Ejemplo	CGRP $t_{1/2}$ (min)	Compuesto de referencia/Ejemplo	CGRP $t_{1/2}$ (min)
olcegepant	30	Ejemplo 6	20
MK-3207	27	Ejemplo 7	36
telcagepant	2	Ejemplo 8	95
BMS-927711	2	Ejemplo 9	32
Ejemplo 1	5	Ejemplo 10	3
Ejemplo 2	78	Ejemplo 11	65
Ejemplo 3	4	Ejemplo 12	101
Ejemplo 4	39	Ejemplo 13	No determinado
Ejemplo 5	12	Ejemplo 14	38

- Perfilado farmacocinético. Los perfiles farmacocinéticos de los ejemplos y los compuestos de referencia se han evaluado en ratas Sprague Dawley® macho las rutas de administración por vía intravenosa (iv), subcutánea (sc) e intranasal (IN), y en monos Cynomolgus macho la rutas de administración por vía iv y sc. Los datos farmacocinéticos para los ejemplos de la invención y un compuesto de referencia, olcegepant, se detallan en las tablas 5 y 6.
- Métodos: Para estudios en ratas, a los grupos de tres ratas Sprague Dawley® macho, por lo general con un peso que oscila entre 180 y 300 g, se les administró una dosis única del ejemplo o compuesto de referencia a través de una de las siguientes rutas: iv, sc o IN, usando las dosis, los volúmenes de dosis y los vehículos especificados en la tabla 5. Antes de la dosificación IN, las ratas se anestesiaron con una dosis intramuscular de 25-30 mg/kg de cóctel de ketamina (ketamina, clorhidrato de xilazina y maleato de acepromazina en solución salina) y la dosis se introduce en 20-30 s, a través de un tubo de polietileno PE-10 insertado aproximadamente 5 mm en la cavidad nasal de la rata.

Para los estudios de monos cynomolgus, a los grupos de tres monos machos, por lo general con un peso que oscila entre 3.0 y 4.5 kg, se les administró una dosis única del ejemplo o compuesto de referencia a través de una de las

5 siguientes rutas: iv o sc, usando dosis, volúmenes de dosis y los vehículos especificados en la tabla 5. Después de la dosificación por las rutas anteriores, se tomaron muestras de sangre en varios puntos de tiempo (por lo general antes de la dosis, 0.083, 0.25, 0.5 1, 2, 4, 8 y 24 h) a través de sangrados de venas de la cola en serie (rata) o vena cefálica o safena (mono) del animal y se centrifuga para separar el plasma para análisis por ensayo de LC/MS/MS. El software estadístico Win-Nonlin v6.2 (Pharsight Corporation, California, EE. UU.) se usó para generar parámetros farmacocinéticos usando el modelo no compartimental.

Tabla 5

Farmacocinética en rata iv				
	Dosis (mg/kg)	Volumen de dosis (mL/kg)	Vehículo	Eliminación (mL/min/kg)
olcegepant	5	1	10% de DMAC + 10% de SolutolHS15 + 80% de solución salina	18
Ejemplo 11	2	1	10% de DMAC + 10% de SolutolHS15 + 80% de solución salina	17
Ejemplo 14	2	1	10% de DMAC + 10% de SolutolHS15 + 80% de solución salina	22
Farmacocinética en rata sc				
	Dosis (mg/kg)	Volumen de dosis (mL/kg)	Vehículo	Biodisponibilidad (%)
olcegepant	1	5	10% de DMAC + 10% de SolutolHS15 + 80% de solución salina	48%
Ejemplo 11	1	2	Solución salina acidificada	100%
Ejemplo 14	1	2	Solución salina acidificada	96%
Farmacocinética en rata IN				
	Dosis (mg/kg)	Concentración de dosis, Volumen de dosis	Vehículo	Biodisponibilidad (%)
olcegepant	1.3	6 mg/mL, 50 µL	Solución salina acidificada	8
Ejemplo 11	1	12 mg/mL, 25 µL	Solución salina acidificada	40
Ejemplo 14	1	12 mg/mL, 25 µL	Solución salina acidificada	19

Tabla 6.

