

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 721 073**

(51) Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)  
**A61K 31/4985** (2006.01)  
**A61P 25/28** (2006.01)

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.06.2014 PCT/EP2014/062286**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **18.12.2014 WO14198854**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.06.2014 E 14729373 (2)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **30.01.2019 EP 3008065**

---

(54) Título: **Derivados de 4-amino-6-fenil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5 a]pirazina como inhibidores de beta-secretasa (BACE)**

(30) Prioridad:

**12.06.2013 EP 13171720**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**26.07.2019**

(73) Titular/es:

**JANSSEN PHARMACEUTICA NV (100.0%)**  
Turnhoutseweg 30  
2340 Beerse, BE

(72) Inventor/es:

**OEHLRICH, DANIEL y**  
**GIJSEN, HENRICUS, JACOBUS, MARIA**

(74) Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

**Observaciones:**

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 721 073 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

Derivados de 4-amino-6-fenil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazina como inhibidores de beta-secretasa (BACE)

### CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere a novedosos derivados de 6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazinilo como inhibidores de beta-secretasa, también conocida como enzima de escisión amiloide del sitio beta, BACE, en particular BACE1 y/o BACE2 (en donde BACE1, también se conoce como Asp2 o memapsina2 y BACE2 también se conoce como Asp1, Memapsina 1 o DRAP). La invención también se dirige composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, a procesos para preparar dichos compuestos y composiciones y a dichos compuestos y composiciones para su uso en la prevención y el tratamiento de trastornos en los que participa la beta-secretasa, tales como enfermedad de Alzheimer (AD), deficiencia cognitiva leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con accidente cerebrovascular, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer, demencia asociada con beta-amiloide. Además de la enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down y enfermedades relacionadas, la inhibición de BACE puede tener un uso terapéutico y/o profiláctico en afecciones tales como lesión cerebral traumática (TBI), epilepsia del lóbulo temporal (TLE), hipoxia, 15 isquemia, estrés celular, trastornos neuroinflamatorios, alteraciones en el metabolismo cerebral, degeneración macular relacionada con la edad, síndrome de Sjogren, ataxia espinocerebelar 1, ataxia espinocerebelar 7, enfermedad de Whipple y enfermedad de Wilson, degeneración macular relacionada con la edad, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), trombosis arterial, enfermedades autoinmunes/inflamatorias, enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, dermatomiositis, enfermedades gastrointestinales, 20 glioblastoma multiforme, enfermedad de Graves, enfermedad de Huntington, miosis por cuerpos de inclusión (IBM), reacciones inflamatorias, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Kostmann, lupus eritematoso, miofascitis macrofágica, artritis idiopática juvenil, artritis granulomatosa, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos, melanoma maligno, mieloma múltiple y artritis reumatoide, hipertensión, melanoma maligno y melanoma múltiple y cáncer de mama.

### ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

La enfermedad de Alzheimer (AD) es una enfermedad neurodegenerativa y la causa más común de demencia. Los problemas de memoria tempranos y un declive gradual y progresivo de las funciones cognitivas más allá del envejecimiento normal son característicos de la AD. Estudios postmortem han demostrado que los sellos distintivos de la enfermedad incluyen placas amiloides extracelulares que consisten en péptidos de 38 a 43 aminoácidos de longitud denominados péptidos A $\beta$  y ovillos neurofibrilares intracelulares con proteína TAU hiperfosforilada como el componente característico.

Los péptidos A $\beta$  se generan en la vía amiloidogénica a partir de la proteína precursora amiloide (APP). En esta vía, los péptidos A $\beta$  se generan mediante la acción secuencial de dos proteasas:  $\beta$ - y  $\gamma$ -secretasa. La actividad de la  $\beta$ -secretasa es ejercida por la enzima de escisión de APP del sitio  $\beta$  1 (BACE1) y la escisión de APP mediada por BACE1 resulta en el desprendimiento del ectodominio de APP extracelular (sAPP $\beta$ ). El fragmento del extremo C terminal unido a la membrana remanente (C99) es procesado adicionalmente por la  $\gamma$ -secretasa, la cual cataliza una proteólisis inusual con la región transmembrana, lo que resulta en la liberación del dominio intracelular de APP (AICD) en el citosol y la exocitosis de los péptidos A $\beta$  en el entorno extracelular. La mayoría de la A $\beta$  producida tiene 40 residuos de aminoácidos de longitud (A $\beta$ 40). Aunque la forma de 42 residuos (A $\beta$ 42) es una especie menor, se acumula más fácilmente para proporcionar fibrillas y a la poste placas amiloides.

Junto con la patología, estudios genéticos en humanos también sugieren fuertemente que la A $\beta$  juega un papel central en la patogénesis de la AD. Hoy en día se han encontrado más de 200 mutaciones dominantes autosómicas que provocan la AD familiar (FAD) en los genes para APP y presenilina, la subunidad activa de la  $\alpha$ -secretasa. Estas mutaciones invariablemente conducen a un aumento de la relación entre A $\beta$ 42 y A $\beta$ 40 o a una sobreproducción de A $\beta$  total. En particular, las mutaciones de la FAD en la APP se encuentran cerca de los sitios de escisión de  $\beta$ - y  $\gamma$ -secretasa y hacen de la APP un sustrato más eficiente para la endoproteólisis por parte de las secretasas. De particular relevancia aquí son la doble mutación (sueca) K670N/M671L y la mutación A673V que son adyacentes al sitio de escisión de  $\beta$ -secretasa y provocan FAD mediante un aumento del procesamiento de la  $\beta$ -secretasa y la producción total de A $\beta$ . Curiosamente, se han identificado variantes genéticas que protegen contra la AD. Una mutación de baja frecuencia en APP, la sustitución de codificación de A673T, demostró recientemente estar asociada con un menor riesgo de AD y un declive cognitivo reducido en los adultos mayores (Jonson et al. 2012, Nature 488, 96–99). La APP que alberga la sustitución de A673T, ubicada dos aminoácidos C terminales hacia el sitio de escisión de la  $\beta$ -secretasa, es escindida menos efectivamente por la  $\beta$ -secretasa, lo que conduce a una reducción de ~40% en la producción de A $\beta$  in vitro.

La escisión de APP por parte de la enzima de escisión de APP del sitio  $\beta$  1 (BACE1) es el paso que limita la velocidad en la generación del péptido A $\beta$ . BACE1 es una aspartil proteasa unida a la membrana que es óptimamente activa con un pH levemente ácido. Si bien la BACE1 se localiza en distintos organelos, se informa que su actividad es máxima en los endosomas y en menor medida en la red del trans Golgi (TGN), por lo que la mayor parte de la APP es escindida por la BACE1 en el compartimiento endocítico. La prueba de que la BACE-1 es la única actividad de  $\beta$ -secretasa actividad en el cerebro fue proporcionada por las observaciones de que ratones con

inactivación de BACE-1 carecieron completamente de actividad de enzima  $\beta$ -secretasa y del producto de la escisión de  $\beta$ , CTF99 (Roberds et al., 2001, Hum. Mol. Genet. 10, 1317–1324, Luo et al., 2001, Nat. Neurosci. 4, 231–232). Estudios clínicos en desarrollo con inhibidores de BACE1 confirman que la BACE1 es la única actividad de  $\beta$ -secretasa en el cerebro humano, dado que la inhibición farmacológica de BACE1 bloquea la producción de A $\beta$ .

- 5 Poco después del descubrimiento de la BACE1 se identificó una proteasa aspártica BACE2 relacionada unida a la membrana que comparte una similitud del 64% en los aminoácidos con la BACE1. Si bien la BACE2 puede generar A $\beta$  *in vitro*, al parecer no lo hace *in vivo*, como se mencionó anteriormente. La BACE1 y su homólogo BACE2 son integrantes de la familia de proteasas aspárticas similares a la pepsina (catepsina D y E, pepsina A y C, renina, napsina A). Muestran una estructura bilobular típica con el sitio catalítico ubicado en la interfaz entre el lóbulo N y C terminal (Hong et al., 2000, Science 290, 150–153, Ostermann et al., 2006, Journal of molecular biology, 355, (2), 249–61). BACE1 y 2 están ancladas a la membrana celular a través de un dominio transmembrana que, junto con extensiones de aminoácidos únicas y la disposición de los tres puentes disulfuro (Haniu et al., 2000, J. Biol. Chem. 275, 21099–21106) separa a BACE del resto de la familia de pepsinas y facilita la generación de inhibidores relativamente específicos para BACE1 y 2.
- 10 15 Además de la APP, se han descrito varios sustratos de BACE1 del SNC y periféricos y funciones asociadas (Hemming et al. 2009, PLoS ONE 4, e8477, Kuhn et al. 2012, EMBO J. 31, 3157–3168; Zhou et al. 2012, J. Biol. Chem. 287, 25927–25940, Stutzer et al. 2013, J. Biol. Chem. 288, 10536–10547, reseñado en Vassar et al., J. Neurochem. (2014) 10.1111/jnc.12715). Ejemplos de sustratos de BACE1 son L1, CHL1, GLG1, PAM, SEZ6, SEZ6L, Jag1, NRG1, NaV $\beta$ 2, VEGFR1 y APLP1. Como consecuencia, la BACE1 cuenta con una amplia variedad de 20 posibles funciones fisiológicas incluyendo, a modo no taxativo, en diferenciación celular, inmunorregulación, mielinización, desarrollo sináptico y pasticidad, muerte celular, neurogénesis y orientación axonal (Wang et al. Trends in Pharmacological Sciences, Apr 2013, Vol 34, No. 4, pp. 215–225; Yan y Vassar Lancet Neurol. 2014, Vol. 13, pp. 319–329; Yan et al. J Alzheimers Dis. 2014, Vol. 38, No. 4, pp. 705–718).

25 Por ejemplo, en ratones con BACE1 desactivada, la pérdida de escisión de neurregulina 1 (NRG1) tipo III resultó en una mielinización post-natal defectuosa en el SNP y SNC (Fleck et al. 2012, Curr. Alzheimer Res. 9, 178–183; Willem et al. 2009, Semin. Cell Dev. Biol. 20, 175–182). La pérdida de escisión de NRG1 tipo I resulta en una formación y mantenimiento anormales de husos musculares y defectos asociados en movimiento coordinado (Cheret et al. 2013). El procesamiento de BACE1 de subunidades  $\beta$  de canales de sodio abiertos por voltaje controla la densidad de los canales de NaV en la superficie celular, la excitabilidad neuronal y la susceptibilidad a convulsiones 30 (Kim et al. 2011, J. Biol. Chem. 286, 8106–8116). Se sabe que la escisión de CHL1 dependiente de BACE1 participa en el crecimiento axonal y la supervivencia neuronal (Naus et al. 2004, J. Biol. Chem. 279, 16083–16090). La escisión de Jag1 dependiente de BACE1 regula la neurogénesis y astrogénesis postnatal mediante la modulación de la señalización de Notch 1.

35 40 Por lo tanto, además de la enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down y enfermedades relacionadas, la inhibición de BACE puede tener un uso terapéutico y/o profiláctico en afecciones tales como lesión cerebral traumática (TBI), epilepsia del lóbulo temporal (TLE), hipoxia, isquemia, estrés celular, trastornos neuroinflamatorios, alteraciones en el metabolismo cerebral, degeneración macular relacionada con la edad, síndrome de Sjogren, ataxia espinocerebelar 1, ataxia espinocerebelar 7, enfermedad de Whippel y enfermedad de Wilson, degeneración macular relacionada con la edad, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), trombosis arterial, enfermedades autoinmunes/inflamatorias, enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, dermatomiositis, enfermedades gastrointestinales, glioblastoma multiforme, enfermedad de Graves, enfermedad de Huntington, miositis por cuerpos de inclusión (IBM), reacciones inflamatorias, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Kostmann, lupus eritematoso, miofascitis macrofágica, artritis idiopática juvenil, artritis granulomatosa, melanoma maligno, mieloma múltiple y artritis reumatoide.

45 50 Asimismo, la BACE2 tiene un amplio perfil de expresión, con niveles de expresión relativamente altos en la mayoría de los tipos de células y órganos diferentes en la periferia y un nivel más bajo de expresión en astrocitos en el cerebro. Tal como se mencionó anteriormente, la BACE2 también tiene un amplio espectro de sustratos, tal como queda demostrado por el estudio en los islotes pancreáticos mencionado anteriormente (Stutzer et al. 2013).

55 La BACE2 se expresa en células  $\beta$  pancreáticas, donde escinde Tmem27 (Esterházy et al. Cell Metabolism 2011). Por lo tanto, la inhibición de BACE2 puede proporcionar un posible mecanismo para resultar en una mayor masa de células  $\beta$  y un posible modo de acción en el tratamiento o la prevención de la diabetes tipo 2.

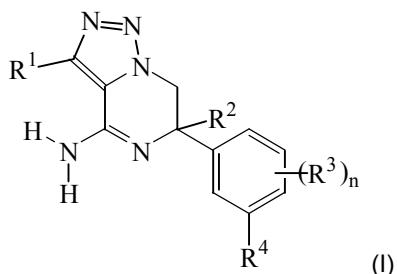
También se sabe que la BACE2 participa en la escisión de APP (Wang et al. Trends in Pharmacological Sciences, abril de 2013, Vol. 34, No. 4, pp. 215–225), IL-1R2 (Kuhn et al. J. Biol. Chem. 2007, Vol. 282, No. 16, pp. 11982–11995) y la proteína melanocítica específica de células de pigmento (PMEL) (Rochin et al. PNAS, 25 de junio de 2013, Vol. 110, No. 26, pp. 10658–10663), lo que indica, por lo tanto, una posible aplicación para los inhibidores de BACE2 en el tratamiento de síndrome de Down, hipertensión, melanoma maligno y melanoma múltiple. La BACE2 se regula hacia arriba en cánceres de mama en humanos (Kondoh et al. Breast Cancer Res.Treat., 2003, Vol. 78, pp. 37–44) y, por lo tanto, los inhibidores de BACE2 pueden tener potencial en el tratamiento de cánceres de mama.

Los inhibidores de BACE1 y/o BACE2 pueden, de esta forma, ser útiles para el tratamiento terapéutico y/o

- profiláctico de enfermedad de Alzheimer (AD), deficiencia cognitiva leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con accidente cerebrovascular, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer, demencia asociada con beta-amiloide. Además de la enfermedad de Alzheimer y enfermedades relacionadas, la inhibición de BACE puede tener un uso terapéutico y/o profiláctico en afecciones tales como lesión cerebral traumática (TBI), epilepsia del lóbulo temporal (TLE), hipoxia, isquemia, estrés celular, trastornos neuroinflamatorios, alteraciones en el metabolismo cerebral, degeneración macular relacionada con la edad, síndrome de Sjogren, ataxia espinocerebelar 1, ataxia espinocerebelar 7, enfermedad de Whippel y enfermedad de Wilson, degeneración macular relacionada con la edad, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), trombosis arterial, enfermedades autoinmunes/inflamatorias, enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, dermatomiositis, enfermedades gastrointestinales, glioblastoma multiforme, enfermedad de Graves, enfermedad de Huntington, miositis por cuerpos de inclusión (IBM), reacciones inflamatorias, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Kostmann, lupus eritematoso, miofascitis macrofágica, artritis idiopática juvenil, artritis granulomatosa, melanoma maligno, mieloma múltiple y artritis reumatoide, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos, hipertensión, melanoma maligno y melanoma múltiple y cáncer de mama.
- El documento WO 2012/117027 (Jansen Pharmaceutica NV) describe derivados de 4-amino-6-fenil-6,7-dihidropirazolo[1,5-a]pirazina como inhibidores de BACE. El documento WO2012/057247 (Shionogi & Co., Ltd.) describe derivados de aminodihidropirimidina fusionados útiles como inhibidores de BACE.

#### COMPENDIO DE LA INVENCIÓN

El objeto de la presente invención es proporcionar compuestos con actividad inhibitoria de BACE. La presente invención se dirige a derivados de 6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il de Fórmula (I)



y las formas estereoisoméricas de los mismos, en donde

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo de hidrógeno y halo;

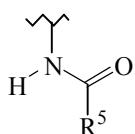
R<sup>2</sup> se selecciona del grupo de alquiloC<sub>1-4</sub> o alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido por uno o más sustituyentes halo;

R<sup>3</sup> es en cada instancia un sustituyente halo seleccionado independientemente;

n es un número entero que se selecciona de 1 y 2;

R<sup>4</sup> es (a):

(a)



en donde R<sup>5</sup> es heteroarilo, opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados cada uno independientemente del grupo de halo, -CN, alquiloC<sub>1-4</sub> opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes halo y alquilC<sub>1-4</sub>oxi opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes halo;

en donde heteroarilo es un heterociclo aromático de 5 miembros que se selecciona del grupo que consiste en oxazol y pirazol; o es un heterociclo aromático de 6 miembros que se selecciona del grupo que consiste en piridinilo, pirimidinilo y pirazinilo;

y las sales de adición y los solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Ilustrativa de la invención es una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y cualquiera de los compuestos descritos anteriormente. Una ilustración de la invención es una composición farmacéutica obtenida mezclando cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un portador farmacéuticamente aceptable. Ilustrativo de la invención es un proceso para obtener una composición farmacéutica

que comprende mezclar cualquiera de los compuestos descritos anteriormente y un portador farmacéuticamente aceptable.

También se divultan métodos para tratar un trastorno mediado por la enzima beta-secretasa que comprenden administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritas en la presente.

Son ejemplos adicionales de la invención métodos para inhibir la enzima beta-secretasa que comprenden administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritas en la presente.

Se divulga adicionalmente un método para tratar o prevenir un trastorno que se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer (AD), deficiencia cognitiva leve (MCI), trastorno de la memoria, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, demencia con parálisis nuclear progresiva, demencia con degeneración córtico-basal, demencia combinada con Alzheimer y de tipo vascular, trastorno de Alzheimer con enfermedad difusa con cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide, angiopatía amiloide cerebral, demencia multiinfarto, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer, demencia senil tipo Alzheimer, demencia vascular, demencia debida a enfermedad por VIH, demencia debida a traumatismo craneal, demencia debida a enfermedad de Huntington, demencia debida a enfermedad de Pick, demencia debida a enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, demencia frontotemporal, demencia pugilística, demencia asociada con beta-amiloide, amiloidosis del cerebro y otros órganos (relacionada y no relacionada con la edad), hemorragia cerebral hereditaria tipo holandesa con amiloidosis, lesión cerebral traumática (TBI), epilepsia del lóbulo temporal (TLE), hipoxia, isquemia, alteraciones en el metabolismo cerebral, degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple (MS), trombosis arterial, enfermedades autoinmunes/inflamatorias, cáncer tal como cáncer de mama, enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, hipertensión, dermatomiositis, enfermedad por priones (enfermedad de Creutzfeld-Jakob), enfermedades gastrointestinales, glioblastoma multiforme, enfermedad de Graves, enfermedad de Huntington, miositis por cuerpos de inclusión (IBM), reacciones inflamatorias, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Kostmann, lupus eritematoso, miofascitis macrofágica, artritis idiopática juvenil, artritis granulomatosa, melanoma maligno, mieloma múltiple, artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, ataxia espinocerebelar 1, ataxia espinocerebelar 7, enfermedad de Whippel y enfermedad de Wilson. Un ejemplo adicional de la invención es un método para tratar un trastorno que se selecciona del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer, deficiencia cognitiva leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia multiinfarto, síndrome de Down, demencia asociada con accidente cerebrovascular, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer y demencia asociada con beta-amiloide, preferiblemente enfermedad de Alzheimer que comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritas en la presente.

Otra divulgación es un método para tratar un trastorno neurocognitivo (NCD) que se selecciona de un trastorno neurocognitivo debido a enfermedad de Alzheimer, debido a lesión cerebral traumática (TBI), debido a enfermedad de cuerpos de Lewy, debido a enfermedad de Parkinson o a NCD vascular (tal como NCD vascular presente con múltiples infartos) que comprende administrar a un individuo que lo necesite una cantidad terapéuticamente efectiva de cualquiera de los compuestos o composiciones farmacéuticas descritas en la presente.

Otro ejemplo de la invención es cualquiera de los compuestos descritos anteriormente para su uso en el tratamiento de: (a) enfermedad de Alzheimer, (b) deficiencia cognitiva leve, (c) senilidad, (d) demencia, (e) demencia con cuerpos de Lewy, (f) síndrome de Down, (g) demencia asociada con accidente cerebrovascular, (h) demencia asociada con enfermedad de Parkinson, (i) demencia tipo Alzheimer, (j) demencia asociada con beta-amiloide, (k) degeneración macular relacionada con la edad, (l) diabetes tipo 2 y (l) otros trastornos metabólicos, en un sujeto que lo necesite.

