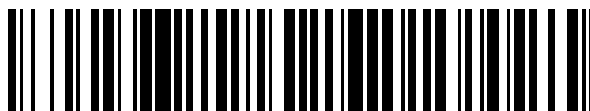


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 749 009**

51 Int. Cl.:

C07D 471/10 (2006.01)

C07D 491/10 (2006.01)

A61K 31/439 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.09.2015 PCT/EP2015/070449**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.03.2016 WO16038007**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.09.2015 E 15757523 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.08.2019 EP 3191487**

54 Título: **Inhibidores espirocíclicos de Catepsina C**

30 Prioridad:

12.09.2014 EP 14184613

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
18.03.2020

73 Titular/es:

**BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL
GMBH (100.0%)**

**Binger Strasse 173
55216 Ingelheim am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**VINTONYAK, VIKTOR;
GRAUERT, MATTHIAS;
GRUNDL, MARC y
PAUTSCH, ALEXANDER**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 749 009 T3

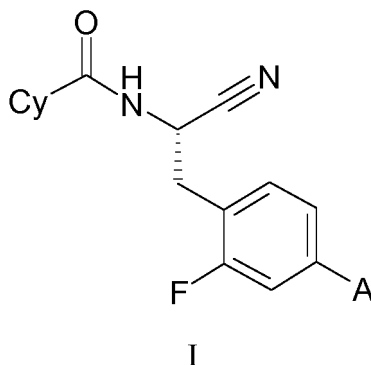
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Inhibidores espirocíclicos de Catepsina C

5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula I



10 en la que A y Cy tienen uno de los significados que se indican en la memoria descriptiva y a su uso como inhibidor de Catepsina C, a composiciones farmacéuticas que contienen el mismo y a métodos de uso del mismo como agente para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades relacionadas con la actividad de la dipeptidil peptidasa I, por ejemplo, enfermedades respiratorias.

- 15 Información antecedente
- El documento WO2004110988 desvela inhibidores de peptidil nitrilo como inhibidores de la dipeptidil-peptidasa I (DPPI) para el tratamiento de una serie de enfermedades.
 - 20 • Los documentos WO2009074829 y WO2010142985 también desvelan inhibidores de peptidil nitrilo como inhibidores de la dipeptidil-peptidasa I (DPPI) para el tratamiento del asma, la EPOC o la rinitis alérgica.
 - El documento WO2013041497 desvela N-[1-ciano-2-(fenil)etil]-2-azabicyclo[2.2.1]heptano-3-carboxamidas sustituidas como inhibidores de la dipeptidil-peptidasa I (DPPI) para el tratamiento de, por ejemplo, enfermedades respiratorias.

25 Breve resumen de la invención

La dipeptidil-aminopeptidasa I (DPPI o Catepsina C; EC3.4.141), es una cisteína proteasa lisosómica capaz de retirar dipéptidos del extremo amino de sustratos proteínicos. DPPI se descubrió por primera vez por Gutman y Fruton en 1948 (*J. Biol. Chem* 174: 851-858, 1948). El ADNc de la enzima humana se describió en 1995 (Paris et al.; *FEBS Lett* 369: 326-330, 1995). La proteína DPPI se procesa en una enzima proteolíticamente activa madura que consiste en una cadena pesada, una cadena ligera y un propéptido que permanece asociado a la enzima activa (Wolters et al.; *J. Biol. Chem.* 273: 15514-15520, 1998). Mientras que las otras Catepsinas de cisteína (por ejemplo, B, H, K, L y S) son monómeros, DPPI es un tetrámero de 200 kD con 4 subunidades idénticas, cada una compuesta por 3 cadenas polipeptídicas diferentes. DPPI se expresa constitutivamente en muchos tejidos con los niveles más altos en pulmón, riñón, hígado y bazo (Kominami et al.; *Biol. Chem. Hoppe Seyler* 373: 367-373, 1992). De acuerdo con su papel en la activación de las serina proteasas de células hematopoyéticas, DPPI también se expresa de forma relativamente alta en neutrófilos, linfocitos citotóxicos, linfocitos citolíticos naturales, macrófagos alveolares y mastocitos. Datos recientes de ratones con deficiencia de DPPI sugieren que, además de ser una enzima importante en la degradación de proteínas lisosómicas, DPPI también funciona como la enzima clave en la activación de serina proteasas granulares en linfocitos T citotóxicos y linfocitos citolíticos naturales (granzimas A y B; Pham et al.; *Proc. Nat. Acad. Sci* 96: 8627-8632, 1999), mastocitos (cimasa y triptasa; Wolter et al.; *J Biol. Chem.* 276: 18551-18556, 2001) y neutrófilos (Catepsina G, elastasa y proteinasa 3; Adkison et al.; *J Clin. Invest.* 109: 363,371, 2002). Una vez activadas, estas proteasas son capaces de degradar diversos componentes de la matriz extracelular, lo que puede provocar daño tisular e inflamación crónica.

Por tanto, los inhibidores de la Catepsina C podrían ser productos terapéuticos útiles para el tratamiento de enfermedades inflamatorias dominadas por neutrófilos tales como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), el enfisema pulmonar, el asma, la esclerosis múltiple y la fibrosis quística (Guay et al.; *Curr. Topics Med. Chem.* 10: 708-716, 2010; Laine y Busch-Petersen; *Expert Opin. Ther. Patents* 20: 497-506, 2010). La artritis reumatoide también es otra enfermedad inflamatoria crónica en la que DPPI parece desempeñar un papel. Los neutrófilos se reclutan en el sitio de inflamación articular y liberan Catepsina G, elastasa y proteinasa 3, proteasas que se cree que son responsables de la destrucción del cartílago asociada a la artritis reumatoide. De hecho, los ratones con deficiencia de DPPI estaban protegidos contra la artritis aguda inducida por la transferencia pasiva de

anticuerpos monoclonales contra el colágeno de tipo II (Adkison et al.; *J Clin. Invest.* 109: 363,371, 2002).

A la luz del papel que desempeña la DPPI en la activación de determinadas serina proteasas proinflamatorias, el problema de la presente invención es preparar compuestos que inhiban su actividad, que inhiban de este modo la actividad serina proteasa corriente abajo.

Se ha descubierto sorprendentemente que los compuestos espirocíclicos de la presente invención poseen

- una actividad frente a Catepsina C (DPPI) potente, que presenta preferentemente una CI_{50} para la inhibición de DPPI [μM] $< 0,0050$, particularmente preferida $< 0,0030$,

Además, los compuestos de la presente invención presentan las siguientes capacidades, que son favorables para su eficacia farmacológica:

- alta actividad celular, por ejemplo, inhibición del procesamiento de elastasa de neutrófilos en la estirpe celular U937, que presenta preferentemente una CI_{50} [μM] $< 0,5$, particularmente preferida $< 0,003$.
- alta selectividad contra otras Catepsinas, por ejemplo, Catepsina K, y
- en general, propiedades farmacocinéticas deseables, por ejemplo, estabilidad metabólica, que presenta preferentemente una estabilidad in vitro en incubaciones de microsomas hepáticos humanos de $t_{1/2}$ [min] > 110 , particularmente preferida ≥ 120 .

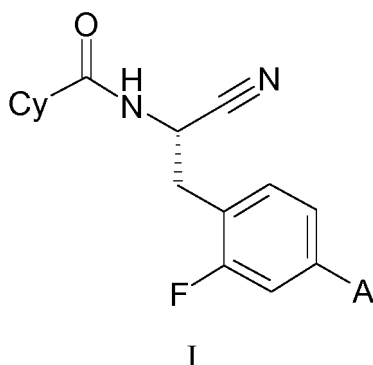
También se ha descubierto sorprendentemente que los compuestos de la presente invención muestran una alta inhibición de la actividad de elastasa de neutrófilos en el lisado celular de FLBA (fluido de lavado broncoalveolar) en un modelo de ratón de acoplamiento a diana.

Además, se ha descubierto sorprendentemente que los compuestos espirocíclicos de la presente invención forman un puente salino adicional al Glu275 de la Catepsina C que conduce a la alta actividad enzimática y celular de esta clase de compuestos. Esta interacción adicional de la amina espiro-cíclica (por ejemplo, espiro-azetidina en el Ejemplo 11 y espiro-pirrolidina en el Ejemplo 16) se ha verificado mediante experimentos de cocrystalización de la proteína Catepsina C con los Ejemplos 11 y 16. En ambos casos, el átomo de nitrógeno básico forma un puente salino a Glu275.

Descripción detallada de la invención

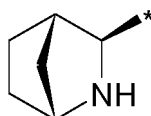
Sorprendentemente se ha descubierto que el problema mencionado anteriormente se resuelve mediante compuestos de fórmula I de la presente invención.

Por tanto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

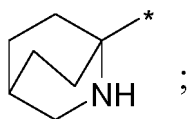


en la que

Cy es

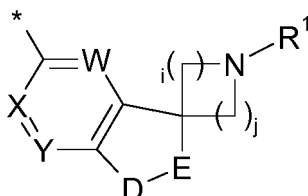


o



A es

5



en la que

- 10 W se selecciona entre el grupo que consiste en CH y N;
 X se selecciona entre el grupo que consiste en CH y N;
 Y se selecciona entre el grupo que consiste en CH y N;
 a condición de que un máximo de uno de W, X e Y puede ser N;
 D-E se selecciona entre el grupo que consiste en N(R²)-C(O), CH₂CH₂, C(O)-O y CH₂-O;
 R² se selecciona entre el grupo que consiste en H y alquilo C₁₋₃;
 15 R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁₋₃, CH₃OCH₂CH₂-, oxetanilo, tetrahydrofuranilo, 4-tetrahidropiranilo y 3-tetrahidropiranilo;
 i es 1, 2 o 3;
 j es 1, 2 o 3
 a condición de que la suma de i+j sea 2, 3 o 4.