Farmacocinética en mono Cynomolgus iv				
	Dosis (mg/kg)	Volumen de dosis (mL/kg)	Vehículo	Eliminación (mL/min/kg)

Ejemplo 11	0.5	1	Solución salina acidificada	2
Ejemplo 14	0.4	0.5	Solución salina acidificada	3
Farmacocinética en mono Cynomolgus sc				
	Dosis (mg/kg)	Volumen de dosis (mL/kg)	Vehículo	Biodisponibilidad (%)
Ejemplo 11	0.5	1	Solución salina acidificada	100
Farmacocinética en mono Cynomolgus sc				
	Dosis (mg/kg)	Volumen de dosis (mL/kg)	Vehículo	Biodisponibilidad (%)
Ejemplo 14	No probado			

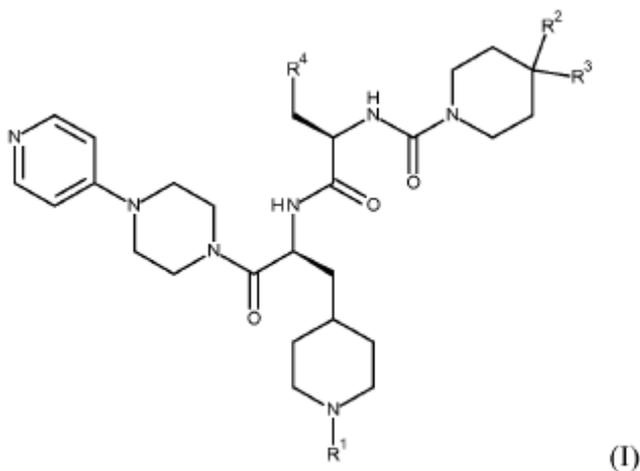
5 Perfil de solubilidad termodinámica. Se preparó una solución madre en DMSO 50 mM del compuesto de ensayo, a partir de esto, se preparó una solución de trabajo de 1 mM mediante dilución con DMSO. La absorbancia UV de la solución de trabajo se exploró desde 220 nm hasta 1000 nm para identificar los máximos de longitud de onda del compuesto de prueba. La solución de trabajo 1 mM luego se diluyó en serie en DMSO a diferentes concentraciones para determinar la linealidad/curva de calibración. Para determinar la solubilidad termodinámica acuosa del compuesto de prueba, se añadieron muestras a un volumen de solución reguladora PBS (pH 7.4) o solución reguladora de fosfato de sodio (pH 6.0) que fue apropiado para generar una concentración final de 1 mg/mL si se disolvió todo el compuesto de prueba. La solución resultante se mantuvo luego en un agitador RotoSpin a 50 rpm durante 24 horas a rt antes de filtrar la solución usando filtros inyectores de PVDF de 0.45 micras para eliminar la fracción insoluble del compuesto. Posteriormente, se toman 150 uL del filtrado para la cuantificación usando un espectrofotómetro UV, adquiriendo la densidad óptica de las soluciones estándar y el compuesto de prueba en los mismos máximos de longitud de onda. A partir de la densidad óptica del compuesto de prueba, la solubilidad termodinámica se calcula usando la curva de linealidad/calibración y se expresa como micromolar ( $\mu\text{M}$ ). Los perfiles de solubilidad de ciertos compuestos de la invención se detallan en la tabla 7.

Tabla 7

Comp. de referencia/Ejemplo	Solubilidad termodinámica ( $\mu\text{M}$ )		Comp. de referencia/Ejemplo	Solubilidad termodinámica ( $\mu\text{M}$ )	
	pH 6	pH 7.4		pH 6	pH 7.4
olcegepant	150	431	Ejemplo 8	1029	890
Ejemplo 1	3387	3222	Ejemplo 9	No probado	No probado
Ejemplo 2	No probado	No probado	Ejemplo 10	1171	1205
Ejemplo 3	10	509	Ejemplo 11	1263	1426
Ejemplo 4	No probado	No probado	Ejemplo 12	1648	1955
Ejemplo 5	9	113	Ejemplo 13	No probado	No probado
Ejemplo 6	No probado	No probado	Ejemplo 14	1111	862
Ejemplo 7	No probado	No probado			

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



5 o sales del mismo, en la que R<sup>1</sup> es H o Q- alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>); donde Q es un enlace, C(O) o C(O)O y donde el alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) puede estar opcionalmente sustituido con N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>)<sub>2</sub> o CO<sub>2</sub>H;

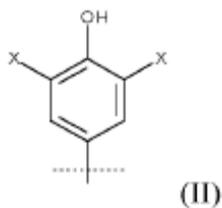
R<sup>2</sup> es H o forma un anillo heterocíclico espirocíclico con R<sup>3</sup>;

R<sup>3</sup> forma un anillo heterocíclico espirocíclico con R<sup>2</sup> o es un anillo heterocíclico si R<sup>2</sup> es H; y

R<sup>4</sup> es un grupo arilo opcionalmente sustituido que puede ser monocíclico o fusionado a un anillo adicional.