#### **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN**

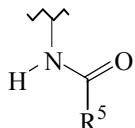
La presente invención se dirige a compuestos de Fórmula (I) tal como se definen anteriormente en la presente y sales farmacéuticamente aceptables y solvatos de los mismos Los compuestos de Fórmula (I) son inhibidores de la enzima beta-secretasa (también conocida como enzima de escisión del sitio beta, BACE, en particular BACE1 (también conocida como Asp2 o memapsina 2) y/o BACE2 (también conocida como Asp1, Memapsina 1 o DRAP)) y pueden ser útiles en el tratamiento o la prevención de enfermedad de Alzheimer, deficiencia cognitiva leve, senilidad, demencia, demencia asociada con accidente cerebrovascular, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer, demencia asociada con beta-amiloide, degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos, preferiblemente enfermedad de Alzheimer, deficiencia cognitiva leve o demencia, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos, más preferiblemente enfermedad de Alzheimer y/o diabetes tipo 2. Más aun, los compuestos de Fórmula (I) pueden ser útiles en el tratamiento de trastorno neurocognitivo debido a enfermedad de Alzheimer, debido a lesión cerebral traumática (TBI), debido a enfermedad de cuerpos de Lewy, debido a enfermedad de Parkinson o a NCD vascular (tal como NCD vascular presente con múltiples infartos). En particular, los compuestos de Fórmula (I) pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedad de Alzheimer, deficiencia cognitiva leve, senilidad, demencia,

asociada con accidente cerebrovascular, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer y demencia asociada con beta-amiloide, preferiblemente enfermedad de Alzheimer, deficiencia cognitiva leve o demencia, más preferiblemente enfermedad de Alzheimer. Más aun, los compuestos de Fórmula (I) pueden ser útiles en el tratamiento de trastorno neurocognitivo debido a enfermedad de Alzheimer, debido a lesión cerebral traumática (TBI), debido a enfermedad de cuerpos de Lewy, debido a enfermedad de Parkinson o a NCD vascular (tal como NCD vascular presente con múltiples infartos). En particular, los compuestos de Fórmula (I) pueden ser útiles en el tratamiento o la prevención de enfermedad de Alzheimer (o demencia tipo Alzheimer, o trastorno neurocognitivo debido a enfermedad de Alzheimer). En particular, los compuestos de Fórmula (I) pueden ser útiles en el tratamiento o la prevención de diabetes tipo 2.

- 5      10      En una realización de la invención, R<sup>1</sup> es hidrógeno, y el resto de las variables son tal como se definen en la Fórmula (I) en la presente.
- En una realización de la invención, R<sup>2</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub> opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes fluoro, y el resto de las variables son tal como se definen en la Fórmula (I) en la presente.
- 15      En una realización de la invención, R<sup>2</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub> y el resto de las variables son tal como se definen en la Fórmula (I) en la presente.

En otra realización de la invención, R<sup>4</sup> es

(a)



- 20      en donde R<sup>5</sup> es heteroarilo, opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionado cada uno independientemente del grupo de halo, -CN, alquiloC<sub>1-4</sub> opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes halo y alquilC<sub>1-4</sub>oxi sustituido opcionalmente por uno o más sustituyentes halo;
- en donde heteroarilo es un heterociclo aromático de 5 miembros seleccionado entre oxazol y pirazol; o es un heterociclo aromático de 6 miembros seleccionado del grupo que consiste en piridinilo, pirimidinilo y pirazinilo;
- y el resto las variables son tal como se definen en la Fórmula (I) en la presente.

- 25      En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) tal como se definen en la presente anteriormente y formas estereoisoméricas de los mismos, en donde

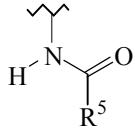
R<sup>1</sup> es hidrógeno;

R<sup>2</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub> opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes halo, en particular, sustituyentes fluoro, más en particular sustituyentes 1-3 fluoro;

- 30      R<sup>3</sup> es halo, en particular fluoro; y n es 1 o 2;

R<sup>4</sup> es

(a)



- 35      en donde R<sup>5</sup> es pirazol, piridinilo, pirimidinilo o pirazinilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionado cada uno independientemente del grupo de halo, -CN, alquiloC<sub>1-4</sub> opcionalmente sustituido por 1-3 sustituyentes halo, en particular fluoro, y alquilC<sub>1-4</sub>oxi sustituido opcionalmente por 1-3 sustituyentes halo;
- y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.
- 40      En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) tal como se definen en la presente anteriormente y formas estereoisoméricas de los mismos, en donde

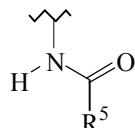
R<sup>1</sup> es hidrógeno;

R<sup>2</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub>;

R<sup>3</sup> es halo, en particular fluoro; y n es 1;

R<sup>4</sup> es

(a)



5

en donde R<sup>5</sup> es pirazol, piridinilo, pirimidinilo o pirazinilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados cada uno independientemente del grupo de halo, -CN y alquilC<sub>1-4</sub>oxi sustituido opcionalmente por uno o más sustituyentes halo;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

10 En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) tal como se definen en la presente anteriormente y formas estereoisoméricas de los mismos, en donde

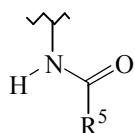
R<sup>1</sup> es hidrógeno;

R<sup>2</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub>;

R<sup>3</sup> es halo, en particular fluoro; y n es 1;

15 R<sup>4</sup> es

(a)



en donde R<sup>5</sup> es pirazol, piridinilo, pirimidinilo o pirazinilo, cada uno de los cuales puede sustituirse opcionalmente por uno o dos sustituyentes seleccionados cada uno independientemente del grupo de halo, -CN, y alquilC<sub>1-4</sub>oxi opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes fluoro;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

20 En otra realización, la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) tal como se definen en la presente anteriormente y formas estereoisoméricas de los mismos, en donde

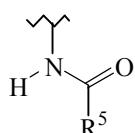
R<sup>1</sup> es hidrógeno;

R<sup>2</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub>;

R<sup>3</sup> es halo, en particular fluoro; y n es 1;

25 R<sup>4</sup> es

(a)



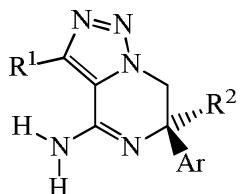
en donde R<sup>5</sup> es piridinilo, pirimidinilo o pirazinilo, cada uno de los cuales puede sustituirse opcionalmente por uno o dos sustituyentes seleccionados cada uno independientemente del grupo de halo, -CN, y alquilC<sub>1-4</sub>oxi opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes fluoro;

y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

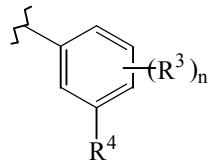
30 En otra realización adicional, la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) tal como se definen

anteriormente en la presente en donde el átomo de carbono cuaternario sustituido por R<sup>2</sup> tiene una configuración tal como se describe en la estructura (I') que figura a continuación, en donde el núcleo de 5,6-dihidroimidazo[1,5-a]pirazin-3(2H)-ona se encuentra en el plano del dibujo, R<sup>2</sup> se proyecta debajo del plano del dibujo (en donde el enlace se muestra con una cuña de líneas paralelas  $\text{/\!/}$ ) y Ar se proyecta arriba del plano del dibujo (en donde el

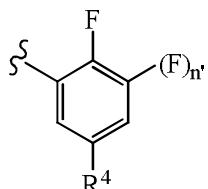
5 enlace se muestra con una cuña en negrita  $\text{/\!/}$ ).



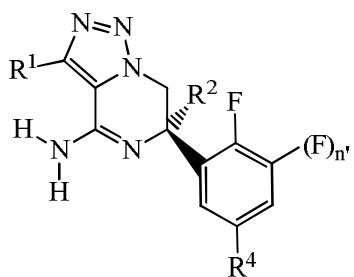
(I'), en donde Ar es



en particular Ar es



En una realización adicional, la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) tal como se definen en la presente anteriormente que tiene la estructura (I'a)



(I'a) y formas estereoisoméricas de los mismos, en donde

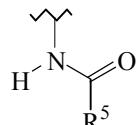
R¹ es hidrógeno;

10 R² es alquiloC<sub>1-4</sub> opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes halo, en particular, sustituyentes fluoro, más en particular sustituyentes 1-3 fluoro;

n' es 0 o 1;

R⁴ es

(a)



15

en donde R⁵ es pirazol, piridinilo, pirimidinilo o pirazinilo, cada uno de los cuales puede estar opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionado cada uno independientemente del grupo de halo, -CN, alquiloC<sub>1-4</sub> opcionalmente sustituido por 1-3 sustituyentes halo, en particular fluoro, y alquilC<sub>1-4</sub>oxi sustituido opcionalmente por 1-3 sustituyentes halo;

20 y las sales y los solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Los compuestos específicos de acuerdo con la invención incluyen:

N-[3-[(6R)-4-Amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil]-5-metoxipirazino-2-carboxamida;

N-[3-[(6R)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil]-5-cianopiridino-2-carboxamida;

N-[3-[(6R)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil]-5-fluoropiridino-2-carboxamida; y

- N-{3-[(6*R*)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-cloropiridino-2-carboxamida;
- N-{3-[(6*R*)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)pirazino-2-carboxamida;
- 5 N-{3-[(6*R*)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-4-cloro-1-(difluorometilo)-1*H*-pirazolo-3-carboxamida;
- N-{3-[(6*R*)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-(fluorometoxi)pirazino-2-carboxamida;
- (*rac*)-N-{3-[4-amino-6-(fluorometil)-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-fluoropiridino-2-carboxamida;
- 10 N-{3-[(6*S*)-4-amino-6-(fluorometil)-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-fluoropiridino-2-carboxamida; y
- N-{3-[(6*R*)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4,5-difluorofenil}-5-fluoropiridin-2-carboxamida;
- 15 y las sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos.

#### **DEFINICIONES**

“Alquilo C<sub>1-4</sub>”, tal como se utiliza en la presente solo o como parte de otro grupo, define un radical hidrocarburo saturado, recto o ramificado que tiene 1, 2, 3 o 4 átomos de carbono, tal como metilo, etilo, 1-propilo, 1-metilo, butilo, 1-metil-propilo, 2-metil-1-propilo, 1,1-dimetiletilo y similares. “Alqui C<sub>1-4</sub> oxi” denotará un radical éter en donde alquilo C<sub>1-4</sub> es tal como se define en la presente. “Halo” denotará fluoro, cloro y bromo.

Siempre que se utiliza en la presente invención, el término "sustituido" hace referencia, a menos que se indique lo contrario o sea claro a partir del contexto, a que uno o más hidrógenos, preferiblemente de 1 a 3 hidrógenos o de 1 a 2 hidrógenos o 1 hidrógeno, en el átomo o radical indicado en la expresión que utiliza el término "sustituido" son reemplazados por una selección del grupo indicado, siempre que no se exceda la valencia normal y que la sustitución resulte en un compuesto químicamente estable, es decir, un compuesto que es lo suficientemente fuerte como para sobrevivir al aislamiento hasta un grado útil de pureza a partir de una mezcla de reacción y la formulación en un agente terapéutico.

El término "sujeto", tal como se utiliza en la presente, se refiere a un animal, preferentemente un mamífero, más preferentemente un ser humano, que es o que ha sido objeto de tratamiento, observación o experimentación.

30 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", tal como se utiliza en la presente, se refiere a una cantidad de compuesto o agente farmacéutico activo que estimula la respuesta biológica o medicinal en un sistema tisular, animal o humano, la cual un investigador, veterinario, médico u otro profesional sanitario desea obtener, que incluye aliviar los síntomas de la enfermedad o trastorno que se esté tratando.

35 Se pretende que el término "composición", tal como se utiliza en la presente, abarque un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como también cualquier producto que sea el resultado, directo o indirecto, de combinaciones de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.

Anteriormente y en lo sucesivo en la presente, se pretende que la expresión "compuesto de fórmula (I)" incluya las sales de adición, los solvatos y los estereoisómeros del mismo.

40 Las expresiones "estereoisómeros" o "formas estereoquímicamente isoméricas" anteriormente o en lo sucesivo en la presente se utilizan indistintamente.

La invención incluye todos los estereoisómeros del compuesto de Fórmula (I), ya sea como un estereoisómero puro o como una mezcla de dos o más estereoisómeros.

45 Los enantiómeros son estereoisómeros que son imágenes de espejo entre sí que no se pueden superponer. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es un racemato o mezcla racémica. Los diastereómeros (o diastereoisómeros) son estereoisómeros que no son enantiómeros, es decir, que no están relacionados como imágenes especulares. Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diastereoisómeros, racematos,

50 La configuración absoluta se especifica de acuerdo con el sistema de Cahn-Ingold-Prelog. La configuración en un átomo asimétrico es especificada por R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta no se conoce pueden ser designados por medio de (+) o (-), dependiendo de la dirección en la que rotan la luz polarizada en el plano.

Cuando se identifica un estereoisómero específico, esto quiere decir que dicho estereoisómero está sustancialmente exento, es decir, asociado con menos de un 50%, preferentemente menos de un 20%, más preferentemente menos de un 10%, aun más preferentemente menos de un 5%, en particular menos de un 2% y aun más preferentemente menos de un 1%, de los otros isómeros. De esta forma, cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como (R), esto significa que el compuesto está básicamente libre del isómero (S).

Más aún, algunas de las formas cristalinas para los compuestos de la presente invención pueden existir como polimorfos y como tales se pretende que se incluyan en la presente invención. Además, algunos de los compuestos de la presente invención pueden formar solvatos con agua (es decir, hidratos) o disolventes orgánicos comunes y también se pretende que dichos solvatos estén dentro del alcance de esta invención.

- 10 Para uso en medicina, las sales de los compuestos de esta invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" no tóxicas. Otras sales pueden, sin embargo, ser útiles en la preparación de compuestos de acuerdo con la invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de esta invención incluyen sales de adición de ácido que pueden, por ejemplo, formarse mezclando una solución del compuesto de la invención con una solución de un ácido farmacéuticamente aceptable tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido carbónico o ácido fosfórico. Más aun, cuando los compuestos de la invención tienen un resto ácido, las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas del mismo pueden incluir sales de metal alcalino, por ejemplo sales de sodio o potasio; sales de metal alcalinotérreo, por ejemplo sales de calcio o magnesio; y sales formadas con ligandos orgánicos adecuados, por ejemplo sales de amonio cuaternario.
- 15
- 20 Ácidos representativos que pueden utilizarse en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, a modo no taxativo, los siguientes: ácido acético, ácido 2,2-dicloroacético, aminoácidos acilados, ácido adípico, ácido algínico, ácido ascórbico, ácido L-aspártico, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido (+)-canfórico, ácido canforsulfónico, ácido cáprico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido cilámico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido D-glucónico, ácido D-glucorónico, ácido L-glutámico, ácido beta-oxo-glutárico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido (+)-L-láctico, ácido ( $\pm$ )-DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido maleico, ácido (-)-L-málico, ácido malónico, ácido ( $\pm$ )-DL-mandélico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico, ácido fosfórico, ácido L-piroglutámico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebálico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiociánico, ácido p-toluenosulfónico, ácido trifluorometilsulfónico y ácido undecilénico. Bases representativas que pueden utilizarse en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, a modo no taxativo, las siguientes: amoniaco, L-arginina, benetamina, benzatina, hidróxido de calcio, colina, dimetiletanolamina, dietanolamina, dietilamina, 2-(diethyl-amino)-etanol, etanolamina, etilendiamina, N-metil-glucamina, hidrabamina, 1H-imidazol, L-lisina, hidróxido de magnesio, 4-(2-hidroxietil)-morfolina, piperazina, hidróxido de potasio, 1-(2-hidroxietil)-pirrolidina, amina secundaria, hidróxido de sodio, trietanolamina, trometamina e hidróxido de zinc.
- 25
- 30
- 35

40 Los nombres de los compuestos de la presente invención se generaron de acuerdo con las reglas de la nomenclatura acordadas por el Chemical Abstracts Service (CAS) usando software de Advanced Chemical Development, Inc. (ACD/Name versión de producto 10.01; compilación 15494, 1º de diciembre de 2006, o ACD/ChemSketch versión de producto 12.5; compilación 47877, 20 de abril de 2011) o de acuerdo con las reglas de nomenclatura acordadas por la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) usando software de Advanced Chemical Development, Inc., (ACD/Name versión de producto 10.01.0.14105, octubre de 2006). En el caso de formas tautoméricas, se generó el nombre de la forma tautomérica representada de la estructura. También se pretende que la otra forma tautomérica no descrita se incluya dentro del alcance de la presente invención.

45

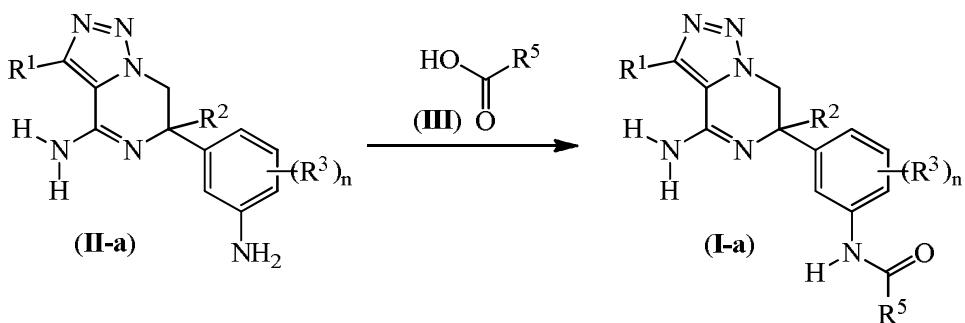
## **PREPARACIÓN DE LOS COMPUUESTOS**

### A. Preparación de los compuestos finales

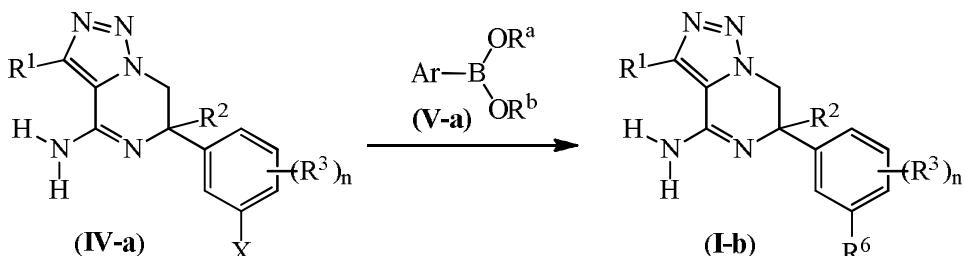
#### Procedimiento experimental 1

50 Los compuestos finales de acuerdo con la Fórmula (I) en donde R<sup>4</sup> es  $-NHCOR^5$ , en la presente denominados (I-a), pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto intermediario de Fórmula (II-a) con un intermediario de fórmula (III) (Esquema de reacción 1). Dicha reacción puede llevarse a cabo en un disolvente adecuado, tal como metanol (MeOH), en presencia de un agente de condensación, tal como clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etylcarbomiimida o cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (DMTMM) o 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etylcarbodiimida clorhidrato en condiciones de reacción adecuadas tales como a una temperatura conveniente, típicamente TA, durante un período de tiempo para asegurarse de que la reacción se complete. Un compuesto intermediario de Fórmula (III) puede obtenerse comercialmente o sintetizarse de acuerdo con procedimientos descritos en la literatura. En el Esquema de reacción 1, todas las variables se definen como en la Fórmula (I).

55

Esquema de reacción 1Procedimiento experimental 2

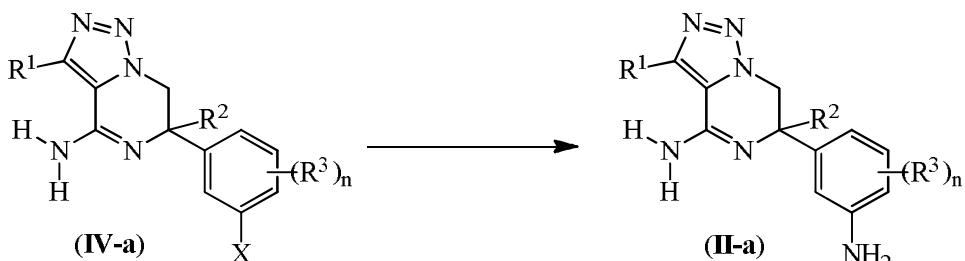
De forma alternativa los compuestos finales de acuerdo con la Fórmula (I) en donde R<sup>4</sup> es -R<sup>6</sup>, en la presente 5 denominados (I-b), pueden prepararse haciendo reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (IV-a) con un intermediario de fórmula (V-a) (Esquema de reacción 2). La reacción puede llevarse a cabo en un disolvente adecuado, tal como 1,4-dioxano, en presencia de una base adecuada, tal como carbonato de sodio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), en presencia de un catalizador de complejo de Pd tal como, complejo de dicloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocenopaladio(II) diclorometano, en condiciones de reacción adecuadas tales como a una temperatura conveniente, típicamente 100°C, durante un período de tiempo para asegurarse de que la reacción se complete. Un compuesto intermedio de Fórmula (V-a) puede obtenerse comercialmente o sintetizarse de acuerdo con procedimientos descritos en la literatura. En el Esquema de reacción 2, X es halo, R<sup>a</sup> y R<sup>b</sup> pueden ser hidrógeno o alquiloC<sub>1-4</sub>, o 10 pueden tomarse juntos para formar por ejemplo, un radical bivalente de fórmula -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- , -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>- o -C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>- y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).