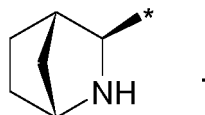
20

Realizaciones preferidas

Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

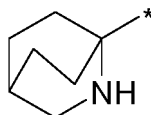
25

Cy es



30 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

Cy es



35

Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

40 R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH₃- y oxetanilo;

Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

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

Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

50 R² es H.

Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

5 R^2 es CH_3 ;

Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

10 D-E es CH_2-O .

Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

15 R^1 se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH_3 y oxetanilo;

R^2 es CH_3 ;

W se selecciona entre el grupo que consiste en CH y N;

X se selecciona entre el grupo que consiste en CH y N;

Y se selecciona entre el grupo que consiste en CH;

20 a condición de que un máximo de uno de W, X e Y puede ser N;

D-E se selecciona entre el grupo que consiste en $N(R^2)-C(O)$, CH_2CH_2 , $C(O)-O$ y CH_2-O ;

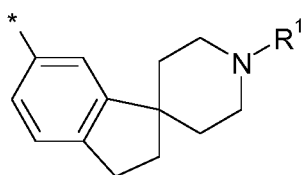
i es 1 o 2;

j es 1 o 2;

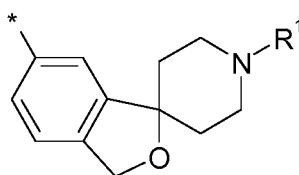
25 a condición de que la suma de i+j sea 2, 3 o 4.

Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

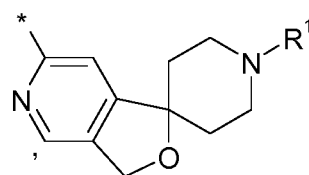
30 A se selecciona entre el grupo que consiste en las fórmulas A1 a A14:



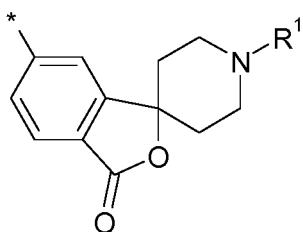
A1



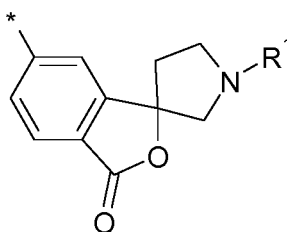
A2



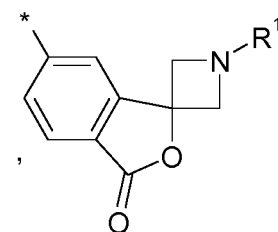
A3



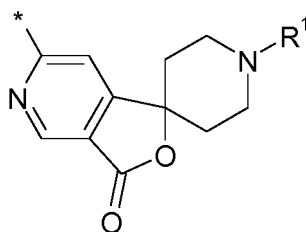
A4



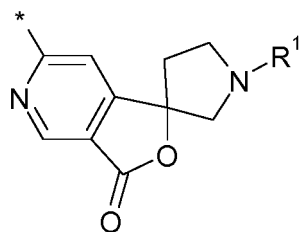
A5



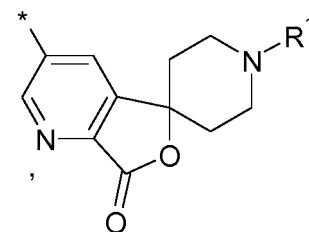
A6



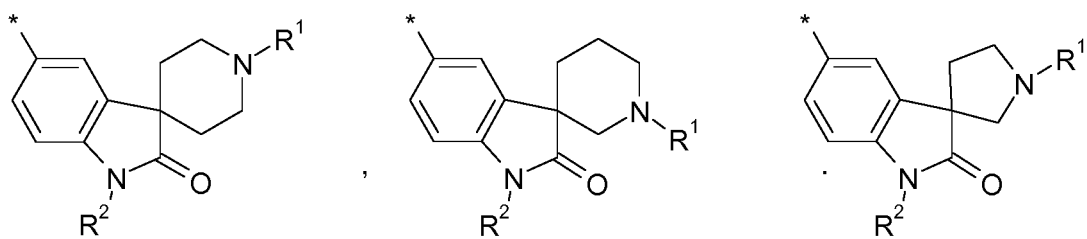
A7



A8



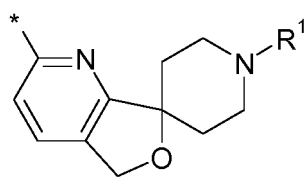
A9



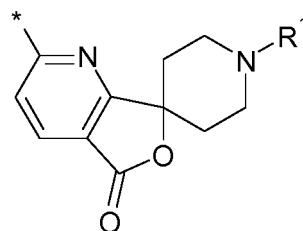
A10

A11

A12

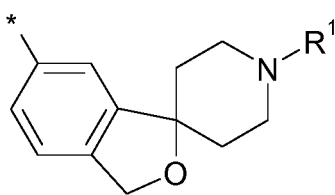


A13

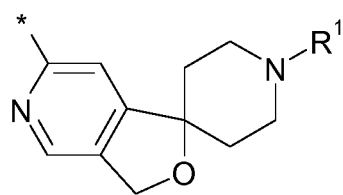


A14

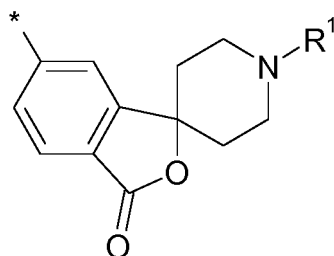
- 5 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en A2, A3, A4, A5, A6, A7, A10, A13 y A14.



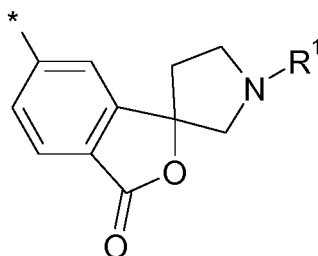
A2,



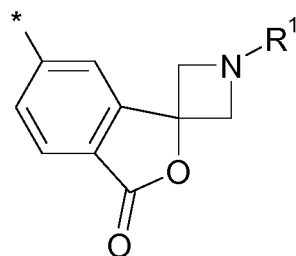
A3,



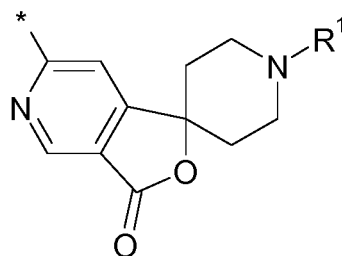
A4,



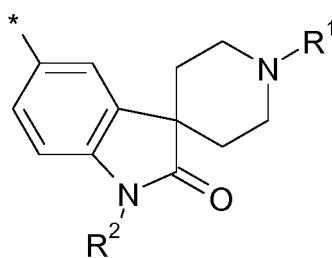
A5



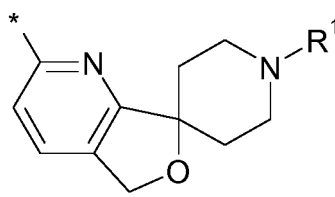
A6,



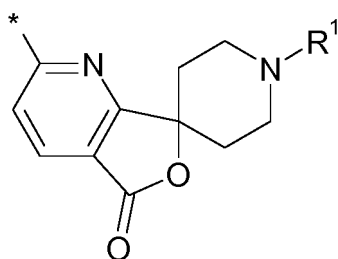
A7,



A10,

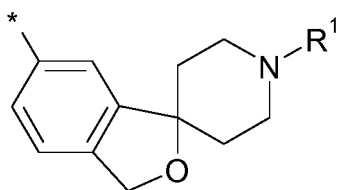


A13,

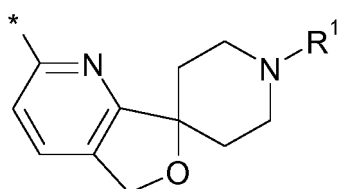


A14.

5 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en A2 y A13

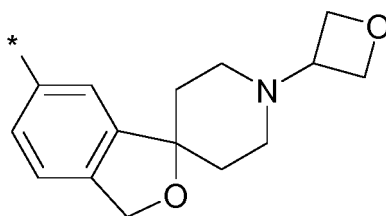


A2,



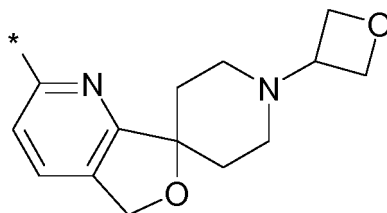
A13

10 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A es un grupo de fórmula A2.1.



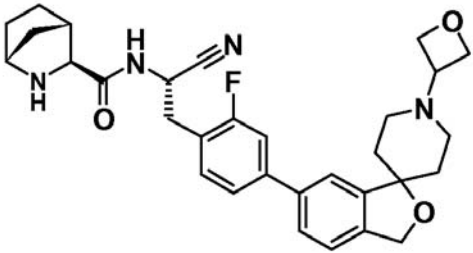
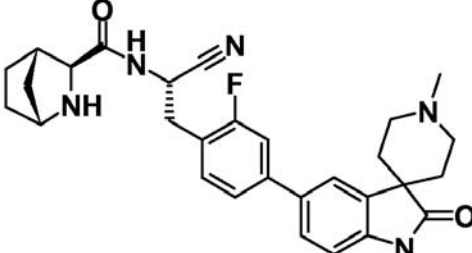
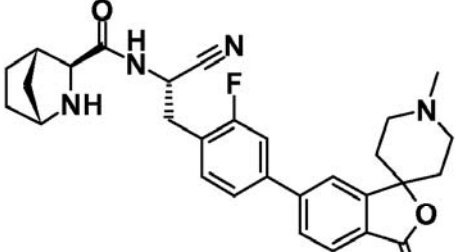
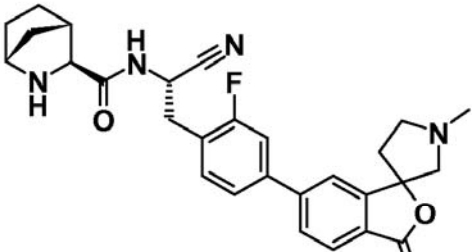
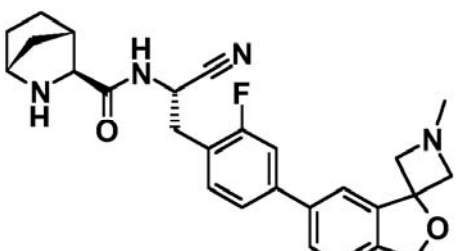
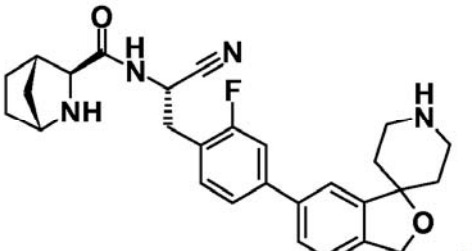
A2.1