10 2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R<sup>4</sup> es un grupo fenilo sustituido en el que los sustituyentes se seleccionan de halo o hidroxilo.

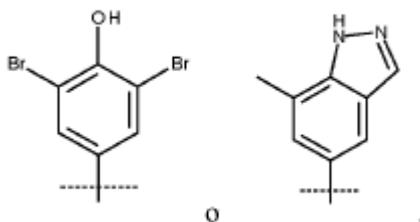
3. El compuesto según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en el que R<sup>4</sup> es una unidad estructural según la fórmula (II)



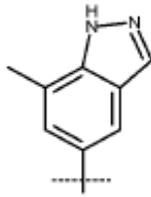
en la que X es halo.

15 4. El compuesto según la reivindicación 3, en el que X es Br.

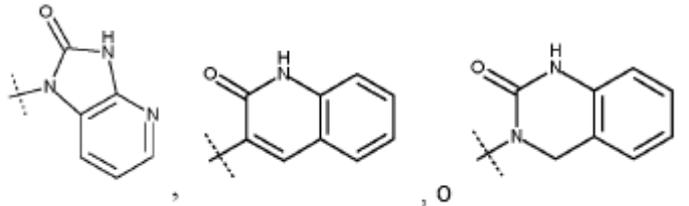
5. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R<sup>4</sup> es



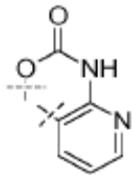
6. El compuesto según la reivindicación 5, en el que R<sup>4</sup> es



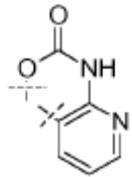
7. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que  $R^2$  es H y  $R^3$  es:



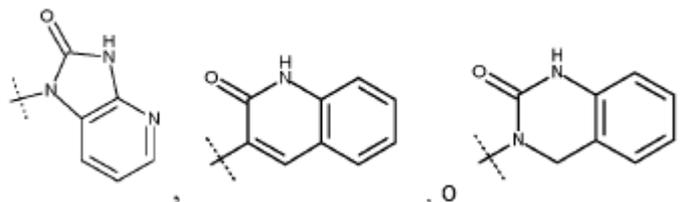
5 8. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que  $R^2$  forma un anillo heterocíclico espirocíclico con  $R^3$  para formar:



9. El compuesto según la reivindicación 1, en el que  $R^2$  es H o forma un anillo heterocíclico espirocíclico con  $R^3$  para formar:

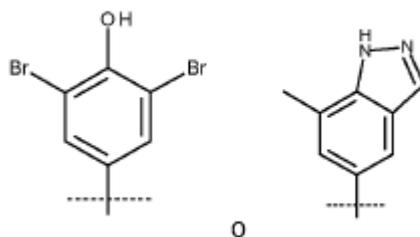


10 y en la que cuando  $R^2$  es H,  $R^3$  es:



y

$R^4$  es:



10. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que R<sup>1</sup> es H, CO<sup>t</sup>Bu, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, COCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, COCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H.

11. El compuesto según la reivindicación 10, en el que R<sup>1</sup> es H,

5 12. El compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

*N*-[*(2R)*-3-(7-metil-1*H* indazol-5-il)-1-oxo-1-((*2S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-1-il)piperidina-1-carboxamida;

10 *tert*-butil-4-((*2S*)-2-((*2R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-([4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidin-1-il]carbonil)amino)propanoil)amino]-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidina-1-carboxilato;

*N*-[*(2R)*-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-1-oxo-1-((*2S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida;

*N*-[*(2R)*-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-1-oxo-1-((*2S*)-1-oxo-3-(1-propilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida;

15 3,5-dibromo-*N*α-[4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidin-1-il]carbonil]-*N*-{(2*S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il}-*D*-tirosinamida;

*N*-[*(2R)*-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-1-oxo-1-((*2S*)-1-oxo-3-(1-pentanoilpiperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida;

20 *N*-[*(2R)*-1-((*2S*)-3-(1-etilpiperidin-4-il)-1-oxo-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-1-oxopropan-2-il]-4-(2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-il)piperidina-1-carboxamida;