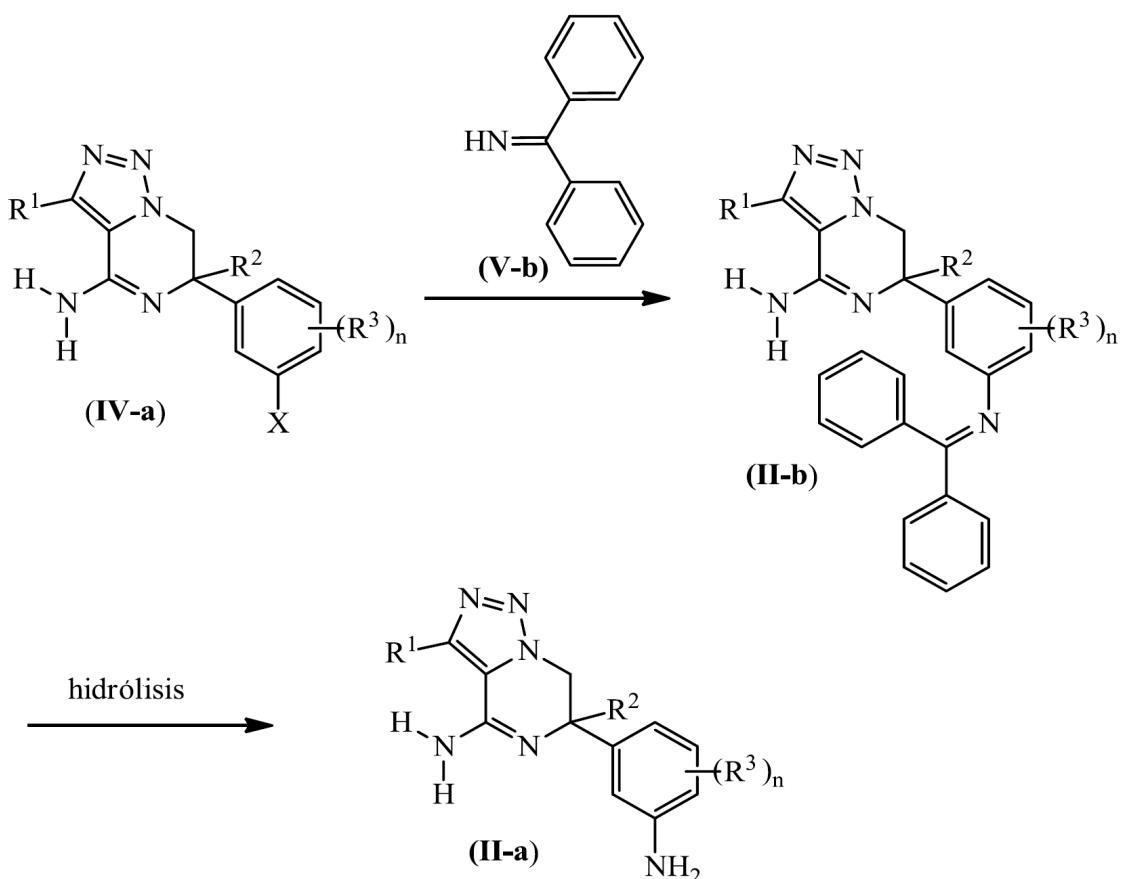
15

Esquema de reacción 2B. Preparación de los compuestos intermediosProcedimiento experimental 3a

Los compuestos intermedios de Fórmula (II-a) pueden prepararse mediante una reacción de acoplamiento 20 catalizada con cobre de un compuesto intermedio de Fórmula (IV-a) con azida de sodio en presencia de un catalizador de cobre, tal como yoduro de cobre(I), en presencia de un ligando adecuado, tal como N,N'-dimetiletilendiamina, en presencia de una base adecuada, tal como Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y en un disolvente adecuado, tal como dimetilsulfóxido (DMSO). La desgasificación de la mezcla de reacción con un gas inerte tal como N<sub>2</sub> o argón y el calentamiento de la mezcla de reacción hasta temperaturas altas tales como aproximadamente 110°C, pueden 25 mejorar el resultado de la reacción. En el Esquema de reacción 3a, X es halo y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).

Esquema de reacción 3aProcedimiento experimental 3b

Los intermediarios de acuerdo con la Fórmula (II-b) se pueden preparar a partir del intermediario correspondiente de Fórmula (IV-a) siguiendo procedimientos de acoplamiento de tipo Buchwald-Hartwig conocidos en la técnica entre un intermediario de fórmula (IV-a) y (V-b) para obtener un intermediario de Fórmula (II-b), seguido por la hidrólisis de (II-b) para obtener (II-a) de acuerdo con el Esquema de reacción 3b. Dicho acoplamiento de Buchwald-Hartwig se puede realizar mediante el tratamiento de los compuestos intermediarios de Fórmula (IV-a) con un intermediario de Fórmula (V-b) en un disolvente inerte de reacción adecuado tal como, por ejemplo, tolueno en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, terc-butóxido de sodio, un complejo de Pd catalizador tal como, por ejemplo, tris(bencilidenoacetona)dipaladio(0) [Pd<sub>2</sub>(dba)<sub>3</sub>, CAS 51364-51-3], un ligando de fosfina tal como, por ejemplo, 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo racémico [rac-BINAP, CAS 98327-87-8], en condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentar la mezcla de reacción a 90 °C, por ejemplo, durante 18 horas. La hidrólisis de (II-b) en (II-a) se puede llevar a cabo en condiciones ácidas, por ejemplo, mediante el tratamiento con HCl en 2-propanol a temperatura ambiente durante 1-4 horas. En el Esquema de reacción 3b, X es halo y todas las demás variables son tal como se definen en la Fórmula (I).



15

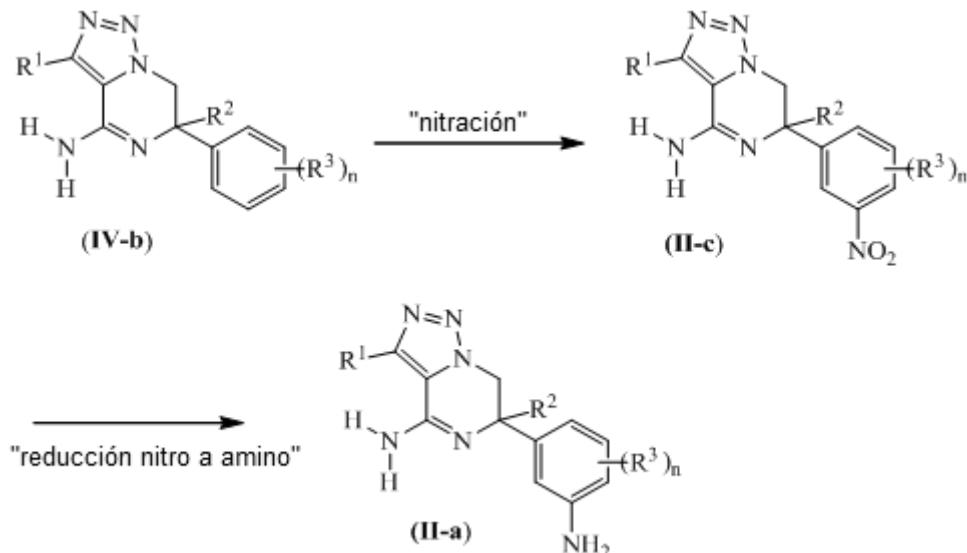
Esquema de reacción 3bProcedimiento experimental 3c

Adicionalmente, los intermediarios de acuerdo con la Fórmula (II-a) se pueden preparar a partir de los intermediarios correspondientes de Fórmula (II-c) siguiendo procedimientos de reducción de nitrógeno en amino conocidos en la técnica de acuerdo con el Esquema de reacción 3c. Dicha reducción puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento del correspondiente intermediario de fórmula (II-c) con metal de hierro en presencia de sales de adición adecuadas tales como cloruro de amonio en un disolvente adecuado, tal como MeOH/agua, en condiciones de reacción adecuadas tales como a una temperatura conveniente, típicamente 70°C durante un período de tiempo para asegurarse de que la reacción se complete. De forma alternativa, la reducción puede llevarse a cabo convenientemente siguiendo procedimientos de hidrogenación catalítica. Por ejemplo, dicha reducción puede llevarse a cabo agitando los reactivos bajo una atmósfera de hidrógeno y en presencia de un catalizador apropiado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón, platino sobre carbón, níquel Raney y catalizadores similares. Disolventes adecuados son, por ejemplo, agua, alcanoles, por ejemplo metanol, etanol y similares, ésteres, por ejemplo acetato de etilo y similares. Para mejorar la tasa de dicha reacción de reducción puede ser ventajoso elevar la temperatura y/o la presión de la mezcla de reacción. La hidrogenación indeseada de ciertos grupos funcionales en los reactivos y los productos de la reacción puede prevenirse mediante la adición de un veneno para catalizador tal como, por ejemplo, tiofeno y similares, a la mezcla de reacción.

Los compuestos intermediarios de Fórmula (II-c) pueden prepararse a partir de los intermediarios correspondientes de fórmula (IV-b) siguiendo procedimientos de nitración conocidos en la técnica de acuerdo con el Esquema de reacción 3c. Dicha nitración puede llevarse a cabo convenientemente mediante tratamiento de los correspondientes compuestos intermediarios de Fórmula (IV-b) con un agente de nitración tal como, por ejemplo, ácido nítrico fumante a baja temperatura tal como, por ejemplo, 0°C, por ejemplo durante 30 minutos.

5

En el Esquema de reacción 3c, todas las variables se definen como en la Fórmula (I).



#### Esquema de reacción 3c

##### Procedimiento experimental 4

10 Los compuestos intermediarios de Fórmula (IV-c) en donde Z es hidrógeno o halo, se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto intermediario de Fórmula (VI) con una fuente de amoníaco apropiada tal como, por ejemplo, una solución de amoníaco en MeOH (Esquema de reacción 4). La reacción se puede realizar en un disolvente inerte de reacción adecuado tal como, MeOH, en condiciones de reacción adecuadas tales como a una temperatura conveniente, normalmente comprendida entre 50 °C y 90 °C, durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete. En el Esquema de reacción 4, Z es hidrógeno o halo y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).

15

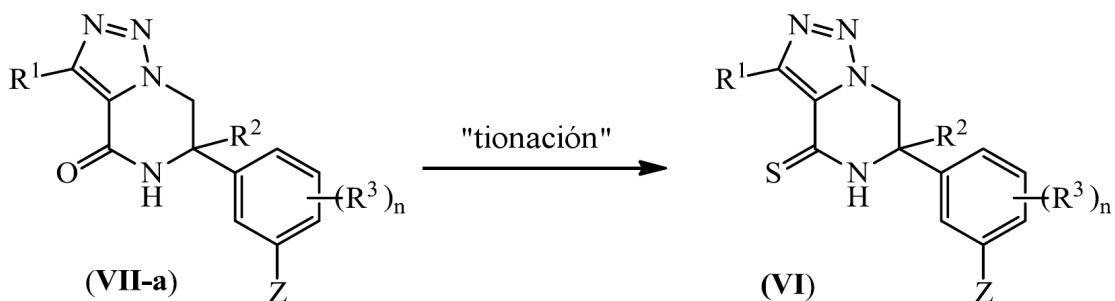


#### Esquema de reacción 4

##### Procedimiento experimental 5

20 Los compuestos intermediarios de Fórmula (VI) en donde Z es hidrógeno o halo se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto intermediario de Fórmula (VII-a) con un reactivo donante de azufre adecuado para la síntesis de tioamidas tal como, por ejemplo, pentasulfuro de fósforo. Esta reacción se puede realizar en un disolvente inerte de reacción tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano, en condiciones de reacción adecuadas tales como a una temperatura conveniente, normalmente comprendida entre 50 °C y 90 °C durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete. En el Esquema de reacción 5, Z es hidrógeno o halo y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).

25

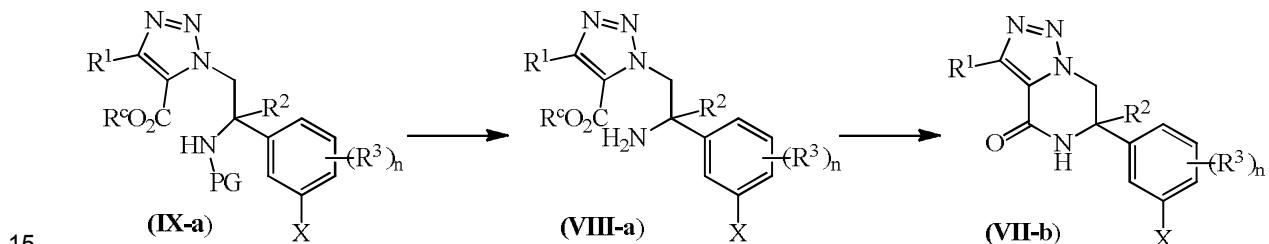


Esquema de reacción 5

Procedimiento experimental 6a

- 5 Los compuestos intermediarios de Fórmula (VIII-b) se pueden preparar a partir de un compuesto intermedio de Fórmula (VIII-a) siguiendo procedimientos de ciclación conocidos en la técnica. Dicha ciclación puede llevarse a cabo convenientemente calentando un compuesto intermedio de Fórmula (VIII-a) en un disolvente de reacción adecuado, tal como N,N-dimetilformamida (DMF), en condiciones de reacción adecuadas, tal como a una temperatura conveniente normalmente comprendida entre 80 °C y 120 °C, durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete.
- 10 Los compuestos intermedios de Fórmula (VIII-a) se pueden preparar a partir de un compuesto intermedio de Fórmula (IX-a) mediante la eliminación del grupo protector que se lleva a cabo de acuerdo con procesos conocidos en la técnica.

En el Esquema de reacción 6a, X es halo, PG es un grupo protector, R<sup>c</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub> y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).



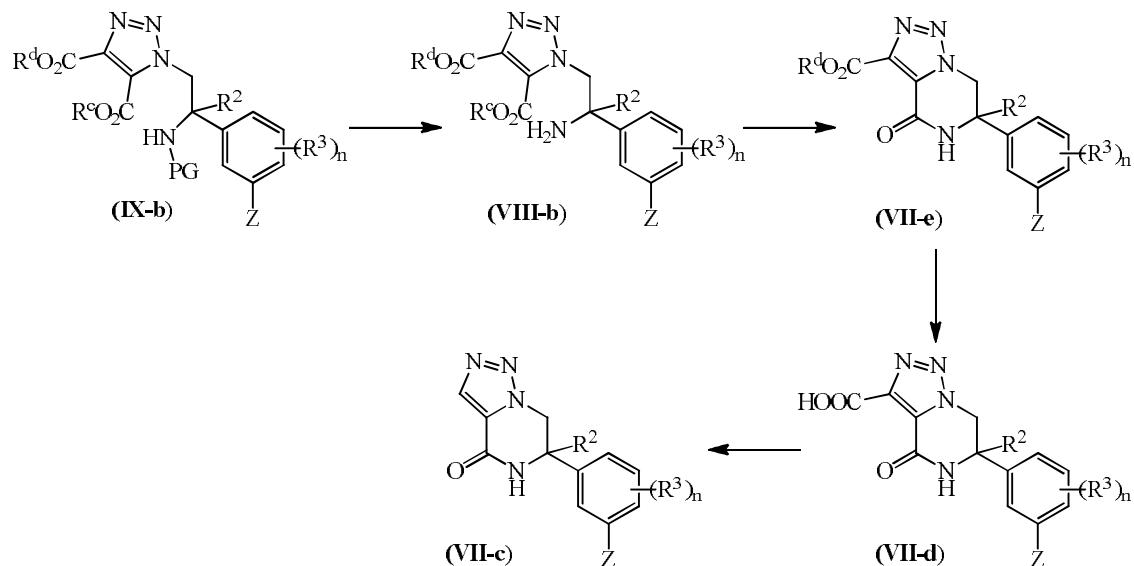
Esquema de reacción 6a

Procedimiento experimental 6b

- 20 Los compuestos intermedios de Fórmula (VII-c) se pueden preparar a partir de los intermedios correspondientes de Fórmula (VII-d) siguiendo procedimientos de descarboxilación conocidos en la técnica. Dicha descarboxilación se puede llevar a cabo convenientemente mediante el tratamiento de los compuestos intermedios de Fórmula (VII-d) con un ácido adecuado tal como, por ejemplo, ácido acético en condiciones de reacción adecuadas tales como a una temperatura conveniente, normalmente comprendida entre 100 °C y 120 °C, durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete.
- 25 Los compuestos intermedios de Fórmula (VII-d) se pueden preparar a partir de los intermedios correspondientes de Fórmula (VII-e) siguiendo procedimientos de hidrólisis de éster en ácido conocidos en la técnica. Dicha hidrólisis se puede llevar a cabo convenientemente mediante el tratamiento de los compuestos intermedios de Fórmula (VII-e) con una base adecuada tal como, por ejemplo, hidróxido de litio en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano y similares o mezclas de disolventes tales como, por ejemplo, tetrahidrofurano y agua. La reacción se puede llevar a cabo a una temperatura moderada tal como, por ejemplo, TA durante 2 horas.
- 30 Los compuestos intermedios de Fórmula (VII-e) se pueden preparar a partir de un compuesto intermedio de Fórmula (VIII-b) siguiendo procedimientos de ciclación conocidos en la técnica. Dicha ciclación se puede llevar a cabo convenientemente calentando un compuesto intermedio de Fórmula (VIII-b) en presencia de una sal adecuada tal como, por ejemplo, acetato de potasio en un disolvente de reacción adecuado tal como metanol, en condiciones de reacción adecuadas tales como una temperatura conveniente, normalmente comprendida entre 80 °C y 90 °C, durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete.

Los compuestos intermedios de Fórmula (VIII-b) se pueden preparar a partir de un compuesto intermedio de Fórmula (IX-b) eliminando el grupo protector que se lleva a cabo de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica.

En el Esquema de reacción 6b, Z es hidrógeno o halo, PG es un grupo protector, R<sup>c</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub>, R<sup>d</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub> y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).



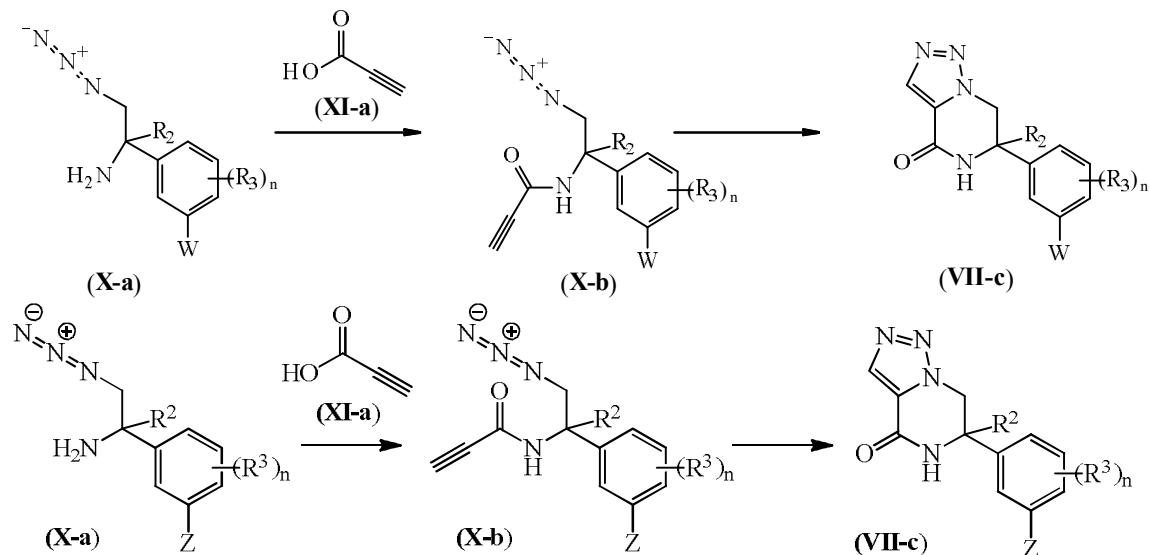
Esquema de reacción 6b

5    Procedimiento experimental 6c

Los compuestos intermediarios de Fórmula (VII-c) se pueden preparar como alternativa a partir de un compuesto intermediario de Fórmula (X-b) siguiendo procedimientos de ciclación conocidos en la técnica. Dicha ciclación se puede llevar a cabo convenientemente calentando un compuesto intermediario de Fórmula (X-b) en un disolvente de reacción adecuado, tal como tolueno a una temperatura conveniente tal como, por ejemplo, 70 °C, durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete.