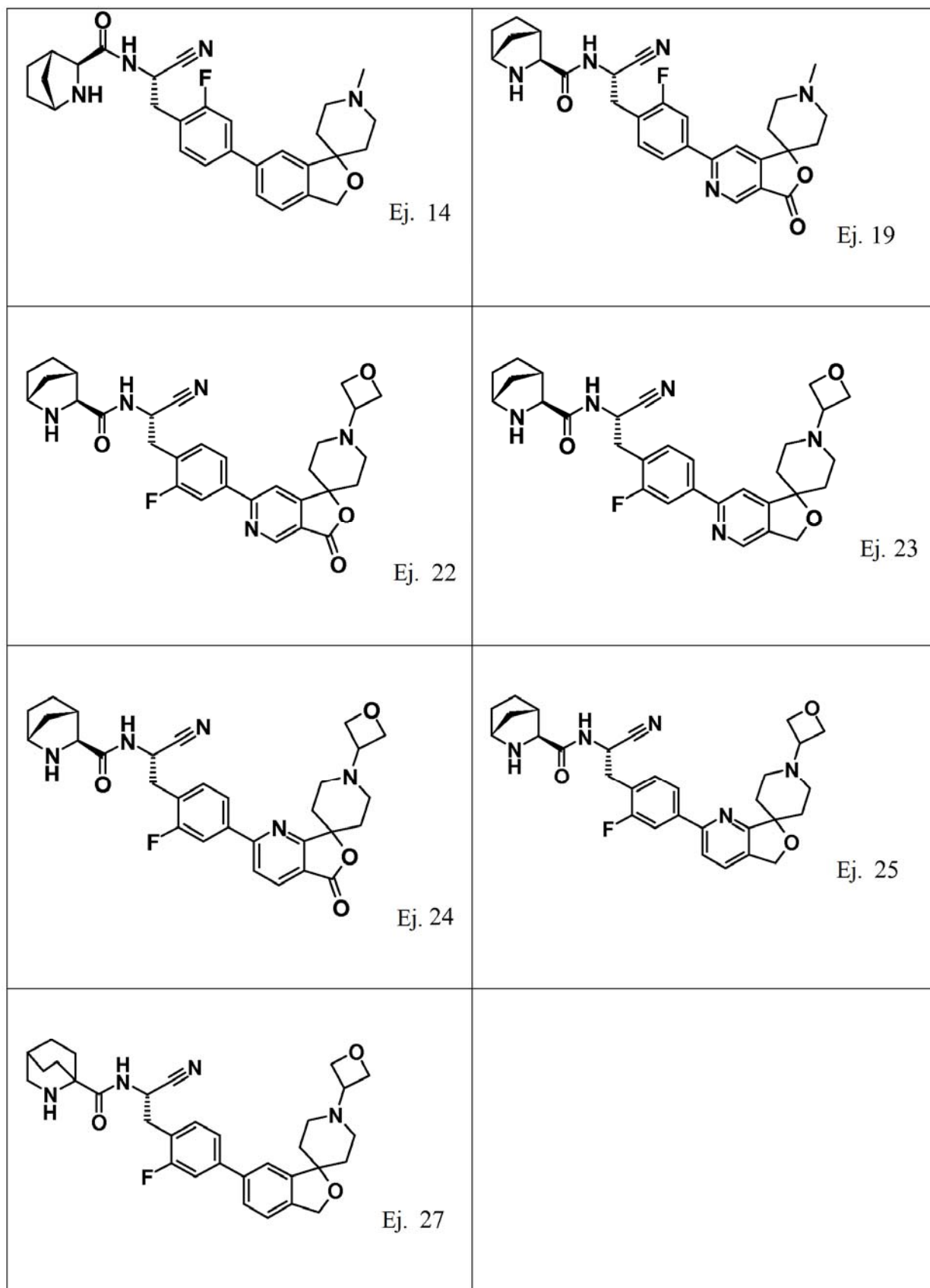
15 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A es un grupo de fórmula A13.1



A13.1

20 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, seleccionados entre el grupo que consiste en los ejemplos 1, 5, 8, 10, 12, 13, 14, 19, 22, 23, 24, 25 y 27.

 Ej. 1	 Ej. 5
 Ej. 8	 Ej. 10
 Ej. 12	 Ej. 13



Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

- R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H y CH₃.
- Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 5 R¹ es oxetanilo.
- Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 10 R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH₃ y oxetanilo;
R² se selecciona entre el grupo que consiste en H y CH₃.
- Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 15 R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H y CH₃;
R² se selecciona entre el grupo que consiste en H y CH₃.
- 20 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH₂-O, C(O)-O y N(R²)-C(O).
- 25 Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH₂-O y C(O)-O.
- 30 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 35 R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH₃ y oxetanilo;
R² se selecciona entre el grupo que consiste en H y CH₃.
D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH₂-O, C(O)-O y N(R²)-C(O).
- Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 40 R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH₃, oxetanilo;
D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH₂-O y C(O)-O.
- Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 45 R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en oxetanilo;
D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH₂-O y C(O)-O.
- Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 50 W es CH;
X es CH;
Y es CH.
- 55 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 60 W es CH;
X es N;
Y es CH.
- Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 65 W es N;

- X es CH;
Y es CH.
- 5 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- W es CH;
X es CH;
Y es N.
- 10 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 15 R^1 se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH_3 - y oxetanilo;
 R^2 se selecciona entre el grupo que consiste en H y CH_3 -;
D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH_2 -O, C(O)-O y $N(R_2)$ -C(O);
W es CH;
X es CH;
Y es CH.
- 20 Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 25 R^1 se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH_3 - y oxetanilo;
D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH_2 -O y C(O)-O;
W es CH;
X es CH;
Y es CH.
- 30 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 35 R^1 se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH_3 - y oxetanilo;
 R^2 se selecciona entre el grupo que consiste en H y CH_3 -;
D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH_2 -O, C(O)-O y $N(R_2)$ -C(O);
W es N;
X es CH;
Y es CH.
- 40 Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 45 R^1 se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH_3 - y oxetanilo;
D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH_2 -O y C(O)-O;
W es N;
X es CH;
Y es CH.
- 50 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 55 R^1 se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH_3 - y oxetanilo;
 R^2 se selecciona entre el grupo que consiste en H y CH_3 -;
D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH_2 -O, C(O)-O y $N(R_2)$ -C(O);
W es CH;
X es N;
Y es CH.
- 60 Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que
- 65 R^1 se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH_3 - y oxetanilo;
D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH_2 -O y C(O)-O;
W es CH;
X es N;
Y es CH.

Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

- 5 R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH₃- y oxetanilo;
 R² se selecciona entre el grupo que consiste en H y CH₃-;
 D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH₂-O, C(O)-O y N(R₂)-C(O);
 W es CH;
 X es CH;
 10 Y es N.

Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que

- 15 R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH₃- y oxetanilo;
 D-E se selecciona entre el grupo que consiste en CH₂-O y C(O)-O;
 W es CH;
 X es CH;
 20 Y es N.

Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en A2, A3, A4, A5, A6, A7, A8, A9, A10, A11, A12, A13 y A14.

- 25 Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en A1, A2, A3, A4, A6, A7, A9, A10, A13 y A14.

Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A se selecciona entre A4, A5, A6, A7 A8, A9 y A14.

- 30 Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en A10, A11 y A12.

- 35 Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en A2, A3, A9, A13 y A14.

Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en A2, A3 y A13.

- 40 Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A es A2.

Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que A es A13.

- 45 Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que i es 2 y j es 1.

Se prefieren los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que i es 1 y j es 1.

- 50 Se prefieren en particular los compuestos anteriores de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que i es 2 y j es 2.

Se prefieren los compuestos de fórmula I, en la que los compuestos se seleccionan entre el grupo que consiste en los ejemplos 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 22, 23, 24, 25, 26 y 27.

- 55 Cualquiera y cada una de las definiciones de R¹, R², Cy, A, D, E, W, X, Y, i y j pueden combinarse entre sí.

Una realización adicional de la presente invención es un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como medicamento.

- 60 Una realización adicional de la presente invención es un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como medicamento para el tratamiento del asma y enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias gastrointestinales, glomerulonefritis, enfermedades eosinofílicas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, infección por microbios patógenos, artritis reumatoide, enfermedades neutrofílicas, fibrosis quística (FQ), fibrosis no quística, fibrosis pulmonar idiopática, bronquiectasia, vasculitis asociada a AACN, cáncer de pulmón, enfisema, bronquitis crónica, lesión pulmonar aguda (LPA), síndrome de dificultad respiratoria aguda

(SDRA), hipertensión pulmonar, hipertensión arterial pulmonar (HAP) y deficiencia de alfa-1-antitripsina (DAAT), obesidad e inflamación relacionada, resistencia a la insulina, diabetes, hígado graso y esteatosis hepática. Se prefiere un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como medicamento para el tratamiento del asma y enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias gastrointestinales, enfermedades eosinofílicas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfisema, infección por microbios patógenos, artritis reumatoide y aterosclerosis. Se prefiere en particular un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso como medicamento para el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y el enfisema.

Una realización adicional de la presente invención es una composición farmacéutica, caracterizada porque contiene uno o más compuestos de fórmula o una sal farmacéuticamente activa de los mismos.

Una realización adicional de la presente invención es un método de tratamiento o prevención de enfermedades en el que los inhibidores de la actividad de DPPI tienen un beneficio terapéutico, método que comprende la administración de una cantidad terapéutica o preventivamente eficaz de un compuesto de fórmula 1 a un paciente que lo necesite.