3,5-dibromo-*N*α-[4-(2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-1-il)piperidin-1-il]carbonil]-*N*-{(2*S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il}-*D*-tirosinamida;

3,5-dibromo-*N*α-[4-(2-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2*H*)-il)piperidin-1-il]carbonil]-*N*-{(2*S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il}-*D*-tirosinamida;

25 *N*-[*(2R)*-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-1-oxo-1-((*2S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-4-(2-oxo-1,4-dihidroquinazolin-3(2*H*)-il)piperidina-1-carboxamida;

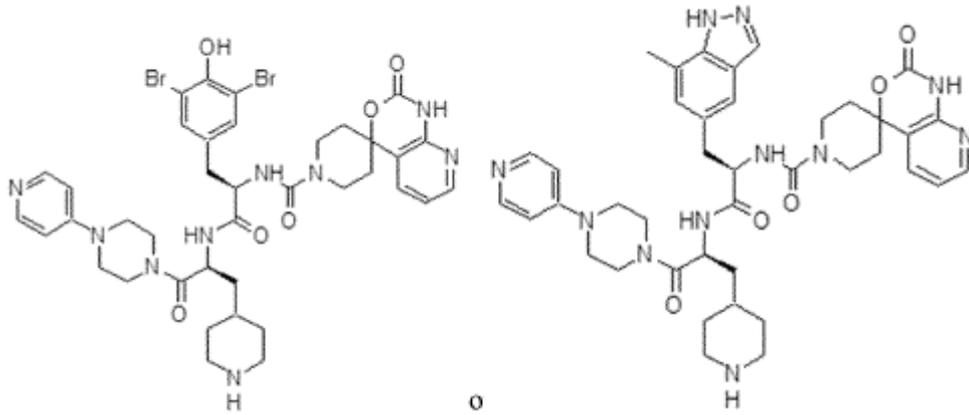
*N*-[*(2R)*-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-1-oxo-1-((*2S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)propan-2-il]-2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazina]-1-carboxamida;

30 *N*-[*(2R)*-1-((*2S*)-3-{1-[2-(dimetilamino)etil]piperidin-4-il}-1-oxo-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il)amino)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-1-oxopropan-2-il]-4-(2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-1-il)piperidina-1-carboxamida;

Ácido 3-(4-((*2S*)-2-((*2R*)-3-(7-metil-1*H*-indazol-5-il)-2-([4-(2-oxo-2,3-dihidro-1*H*-imidazo[4,5-*b*]piridin-1-il)piperidin-1-il]carbonil)amino)propanoil)amino)-3-oxo-3-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propil]piperidin-1-il)-3-oxopropanoico, sal de amonio; y

35 3,5-dibromo-*N*α-[2'-oxo-1',2'-dihidro-1*H*-espiro[piperidina-4,4'-pirido[2,3-*d*][1,3]oxazina]-1-il]carbonil]-*N*-{(2*S*)-1-oxo-3-(piperidin-4-il)-1-[4-(piridin-4-il)piperazin-1-il]propan-2-il}-*D*-tirosinamida.

13. El compuesto según la reivindicación 12, en el que el compuesto es:



14. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 5 15. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 para uso en el tratamiento de trastornos cerebrovasculares o vasculares que incluyen migraña sin aura, migraña crónica, migraña menstrual pura, migraña relacionada con la menstruación, migraña con aura, migraña hemipléjica familiar, migraña hemipléjica esporádica, migraña tipo basilar, vómitos cíclicos, migraña abdominal, vértigo paroxístico benigno de la infancia, migraña retiniana, estado migrañoso, cefalea en racimos, cefalea en diálisis, hemicrania paroxística, osteoartritis, sofocos asociados con menopausia o menopausia inducida médicamente debido a una cirugía o tratamiento farmacológico,
- 10 hemicrania continua, síndrome de vómito cíclico, rinitis alérgica, rosácea, dolor dental, dolor de oído, inflamación del oído medio, quemadura solar, dolor en las articulaciones asociado con osteoartritis y artritis reumatoide, dolor por cáncer, fibromialgia, neuropatía diabética, dolor asociado con enfermedad inflamatoria del intestino - enfermedad de Crohn enfermedad, gota, síndrome de dolor regional complejo, enfermedad de Behçet, dolor de la endometriosis, dolor de espalda o tos.