10   Los compuestos intermediarios de Fórmula (X-b) se pueden preparar a partir de un compuesto intermediario de Fórmula (X-a) siguiendo procedimientos de condensación conocidos en la técnica. Dicha condensación se puede llevar a cabo convenientemente haciendo reaccionar un compuesto intermediario de Fórmula (X-a) con un intermediario de Fórmula (XI-a) en un disolvente adecuado, tal como diclorometano (DCM), en presencia de un agente de condensación tal como N,N'-diciclohexilcarbodiimida (DCC) en condiciones de reacción adecuadas tales como una temperatura conveniente, normalmente 0 °C, durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete.

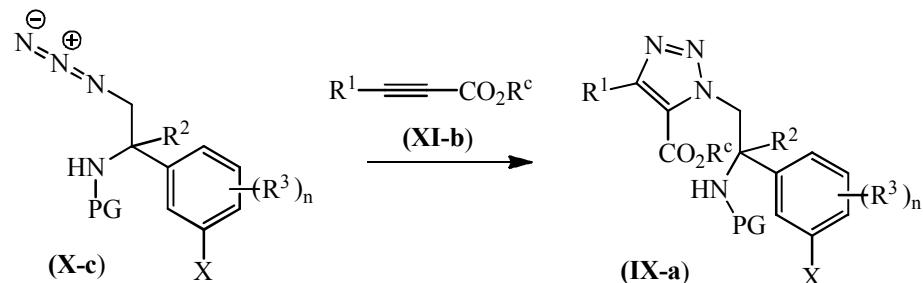
15   Un compuesto intermediario de Fórmula (XI-a) se puede obtener por vías comerciales o sintetizar de acuerdo con procedimientos de la bibliografía. En el Esquema de reacción 6c, Z es hidrógeno o halo y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de reacción 6cProcedimiento experimental 7a

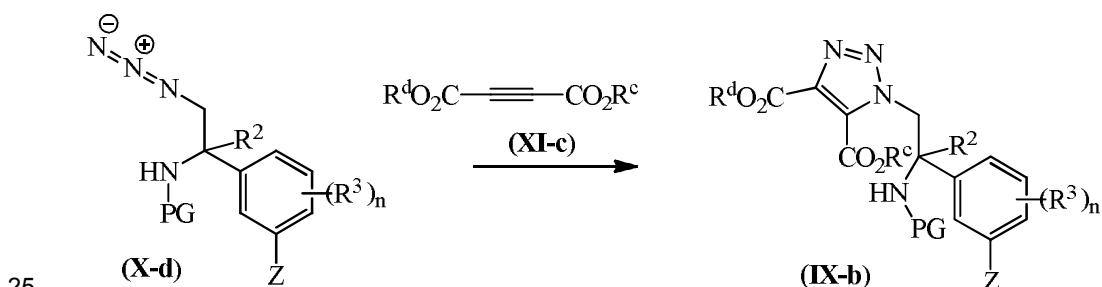
Los compuestos intermediarios de Fórmula (IX-a) se pueden preparar a partir de un compuesto intermediario de Fórmula (X-c) siguiendo procedimientos de cicloadición conocidos en la técnica. Dicha cicloadición se puede llevar a cabo convenientemente haciendo reaccionar un compuesto intermediario de Fórmula (X-c) con un intermediario de Fórmula (XI-b) en presencia de un catalizador de rutenio tal como cloro(pentametilciclopentadienil)bis(trifenilfosfina)rutenio (II), en un disolvente de reacción adecuado, tal como 1,4-dioxano, en condiciones de reacción adecuadas, tal como a una temperatura conveniente, normalmente comprendida entre 40 °C y 80 °C durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete.

Un compuesto intermediario de Fórmula (XI-b) se puede obtener por vías comerciales o sintetizar de acuerdo con procedimientos de la bibliografía. En el Esquema de reacción 7a, X es halo, PG es un grupo protector, R<sup>c</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub> y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).

Esquema de reacción 7aProcedimiento experimental 7b

Los compuestos intermediarios de Fórmula (IX-b) se pueden preparar a partir de un compuesto intermediario de Fórmula (X-d) siguiendo procedimientos de cicloadición conocidos en la técnica. Dicha cicloadición se puede llevar a cabo convenientemente haciendo reaccionar un compuesto intermediario de Fórmula (X-d) con un intermediario de Fórmula (XI-c) en un disolvente de reacción adecuado, tal como tolueno, en condiciones de reacción adecuadas, tales como una temperatura conveniente, normalmente comprendida entre 90 °C y 110 °C, durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete.

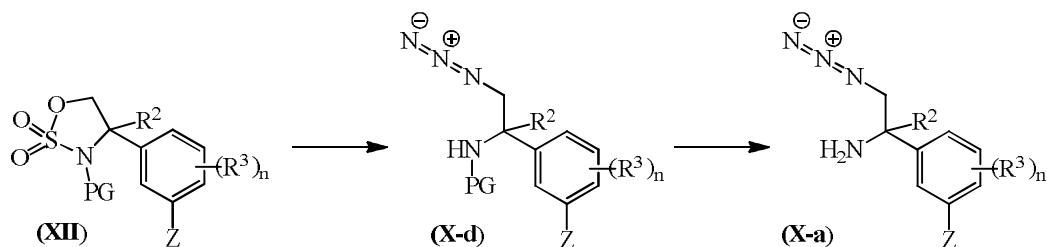
Un compuesto intermediario de Fórmula (XI-c) se puede obtener por vías comerciales o sintetizar de acuerdo con procedimientos de la bibliografía. En el Esquema de reacción 7b, Z es hidrógeno o halo, PG es un grupo protector, R<sup>c</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub>, R<sup>d</sup> es alquiloC<sub>1-4</sub> y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).

Esquema de reacción 7bProcedimiento experimental 8

Los compuestos intermediarios de Fórmula (X-a) se pueden preparar a partir de un compuesto intermediario de Fórmula (X-d) mediante la eliminación del grupo protector que se lleva a cabo de acuerdo con procedimientos conocidos en la técnica.

Los compuestos intermediarios de Fórmula (X-d) se pueden preparar a partir de un compuesto intermediario de Fórmula (XII), en donde PG es un grupo protector de aminas tal como, por ejemplo, el grupo terc-butoxicarbonilo, siguiendo procedimientos de alquilación conocidos en la técnica. Dicha alquilación se puede llevar a cabo convenientemente mediante el tratamiento de (XII) con azida de sodio, en un disolvente inerte adecuado tal como DMF, en condiciones de reacción adecuadas, tales como una temperatura conveniente, normalmente comprendida entre 60 °C y 100 °C, durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete.

En el Esquema de reacción 8, Z es hidrógeno o halo, PG es un grupo protector y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de reacción 8

5    Procedimiento experimental 9

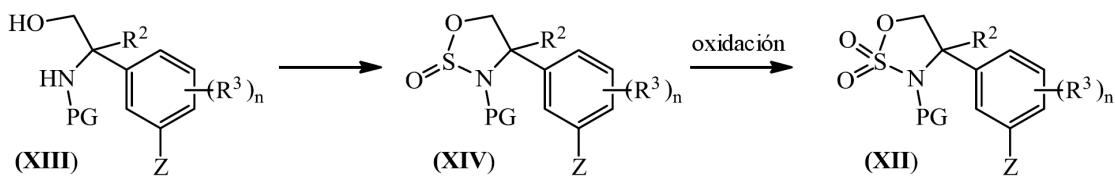
Los compuestos intermedios de Fórmula (XII) se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (XIV) siguiendo procedimientos de oxidación conocidos en la técnica. Dicha oxidación se puede llevar a cabo convenientemente mediante el tratamiento del compuesto intermedio de Fórmula (XIV) con un agente oxidante tal como, por ejemplo, metaperyodato de sodio en un disolvente inerte adecuado tal como, por ejemplo, acetonitrilo/agua, en presencia de cloruro de rutenio (III), en condiciones de reacción adecuadas tales como a una temperatura conveniente, normalmente TA, durante un periodo de tiempo para garantizar que la reacción se complete.

Los compuestos intermedios de Fórmula (XIV) se pueden preparar haciendo reaccionar los compuestos intermedios de Fórmula (XIII) siguiendo procedimientos de formación de sulfamidatos conocidos en la técnica.

10    Dicha transformación se puede llevar a cabo convenientemente mediante el tratamiento del compuesto intermedio de Fórmula (XIII) con cloruro de tionilo, en presencia de una base tal como, por ejemplo, piridina, en un disolvente inerte de reacción adecuado tal como, por ejemplo, acetonitrilo, a una temperatura baja tal como, por ejemplo, -40 °C, por ejemplo, durante 30 min y a continuación a una temperatura moderadamente elevada tal como, por ejemplo, a 25 °C, por ejemplo, durante 24-72 h.

15    20    Los compuestos intermedios de Fórmula (XIII) en donde X es halo y PG es un grupo protector de aminas tal como, por ejemplo, el grupo terc-butoxicarbonilo, se pueden preparar por lo general siguiendo procedimientos de tipo Strecker conocidos en la técnica descritos en la bibliografía.

En el Esquema de reacción 9, Z es hidrógeno o halo, PG es un grupo protector y todas las otras variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de reacción 9

**FARMACOLOGÍA**

Los compuestos de la presente invención y las composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos inhiben la BACE (BACE1 y/o BACE2) y por lo tanto pueden ser útiles en el tratamiento o la prevención de la enfermedad de Alzheimer (AD), deterioro cognitivo leve (MCI), deterioro de la memoria, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, demencia con parálisis nuclear progresiva, demencia con degeneración córtico-basal, demencia combinada con Alzheimer y de tipo vascular, trastorno de Alzheimer con enfermedad de Cuerpos de Lewy difusos, angiopatía amiloide, angiopatía amiloide cerebral, demencia por infarto múltiple, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer, demencia senil tipo Alzheimer, demencia vascular, demencia debida a enfermedad de VIH, demencia debida a un traumatismo craneoencefálico, demencia debida a enfermedad de Huntington, demencia debida a enfermedad de Pick, demencia debida a enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, demencia frontotemporal, demencia pugilística, demencia asociada con beta-amiloide, amiloidosis del cerebro y otros órganos (relacionada y no relacionada con la edad), hemorragia cerebral hereditaria tipo holandesa con amiloidosis, lesión cerebral traumática (TBI), epilepsia del lóbulo temporal (TLE), hipoxia, isquemia, alteraciones en el metabolismo cerebral, degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple (MS), trombosis arterial, enfermedades autoinmunes/inflamatorias, cáncer tal como cáncer de mama, enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, hipertensión, dermatomiositis, enfermedad por priones (enfermedad de

5 Creutzfeld-Jakob), enfermedades gastrointestinales, glioblastoma multiforme, enfermedad de Graves, enfermedad de Huntington, miositis por cuerpos de inclusión (IBM), reacciones inflamatorias, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Kostmann, lupus eritematoso, miofascitis macrofágica, artritis idiopática juvenil, artritis granulomatosa, melanoma maligno, mieloma múltiple, artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, ataxia espinocerebelar 1, ataxia espinocerebelar 7, enfermedad de Whippel y enfermedad de Wilson.

Tal como se utiliza en la presente, el término "tratamiento" se refiere a todos los procesos, en donde puede haber una ralentización, interrupción, detención o finalización del avance de la enfermedad o un alivio de los síntomas, pero no necesariamente indica una eliminación total de todos los síntomas.

10 La presente invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula general (I), una forma estereoisomérica del mismo o una sal de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como un medicamento.

15 La invención también se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula general (I), una forma estereoisomérica del mismo o una sal de adición de ácidos o bases farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizar en el tratamiento o la prevención de enfermedades o afecciones seleccionadas del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer (AD), deterioro cognitivo leve (MCI), deterioro de la memoria, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewis, demencia con parálisis nuclear progresiva, demencia con degeneración córtico-basal, demencia combinada con Alzheimer y de tipo vascular, trastorno de Alzheimer con enfermedad de Cuerpos de Lewy difusos, angiopatía amiloide, angiopatía amiloide cerebral, demencia por infarto múltiple, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer, demencia senil tipo Alzheimer, demencia vascular, demencia debida a enfermedad de VIH, demencia debida a un traumatismo craneoencefálico, demencia debida a enfermedad de Huntington, demencia debida a enfermedad de Pick, demencia debida a enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, demencia frontotemporal, demencia pugilística, demencia asociada con beta-amiloide, amiloidosis del cerebro y otros órganos (relacionada y no relacionada con la edad), hemorragia cerebral hereditaria tipo holandesa con amiloidosis, lesión cerebral traumática (TBI), epilepsia del lóbulo temporal (TLE), hipoxia, isquemia, alteraciones en el metabolismo cerebral, degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple (MS), trombosis arterial, enfermedades autoinmunes/inflamatorias, cáncer tal como cáncer de mama, enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, hipertensión, dermatomiositis, enfermedad por priones (enfermedad de Creutzfeld-Jakob), enfermedades gastrointestinales, glioblastoma multiforme, enfermedad de Graves, enfermedad de Huntington, miositis por cuerpos de inclusión (IBM), reacciones inflamatorias, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Kostmann, lupus eritematoso, miofascitis macrofágica, artritis idiopática juvenil, artritis granulomatosa, melanoma maligno, mieloma múltiple, artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, ataxia espinocerebelar 1, ataxia espinocerebelar 7, enfermedad de Whippel y enfermedad de Wilson, en particular AD, MCI, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia por infartos múltiples, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer y demencia asociada con beta-amiloide.

20 Un experto en la técnica estará familiarizado con nomenclaturas, nosologías y sistemas de clasificación alternativos para las enfermedades o afecciones a las que se hace referencia en la presente. Por ejemplo, la quinta edición del Manual de Diagnóstico y Estadística de Trastornos Mentales (DSM-5<sup>TM</sup>) de la Asociación Psiquiátrica de los Estados Unidos utiliza términos como trastornos neurocognitivos (NCD) (tanto importantes como leves), en particular, trastornos neurocognitivos debido a enfermedad de Alzheimer, debido a lesión cerebral traumática (TBI), debido a enfermedad de cuerpos de Lewy, debido a enfermedad de Parkinson y a NCD vascular (tal como NCD vascular presente con múltiples infartos). Dichos términos pueden ser utilizados por el experto en la técnica como una nomenclatura alternativa para algunas de las enfermedades o afecciones a las que se hace referencia en la presente.

25 La invención también se refiere al uso de un compuesto de acuerdo con la Fórmula general (I), una forma estereoisomérica del mismo o una sal de adición de ácido o base farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de cualquiera de las enfermedades mencionadas anteriormente.

30 La invención también se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula general (I), una forma estereoisomérica del mismo o una sal de adición de ácidos o bases farmacéuticamente aceptable del mismo, para utilizar en el tratamiento, prevención, mejora, control o reducción del riesgo de enfermedades o afecciones seleccionadas del grupo que consiste en enfermedad de Alzheimer (AD), deterioro cognitivo leve (MCI), deterioro de la memoria, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewis, demencia con parálisis nuclear progresiva, demencia con degeneración córtico-basal, demencia combinada con Alzheimer y de tipo vascular, trastorno de Alzheimer con enfermedad de Cuerpos de Lewy difusos, angiopatía amiloide, angiopatía amiloide cerebral, demencia por infarto múltiple, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer, demencia senil tipo Alzheimer, demencia vascular, demencia debida a enfermedad de VIH, demencia debida a un traumatismo craneoencefálico, demencia debida a enfermedad de Huntington, demencia debida a enfermedad de Pick, demencia debida a enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, demencia frontotemporal, demencia pugilística, demencia asociada con beta-amiloide, amiloidosis del cerebro y otros órganos (relacionada y no relacionada con la edad), hemorragia cerebral hereditaria tipo holandesa con amiloidosis, lesión cerebral traumática (TBI), epilepsia del lóbulo temporal (TLE), hipoxia, isquemia, alteraciones en el metabolismo cerebral, degeneración macular relacionada con la edad,

diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple (MS), trombosis arterial, enfermedades autoinmunes/inflamatorias, cáncer tal como cáncer de mama, enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, hipertensión, dermatomiositis, enfermedad por priones (enfermedad de Creutzfeld-Jakob), enfermedades gastrointestinales, glioblastoma multiforme, enfermedad de Graves, enfermedad de Huntington, miosis por cuerpos de inclusión (IBM), reacciones inflamatorias, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Kostmann, lupus eritematoso, miofascitis macrofágica, artritis idiopática juvenil, artritis granulomatosa, melanoma maligno, mieloma múltiple, artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, ataxia espinocerebelar 1, ataxia espinocerebelar 7, enfermedad de Whippel y enfermedad de Wilson, en particular AD, MCI, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia por infartos múltiples, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer y demencia asociada con beta-amiloide o para usar en el tratamiento, prevención, control o reducción del riesgo de enfermedades o afecciones seleccionadas de trastornos neurocognitivos debido a enfermedad de Alzheimer, debido a lesión cerebral traumática (TBI), debid a enfermedad de cuerpos de Lewy, debido a enfermedad de Parkinson o a NCD vascular (tal como NCD vascular presente con múltiples infartos).

15 Tal como se mencionó anteriormente, el término "tratamiento" no indica necesariamente una eliminación total de todos los síntomas, pero puede hacer referencia también a un tratamiento sintomático en cualquiera de los trastornos mencionados anteriormente. En vista de la utilidad del compuesto de Fórmula (I), se proporciona un método para el tratamiento de sujetos tales como animales de sangre caliente, incluidos humanos, que padecen, o un método para prevenir en sujetos tales como animales de sangre caliente, incluidos humanos, que padecen cualquiera de las enfermedades mencionadas anteriormente en la presente.

Dichos métodos comprenden la administración, es decir, la administración sistémica o tópica, preferiblemente administración oral, de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la Fórmula (I), una forma estereoisomérica del mismo, una sal de adición o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, a un sujeto tal como un animal de sangre caliente, incluido un humano.

20 25 Por lo tanto, la invención también se refiere a los compuestos para su uso en un método para la prevención y/o tratamiento de cualquiera de las enfermedades mencionadas anteriormente en la presente que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con la invención a un sujeto que lo necesite.

30 35 Un método de tratamiento también puede incluir administrar el principio activo en un régimen comprendido entre una y cuatro tomas al día. En estos métodos de tratamiento, los compuestos de acuerdo con la invención se formulan preferentemente antes de la administración. Tal como se describe a continuación en la presente, las formulaciones farmacéuticas adecuadas se preparan mediante procedimientos conocidos utilizando ingredientes conocidos y de los que se puede disponer fácilmente.

40 45 Los compuestos de la presente invención, que pueden ser adecuados para tratar o prevenir la enfermedad de Alzheimer (o, según nomenclaturas alternativas, demencia tipo Alzheimer o trastorno neurocognitivo debido a enfermedad de Alzheimer) o los síntomas de los mismos, pueden administrarse solos o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. La terapia de combinación incluye la administración de una formulación de dosificación farmacéutica única que contiene un compuesto de Fórmula (I) y uno o más agentes terapéuticos adicionales, así como la administración del compuesto de Fórmula (I) y cada agente terapéutico adicional en su propia formulación de dosificación farmacéutica separada. Por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I) y un agente terapéutico pueden administrarse al paciente juntos en una composición de dosificación oral única tal como un comprimido o cápsula, o cada agente puede administrarse en formulaciones de dosificación oral separadas.