Una realización adicional de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende adicionalmente un compuesto de fórmula I, un compuesto farmacéuticamente activo seleccionado entre el grupo que consiste en betamiméticos, anticolinérgicos, corticoesteroides, inhibidores de PDE4, antagonistas de LTD4, inhibidores de EGFR, inhibidores de CRTH2, inhibidores de 5 LO, antagonistas de receptores de histamina, antagonistas de CCR9 e inhibidores de SYK, inhibidores de EN, inhibidores de MMP9 e inhibidores de MMP12, pero también combinaciones de dos o tres sustancias activas.

TÉRMINOS Y DEFINICIONES UTILIZADOS

Los términos que no se definen específicamente en el presente documento deberían tener los significados que un experto en la materia les otorgaría a la luz de la divulgación y el contexto. Sin embargo, como se usa en la memoria descriptiva, a menos que se especifique lo contrario, los siguientes términos tienen el significado indicado y se cumplen las siguientes convenciones.

En los grupos, radicales o restos que se definen a continuación, el número de átomos de carbono con frecuencia se especifica sucediendo al grupo, por ejemplo, alquilo C₁₋₆ significa un grupo o radical alquilo que tiene de 1 a 6 átomos de carbono.

En general, en grupos individuales como HO, H₂N, S(O), S(O)₂, NC (ciano), HOOC, F₃C o similares, el experto puede ver el punto o puntos de unión del radical a la molécula a partir de las valencias libres del propio grupo. Para grupos combinados que comprenden dos o más subgrupos, el último subgrupo nombrado es el punto de unión del radical, por ejemplo, el sustituyente "aril-alquil C₁₋₄-" significa un grupo arilo que está unido a un grupo alquil C₁₋₄-, el último de los cuales está unido al núcleo o al grupo al que está unido el sustituyente. Como alternativa, "*" indica dentro de una entidad química, el punto de unión.

En caso de que un compuesto de la presente invención se represente en forma de un nombre químico y como una fórmula, en caso de cualquier discrepancia, prevalecerá la fórmula. Puede usarse un asterisco en las subfórmulas para indicar el enlace que está conectado a la molécula central como se define.

Muchos de los siguientes términos pueden usarse repetidamente en la definición de una fórmula o grupo y, en cada caso, tienen uno de los significados proporcionados anteriormente, independientemente entre sí.

El término "sustituido", como se usa en el presente documento, significa que uno cualquiera o más hidrógenos en el átomo designado se reemplazan con una selección del grupo indicado, siempre que no se exceda la valencia normal del átomo designado y que la sustitución dé como resultado un compuesto estable.

Las expresiones "prevención", "profilaxis", "tratamiento profiláctico" o "tratamiento preventivo" utilizadas en el presente documento deben entenderse como sinónimos y en el sentido de que el riesgo de desarrollar una afección mencionada anteriormente en el presente documento se reduce, especialmente en un paciente que tiene un riesgo elevado de dicha afección o una anamnesis correspondiente, por ejemplo, riesgo elevado de desarrollar un trastorno metabólico tal como la diabetes o la obesidad u otro trastorno mencionado en el presente documento. Por tanto, la expresión "prevención de una enfermedad", como se usa en el presente documento, significa el tratamiento y cuidado de un individuo en riesgo de desarrollar la enfermedad antes del inicio clínico de la enfermedad. El fin de la prevención es combatir el desarrollo de la enfermedad, afección o trastorno e incluye la administración de los compuestos activos para prevenir o retrasar el inicio de los síntomas o complicaciones y prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades, afecciones o trastornos relacionados. El éxito de dicho tratamiento preventivo se refleja estadísticamente por una incidencia reducida de dicha afección dentro de una población de pacientes en riesgo de la presente afección en comparación con una población de pacientes equivalente sin tratamiento preventivo.

La expresión "tratamiento" o "terapia" significa el tratamiento terapéutico de pacientes que ya han desarrollado una o más de dichas afecciones en forma manifiesta, aguda o crónica, incluyendo el tratamiento sintomático con el fin de

aliviar los síntomas de la indicación específica o el tratamiento causal con el fin de revertir o revertir parcialmente la afección o retrasar la progresión de la indicación en la medida de lo posible, dependiendo de la afección y la gravedad de la misma. Por tanto, la expresión "tratamiento de una enfermedad" como se usa en el presente documento significa el tratamiento y cuidado de un paciente que ha desarrollado la enfermedad, afección o trastorno. El fin del tratamiento es combatir la enfermedad, afección o trastorno. El tratamiento incluye la administración de los compuestos activos para eliminar o controlar la enfermedad, afección o trastorno, así como para aliviar los síntomas o complicaciones asociados a la enfermedad, afección o trastorno.

A menos que se indique específicamente, a lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas, una fórmula o un nombre químico dados abarcarán tautómeros y todos los estereoisómeros, isómeros ópticos y geométricos (por ejemplo, enantiómeros, diastereómeros, isómeros E/Z, etc.) y racematos de los mismos, así como mezclas en diferentes proporciones de los enantiómeros separados, mezclas de diastereómeros o mezclas de cualquiera de las formas anteriores donde existen dichos isómeros y enantiómeros, así como sales, incluyendo las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y solvatos de los mismos, tal como, por ejemplo, hidratos incluyendo solvatos de los compuestos libres o solvatos de una sal del compuesto.

La frase "farmacéuticamente aceptable" se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del buen criterio médico, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación y proporcional a una relación beneficio/riesgo razonable.

Como se usa en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refieren a derivados de los compuestos que se desvelan en los que el compuesto parental se modifica haciendo sales de ácido o base del mismo. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos minerales u orgánicos de restos básicos tales como aminas; sales alcalinas u orgánicas de restos ácidos tales como ácidos carboxílicos; y similares. Por ejemplo, dichas sales incluyen sales de amoníaco, L-arginina, betaína, benetamina, benzatina, hidróxido de calcio, colina, deanol, dietanolamina (2,2'-iminobis(etanol)), dietilamina, 2-(dietilamino)-etanol, 2-aminoetanol, etilendiamina, N-etil-glucamina, hidrabamina, 1H-imidazol, lisina, hidróxido de magnesio, 4-(2-hidroxietyl)-morfina, piperazina, hidróxido de potasio, 1-(2-hidroxietyl)-pirrolidina, hidróxido de sodio, trietanolamina (2,2',2"-nitrilotris(etanol)), trometamina, hidróxido de cinc, ácido acético, ácido 2,2-dicloro-acético, ácido adipico, ácido algínico, ácido ascórbico, ácido L-aspartico, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido 2,5-dihidroxibenzoico, ácido 4-acetamido-benzoico, ácido (+)-canfórico, ácido (+)-canfor-10-sulfónico, ácido carbónico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido decanoico, ácido dodecilsulfúrico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 2-hidroxi-etanosulfónico, ácido etilendiaminotetraacético, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido D-glucóheptónico, ácido D-glucónico, ácido D-glucurónico, ácido glutámico, ácido glutárico, ácido 2-oxo-glutárico, ácido glicerofosfórico, glicina, ácido glicólico, ácido hexanoico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido isobutírico, ácido DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido láurico, lisina, ácido maleico, ácido (-)-L-málico, ácido malónico, ácido DL-mandélico, ácido metanosulfónico, ácido galactárico, ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido octanoico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico (ácido embónico), ácido fosfórico, ácido propiónico, ácido (-)-L-pirolglutámico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebácico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiocianico, ácido p-toluenosulfónico y ácido undecilénico. Pueden formarse sales farmacéuticamente aceptables adicionales con cationes a partir de metales como aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio, cinc y similares. (véase también *Pharmaceutical salts*, Berge, S.M. et al., *J. Pharm. Sci.*, (1977), 66, 1-19).

Las sales farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden sintetizarse a partir del compuesto parental que contiene un resto básico o ácido mediante métodos químicos convencionales. Generalmente, dichas sales pueden prepararse haciendo reaccionar las formas de ácido o base libres de estos compuestos con una cantidad suficiente de la base o ácido apropiado en agua o en un diluyente orgánico como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol o acetonitrilo o una mezcla de los mismos.

Las sales de otros ácidos distintos de los mencionados anteriormente que, por ejemplo, son útiles para purificar o aislar los compuestos de la presente invención (por ejemplo, sales de trifluoroacetato) también comprenden una parte de la invención.

El término halógeno generalmente denota flúor, cloro, bromo y yodo.

La expresión "alquilo C_{1-n}", en la que n es un número entero seleccionado entre 2, 3, 4, 5 o 6, ya sea solo o en combinación con otro radical denota un radical hidrocarbonado acíclico, saturado, ramificado o lineal con 1 a n átomos de C. Por ejemplo, el término alquilo C₁₋₅ abarca los radicales H₃C-, H₃C-CH₂-, H₃C-CH₂-CH₂-, H₃C-CH(CH₃)-, H₃C-CH₂-CH₂-CH₂-, H₃C-CH₂-CH(CH₃)-, H₃C-CH(CH₃)-CH₂-, H₃CC(CH₃)₂-, H₃C-CH₂-CH₂-CH₂-CH₂-, H₃C-CH₂-CH₂-CH(CH₃)-, H₃C-CH₂-CH(CH₃)-CH₂-, H₃C-CH(CH₃)-CH₂-CH₂-, H₃C-CH₂-C(CH₃)₂-, H₃CC(CH₃)₂-CH₂-, H₃C-CH(CH₃)-CH(CH₃)-y H₃C-CH₂-CH(CH₂CH₃)-.

El término "oxetaniolo" denota un anillo saturado cíclico de 4 miembros que contiene un átomo de oxígeno en la

posición 3 con respecto al punto de unión.

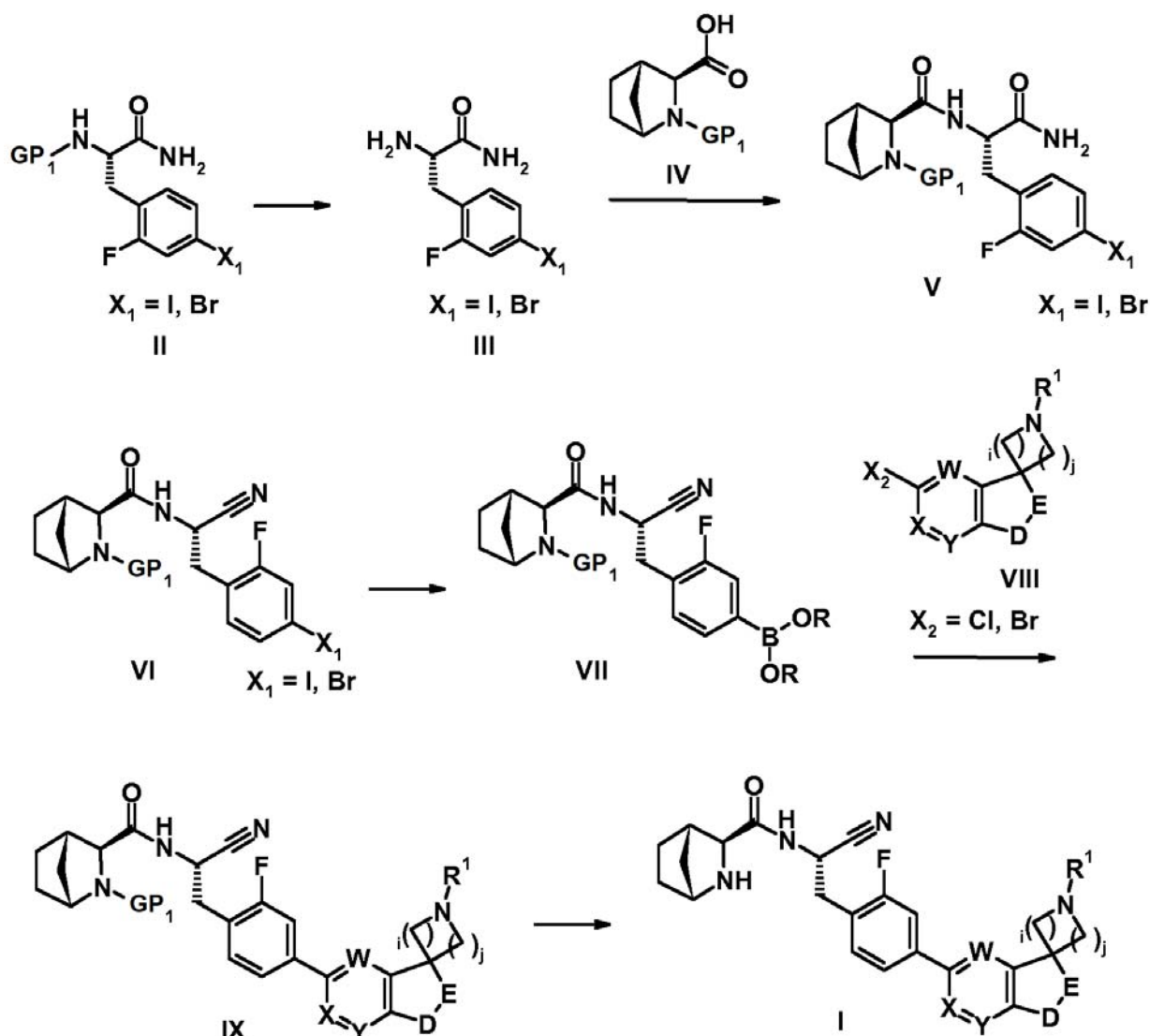
PREPARACIÓN

5 MÉTODOS DE SÍNTESIS GENERALES

La invención también proporciona procesos para preparar un compuesto de Fórmula I.

Las condiciones de reacción y los tiempos de reacción óptimos pueden variar dependiendo de los reactivos particulares utilizados. A menos que se especifique lo contrario, los disolventes, temperaturas, presiones y otras condiciones de reacción pueden seleccionarse fácilmente por un experto en la materia. Los procedimientos específicos se proporcionan en la sección de Ejemplos de Síntesis. Normalmente, el progreso de la reacción puede controlarse mediante cromatografía en capa fina (CCF) o CL-EM, si se desea, y los intermedios y productos pueden purificarse mediante cromatografía sobre gel de sílice, HPLC y/o mediante recristalización. Los ejemplos a continuación son ilustrativos y, como reconoce un experto en la materia, los reactivos o condiciones particulares podrían modificarse según sea necesario para compuestos individuales sin experimentación excesiva. Los materiales de partida y los intermedios utilizados, en los métodos a continuación, están disponibles en el mercado o se preparan fácilmente a partir de materiales disponibles en el mercado por los expertos en la materia.

Un compuesto de Fórmula I puede prepararse mediante el método que se esboza en los Esquemas 1, 2, 3 o 4:



Esquema 1

Como se ilustra en el Esquema 1, la protección y desprotección de los grupos funcionales se describe en '*Protective Groups in Organic Synthesis*', T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience. Por ejemplo, para la desprotección del grupo *terc*-butoxicarbonilo, puede usarse un ácido tal como ácido fórmico, ácido trifluoroacético, ácido p-toluenosulfónico o HCl en un disolvente adecuado tal como agua, DCM o dioxano para proporcionar un compuesto de Fórmula III.

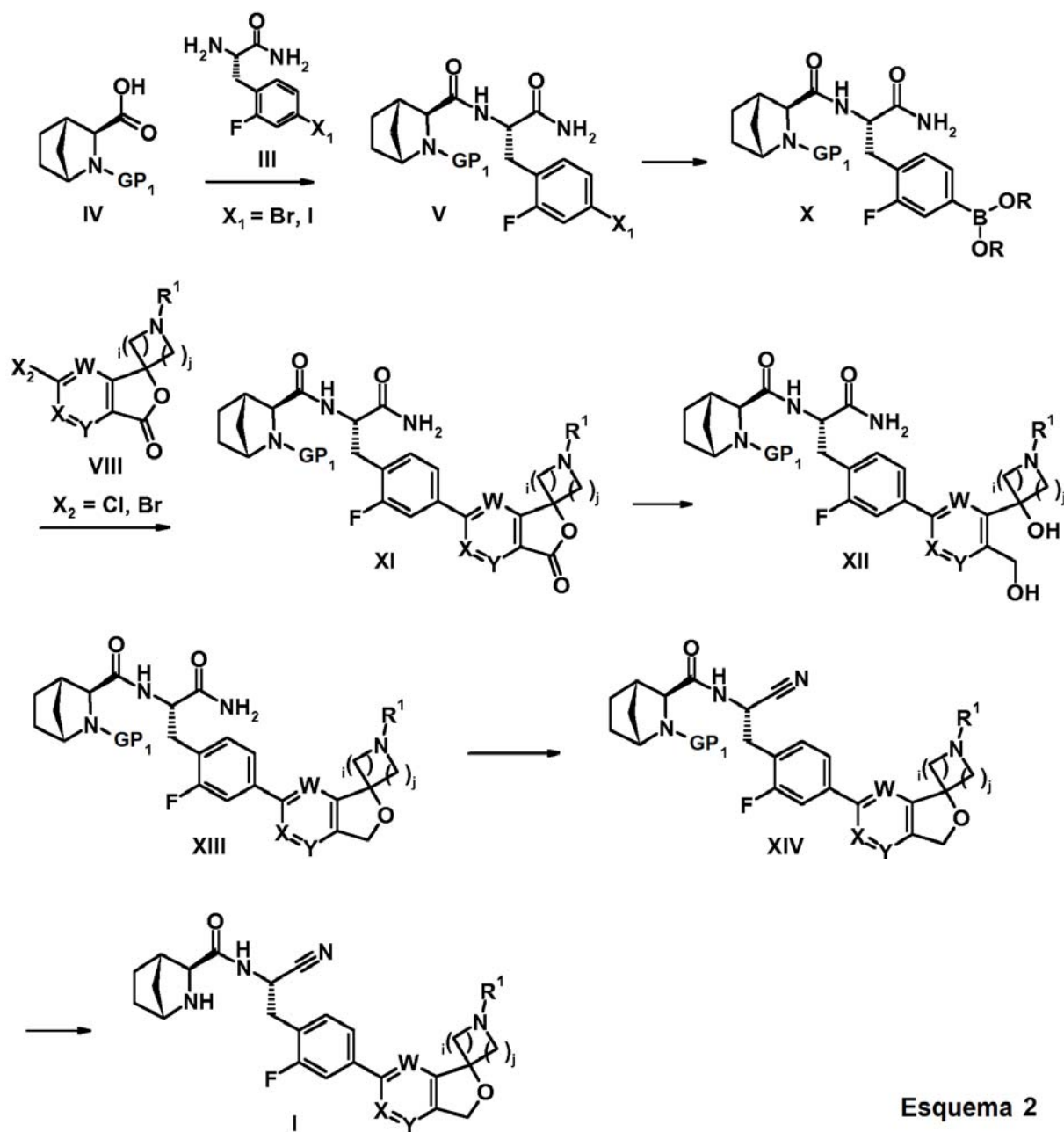
La reacción de un ácido de Fórmula IV, en la que GP₁, representa un grupo protector (por ejemplo, *terc*-butoxicarbonilo) usando procedimientos de la bibliografía convencionales para la formación de una amida, por ejemplo, en presencia de una base tal como N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) y un agente activador tal como HATU o TBTU, con una amina de Fórmula III en un disolvente adecuado, proporciona un compuesto de Fórmula V. Pueden emplearse reacciones de acoplamiento de péptidos convencionales conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, M. Bodanszky, 1984, *The Practice of Peptide Síntesis*, Springer-Verlag) en estas síntesis.

La deshidratación de una amida tal como en un compuesto de Fórmula V al nitrilo correspondiente de Fórmula VI puede realizarse mediante el uso de un agente de deshidratación tal como hidróxido de (metoxicarbonilsulfamoil)triethyl amonio, en un disolvente adecuado tal como diclorometano (DCM).