## **COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS**

50 55 La presente invención también proporciona composiciones para usar en la prevención o el tratamiento de enfermedades en las que la inhibición de beta-secretasa es beneficiosa, tal como enfermedad de Alzheimer (AD), deterioro cognitivo leve (MCI), deterioro de la memoria, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, demencia con parálisis nuclear progresiva, demencia con degeneración córtico-basal, demencia combinada con Alzheimer y de tipo vascular, trastorno de Alzheimer con enfermedad de Cuerpos de Lewy difusos, angiopatía amiloide, angiopatía amiloide cerebral, demencia por infarto múltiple, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer, demencia senil tipo Alzheimer, demencia vascular, demencia debida a enfermedad de VIH, demencia debida a un traumatismo craneoencefálico, demencia debida a enfermedad de Huntington, demencia debida a enfermedad de Pick, demencia debida a enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, demencia frontotemporal, demencia pugilística, demencia asociada con beta-amiloide, amiloidosis del cerebro y otros órganos (relacionada y no relacionada con la edad), hemorragia cerebral hereditaria tipo holandesa con amiloidosis, lesión cerebral traumática (TBI), epilepsia del lóbulo temporal (TLE), hipoxia, isquemia, alteraciones en el metabolismo cerebral, degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple (MS), trombosis arterial, enfermedades autoinmunes/inflamatorias, cáncer tal como cáncer de mama, enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, hipertensión, dermatomiositis, enfermedad por priones (enfermedad de Creutzfeld-Jakob), enfermedades gastrointestinales, glioblastoma multiforme, enfermedad de Graves, enfermedad

de Huntington, miositis por cuerpos de inclusión (IBM), reacciones inflamatorias, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Kostmann, lupus eritematoso, miofascitis macrofágica, artritis idiopática juvenil, artritis granulomatosa, melanoma maligno, mieloma múltiple, artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, ataxia espinocerebelar 1, ataxia espinocerebelar 7, enfermedad de Whipple y enfermedad de Wilson; en particular enfermedad de Alzheimer (AD), deterioro cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con accidente cerebrovascular, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer y demencia asociada con beta-amiloide. De acuerdo con nomenclaturas alternativas, la presente invención proporciona composiciones para prevenir o tratar enfermedades en las que la inhibición de beta-secretasa es beneficiosa, tal como trastornos neurocognitivos debido a enfermedad de Alzheimer, debido a lesión cerebral traumática (TBI), debido a enfermedad de cuerpos de Lewy, debido a enfermedad de Parkinson o a NCD vascular (tal como NCD vascular presente con múltiples infartos). Dichas composiciones que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de un

Aunque es posible administrar el principio activo solo, es preferible presentarlo como una composición farmacéutica. Por consiguiente, la presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la presente invención, junto con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El portador o diluyente debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la composición y no nocivos para los receptores de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden prepararse mediante cualquier método bien conocido en la técnica farmacéutica. Una cantidad terapéuticamente efectiva del compuesto particular, en forma de base o sal de adición, como el principio activo se combina mezclándose bien con un portador farmacéuticamente aceptable, pudiendo adquirir dicho portador una gran variedad de formas, dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración. Estas composiciones farmacéuticas están deseablemente en forma de dosificación unitaria, preferiblemente, para administración sistémica tal como administración oral, percutánea o parenteral; o administración tópica tal como por inhalación, un spray nasal, gotas oculares o por medio de una crema, gel, champú o similar. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral puede emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elíxires y soluciones; o portadores sólidos tales como, por ejemplo, almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes desintegrantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean obviamente portadores farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, el portador normalmente comprenderá agua estéril, al menos en gran parte, a pesar de que también pueden incluirse otros ingredientes, por ejemplo para ayudar en la solubilidad. Se pueden preparar soluciones inyectables, por ejemplo, en las que el portador comprenda solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y de glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear portadores líquidos, agentes de suspensión y similares que sean adecuados. En las composiciones adecuadas para la administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectable adecuado, opcionalmente combinados con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones minoritarias, donde los aditivos no provocan ningún efecto perjudicial significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se pueden administrar de varias formas, por ejemplo, como un parche transdérmico, como una unción puntual o como una pomada.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosis. Forma de unidad de dosificación, tal como se utiliza en la presente, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, asociada con el portador farmacéutico requerido. Ejemplos de dichas formas de unidad de dosificación son comprimidos (incluidos comprimidos marcados o recubiertos), cápsulas, píldoras, paquetes de polvo, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares y múltiples segregados de los mismos.

La dosis exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto particular de fórmula (I) utilizado, la afección particular que se esté tratando, la gravedad de la afección que se esté tratando, la edad, el peso, el sexo, el alcance del trastorno y el estado físico general del paciente particular, así como también de otra medicación que el individuo pueda estar tomando, como bien sabrán los expertos en la técnica. Además, es obvio que dicha cantidad diaria eficaz se puede reducir o incrementar, dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescriba los compuestos de la presente invención.

Dependiendo del modo de administración, la composición farmacéutica comprenderá entre un 0.05 y un 99% en peso, preferentemente entre un 0.1 y un 70% en peso, más preferentemente entre un 0.1 y un 50% en peso del principio activo, y entre un 1 y un 99.95% en peso, preferentemente entre un 30 y un 99.9% en peso, más preferentemente entre un 50 y un 99.9% en peso de un portador farmacéuticamente aceptable, estando todos los porcentajes basados en el peso total de la composición.

Los presentes compuestos pueden utilizarse para administración sistémica, tal como administración oral, percutánea o parenteral; o administración tópica, tal como por inhalación, un spray nasal, gotas oculares o por medio de una crema, gel, champú o similar. Preferiblemente, los compuestos se administran oralmente. La dosis exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto particular de acuerdo con la fórmula (I) utilizado, la afección

5 particular que se esté tratando, la gravedad de la afección que se esté tratando, la edad, el peso, el sexo, el alcance del trastorno y el estado físico general del paciente particular, así como también de otra medicación que el individuo pueda estar tomando, como bien sabrán los expertos en la técnica. Además, es obvio que dicha cantidad diaria eficaz se puede reducir o incrementar dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescriba los compuestos de la presente invención.

10 La cantidad de un compuesto de Fórmula (I) que se puede combinar con un material portador para producir una única forma farmacéutica variará dependiendo de la enfermedad tratada, la especie de mamífero y el modo particular de administración. Sin embargo, como norma general, las dosis unitarias adecuadas para los compuestos de la presente invención pueden contener, por ejemplo, preferentemente entre 0.1 mg y aproximadamente 1000 mg del compuesto activo. Una dosis unitaria preferida consiste en 1 mg a aproximadamente 500 mg. Una dosis unitaria

15 más preferida consiste en 1 mg a aproximadamente 300 mg. Una dosis unitaria aun más preferida consiste en 1 mg a aproximadamente 100 mg. Dichas dosis unitarias pueden administrarse más de una vez al día, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6 veces al día, pero preferiblemente 1 o 2 veces al día, de forma que la dosificación total para un adulto de 70 kg se encuentra en el rango de a 0.001 a aproximadamente 15 mg por peso del sujeto en kg por administración. Una dosis preferida es aquella comprendida entre 0.01 y aproximadamente 1.5 mg por kg de peso del sujeto por administración, y dicha terapia se puede prolongar durante varias semanas o meses y, en algunos casos, años. Sin embargo, se sobreentenderá que el nivel posológico específico para cualquier paciente particular dependerá de varios factores, incluidos la actividad del compuesto específico empleado; la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y la dieta del individuo que esté siendo tratado; el tiempo y la vía de administración; la tasa de excreción; otros fármacos que hayan sido administrados previamente; y la gravedad de la enfermedad particular que

20 se esté tratando, como bien sabrán los expertos en la técnica.

25 Una dosificación típica puede ser 1 mg a aproximadamente 100 mg de comprimido o 1 mg a aproximadamente 300 mg que se toman una vez al día, o múltiples veces al día, o una cápsula o comprimido de liberación única que se toma una vez al día y que contiene un contenido proporcionalmente más alto de principio activo. El efecto de liberación lenta se puede obtener con materiales capsulares que se disuelven a valores de pH diferentes, con cápsulas que se liberan lentamente por acción de la presión osmótica, o mediante cualquier otro método conocido de liberación controlada.

30 Una dosificación típica puede ser 1 mg a aproximadamente 100 mg de comprimido o 1 mg a aproximadamente 300 mg que se toman una vez al día, o múltiples veces al día, o una cápsula o comprimido de liberación única que se toma una vez al día y que contiene un contenido proporcionalmente más alto de principio activo. El efecto de liberación lenta se puede obtener con materiales capsulares que se disuelven a valores de pH diferentes, con cápsulas que se liberan lentamente por acción de la presión osmótica, o mediante cualquier otro método conocido de liberación controlada.

35 Puede ser necesario emplear dosis que no estén comprendidas en estos rangos en algunos casos, como será evidente para los expertos en la técnica. Además, cabe señalar que el profesional sanitario o médico tratante sabrá cómo y cuándo comenzar, interrumpir, ajustar o terminar la terapia junto con la respuesta del paciente individual.

40 Para las composiciones y métodos que se proporcionaron anteriormente, un experto en la técnica comprenderá que los compuestos preferidos para usar en cada uno son aquellos compuestos que se indicaron como preferidos anteriormente. Otros compuestos más preferidos para las composiciones y métodos son aquellos que se proporcionan en los ejemplos a continuación.

## **PARTE EXPERIMENTAL**

40 Se pretende que los siguientes ejemplos ilustren el alcance de la presente invención, pero sin limitarla.

### Química

En los siguientes Ejemplos se ilustran diversos métodos para preparar los compuestos de esta invención. A menos que se indique lo contrario, todos los materiales de partida se obtuvieron a partir de proveedores comerciales y se utilizaron sin purificación adicional.

45 En adelante, "Boc" significa *terc*-butiloxicarbonilo; "Cl" significa ionización química, "DAD" significa detector de arreglo de diodos; "DCM" significa diclorometano; "DIPE" significa diisopropiléter; "DMF" significa *N,N*-dimetilformamida; "DMSO" significa dimetilsulfóxido; "Et<sub>2</sub>O" significa dietiléter; "EtOAc" significa acetato de etilo; "EtOH" significa etanol; "ES" significa electropulverización; "h" significa horas; "iPrOH" significa isopropanol; "L" significa litro; "LRMS" significa espectrometría/espectros de masa de baja resolución; "HPLC" significa chromatografía líquida de alto rendimiento; "HRMS" significa espectros/espectrometría de masa de alta resolución; "MeOH" significa metanol; "NH<sub>4</sub>Ac" significa acetato de amonio; "eq" significa equivalente; "RP" significa fase inversa; "ta" significa temperatura ambiente; "P.f." significa punto de fusión; "min" significa minutos; "s" significa segundo(s); "TOF" significa tiempo de vuelo; "sat." significa saturado; "SFC" significa chromatografía de fluido supercrítico; "sol." significa solución; "TEA" significa trietilamina; "THF" significa tetrahidrofurano, "(±)-BINAP" significa 2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftaleno, "DCC" significa *N,N*-díciclohexilcarbodiimida, "DMTMM" significa cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio; "RS" junto a centros asimétricos en las estructuras químicas significa racémico.

La chromatografía de capa fina (TLC) se llevó a cabo en placas de gel de sílice 60 F254 (Merck) utilizando disolventes aptos para el uso como reactivos. La chromatografía en columna abierta se realizó sobre gel de sílice, tamaño de

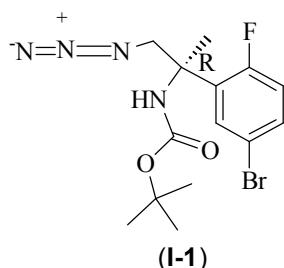
partícula 60 Å, malla = 230-400 (Merck) usando técnicas estándar. La fase normal de cromatografía de columna instantánea automatizada se realizó utilizando Biotage® isolera™ 4 o Biotage® SP-1. La fase inversa de cromatografía de columna instantánea automatizada se realizó utilizando (a) un Sistema Semipreparativo GILSON®, operado por el software Trilution®, equipado con una columna Phenomenex Gemini® C18 100A (100 mm de largo x 30 mm I.D.; partículas de 5 µm) a 25°C, con una tasa de flujo de 40 mL/min o (b) un Sistema Semipreparativo GILSON®, operado por el software Unipoint, equipado con una columna Phenomenex Gemini® C18 100A (100 mm de largo x 21.2 mm I.D.; partículas de 5 µm) a 25°C, con una tasa de flujo de 20 mL/min.

Para intermediarios clave, así como algunos compuestos finales, la configuración absoluta de los centros quirales (indicada como R y/o S) se estableció por medio de la comparación con muestras de configuración conocida, o el uso de técnicas analíticas adecuadas para la determinación de configuración absoluta, tal como VCD (dicroismo circular vibracional) o cristalografía de rayos X.

#### Síntesis de compuestos intermediarios

##### **Intermediario 1 (I-1)**

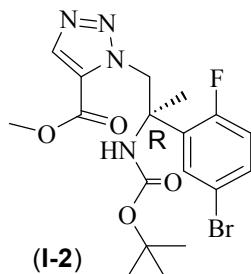
Éster terc-butílico de ácido (*R*)-[2-azido-1-(5-bromo-2-fluorofenil)-1-metiletil]carbámico (**I-1**)



Se añadió azida de sodio (2.38 g, 36.6 mmol) a una sol. del éster 1,1-dimetiletilico de ácido (4*R*)-4-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-metil-1,2,3-oxatiazolidino-3-carboxílico [CAS 1398113-03-5] (5 g, 12.2 mmol) en DMF (40 mL). La mezcla se agitó a 80 °C durante 2 h. A continuación se añadió una sol. sat. de ácido cítrico y la mezcla se agitó durante 4 h. El disolvente se evaporó al vacío. Se añadió agua y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío para proporcionar el intermediario **I-1** (4.5 g, 99%) que se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional.

##### **Intermediario 2 (I-2)**

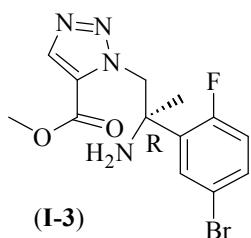
Éster metílico de ácido (*R*)-3-[2-(5-bromo-2-fluorofenil)-2-terc-butoxicarbonilaminopropil-3H-[1,2,3]triazolo-4-carboxílico (**I-2**)



El compuesto intermediario **I-1** (0.91 g, 2.4 mmol) y propiolato de metilo (0.22 mL, 2.4 mmol) en 1,4-dioxano (9 mL) se añadieron a cloro(pentametilciclopentadienil)bis-(trifenilfosfina)ruteno(II) (39 mg, 0.04 mmol) en 1,4-dioxano (9 mL). El vial se purgó con nitrógeno y la mezcla se agitó a 60 °C durante 6 h. Se añadieron propiolato de metilo (0.22 mL, 2.4 mmol) y cloro(pentametilciclopentadienil)bis(trifenilfosfina)ruteno(II) (39 mg, 0.04 mmol). La mezcla se agitó a 60 °C durante 16 h. A continuación, se añadieron más propiolato de metilo (0.22 mL, 2.4 mmol) y cloro(pentametilciclopentadienil)bis(trifenilfosfina)ruteno(II) (39 mg, 0.04 mmol). La mezcla se agitó a 60 °C durante 16 h. El disolvente se evaporó al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; EtOAc en heptano 0/100 a 30/70). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron los disolventes al vacío para proporcionar el intermediario **I-2** (228 mg, 20%).

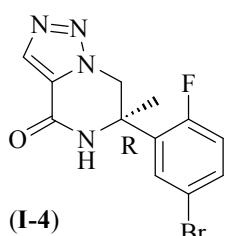
##### **Intermediario 3 (I-3)**

Ester metílico de ácido (*R*)-3-[2-amino-2-(5-bromo-2-fluorofenil)propil]-3H-[1,2,3]-triazolo-4-carboxílico (**I-3**)

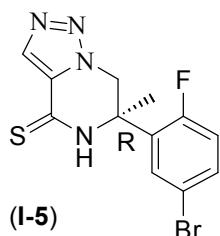


Se añadió ácido trifluoroacético (1.3 mL, 16.8 mmol) a una sol. del compuesto intermediario **I-2** (154 mg, 0.34 mmol) en DCM (3.1 mL). La mezcla se agitó a TA durante 1 h. El disolvente se evaporó al vacío. Se añadió DCM y la fase orgánica se lavó con una sol. sat. de NaHCO<sub>3</sub>. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío para proporcionar el intermediario **I-3** (120 mg, 93% de pureza, cuant.) que se utilizó en el siguiente paso sin purificación adicional.

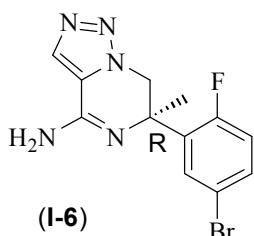
5

**Intermediario 4 (I-4)**(R)-6-(5-Bromo-2-fluorofenil)-6-metil-6,7-dihidro-5H-[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-4-ona (**I-4**)

10 El compuesto intermediario **I-3** (1.7 g, 4.76 mmol) en DMF (42 mL) se agitó a 100 °C durante 48 h. El disolvente se evaporó al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; EtOAc en DCM 0/100 a 20/80). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron los disolventes al vacío para proporcionar el intermediario **I-4** (1.12 g, 72%) como un polvo blanco.

**Intermediario 5 (I-5)**15 (R)-6-(5-Bromo-2-fluorofenil)-6-metil-6,7-dihidro-5H-[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-4-tiona (**I-5**)

20 Se añadió THF (20.4 mL) a una mezcla de pentasulfuro de fósforo (2.19 g, 9.9 mmol) y el compuesto intermediario **I-4** (1.07 g, 3.3 mmol). La mezcla se agitó a 70 °C durante 30 min. A continuación, se añadió EtOAc y se filtró la mezcla a través de tierra de diatomeas. Se evaporó el disolvente al vacío y se purificó el producto crudo mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; EtOAc en heptano 0/100 a 100/0). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron al vacío los disolventes para proporcionar el intermediario **I-5** (882 mg, 78%).

**Intermediario 6 (I-6)**(R)-6-(5-Bromo-2-fluorofenil)-6-metil-6,7-dihidro-5H-[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-4-ona (**I-6**)

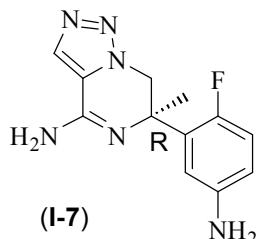
25 En un tubo sellado, se agitó una sol. del compuesto intermediario **I-5** (880 mg, 2.6 mmol) en una solución 7 M de

amoníaco en MeOH (44 mL) a 70 °C durante 16 h. A continuación, se evaporó el disolvente al vacío y se añadió una sol. nueva de amoníaco 7 M en MeOH (44 mL). La mezcla se agitó a 70 °C durante 24 h. A continuación, el disolvente se evaporó al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; amoníaco 7 M en MeOH en DCM 0/100 a 15/85). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron los disolventes al vacío. El sólido se disolvió en EtOAc y se lavó con una sol. sat. de NaHCO<sub>3</sub>. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío para proporcionar el intermediario I-6 (759 mg, 91%) como un sólido blanco.

5

**Intermediario 7 (I-7)**

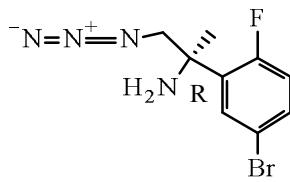
(R)-6-(5-Amino-2-fluorofenil)-6-metil-6,7-dihidro-5H-[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-4-ona (I-7)



10

Se añadieron azida de sodio (326 mg, 5.0 mmol), yoduro de cobre (I) (477 mg, 2.5 mmol) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (425 mg, 4.0 mmol) a una sol. del compuesto intermediario I-6 (650 mg, 2.0 mmol) en DMSO (29 mL). Después de que la mezcla se hubo desclasificado bien, se añadió N,N'-dimetiletilendiamina (0.38 mL, 3.5 mmol). La mezcla se agitó a 110 °C durante 5 h. La mezcla se diluyó con DCM y se lavó con una sol. de NH<sub>3</sub>. La fase acuosa se extrajo varias veces con DCM/10% de MeOH y EtOAc/THF 1:1. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; amoníaco 7 M en MeOH en DCM 0/100 a 5/95). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron los disolventes al vacío para proporcionar el intermediario I-7 (357 mg, 68%).

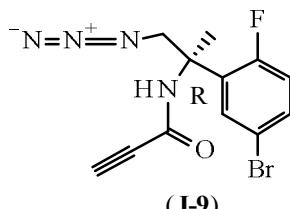
15

**Intermediario 8 (I-8)**

20

Se añadió una solución de HCl 4 M en 1,4-dioxano (21 mL, 85.74 mmol) a una solución del intermediario I-1 (3.2 g, 8.57 mmol) en 1,4-dioxano (11 mL). La mezcla de reacción se agitó a TA durante 24 h. Se eliminó el exceso de HCl burbujeando nitrógeno a través de la mezcla de reacción. A continuación, la mezcla de reacción se enfrió hasta 0 °C y se añadió una solución sat. ac. de NaHCO<sub>3</sub> hasta un pH básico. La capa acuosa se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío para proporcionar el intermediario I-8 (2.12 g, 91%) como un aceite incoloro.

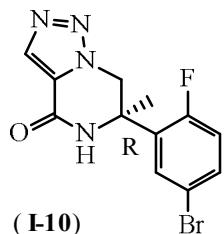
25

**Intermediario 9 (I-9)**

30

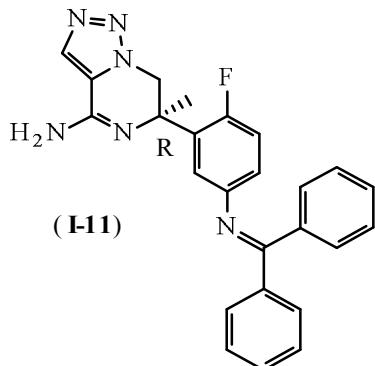
Se añadió ácido propiólico (0.71 mL, 11.5 mmol) a una solución de DCC (2.54 g, 12.30 mmol) en DCM (30 mL) a 0 °C. Se añadió gota a gota una solución del intermediario I-8 (2.1 g, 7.69 mmol) en DCM (20 mL) y la mezcla de reacción se agitó a 0 °C durante 2 h. Se separó por filtración el precipitado y se lavó con DCM. Se concentró el filtrado al vacío manteniendo la temperatura por debajo de 25 °C hasta que se alcanzó un volumen pequeño (5-10 mL) de solución. El producto crudo resultante se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; DCM). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron los disolventes al vacío manteniendo la temperatura por debajo de 25 °C para proporcionar el intermediario I-9 (2.2 g, 89%).