Los compuestos de Fórmula VI (X₁= I, Br) pueden convertirse en los derivados de ácido borónico VII correspondientes, en los que R puede ser H o alquilo inferior independientemente y los restos R pueden formar un anillo. Por ejemplo, VI puede hacerse reaccionar con bis(neopentilglicolato)diboro en presencia de un catalizador adecuado tal como [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II) y una base adecuada tal como acetato de potasio o carbonato o fosfato de sodio, potasio o cesio, en un disolvente adecuado tal como dioxano, dimetilformamida (DMF) o diclorometano (DCM) para producir los derivados de ácido borónico VII.

Estos pueden hacerse reaccionar en una reacción catalizada por metal (de transición) de un compuesto de Fórmula VIII (X₂ = Cl, Br). El acoplamiento de estos halogenuros VIII proporciona un compuesto de Fórmula IX. Por ejemplo, la reacción de estos halogenuros con un ácido borónico o el correspondiente éster de ácido borónico VII, en un disolvente adecuado tal como dioxano, en presencia de un catalizador adecuado tal como dicloruro de 1,1'-bis(di-*terc*-butilfosfino)ferroceno paladio y una base adecuada tal como carbonato de sodio, potasio o cesio, proporciona un compuesto de Fórmula IX.

La protección y desprotección de los grupos funcionales se describe en '*Protective Groups in Organic Synthesis*', T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience. Por ejemplo, para la desprotección del grupo *terc*-butoxicarbonilo, puede usarse un ácido tal como monohidrato de ácido p-toluenosulfónico en un disolvente adecuado tal como acetonitrilo para proporcionar un compuesto de Fórmula I.



Como se ilustra en el Esquema 2 la reacción de un ácido de Fórmula IV, en la que GP₁ representa un grupo protector (por ejemplo, *tert*-butoxicarbonilo) usando procedimientos de la bibliografía convencionales para la formación de una amida, por ejemplo, en presencia de una base tal como N,N-diisopropiletilamina (DIPEA) y un agente activador tal como HATU o TBTU, con una amina de Fórmula III en un disolvente adecuado, proporciona un compuesto de Fórmula V. Pueden emplearse reacciones de acoplamiento de péptidos convencionales conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, M. Bodanszky, 1984, *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag) en estas síntesis.

Los compuestos de Fórmula V pueden convertirse en los derivados de ácido borónico X correspondientes de forma análoga al procedimiento de reacción que se describe en el Esquema 1.

Estos pueden hacerse reaccionar en una reacción catalizada por metal (de transición) de un compuesto de Fórmula VIII (X₂ = Cl, Br) para producir un compuesto de Fórmula XI análoga al procedimiento de reacción que se describe en el Esquema 1.

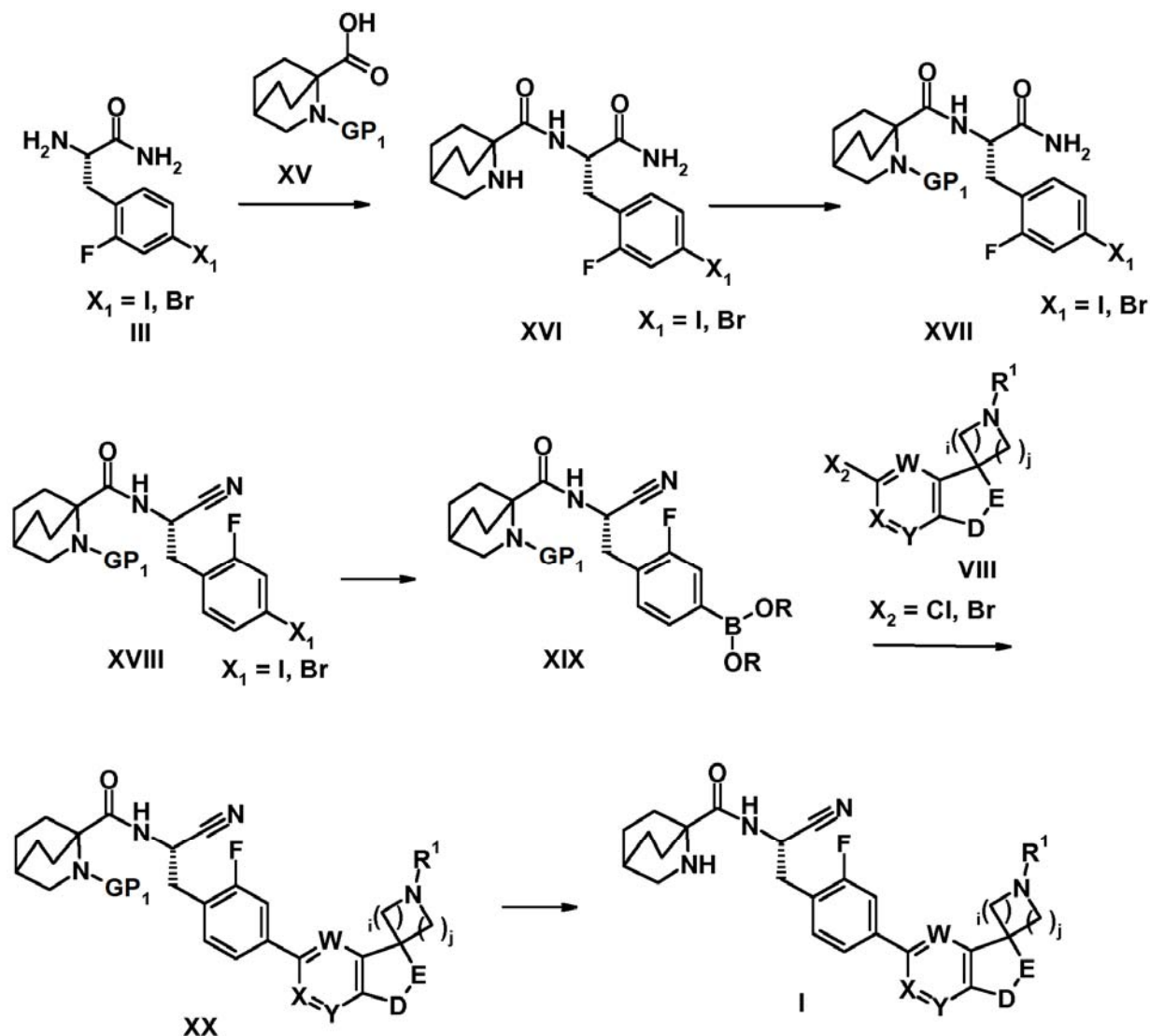
El compuesto de Fórmula XI puede convertirse en el compuesto de Fórmula XII usando un agente reductor tal como borohidruro de litio o sodio en un disolvente adecuado tal como tetrahidrofurano.

El compuesto de Fórmula XII puede convertirse en el compuesto de Fórmula XIII usando reactivos tales como anhídrido *p*-toluenosulfónico o cloruro de metanosulfonilo en presencia de una base tal como trietilamina o N,N-

diisopropiletilamina (DIPEA) en un disolvente adecuado tal como tetrahidrofurano.

La deshidratación de una amida tal como en un compuesto de Fórmula XIII al nitrilo correspondiente de Fórmula XIV puede realizarse mediante el uso de un agente de deshidratación tal como hidróxido de (metoxycarbonilsulfamoil)trietil amonio, en un disolvente adecuado tal como diclorometano (DCM).

La protección y desprotección de grupos funcionales se describe en '*Protective Groups in Organic Synthesis*', T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience. Por ejemplo, para la desprotección del grupo *tert*-butoxicarbonilo, puede usarse un ácido tal como monohidrato de ácido p-toluenosulfónico en un disolvente adecuado tal como acetonitrilo para proporcionar un compuesto de Fórmula I.



Esquema 3

Como se ilustra en el Esquema 3 la reacción de un ácido de Fórmula XV, en la que GP_1 representa un grupo protector (por ejemplo, *tert*-butoxicarbonilo) usando procedimientos de bibliografía convencionales para la formación de una amida, por ejemplo, en presencia de una base tal como N-metilmorfolina y un agente activador tal como anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (PPA) con una amina de Fórmula III en un disolvente adecuado, proporciona un compuesto de Fórmula XVI. Pueden emplearse reacciones de acoplamiento de péptidos convencionales conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, M. Bodanszky, 1984, *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag) en estas síntesis.