35

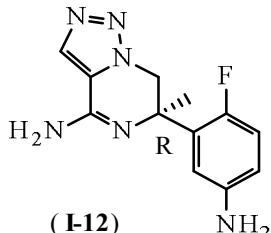
**Intermediario 10 (I-10)**

Se agitó el compuesto intermediario **I-9** (2.2 g, 6.77 mmol) en tolueno (220 mL) a 70 °C durante 18 h. Se evaporó el disolvente al vacío.

- 5 Se purificó el producto crudo mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; EtOAc en DCM 0/100 a 40/60). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron los disolventes al vacío para proporcionar el intermediario **I-10** (2.15 g, 98%) como un sólido blanco.

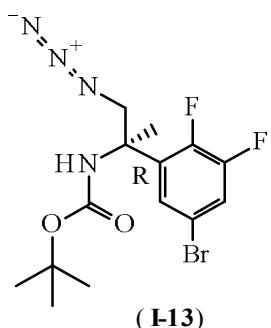
**Intermediario 11 (I-11)**

- 10 Se añadió tolueno (36 mL) a la mezcla del intermediario **I-10** (1.8 g, 5.16 mmol), tris(dibencilidenoacetona)dipaladio (0) (0.472 g, 0.52 mmol), ( $\pm$ )-BINAP (0.965 g, 1.55 mmol) y terc-butóxido de sodio (0.893 g, 9.30 mmol) bajo N<sub>2</sub> a TA. Después de que la mezcla se hubo desgasificado bien, se añadió imina de benzofenona (1.7 mL, 10.33 mmol). La mezcla se agitó a 90 °C durante 18 h. Se concentró al vacío la mezcla de reacción y se diluyó el crudo con agua y se extrajo con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. Se purificó el producto crudo mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; MeOH en DCM 0/100 a 10/90). Se recogieron las fracciones deseadas y los disolventes evaporaron al vacío para proporcionar el intermediario **I-11** (1.63 g, 73%) como un sólido amarillo pálido.
- 15

**Intermediario 12 (I-12)**

- 20 Se añadió HCl ac. (37% en H<sub>2</sub>O, 4.1 mL, 49.47 mmol) a una solución del intermediario **I-11** (2.1 g, 4.95 mmol) en isopropanol (21 mL). Se agitó la mezcla a TA durante 2 h. La mezcla se concentró al vacío y el residuo se purificó con Et<sub>2</sub>O. Se separó por filtración el sólido y se disolvió en isopropanol. Se añadió NaHCO<sub>3</sub> (0.415 g, 4.95 mmol) y la mezcla se agitó durante 1 h hasta un pH básico. La mezcla se filtró y el filtrado se concentró al vacío. Se purificó el producto crudo mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; NH<sub>3</sub> 7M en MeOH en DCM 0/100 a 20/80). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron al vacío los disolventes para proporcionar el intermediario **I-12** (1.2 g, 93%) como un sólido amarillo pálido.
- 25

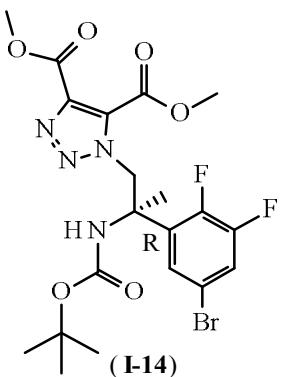
**Intermediario 13 (I-13)**



Se preparó el intermediario **I-13** siguiendo un procedimiento sintético similar al descrito para la síntesis del intermediario **I-1**. Comenzando a partir de (4*R*)-4-(5-bromo-2,3-difluorofenil)-4-metil-2,2-dioxooxazolidino-3-carboxilato de terc-butilo (6.5 g, 15.18 mmol, preparado de manera similar al procedimiento descrito para la síntesis de [CAS 1398113-03-5] en WO2012/120023), se obtuvo el intermedio **I-13** (6 g, 100%) como un aceite incoloro.

5

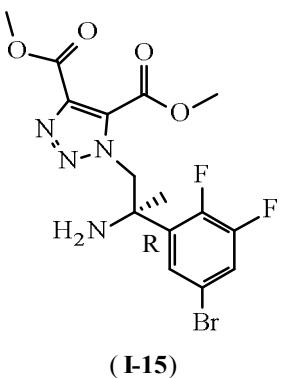
#### Intermediario 14 (I-14)



Se añadió acetilenodicarboxilato de dimetilo (1.6 mL, 13.29 mmol) a una solución del intermediario **I-13** (5.2 g, 13.29 mmol) en tolueno (50 mL) y se agitó la mezcla de reacción a 110 °C durante 18 h. Se evaporó el disolvente al vacío para proporcionar el intermediario **I-14** (12.5 g, rendimiento cuant.), el cual se utilizó tal cual en el siguiente paso de reacción.

10

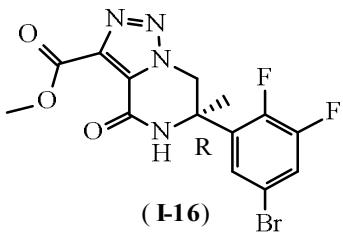
#### Intermediario 15 (I-15)



Se añadió el intermediario **I-14** (12.5 g, 15 mmol) a HCl (4 M en dioxano, 37.5 mL, 150 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a TA durante 2 horas. Se evaporó el disolvente al vacío para proporcionar el intermediario **I-15** (8.5 g, rendimiento cuant.), el cual se utilizó tal cual en el siguiente paso de reacción.

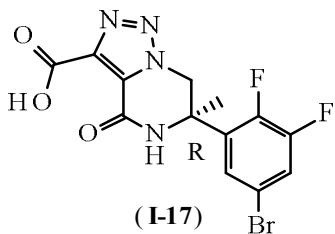
15

#### Intermediario 16 (I-16)



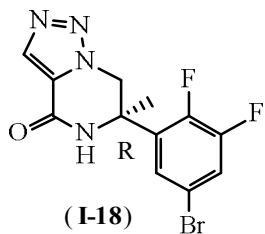
- Se añadió acetato de potasio (4.423 g, 45.06 mmol) a una solución del intermediario **I-15** (8.5 g, 15.02 mmol) en MeOH (62 mL). Se agitó la mezcla de reacción a 90 °C en un tubo sellado durante 1 h. Se enfrió la reacción y se evaporó el disolvente al vacío. Se suspendió el crudo en DCM y se lavó con agua. Se separó la capa orgánica, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se evaporaron los disolventes al vacío para obtener el intermediario **I-16** (4.8 g, 76%), el cual se utilizó como tal en el siguiente paso de reacción.
- 5

**Intermediario 17 (I-17)**



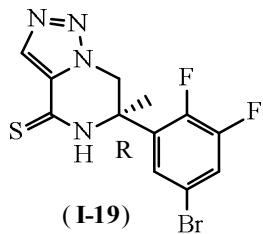
- 10 Se añadió una solución de hidróxido de litio (0.816 g, 34.10 mmol) en agua (19 mL) a una solución del intermediario **I-16** (4.8 g, 11.37 mmol) en THF (76 mL). Se agitó la mezcla de reacción a TA durante 3 h. A continuación, se separó la capa orgánica. Se añadió HCl 1N ac. a la capa acuosa hasta pH = 2. Se recogió el precipitado por filtración, se lavó con agua y se secó (hornos al vacío, 50 °C) para obtener el intermediario **I-17** (3.9 g, 89%).

**Intermediario 18 (I-18)**



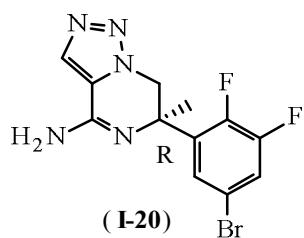
- 15 Se agitó una solución del intermediario **I-17** (3.33 mg, 8.60 mmol) en ácido acético (10 mL, 172.03 mmol) a 120 °C durante 18 h. Se concentró la reacción al vacío y se purificó el producto crudo mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; EtOAc en DCM 0/100 a 40/60). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron los disolventes al vacío para proporcionar el intermediario **I-18** (2.9 g, 98%).

**Intermediario 19 (I-19)**



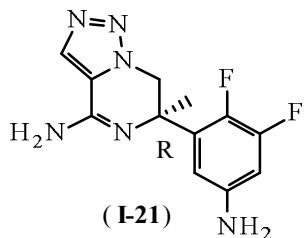
- 20 Se preparó el intermediario **I-19** siguiendo un procedimiento sintético similar al descrito para la síntesis del intermediario **I-5**. Comenzando a partir del intermediario **I-18** (3.7 g, 10.78 mmol), se obtuvo el intermediario **I-19** (3.5 g, 90%).

**Intermediario 20 (I-20)**



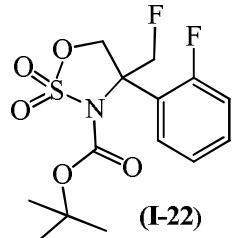
Se preparó el intermediario **I-20** siguiendo un procedimiento sintético similar al descrito para la síntesis del intermediario **I-6**. Comenzando a partir del intermediario **I-19** (3.5 g, 9.74 mmol), se obtuvo el intermediario **I-20** (3.4 g, 82%).

**5 Intermediario 21 (I-20)**



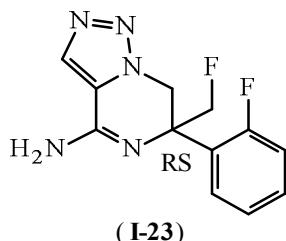
Se preparó el intermediario **I-21** siguiendo un procedimiento sintético similar al descrito para la síntesis del intermediario **I-7**. Comenzando a partir del intermediario **I-20** (0.35 g, 0.82 mmol), se obtuvo el intermediario **I-21** (0.15 g, 66%).

**10 Intermediario 22 (I-22)**



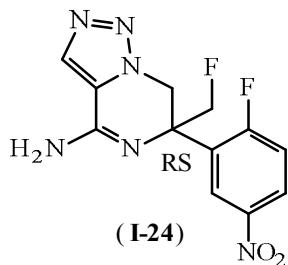
Se preparó el intermediario **I-22** siguiendo una secuencia sintética similar a la descrita para la síntesis del éster 1,1-dimetiletilílico de ácido (4*R*)-4-(5-bromo-2-fluorofenil)-4-metil-1,2,3-oxatiazolidino-3-carboxílico [CAS 1398113-03-5] comenzando a partir de 2-fluoro-1-(2-fluorofenil)etanona [CAS 1402412-84-3].

**15 Intermediario 23 (I-23)**



Siguiendo una secuencia sintética que conllevaba procedimientos similares a los utilizados para la síntesis del (en orden) intermediario **I-13**, intermediario **I-14**, intermediario **I-15**, intermediario **I-16**, intermediario **I-17**, intermediario **I-18**, intermediario **I-5** e intermediario **I-6**, se obtuvo el intermediario **I-23** comenzando a partir del intermediario **I-22**.

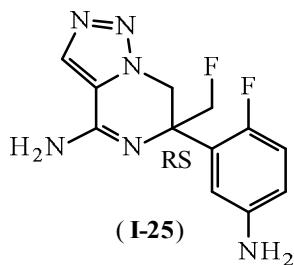
**20 Intermediario 24 (I-24)**



Se añadió el intermediario **I-23** (0.8 g, 3.04 mmol) a ácido nítrico fumante (10 mL, 233.36 mmol) a 0 °C y se agitó la mezcla de reacción a esta temperatura durante 30 min. Se añadió hielo-agua a la mezcla de reacción y se añadió una sol. ac. de NaOH al 50% hasta un pH básico. Se extrajo la capa acuosa con DCM. La capa orgánica se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se evaporó al vacío para proporcionar el intermediario **I-24** (0.3 g, 32%) como un sólido.

5

#### Intermediario 25 (I-25)



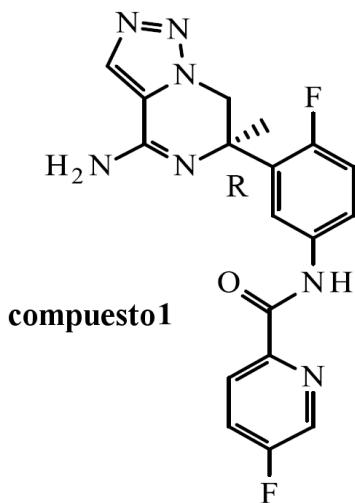
Se disolvió el intermediario **I-24** (0.41 g, 1.33 mmol) en MeOH (45 mL) y agua (14 mL). Se añadieron hierro (0.6 g, 10.74 mmol) y cloruro de amonio (0.56 g, 10.47 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a 70 °C durante 1 h. A continuación, se añadieron más hierro (0.6 g, 10.74 mmol) y cloruro de amonio (2.11 g, 39.45 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 70 °C durante otras 2 h. Después de enfriar, se filtró la mezcla de reacción a través de tierra de diatomeas y se lavó con MeOH,  $\text{H}_2\text{O}$  y EtOAc. Se concentró el filtrado al vacío y se disolvió el residuo con una solución de  $\text{NaHCO}_3$  ac. sat. y EtOAc. Se separó la capa orgánica, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se concentró al vacío para proporcionar el intermediario **I-25** (150 mg, 40%) que se utilizó tal cual en el siguiente paso de reacción.

10

#### 15 Compuestos finales

##### Ejemplo E1

N-{3-[{(6R)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-fluoropiridino-2-carboxamida  
(compuesto 1)}



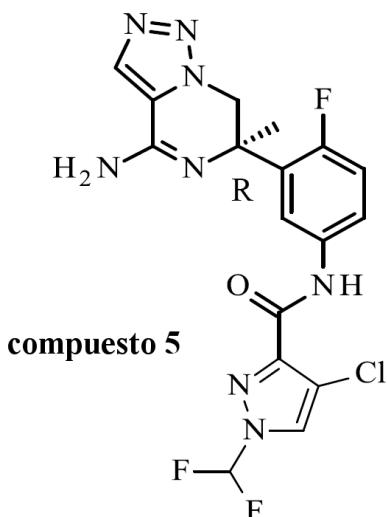
20 Se añadió una sol. de HCl acuoso 1M (0.29 mL, 0.3 mmol) al compuesto intermediario **I-7** (75 mg, 0.3 mmol) en MeOH (1.5 mL) a TA. A continuación, se añadieron ácido 5-fluoro-2-piridinocarboxílico (41 mg, 0.3 mmol) y

clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (66 mg, 0.4 mmol). Se agitó la mezcla a TA durante 3 h. Se añadió una sol. sat. de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  y se extrajo la mezcla con DCM. Se separó la capa orgánica, se lavó con salmuera, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se evaporaron los disolventes al vacío. Se purificó el producto crudo mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; amoníaco 7 M en MeOH en DCM 0/100 a 10/90). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron los disolventes al vacío para proporcionar el **compuesto 1** como un sólido blanco (79 mg, 71%).

5

**Ejemplo E2**

N-{3-[(6*R*)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-4-cloro-1-(difluorometil)-1*H*-pirazolo-3-carboxamida (**compuesto 5**)



10

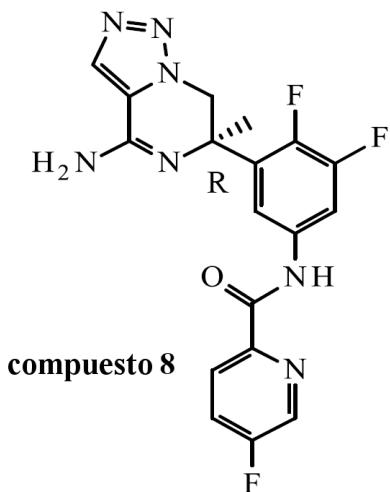
Se añadió ácido 4-cloro-1-(difluorometil)-1*H*-pirazolo-3-carboxílico (0.083 g, 0.423 mmol) a DMTMM (0.117 g, 0.423 mmol) en MeOH (2 mL). Después de agitar la mezcla durante 5 minutos, se añadió una solución del intermediario **I-12** (0.1 g, 0.384 mmol) en MeOH (2 mL) a 0 °C, y se agitó la mezcla durante 24 horas. Se evaporó el disolvente al vacío. A continuación se suspendió el residuo en DCM y se trató con una sol. de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  sat. ac. Se separó la capa orgánica, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y los disolventes se evaporaron al vacío. Se purificó el producto crudo mediante cromatografía instantánea en columna (gel de sílice; amoníaco 7 M en MeOH/DCM 0/100 a 5/95). Se recogieron las fracciones deseadas y se concentraron al vacío. Se purificó adicionalmente el producto mediante HPLC preparativa (RP, C18 XBridge 30x100 5 um), fase móvil (gradiente 90% 0.1% a 0% 0.1% de  $\text{NH}_4\text{HCO}_3/\text{NH}_4\text{OH}$  solución en agua con pH 9, 10% de MeCN). Se recogieron las fracciones deseadas y se extrajo el producto con DCM. Se separó la capa orgánica, se secó ( $\text{MgSO}_4$ ), se filtró y se concentró al vacío. Se secó el residuo durante toda la noche (horno al vacío, 50 °C) para proporcionar el **compuesto 5** (53 mg, 31% de rendimiento) como un sólido amarillo pálido.

15

20

**Ejemplo E3**

N-{3-[(6*R*)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4,5-difluorofenil}-5-fluoropiridino-2-carboxamida (**compuesto 8**)

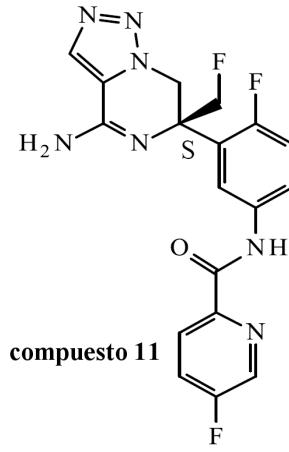
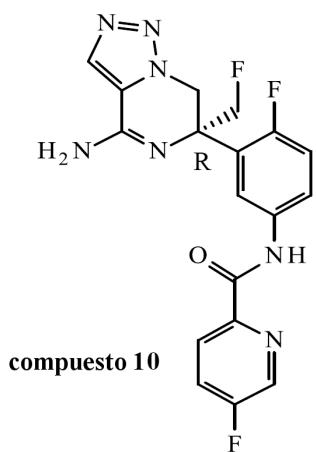
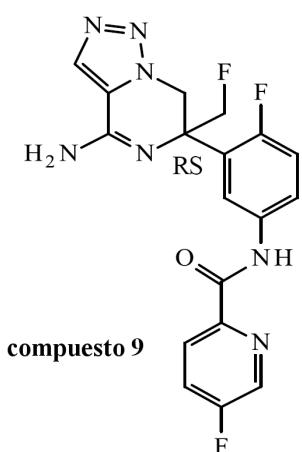


25

Se añadió una sol. de HCl 5M en 2-propanol (0.11 mL, 0.54 mmol) al intermediario I-21 (150 mg, 0.54 mmol) en MeOH (4 mL) a TA. A continuación, se añadieron ácido 5-fluoro-2-piridinocarboxílico (76 mg, 0.54 mmol) y clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (124 mg, 0.65 mmol). Se agitó la mezcla a TA durante 3 h. Se añadió una sol. de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sat. ac. y se extrajo la mezcla con DCM. Se separó la capa orgánica, se lavó con salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporaron los disolventes al vacío. El producto crudo se purificó mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; amoníaco 7M en MeOH en DCM 0/100 a 5/95). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron los disolventes al vacío para obtener un sólido, que se suspendió en DIPE, se filtró y se secó (horno al vacío, 50 °C) para proporcionar el **compuesto 8** como un sólido blanco (160 mg, 74%).

#### Ejemplo E4

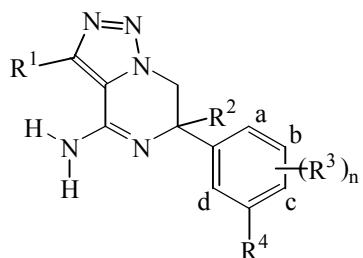
10 (rac)-N-{3-[4-amino-6-(fluorometil)-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-fluoropiridino-2-carboxamida (**compuesto 9**), N-{3-[(6R)-4-amino-6-(fluorometil)-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-fluoropiridino-2-carboxamida (**compuesto 10**), N-{3-[(6S)-4-amino-6-(fluorometil)-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-fluoropiridino-2-carboxamida (**compuesto 11**)



15 Se añadió HCl (6 M en iPrOH, 0.23 mL, 1.35 mmol) al intermediario I-25 (250 mg, 0.90 mmol) en MeOH (7 mL) a TA. A continuación, se añadieron ácido 5-fluoro-2-piridinocarboxílico (139 mg, 0.99 mmol) y clohidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (224 mg, 1.17 mmol). Se agitó la mezcla a TA durante 2 h. Se añadió una sol. de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> sat. ac y se extrajo la mezcla con DCM. Se separó la capa orgánica, se lavó con salmuera, se secó (MgSO<sub>4</sub>), se filtró y se evaporaron los disolventes al vacío. Se purificó el producto crudo mediante cromatografía instantánea en columna (sílice; amoníaco 7M en MeOH en DCM 0/100 a 3/97). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporaron los disolventes al vacío para proporcionar el **compuesto 9** como un racemato (115 mg, 32%). A continuación, este producto se purificó mediante SFC preparativa en Chiralpak Diacel AD (20 x 250 mm), fase móvil (CO<sub>2</sub>, MeOH con un 0.4% de iPrNH<sub>2</sub>) para proporcionar el **compuesto 10** (40 mg, 11%) y el **compuesto 11** (40 mg, 11%).