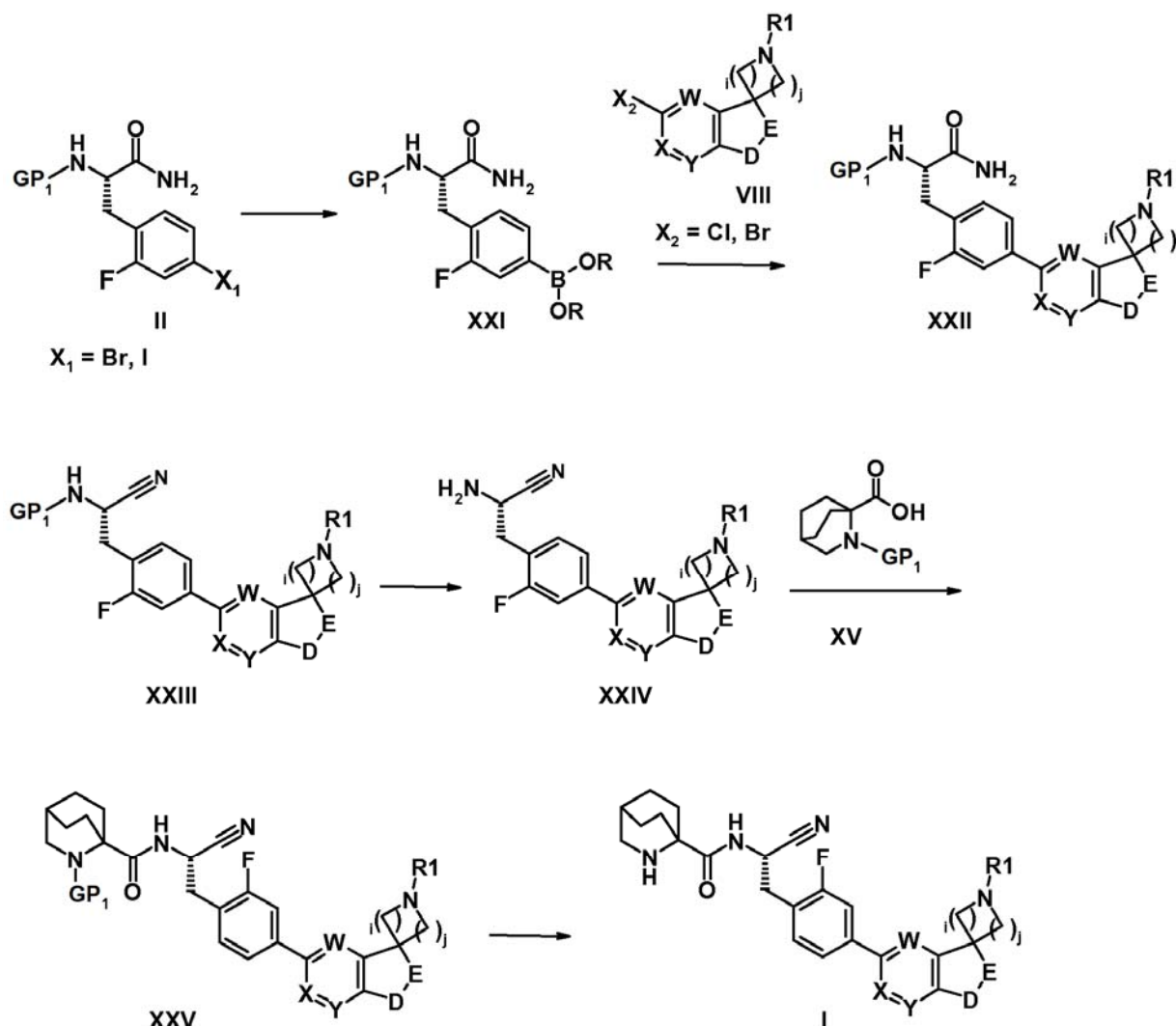
La protección y desprotección de grupos funcionales se describe en '*Protective Groups in Organic Synthesis*', T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience. Por ejemplo, para la protección de una amina de Fórmula XVI, puede usarse dicarbonato de di-*tert*-butilo en un disolvente adecuado tal como diclorometano para proporcionar un compuesto de Fórmula XVII.

La deshidratación de una amida tal como en un compuesto de Fórmula XVII al nitrilo correspondiente de Fórmula XVIII puede realizarse mediante el uso de un agente de deshidratación tal como hidróxido de (metoxicarbonilsulfamoil)triethyl amonio, en un disolvente adecuado tal como diclorometano (DCM).

5 Los compuestos de Fórmula XVIII ($X_1 = I, Br$) pueden convertirse en los derivados de ácido borónico XIX correspondientes, en los que R puede ser H o alquilo inferior independientemente y los restos R pueden formar un anillo. Por ejemplo, XVIII puede hacerse reaccionar con bis(pinacolato)diboro en presencia de un catalizador adecuado tal como [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) y una base adecuada tal como acetato de
10 potasio o sodio, carbonato o fosfato de potasio o cesio, en un disolvente adecuado tal como dioxano, dimetilformamida (DMF) o diclorometano (DCM) para producir los derivados de ácido borónico XIX.

Estos pueden hacerse reaccionar en una reacción catalizada por metal (de transición) de un compuesto de Fórmula VIII ($X_2 = Cl, Br$). El acoplamiento de estos halogenuros VIII proporciona un compuesto de Fórmula XX. Por ejemplo,
15 la reacción de estos halogenuros con un ácido borónico o el correspondiente éster de ácido borónico XIX, en un disolvente adecuado tal como dioxano, en presencia de un catalizador adecuado tal como dicloruro de 1,1'-bis(di-*tert*-butilfosfino)ferroceno paladio y una base adecuada tal como carbonato de sodio, potasio o cesio, proporciona un compuesto de Fórmula XX.

20 La protección y desprotección de grupos funcionales se describe en '*Protective Groups in Organic Synthesis*', T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience. Por ejemplo, para la desprotección del grupo *tert*-butoxicarbonilo, puede usarse un ácido tal como monohidrato de ácido p-toluenosulfónico en un disolvente adecuado tal como acetonitrilo para proporcionar un compuesto de Fórmula I.



Esquema 4

Como se ilustra en el Esquema 4, el compuesto de Fórmula II puede convertirse en los derivados de ácido borónico XXI correspondientes, en los que R puede ser H o alquilo inferior independientemente y los restos R pueden formar un anillo. Por ejemplo, II puede hacerse reaccionar con bis(neopentilglicolato)diboro en presencia de un catalizador adecuado tal como [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) y una base adecuada tal como acetato de potasio o carbonato o fosfato de sodio, potasio o cesio, en un disolvente adecuado tal como dioxano, dimetilformamida (DMF) o diclorometano (DCM) para producir los derivados de ácido borónico XXI.

Estos pueden hacerse reaccionar en una reacción catalizada por metal (de transición) de un compuesto de Fórmula VIII análoga al procedimiento de reacción que se describe en el Esquema 1 para producir un compuesto de Fórmula XXII.

La deshidratación de una amida tal como un compuesto de Fórmula XXII al nitrilo correspondiente de Fórmula XXIII puede realizarse mediante el uso de un agente de deshidratación tal como hidróxido de (metoxycarbonilsulfamilo)triethyl amonio, en un disolvente adecuado tal como diclorometano (DCM).

La protección y desprotección de grupos funcionales se describe en 'Protective Groups in Organic Synthesis', T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience. Por ejemplo, para la desprotección de *tert*-butoxicarbonilo, puede usarse un ácido tal como monohidrato de ácido p-toluenosulfónico en un disolvente adecuado tal como acetonitrilo para proporcionar un compuesto de Fórmula XXIV.

La reacción de un ácido de Fórmula XV, en la que GP₁ representa un grupo protector (por ejemplo, *tert*-butoxicarbonilo) usando procedimientos de bibliografía convencionales para la formación de una amida, por ejemplo, en presencia de una base tal como N-metilmorfolina y un agente activador tal como anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico (PPA), con una amina de fórmula XXIV en un disolvente adecuado, proporciona un compuesto de fórmula XXV. Pueden emplearse reacciones de acoplamiento de péptidos convencionales conocidas en la técnica

(véase, por ejemplo, M. Bodanszky, 1984, *The Practice of Peptide Synthesis*, Springer-Verlag) en estas síntesis. La protección y desprotección de grupos funcionales se describe en '*Protective Groups in Organic Synthesis*', T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience. Por ejemplo, para la desprotección de *terc*-butoxicarbonilo, puede usarse un ácido tal como monohidrato de ácido p-toluenosulfónico en un disolvente adecuado tal como acetonitrilo para proporcionar un compuesto de Fórmula I.

Pueden usarse modificaciones adicionales de compuestos de Fórmula I mediante métodos conocidos en la técnica y que se ilustran en los Ejemplos a continuación para preparar compuestos adicionales de la invención.

EJEMPLOS DE SÍNTESIS

Los siguientes son compuestos representativos de la invención que pueden prepararse mediante los esquemas de síntesis generales, los ejemplos y los métodos conocidos en la técnica. Los materiales de partida y los intermedios estaban disponibles en el mercado y se adquirieron de catálogos de ABCR, ACROS, ABLOCK PHARMATECH, ACTIVATE, ALDRICH, APOLLO SCIENTIFIC, ARK PHARM INC, ATLANTIC SCIENTIFIC TECHNOLOGY, BETAPHARM, BEFARM, CHEMBRIDGE CORPORATION, CNH-TECH, ENAMINE LTD, GOLDENBRIDGE PHARMA INC, GVK BIO, MERCACHEM, MOLBRIDGE, WUXI APTEC, ZERENEX o se sintetizaron de acuerdo con la bibliografía o como se describe a continuación en "*Synthesis of starting materials/ educts*"

Se obtiene el tiempo de retención de cromatografía líquida-espectroscopía de masas (CLEM) y datos observados de *m/z* para los compuestos a continuación mediante uno de los siguientes métodos:

Método de CL-EM V001_007

Descripción del dispositivo		Waters Alliance con DMD y DEM			
Columna		Waters XBridge C18			
Dimensión de la columna		4,6 x 30 mm			
Tamaño de partícula		3,5 µm			
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, TFA al 0,1 %]	% en Sol [Metanol]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]	
0,0	95	5	4	60	
1,6	0	100	4	60	
1,85	0	100	4	60	
1,9	95	5	4	60	

Método de CL-EM V003_003

Descripción del dispositivo		Waters Alliance con DMD y DEM			
Columna		Waters XBridge C18			
Dimensión de la columna		4,6 x 30 mm			
Tamaño de partícula		3,5 µm			
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H2O, NH3 al 0,1 %]	% en Sol [Metanol]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]	
0,0	95	5	4	60	
0,2	95	5	4	60	
Descripción del dispositivo		Waters Alliance con DMD y DEM			
Columna		Waters XBridge C18			
Dimensión de la columna		4,6 x 30 mm			
Tamaño de partícula		3,5 µm			
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H2O, NH3 al 0,1 %]	% en Sol [Metanol]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]	
1,5	0	100	4	60	
1,75	0	100	4	60	

Método de CL-EM V011_S01

Descripción del dispositivo		Waters Alliance con DMD y DEM			
Columna		Waters XBridge C18			
Dimensión de la columna		4,6 x 30 mm			
Tamaño de partícula		3,5 µm			
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, NH ₃ al 0,1 %]	% en Sol [Acetonitrilo]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]	
0,0	97	3	5	60	
0,2	97	3	5	60	
1,6	0	100	5	60	
1,7	0	100	5	60	

ES 2 749 009 T3

Método de CL-EM V012_S01

Descripción del dispositivo		Waters Alliance con DMD y DEM		
Columna		Waters XBridge C18		
Dimensión de la columna		4,6 x 30 mm		
Tamaño de partícula		3,5 mm		
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, TFA al 0,1 %]	% en Sol [Acetonitrilo]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]
0,0	97	3	5	60
0,2	97	3	5	60
1,6	0	100	5	60
Descripción del dispositivo		Waters Alliance con DMD y DEM		
1,7	0	100	5	60