20 25 La siguiente Tabla 1 enumera compuestos adicionales de Fórmula (I).

**Tabla 1.** Los siguientes compuestos se prepararon siguiendo los métodos ejemplificados en la Parte Experimental (Ej. N.<sup>o</sup>). Los compuestos ejemplificados y descritos en la parte experimental están marcados con un asterisco \*.



| Co. N. <sup>o</sup> | Ej. N. <sup>o</sup> | R <sup>1</sup> | R <sup>2</sup>         | R <sup>3</sup> | R <sup>4</sup>   |
|---------------------|---------------------|----------------|------------------------|----------------|--|
| <b>1</b>            | E1*                 | H              | Me (R)                 | a-F            |  |
| <b>2</b>            | E1                  | H              | Me (R)                 | a-F            |  |
| <b>3</b>            | E1                  | H              | Me (R)                 | a-F            |  |
| <b>4</b>            | E1                  | H              | Me (R)                 | a-F            |  |
| <b>5</b>            | E2                  | H              | Me (R)                 | a-F            |  |
| <b>6</b>            | E2                  | H              | Me (R)                 | a-F            | 3). The 2-position of the pyridine ring is substituted with a methoxy group (-OCH <sub>2</sub> -CH(F)(F)CF <sub>2</sub> ). |
| <b>8</b>            | E3                  | H              | Me (R)                 | a-F, b-F       |  |
| <b>9</b>            | E4                  | H              | CH <sub>2</sub> F (RS) | a-F            |  |
| <b>10</b>           | E4                  | H              | CH <sub>2</sub> F (R)  | a-F            |  |
| <b>11</b>           | E4                  | H              | CH <sub>2</sub> F (S)  | a-F            |  |

**Parte analítica****LCMS****Procedimiento general LCMS**

- 5 La medición de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se llevó a cabo utilizando una bomba de LC, un haz de diodos (DAD) o un detector de UV y una columna, según se especifica en los métodos respectivos. Cuando fue necesario, se incluyeron detectores adicionales (remitirse a la tabla de métodos a continuación).
- 10 El flujo procedente de la columna se introdujo en un espectrómetro de masas (MS), el cual se configuró con una fuente de iones a presión atmosférica. Un experto en la técnica será capaz de fijar los parámetros ajustados (p. ej., intervalo de barrido, tiempo de permanencia...) para obtener iones que permitan la identificación del peso molecular monoisotópico nominal del compuesto (PM). La adquisición de datos se llevó a cabo con el software adecuado. Los compuestos se describen según sus tiempos de retención experimentales ( $R_t$ ) e iones. Si no se especifica de otro

modo en la tabla de datos, el ión molecular descrito corresponde a  $[M+H]^+$  (molécula protonada). En el caso de que el compuesto no se pueda ionizar directamente, se especifica el tipo aducto (es decir,  $[M+NH_4]^+$ ,  $[M+HCOO]^-$ , etc...). Para moléculas con múltiples patrones isotópicos (Br, Cl), el valor informado es el que se obtiene para la masa de isótopos más baja. Todos los resultados se obtuvieron con incertidumbres experimentales que se asocian habitualmente con el método utilizado.

En adelante, "SQD" significa detector de cuadrúpolo único, "MSD" detector selectivo de masa, "TA" temperatura ambiente, etilsiloxano con puente/híbrido de sílice, "DAD" detector de arreglo de diodos, "HSS" sílice de alta resistencia, "Q-ToF" espectrómetros de masas cuadrúplo-tiempo de vuelo, "CLND", detector de nitrógeno quimioluminiscente, "ELSD" detector de escaneo de luz evaporativa.

- 10 **Tabla 2a.** Códigos del método LCMS (Flujo expresado en mL/min; temperatura de columna (T) en °C; Tiempo de ejecución en minutos).

| Código del método | Instrumento                       | Columna  | Fase móvil   | Gradiente   | Flujo<br>T. de col. | Tiempo de ejecución |
|-------------------|-----------------------------------|--|--|---|---------------------|---------------------|
| 1                 | Waters: Acquity® UPLC® -DAD y SQD | Waters : BEH C18 (1.7µm, 2.1*50mm)             | A: CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 10 mM en 95% de H <sub>2</sub> O + 5% de CH <sub>3</sub> CN<br>B: CH <sub>3</sub> CN | De 95% de A a 5% de A en 1.3 min, mantenido durante 0.7 min.                    | 0.8<br>-----<br>55  | 0.8<br>-----<br>2   |
| 2                 | Waters: Acquity® UPLC® -DAD y SQD | Waters: CSH™ C18 (1.7µm, 2.1x50mm)             | A: 95% de CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 6.5mM + 5% de CH <sub>3</sub> CN, B: CH <sub>3</sub> CN                       | De 95% de A a 5% de A en 4.6 min, mantenido durante 0.4 min                     | 1<br>-----<br>50    | 1<br>-----<br>5     |
| 3                 | Waters: Acquity® UPLC® -DAD y SQD | Waters : HSS T <sub>3</sub> (1.8µm, 2.1*100mm) | A: CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub> 10 mM en 95% de H <sub>2</sub> O + 5% de CH <sub>3</sub> CN<br>B: CH <sub>3</sub> CN | De 100% de A a 5% de A en 2.10 min, a 0% de A en 0.90 min, a 5% de A en 0.5 min | 0.8<br>-----<br>55  | 0.8<br>-----<br>3.5 |

### Puntos de fusión

Los valores son valores máximos o intervalos de fusión y se obtienen con las incertidumbres experimentales que están asociadas normalmente con este método analítico.

Para varios de los compuestos, los puntos de fusión se determinaron con un aparato DSC823e (Mettler-Toledo) (a) o Mettler-Toledo FP 62 (b). Los puntos de fusión se midieron con un gradiente de temperatura de 30 °C/minuto. La temperatura máxima fue de 400 °C.

**Tabla 2b. Datos analíticos** –  $R_t$  significa tiempo de retención (en minutos),  $[M+H]^+$  significa la masa protonar del compuesto, método se refiere al método utilizado para (LC)MS.

| Co. N. <sup>o</sup> | $R_t$ | $[M+H]^+$ | Método | Punto de fusión |
|---------------------|-------|-----------|--------|-----------------|
| 1                   | 0.72  | 384       | 1      | s.d.            |
| 2                   | 0.70  | 391       | 1      | s.d.            |
| 3                   | 0.71  | 397       | 1      | s.d.            |
| 4                   | 0.79  | 400       | 1      | s.d.            |
| 5                   | 1.40  | 439       | 2      | 171.1°C         |
| 6                   | 1.76  | 465       | 2      | 163.4°C         |
| 7                   | 0.73  | 415       | 1      | s.d.            |
| 8                   | 0.80  | 402       | 1      | s.d.            |
| 9                   | 1.29  | 402       | 3      | s.d.            |
| 10                  | 1.40  | 402       | 3      | s.d.            |
| 11                  | 1.40  | 402       | 3      | s.d.            |

s.d. significa sin determinar

### 10 Rotaciones ópticas:

Se midieron las rotaciones ópticas en un polarímetro Perkin Elmer 341 con una lámpara de sodio y se presentaron de la siguiente manera:  $[\alpha]_D^{25}$  (c g/100 mL, disolvente).

**Tabla 3. Datos analíticos - Valores de rotación óptica para compuestos enantioméricamente puros**

| Co. N. <sup>o</sup> | $\alpha_D$ (°) | Longitud de onda (nm) | Concentración p/v % | Disolvente | Temp. (°C) |
|---------------------|----------------|-----------------------|---------------------|------------|------------|
| 5                   | +46.1          | 589                   | 0.51                | DMF        | 20         |
| 6                   | +71.0          | 589                   | 0.45                | DMF        | 20         |

### RMN

15 Para varios de los compuestos, se registraron los espectros de  $^1H$  RMN en un Bruker DPX-360 que funcionaba a 360 MHz o en un Bruker Avance I que operaba a 500 MHz utilizando CLOROFORMO-*d* (cloroformo deuterado,  $CDCl_3$ ) o DMSO-*d*<sub>6</sub> (DMSO deuterado, dimetil-*d*6 sulfóxido) como disolvente. Se presentan los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) en partes por millón (ppm) respecto al tetrametilsilano (TMS) que se utilizó como patrón interno.

**Tabla 4.** Resultados de  $^1\text{H}$  RMN

| Co. N. <sup>o</sup> | Resultado de $^1\text{H}$ RMN  |
|---------------------|--|
| 1                   | (360 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ ppm 1.47 (s, 3 H), 4.66 (s, 2 H), 6.82 (s. a., 2 H), 7.19 (dd, $J$ = 12.1, 8.8 Hz, 1 H), 7.66 - 7.79 (m, 1 H), 7.98 (td, $J$ = 8.8, 2.9 Hz, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 8.08 (dd, $J$ = 7.3, 2.6 Hz, 1 H), 8.21 (dd, $J$ = 8.6, 4.6 Hz, 1 H), 8.73 (d, $J$ = 2.9 Hz, 1 H), 10.59 (s, 1 H).   |
| 2                   | (360 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ ppm 1.47 (s, 3 H), 4.66 (s, 2 H), 6.82 (s. a., 2 H), 7.21 (dd, $J$ = 12.1, 8.8 Hz, 1 H), 7.64 - 7.82 (m, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 8.11 (dd, $J$ = 7.3, 2.6 Hz, 1 H), 8.26 (d, $J$ = 8.1 Hz, 1 H), 8.58 (dd, $J$ = 8.1, 1.5 Hz, 1 H), 9.10 - 9.29 (m, 1 H), 10.81 (s, 1 H).  |
| 3                   | (360 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ ppm 1.47 (s, 3 H), 4.02 (s, 3 H), 4.66 (s, 2 H), 6.82 (s. a., 2 H), 7.19 (dd, $J$ = 12.1, 8.8 Hz, 1 H), 7.64 - 7.78 (m, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 8.08 (dd, $J$ = 7.5, 2.7 Hz, 1 H), 8.41 (d, $J$ = 1.5 Hz, 1 H), 8.87 (d, $J$ = 1.5 Hz, 1 H), 10.48 (s, 1 H).   |
| 4                   | (360 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ ppm 1.47 (s, 3 H), 4.66 (s, 2 H), 6.82 (s, 2 H), 7.20 (dd, $J$ = 12.1, 8.8 Hz, 1 H), 7.69 - 7.80 (m, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 8.08 (dd, $J$ = 7.3, 2.6 Hz, 1 H), 8.13 (d, $J$ = 8.1 Hz, 1 H), 8.20 (dd, $J$ = 8.4, 2.6 Hz, 1 H), 8.78 (dd, $J$ = 2.6, 0.7 Hz, 1 H), 10.65 (s, 1 H).   |
| 6                   | (500 MHz, CLOROFORMO- $d$ ) $\delta$ ppm 1.58 (s, 3 H), 4.61 (d, $J$ = 13.5 Hz, 1 H), 4.86 (dd, $J$ = 16.5, 8.4 Hz, 2 H), 4.90 (d, $J$ = 14.2 Hz, 1 H), 7.11 (dd, $J$ = 11.6, 8.7 Hz, 1 H), 7.76 - 7.82 (m, 1 H), 7.86 (s, 1 H), 7.99 (dd, $J$ = 6.9, 2.6 Hz, 1 H), 8.21 - 8.33 (m, 1 H), 9.00 (d, $J$ = 1.4 Hz, 1 H), 9.48 (s, 1 H).  |
| 7                   | (360 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ ppm 1.48 (s, 3 H), 4.58 - 4.74 (m, 2 H), 6.20 (d, $J$ = 51.6 Hz, 2 H), 6.82 (s. a., 2 H), 7.20 (dd, $J$ = 12.1, 8.8 Hz, 1 H), 7.65 - 7.79 (m, 1 H), 8.02 (s, 1 H), 8.09 (dd, $J$ = 7.3, 2.6 Hz, 1 H), 8.58 (d, $J$ = 1.5 Hz, 1 H), 8.94 (d, $J$ = 1.5 Hz, 1 H), 10.60 (s, 1 H).   |
| 8                   | (360 MHz, CLOROFORMO- $d$ ) $\delta$ ppm 1.58 (s, 3 H), 4.58 (d, $J$ = 13.5 Hz, 1 H), 4.93 (d, $J$ = 13.2 Hz, 1 H), 7.51 - 7.71 (m, 2 H), 7.87 (s, 1 H), 7.98 (ddd, $J$ = 11.5, 6.8, 2.6 Hz, 1 H), 8.31 (dd, $J$ = 8.6, 4.6 Hz, 1 H), 8.45 (d, $J$ = 2.6 Hz, 1 H), 9.83 (s, 1 H).  |
| 11                  | (360 MHz, DMSO- $d_6$ ) $\delta$ ppm 4.47 (dd, $J$ = 47.2, 9.1 Hz, 1 H), 4.72 (dd, $J$ = 47.6, 9.9 Hz, 1 H), 4.88 (dd, $J$ = 24.5, 13.5 Hz, 2 H), 7.05 (s, 2 H), 7.22 (dd, $J$ = 11.7, 8.8 Hz, 1 H), 7.79 (ddd, $J$ = 8.8, 4.3, 2.7 Hz, 1 H), 7.98 (td, $J$ = 8.8, 2.9 Hz, 1 H), 8.03 (s, 1 H), 8.11 (dd, $J$ = 7.3, 2.6 Hz, 1 H), 8.21 (dd, $J$ = 8.8, 4.8 Hz, 1 H), 8.73 (d, $J$ = 2.9 Hz, 1 H), 10.65 (s, 1 H). |

### EJEMPLOS FARMACOLÓGICOS

- 5 Los compuestos proporcionados en la presente invención son inhibidores de la enzima de escisión de APP del sitio beta 1 (BACE1). Se cree que la inhibición BACE1, una proteasa aspártica, es relevante para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (AD). Se cree que la producción y acumulación de péptidos beta-amiloideos (Abeta) de la proteína precursora beta-amiloide (APP) juega un papel clave en el inicio y el avance de la AD. Abeta se produce a partir de la proteína precursora amiloide (APP) mediante escisión secuencial en los extremos N y C del dominio Abeta por parte de la beta-secretasa y gama-secretasa, respectivamente.
- 10 Se espera que los compuestos de Fórmula (I) tengan su efecto básicamente en BACE1 en virtud de su capacidad de inhibir la actividad enzimática. El comportamiento de dichos inhibidores evaluados utilizando un ensayo en base a transferencia de energía de resonancia por fluorescencia bioquímica (FRET) y un ensayo celular  $\alpha$ Lisa en células SKNBE2 descrito a continuación y que son adecuadas para la identificación de dichos compuestos, y más particularmente los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I), se muestra en la Tabla 3 y la Tabla 4.

15 **Ensayo bioquímico en base a FRET de BACE1**

Este ensayo es un ensayo en base a ensayo de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET). El sustrato para este ensayo es un péptido de 13 aminoácidos derivados de APP que contiene la mutación Lys-Met/Asn-Leu 'sueca' del sitio de escisión de beta-secretasa de la proteína precursora amiloide (APP). Este sustrato también contiene dos fluoróforos: ácido (7-metoxicoumarin-4-il)acético (Mca) es un donante fluorescente con longitud de onda de excitación a 320 nm y emisión a 405 nm y 2,4-Dinitrofenilo (Dnp) es un acceptor aplacador propio. La distancia entre esos dos grupos se ha seleccionado de manera que tras la excitación de luz, la energía de fluorescencia del donante es sustancialmente aplacada por el acceptor, a través de transferencia de energía de resonancia. Tras la escisión por BACE1, el fluoróforo Mca se separa del grupo aplacador Dnp, restaurando el

rendimiento completo de la fluorescencia del donante. El aumento de fluorescencia se relaciona de forma lineal con la tasa de proteólisis.

*Método 1*

En resumen, en un formato de 384 pocillos se incuba la proteína BACE1 recombinante con una concentración final de 1 µg/mL durante 120 minutos a temperatura ambiente con sustrato 10 µM en tampón de incubación (tampón citrato 40 mM pH 5.0, 0.04% de PEG, 4% de DMSO) en ausencia o presencia del compuesto. A continuación, se mide directamente la cantidad de proteólisis mediante la medición de fluorescencia a T=0 y T=120 (excitación a 320 nm y emisión a 405 nm). Los resultados se expresan en RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa) como la diferencia entre T120 y T0.

Una curva de mejor ajuste se ajusta por un método de suma mínima de cuadrados a la gráfica de %Controlmin con respecto a la concentración de compuesto. A partir de esto puede obtenerse un valor de  $IC_{50}$  (concentración inhibitoria que provoca 50% de inhibición de la actividad).

LC = Mediana de los valores de control bajos

= Control bajo: reacción sin enzima

HC = Mediana de los valores de control altos

= Control alto: reacción con enzima

$$\% \text{Efecto} = 100 - [(muestra-LC)/(HC-LC)*100]$$

$$\% \text{Control} = (\text{muestra}/HC)*100$$

$$\% \text{Controlmin} = (\text{muestra}-LC)/(HC-LC)*100$$

*Método 2*

En resumen, en un formato de 384 pocillos se incuba una proteína BACE1 recombinante en una concentración final de 0.04 µg/ml durante 450 minutos a temperatura ambiente con 20 µM de sustrato en solución amortiguadora de incubación (50 mM de solución amortiguadora de citrato pH 5.0, 0.05% de PEG) en presencia de compuesto o DMSO. A continuación, la cantidad de proteólisis se mide directamente mediante la medición de fluorescencia (excitación a 320 nm y emisión a 405 nm) en diferentes tiempos de incubación (0, 30, 60, 90, 120 y 450 min). Para cada experimento se usa una curva de tiempo (cada 30 min entre 0 min y 120 min) para determinar el tiempo en que encontramos la señal basal más baja del control alto. La señal en este momento (Tx) se usa para restar de la señal a 450 min. Los resultados se expresan en RFU como una diferencia entre T450 y Tx.

Una curva de mejor ajuste se ajusta por un método de suma mínima de cuadrados a la gráfica de %Controlmin con respecto a la concentración de compuesto. A partir de esto puede obtenerse un valor de  $IC_{50}$  (concentración inhibitoria que provoca 50% de inhibición de la actividad).

LC = Mediana de los valores de control bajos

= Control bajo: Reacción sin enzima

HC = Mediana de los valores de control Altos

= Control Alto: Reacción con enzima

$$\% \text{Efecto} = 100 - [(muestra-LC) / (HC-LC) *100]$$

$$\% \text{Control} = (\text{muestra} / HC) *100$$

$$\% \text{Controlmin} = (\text{muestra}-LC) / (HC-LC) *100$$

Los siguientes compuestos ejemplificados se evaluaron esencialmente tal como se describió anteriormente y se exhibieron la siguiente actividad:

**Tabla 5.**

| Co. N. <sup>o</sup> | Ensayo bioquímico en base a FRET de BACE1 – Método 1 | Ensayo bioquímico en base a FRET de BACE1 – Método 2 |
|---------------------|--|--|
|                     | pCl <sub>50</sub>                                    | pCl <sub>50</sub>                                    |
| 1                   | 8.28   | 8.37   |
| 2                   | 8.75   | 8.75   |
| 3                   | 8.69   | 8.69   |
| 4                   | 8.76   | 8.75   |
| 5                   | s.e.   | 8.72   |
| 6                   | s.e.   | 8.51   |
| 7                   | s.e.   | 8.52   |
| 8                   | s.e.   | 8.36   |
| 9                   | s.e.   | 8.08   |
| 10                  | s.e.   | 8.39   |
| 11                  | s.e.   | 6.12   |

s.e. significa sin evaluar

#### **Ensayo celular αLisa de BACE1 en células SKNBE2**

En dos ensayos αLisa se cuantificaron los niveles de Abeta total y Abeta 1-42 producidos y secretados al medio de células SKNBE2 de neuroblastoma humano. El ensayo se basa en las SKNBE2 de neuroblastoma humano que expresan la proteína precursora amiloide tipo salvaje (APP695). Los compuestos se diluyen y agregan a las células, se incuban durante 18 horas y luego se toman las mediciones de Abeta 1-42 y Abeta total. Abeta total y Abeta 1-42 se miden por αLisa en sándwich. αLisa es un ensayo en sándwich que utiliza un anticuerpo AbN/25 biotinilado unido a perlas recubiertas por estreptavidina y anticuerpo Ab4G8 o perlas aceptoras conjugadas de Ab42/26 para la detección de Abeta total y Abeta 1-42, respectivamente. En presencia de Abeta total o Abeta 1-42, las perlas entran en proximidad cercana. La excitación de las perlas donantes provoca la emisión de una sola molécula de oxígeno que provoca una cascada de transferencia de energía en las perlas aceptoras que resulta en la emisión de luz. La emisión de luz se mide después de 1 hora de incubación (excitación a 650 nm y emisión a 615 nm).

Una curva de mejor ajuste se ajusta por un método de suma mínima de cuadrados a la gráfica de %Controlmin con respecto a la concentración de compuesto. A partir de esto puede obtenerse un valor de Cl<sub>50</sub> (concentración inhibitoria que provoca 50% de inhibición de la actividad).

LC = Mediana de los valores de control bajos

= Control bajo: células preincubadas sin compuesto, sin Ab biotinilado en el αLisa

HC = Mediana de los valores de control altos

= Control alto: células preincubadas sin compuesto

$$\% \text{Efecto} = 100 - [(muestra - LC) / (HC - LC) * 100]$$

$$\% \text{Control} = (muestra / HC) * 100$$

$$\% \text{Controlmin} = (muestra - LC) / (HC - LC) * 100$$

Los siguientes compuestos ejemplificados se evaluaron esencialmente tal como se describió anteriormente y se exhibieron la siguiente actividad:

**Tabla 6.**

| Co. N. <sup>º</sup> | Ensayo celular αLisa en células SKNBE2 |  | Abetatal<br>pCl <sub>50</sub> |  |
|---------------------|--|--|-------------------------------|--|
|                     | Abeta 42                               |  |                               |  |
|                     | pCl <sub>50</sub>                      |  |                               |  |
| 1                   | 8.35                                   |  | 8.49                          |  |
| 2                   | 8.96                                   |  | 8.98                          |  |
| 3                   | 8.74                                   |  | 8.79                          |  |
| 4                   | 8.77                                   |  | 8.88                          |  |
| 5                   | 8.43                                   |  | 8.51                          |  |
| 6                   | 8.28                                   |  | 8.32                          |  |
| 7                   | 8.87                                   |  | 8.86                          |  |
| 8                   | 8.33                                   |  | 8.35                          |  |
| 9                   | 7.24                                   |  | 7.25                          |  |
| 10                  | 7.61                                   |  | 7.61                          |  |
| 11                  | 5.38                                   |  | 5.35                          |  |

**Ensayo bioquímico en base a FRET de BACE2**

Este ensayo es un ensayo en base a ensayo de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET). El sustrato para este ensayo contiene la mutación Lys-Met/Asn-Leu 'sueca' del sitio de escisión de beta-secretasa de la proteína precursora amiloide (APP). Este sustrato también contiene dos fluoróforos: ácido (7-metoxicoumarin-4-il)acético (Mca) es un donante fluorescente con longitud de onda de excitación a 320 nm y emisión a 405 nm y 2,4-Dinitrofenilo (Dnp) es un acceptor aplacador propio. La distancia entre esos dos grupos se ha seleccionado de manera que tras la excitación de luz, la energía de fluorescencia del donante es sustancialmente aplacada por el acceptor, a través de transferencia de energía de resonancia. Tras la escisión por la beta-secretasa, el fluoróforo Mca se separa del grupo aplacador Dnp, restaurando el rendimiento completo de la fluorescencia del donante. El aumento de fluorescencia se relaciona de forma lineal con la tasa de proteólisis.

En resumen, en un formato de 384 pocillos se incuba una proteína BACE2 recombinante en una concentración final de 0.4 µg/ml durante 450 minutos a temperatura ambiente con 10 µM de sustrato en solución amortiguadora de incubación (50 mM de solución amortiguadora de citrato pH 5.0, 0.05% de PEG, sin DMSO) en ausencia o presencia de compuesto. Luego, la cantidad de proteólisis se mide directamente mediante medición de fluorescencia a T=0 y T=450 (excitación a 320 nm y emisión a 405 nm). Los resultados se expresan en RFU (unidades de fluorescencia relativa), como diferencia entre T450 y T0.

Una curva de mejor ajuste se ajusta por un método de suma mínima de cuadrados a la gráfica de %Controlmin con respecto a la concentración de compuesto. A partir de esto puede obtenerse un valor de Cl<sub>50</sub> (concentración inhibitoria que provoca 50% de inhibición de la actividad).

LC = Mediana de los valores de control bajos

= Control bajo: Reacción sin enzima

HC = Mediana de los valores de control altos

25 = Control alto: Reacción con enzima

%Efecto = 100-[((muestra-LC) / (HC-LC)) \*100]

%Control = (muestra /HC)\*100

%Controlmin = (muestra-LC) / (HC-LC) \*100

Los siguientes compuestos ejemplificados se evaluaron esencialmente tal como se describió anteriormente y se exhibieron la siguiente actividad:

5    **Tabla 7.**

| Co. N. <sup>o</sup> | Ensayo bioquímico en base a<br>FRET de BACE2 |
|---------------------|--|
|                     | pCl <sub>50</sub>                            |
| 1                   | 8.48   |
| 2                   | 8.27   |
| 3                   | 7.81   |
| 4                   | 8.56   |
| 5                   | 8.73   |
| 6                   | 7.22   |
| 7                   | 7.78   |
| 8                   | 8.52   |
| 9                   | 8.08   |
| 10                  | 8.49   |
| 11                  | 6.3  |

**Demostración de eficacia in vivo**

Los agentes reductores de A $\beta$  de la invención pueden usarse para tratar la AD en mamíferos tales como humanos o que demuestran alternativamente la eficacia en modelos de animales tales como, a modo no taxativo, ratón, rata o cobayo. El mamífero puede no ser diagnosticado con AD, o puede no tener una predisposición genética para AD, pero puede ser transgénico de forma tal que sobreproduzca y eventualmente deposite A $\beta$  de manera similar a aquella que se observa en humanos que padecen AD.

Los agentes reductores de A $\beta$  pueden administrarse en cualquier forma estándar utilizando cualquier método estándar. Por ejemplo, a modo no taxativo, los agentes reductores de A $\beta$  pueden estar en forma de líquido, comprimidos o cápsulas que se administran oralmente o mediante inyección. Los agentes reductores de A $\beta$  pueden administrarse en cualquier dosis que sea suficiente para reducir considerablemente los niveles de A $\beta$  en la sangre, plasma sanguíneo, suero, fluido cerebroespinal (CSF) o cerebro.

Para determinar si la administración aguda de un agente reductor de A $\beta$  reduciría los niveles de A $\beta$  in vivo, se utilizaron roedores no transgénicos, por ejemplo, ratones o ratas. Los animales tratados con el agente reductor de A $\beta$  se examinaron y compararon con aquellos no tratados o tratados con vehículo y se cuantificaron los niveles cerebrales de A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, A $\beta$ 38 y A $\beta$ 37 soluble mediante tecnología de detección de electroquimioluminiscencia de Meso Scale Discovery (MSD). Los períodos de tratamiento variaron de horas (h) a días y se ajustaron en base a los resultados de la reducción de A $\beta$  una vez que pudo establecerse cuánto tardaba el inicio del efecto.

Se muestra un protocolo típico para medir la reducción de A $\beta$  in vivo pero es solo una de las muchas variaciones que podrían utilizarse para optimizar los niveles de A $\beta$  detectables. Por ejemplo, los compuestos reductores de A $\beta$  se formularon en 20% de Captisol® (un sulfobutil éter de  $\beta$ -ciclodextrina) en agua o 20% de hidroxipropil  $\beta$  ciclodextrina. Los agentes reductores de A $\beta$  se administraron una dosis oral única o por una vía de administración aceptable a animales en ayuno durante la noche. Después de 4 h, se sacrificó a los animales y se analizaron los niveles de A $\beta$ .

La sangre se recolectó por decapitación y desangrados en tubos de recolección tratados con EDTA. La sangre se centrifugó a 1900 g durante 10 minutos (min) a 4°C y el plasma se recuperó y se congeló instantáneamente para análisis posterior. El cerebro se retiró del cráneo y rombencéfalo. Se retiró el cerebelo y se separaron el hemisferio izquierdo y derecho. El hemisferio izquierdo se almacenó a -18°C para análisis cuantitativo de los niveles del compuesto de prueba. El hemisferio derecho se enjuagó con solución salina tamponada con fosfato (PBS) y se congeló inmediatamente sobre hielo seco y se almacenó a -80°C hasta la homogenización para ensayos bioquímicos.

Se resuspendieron los cerebros de ratón de animales no transgénicos en 8 volúmenes de 0.4% de DEA (dielamina) /50 mM de inhibidores de proteasa que contenían NaCl (Roche-11873580001 o 04693159001) por gramo de tejido, por ejemplo, para 0.158 g de cerebro, agregar 1.264 ml de 0.4% de DEA. Todas las muestras se homogenizaron en el sistema FastPrep-24 (MP Biomedicals) utilizando matriz D de lisado (MPBio #6913-100) a 6m/s durante 20 segundos. Los homogenados se centrifugaron a 20800 x g durante 5 min y se recogieron los sobrenadantes. Los sobrenadantes se centrifugaron a 221.300 x g durante 50 min. Los sobrenadantes de alta velocidad resultantes se transfirieron luego a tubos Eppendorf nuevos. Nueve partes de sobrenadante se neutralizaron con 1 parte 0.5 M Tris-HCl pH 6.8 y se utilizaron para cuantificar A $\beta$ .

Para cuantificar la cantidad de A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, A $\beta$ 38 y A $\beta$ 37 en la fracción soluble de los homogenados cerebrales, la detección específica simultánea de A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, A $\beta$ 38 y A $\beta$ 37 se realizó utilizando tecnología de detección de múltiplex de electroquimioluminiscencia de MSD. En este ensayo los anticuerpos monoclonales purificados específicos para Abeta37 (JRD/A $\beta$ 37/3), Abeta38 (J&JPRD/A $\beta$ 38/5), Abeta40 (JRF/cA $\beta$ 40/28) y Abeta42 (JRF/cA $\beta$ 42/26) se recubrieron sobre placas de MSD 4-plex. En resumen, los estándares (una dilución de A $\beta$ 42, A $\beta$ 40, A $\beta$ 38 y A $\beta$ 37 sintéticos) se prepararon en un tubo Eppendorf de 1.5 ml en Ultraculture, con concentraciones finales en el rango de 10000 a 0.3 pg/m. Las muestras y estándares se coincubaron con un anticuerpo JRF/rA $\beta$ /2 etiquetado con una Sulfo-etiqueta al extremo N de A $\beta$  como anticuerpo detector. Se agregaron luego 50  $\mu$ l de mezclas de conjugado/muestra o conjugado/estándares a la placa recubierta con el anticuerpo. La placa se dejó incubar durante la noche a 4°C con el fin de permitir la formación del complejo de anticuerpo-amiloide. Tras esta incubación y los posteriores pasos de lavado se finalizó el ensayo agregando una solución amortiguadora de lectura de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD).

La SULFO-ETIQUETA emite luz sobre la estimulación electroquímica iniciada en el electrodo. Se utilizó el instrumento MSD Sector SI6000 para lectura de señal.

En este modelo, una reducción de A $\beta$  en comparación con los animales tratados sería ventajosa, en particular una reducción de A $\beta$  con al menos 10% más en particular una reducción de A $\beta$  con al menos 20%.

### Resultados

Los resultados se muestran en la **Tabla 8** (el valor para animales sin tratar como control (Ctrl) se fija a 100):

**Tabla 8.**

| Co.<br>N. <sup>o</sup> | A $\beta$ 40 (% vs<br>Ctrl)_Media | A $\beta$ 42 (% vs<br>Ctrl)_Media | Dosis | Vía de<br>administración | Tiempo después<br>de la<br>administración |
|------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|--------------------------|---|
| 1                      | 47                                | 47                                | 10    | s.c.                     | 2 h                                       |
| 1                      | 73                                | 55                                | 10    | s.c.                     | 4 h                                       |
| 2                      | 44                                | 44                                | 10    | s.c.                     | 2 h                                       |
| 2                      | 61                                | 50                                | 10    | s.c.                     | 4 h                                       |
| 8                      | 56                                | 56                                | 10    | s.c.                     | 2 h                                       |
| 8                      | 136                               | 105                               | 10    | s.c.                     | 4 h                                       |
| 10                     | 95                                | 79                                | 10    | p.o.                     | 2 h                                       |
| 10                     | 116                               | 87                                | 10    | p.o.                     | 4 h                                       |

s.c significa subcutáneo; p.o. significa oral

### EJEMPLOS TEÓRICOS DE COMPOSICIÓN

"Principio activo", tal como se utiliza en estos ejemplos, se refiere a un compuesto final de Fórmula (I), a las sales farmacéuticamente aceptables del mismo, los solvatos y las formas estereoquímicamente isoméricas del mismo.

A continuación se describen ejemplos típicos de recetas para la formulación de la invención:

1. Comprimidos

|    |                        |              |
|----|------------------------|--------------|
| 5  | Ingrediente activo     | 5 a 50 mg    |
|    | Difosfato de calcio    | 20 mg        |
|    | Lactosa                | 30 mg        |
|    | Talco                  | 10 mg        |
|    | Esterarato de magnesio | 5 mg         |
| 10 | Almidón de papa        | hasta 200 mg |

En este ejemplo, el principio activo puede reemplazarse por la misma cantidad de cualquiera de los compuestos de acuerdo con la presente invención, en particular por la misma cantidad de cualquiera de los compuestos exemplificados.

2. Suspensión

15 Se prepara una suspensión acuosa para la administración oral de modo que cada mililitro contenga 1-5 mg de uno de los compuestos activos, 50 mg de carboximetilcelulosa de sodio, 1 mg de benzoato de sodio, 500 mg de sorbitol y agua hasta 1 mL.

3. Inyectable

20 Se prepara una composición parenteral agitando un 1.5% en peso de un principio activo de la invención en un 10% en volumen de propilenglicol en agua.

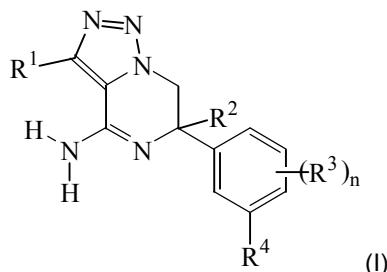
4. Pomada

|                     |             |
|---------------------|-------------|
| Ingrediente activo  | 5 a 1000 mg |
| Alcohol estearílico | 3 g         |
| Lanolina            | 5 g         |
| 25 Petróleo blanco  | 15 g        |
| Aqua                | hasta 100 g |

En este ejemplo, el principio activo puede reemplazarse por la misma cantidad de cualquiera de los compuestos de acuerdo con la presente invención, en particular por la misma cantidad de cualquiera de los compuestos exemplificados.

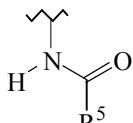
## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I)



o una forma estereoisomérica del mismo, en donde

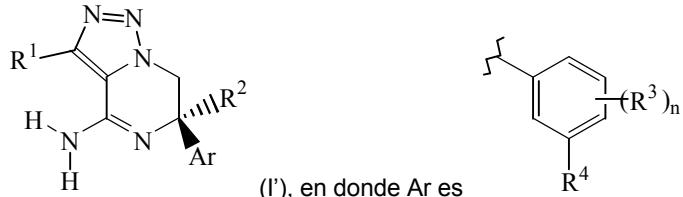
- 5    R<sup>1</sup> se selecciona del grupo de hidrógeno y halo;
- R<sup>2</sup> se selecciona del grupo de alquiloC<sub>1-4</sub> o alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido por uno o más sustituyentes halo;
- R<sup>3</sup> es en cada caso un sustituyente halo seleccionado independientemente;
- n es un número entero seleccionado entre 1 y 2;
- R<sup>4</sup> es (a):



- 10   (a)   en donde R<sup>5</sup> es heteroarilo opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados cada uno independientemente del grupo de halo, -CN, alquiloC<sub>1-4</sub> opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes halo y alquilC<sub>1-4</sub>oxi opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes halo;

- 15   en donde heteroarilo es un heterocírculo aromático de 5 miembros que se selecciona del grupo que consiste en oxazol y pirazol; o es un heterocírculo aromático de 6 miembros que se selecciona del grupo que consiste en piridinilo, pirimidinilo y pirazinilo;
- o una sal de adición o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la configuración que se muestra en la Fórmula (I')



- 20   y en donde n, R, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son tal como se han definido en la reivindicación 1.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es

N-[3-[(6R)-4-Amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil]-5-metoxipirazin-2-carboxamida;

N-[3-[(6R)-4-Amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil]-5-cianopiridin-2-carboxamida;

N-[3-[(6R)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil]-5-fluoropiridin-2-carboxamida;

- 25   N-[3-[(6R)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil]-5-cloropiridin-2-carboxamida;

N-[3-[(6R)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil]-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)pirazin-2-

carboxamida;

*N*-{3-[(6*R*)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-4-cloro-1-(difluorometil)-1*H*-pirazol-3-carboxamida;

5      *N*-{3-[(6*R*)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-(fluorometoxi)pirazin-2-carboxamida;

(*rac*)-*N*-{3-[4-amino-6-(fluorometil)-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4-fluorofenil}-5-fluoropiridin-2-carboxamida; o

10     *N*-{3-[(6*R*)-4-amino-6-metil-6,7-dihidro[1,2,3]triazolo[1,5-a]pirazin-6-il]-4,5-difluorofenil}-5-fluoropiridin-2-carboxamida;

o una sal de adición o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 y un portador farmacéuticamente aceptable.

15     5. Un proceso para preparar una composición farmacéutica tal como se define en la reivindicación 4, caracterizado por que un portador farmacéuticamente aceptable se mezcla bien con una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

6. Un compuesto tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una composición farmacéutica tal como se define en la reivindicación 4 para su uso como un medicamento.

20     7. Un compuesto tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una composición farmacéutica tal como se define en la reivindicación 4 para su uso en el tratamiento o la prevención de enfermedad de Alzheimer (AD), deficiencia cognitiva leve (MCI), trastorno de la memoria, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, demencia con parálisis nuclear progresiva, demencia con degeneración córtico-basal, demencia combinada con Alzheimer y de tipo vascular, trastorno de Alzheimer con enfermedad difusa con cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide, angiopatía amiloide cerebral, demencia multiinfarto, síndrome de Down, demencia asociada con enfermedad de Parkinson, demencia tipo Alzheimer, demencia senil tipo Alzheimer, demencia vascular, demencia debida a enfermedad por VIH, demencia debida a traumatismo craneal, demencia debida a enfermedad de Huntington, demencia debida a enfermedad de Pick, demencia debida a enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, demencia frontotemporal, demencia pugilística, demencia asociada con beta-amiloide, amiloidosis del cerebro y otros órganos (relacionada y no relacionada con la edad), hemorragia cerebral hereditaria tipo holandesa con amiloidosis, lesión cerebral traumática (TBI), epilepsia del lóbulo temporal (TLE), hipoxia, isquemia, alteraciones en el metabolismo cerebral, degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos, esclerosis lateral amiotrófica (ALS), esclerosis múltiple (MS), trombosis arterial, enfermedades autoinmunes/inflamatorias, cáncer tal como cáncer de mama, enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio y accidente cerebrovascular, hipertensión, dermatomiositis, enfermedad por priones (enfermedad de Creutzfeld-Jakob), enfermedades gastrointestinales, glioblastoma multiforme, enfermedad de Graves, enfermedad de Huntington, miositis por cuerpos de inclusión (IBM), reacciones inflamatorias, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Kostmann, lupus eritematoso, miofascitis macrofágica, artritis idiopática juvenil, artritis granulomatosa, melanoma maligno, mieloma múltiple, artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, ataxia espinocerebelar 1, ataxia espinocerebelar 7, enfermedad de Whipple y enfermedad de Wilson.

40     8. Un compuesto para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en donde el trastorno es enfermedad de Alzheimer o diabetes tipo 2.

9. Un compuesto tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una composición farmacéutica tal como se define en la reivindicación 4 para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o afección que se selecciona de trastorno neurocognitivo debido a enfermedad de Alzheimer, trastorno neurocognitivo debido a lesión cerebral traumática, trastorno neurocognitivo debido a enfermedad de cuerpos de Lewy, trastorno neurocognitivo debido a enfermedad de Parkinson, trastorno neurocognitivo vascular y diabetes tipo 2.

45     10. Un compuesto para su uso tal como se define en la reivindicación 9, en donde la enfermedad o afección es un trastorno neurocognitivo debido a la enfermedad de Alzheimer o la diabetes de tipo 2.