Método de CL-EM X001_004

Descripción del dispositivo		Waters Acquity con DMD y DEM		
Columna		Waters XBridge C18		
Dimensión de la columna		2,1 x 20 mm		
Tamaño de partícula		2,5 µm		
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, TFA al 0,10 %]	% en Sol [Metanol]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]
0,0	95	5	1,4	60
0,05	95	5	1,4	60
1,00	0	100	1,4	60
1,1	0	100	1,4	60

Método de CL-EM X011_S03

Descripción del dispositivo		Waters Acquity con DMD y DEM		
Columna		Waters XBridge BEH C18		
Dimensión de la columna		2,1 x 30 mm		
Tamaño de partícula		1,7 µm		
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, NH ₃ al 0,1 %]	% en Sol [Acetonitrilo]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]
0,00	95	5	1,3	60
0,02	95	5	1,3	60
1,00	0	100	1,3	60
1,10	0	100	1,3	60

Método de CL-EM X012_S02

Descripción del dispositivo		Waters Acquity con DMD y DEM		
Columna		Waters XBridge BEH C18		
Descripción del dispositivo		Waters Acquity con DMD y DEM		
Dimensión de la columna		2,1 x 30 mm		
Tamaño de partícula		1,7 µm		
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, TFA al 0,1 %]	% en Sol [Acetonitrilo]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]
0,0	99	1	1,3	60
0,02	99	1	1,3	60
1,00	0	100	1,3	60
1,10	0	100	1,3	60

ES 2 749 009 T3

Método de CL-EM Z011_S03

Descripción del dispositivo		Agilent 1200 con DMD y DEM		
Columna		Waters XBridge C18		
Dimensión de la columna		3 x 30 mm		
Tamaño de partícula		2,5 µm		
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, NH ₃ al 0,1 %]	% en Sol [Acetonitrilo]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]
0,00	97	3 2,2	2,2	60
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, NH ₃ al 0,1 %]	% en Sol [Acetonitrilo]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]
0,20	97	3 2,2	2,2	60
1,20	0	100 2,2	2,2	60
1,25	0	100 3	3	60
1,40	0	100 3	3	60

Método de CL-EM Z012_S04

Descripción del dispositivo		Agilent 1200 con DMD y DEM		
Columna		Waters XBridge C18		
Dimensión de la columna		3 x 30 mm		
Tamaño de partícula		2,5 µm		
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, NH ₃ al 0,1 %]	% en Sol [Acetonitrilo]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]
0,00	97	3	2,2	60
0,20	97	3	2,2	60
1,20	0	100	2,2	60
1,25	0	100	3	60
1,40	0	100	3	60

Método de CL-EM Z018_S04

Descripción del dispositivo		Agilent 1200 con DMD y DEM		
Columna		Waters Sunfire C18		
Dimensión de la columna		3 x 30 mm		
Tamaño de partícula		2,5 µm		
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, TFA al 0,1 %]	% en Sol [Acetonitrilo]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]
0,00	97	3	2,2	60
0,20	97	3	2,2	60
1,20	0	100	2,2	60
1,25	0	100	3	60
1,40	0	100	3	60

Método de CL-EM Z020_S01

Descripción del dispositivo		Agilent 1200 con DMD y DEM		
Columna		Waters Sunfire C18		
Dimensión de la columna		3 x 30 mm		
Tamaño de partícula		2,5 µm		
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, FA al 0,1 %]	% en Sol [Acetonitrilo]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]
0,00	97	3	2,2	60
0,20	97	3	2,2	60
1,20	0	100	2,2	60
1,25	0	100	3	60
1,40	0	100	3	60

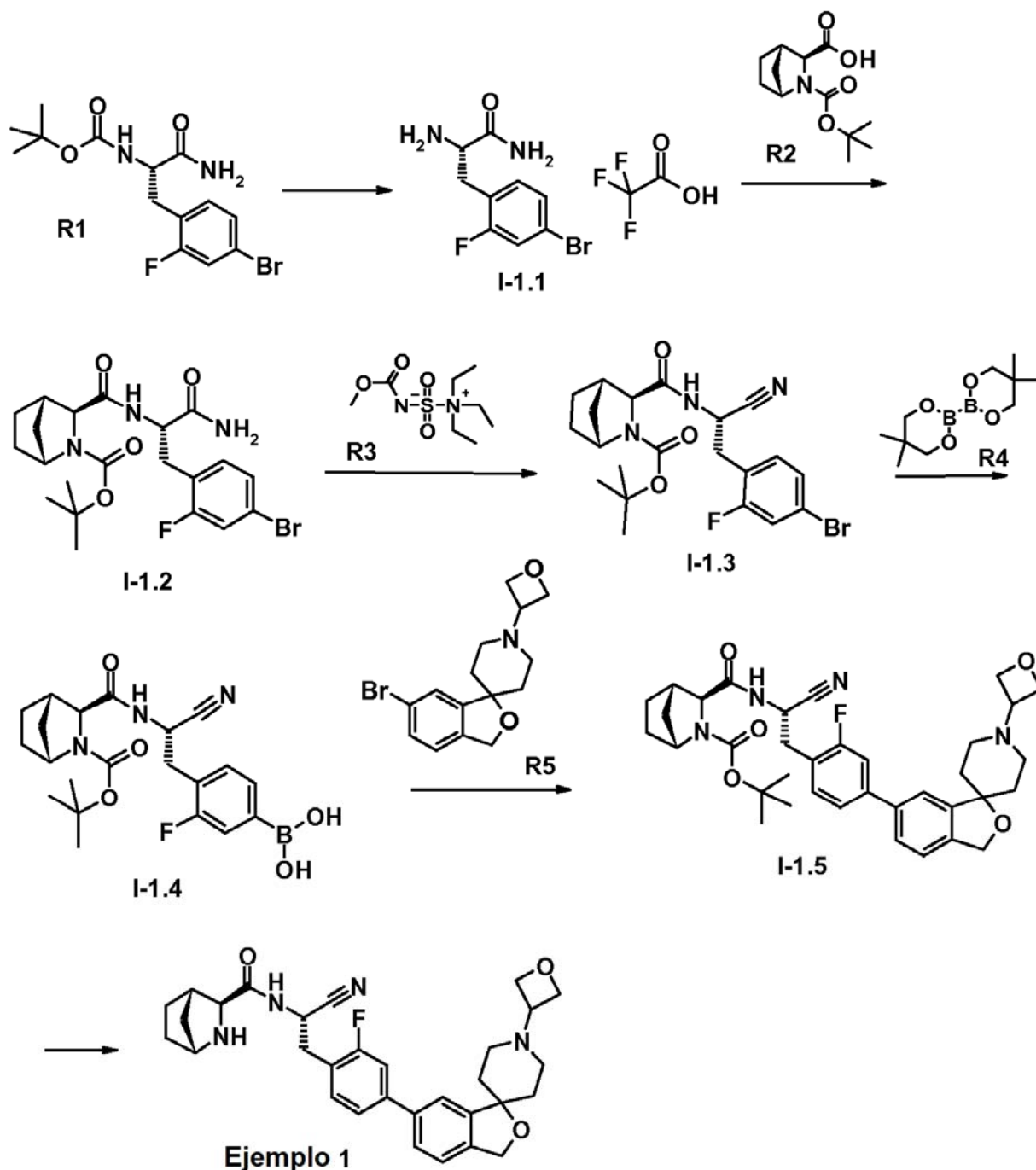
Método de CL-EM Z021 S01

Descripción del dispositivo		Agilent 1200 con DMD y DEM		
Columna		XBridge C18		
Dimensión de la columna		3 x 30 mm		
Tamaño de partícula		2,5 µm		
Tiempo gradiente/disolvente [min]	% en Sol [H ₂ O, FA al 0,1 %]	% en Sol [Acetonitrilo]	Flujo [ml/min]	Temp [°C]
0,00	97	3	2,2	60
0,20	97	3	9,9	60
1,20	0	100	2,2	60
1,25	0	100	3	60
1,40	0	100	3	60

Métodos de síntesis:

5 Método A

Síntesis de (1S,2S,4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[2-fluoro-4-[1'-(oxetan-3-il)espiro[1H-isobenzofuran-3,4'-piperidin]-5-il]fenil]etil]-3-azabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxamida (Ejemplo 1)



Ejemplo 1

Etapa 1: Síntesis del Intermedio I-1.1

- 5 A R1 (20,00 g, 55,37 mmol) en diclorometano (50 ml) se le añade ácido trifluoroacético (17,09 ml, 221,48 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se concentra, el residuo se disuelve en diclorometano (15 ml) y diisopropil éter (140 ml). El precipitado se filtra, se lava con diisopropil éter y se seca para proporcionar I-1.1 en forma de sal de TFA.
- 10 Rendimiento del 99 %, m/z 261 $[M+H]^+$, tr 0,50 min, Método de CL-EM Z018_S04.

Etapa 2: Síntesis del Intermedio I-1.2

- 15 A R2 (13,86 g, 55,72 mmol) en DMF (65 ml) se le añade DIPEA (9,02 ml, 50,67 mmol) y se enfría a 5 °C. Se añade TBTU (17,89 g, 55,72 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 15 minutos. Posteriormente se añaden I-1.1 (sal de TFA) (19,0 g, 50,65 mmol), DMF (65 ml) y DIPEA (13,52 ml, 75,98 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se diluye con acetato de etilo y se extrae con agua. La capa acuosa se

extrae con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavan con agua, ácido clorhídrico acuoso 1 mol/l, agua, solución acuosa de hidrogenocarbonato de sodio (5 %) y nuevamente con agua. La capa orgánica se seca sobre MgSO_4 , se filtra y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante cromatografía ultrarrápida (eluyente: diclorometano/metanol 95:5).

5 Rendimiento del 82 %, m/z 484 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,91 min, Método de CL-EM Z018_S04.

Etapa 3: Síntesis del Intermedio 1-1.3

10 A 1-1.2 (20,0 g, 41,29 mmol) en diclorometano (200 ml) se le añade R3 (19,68 g, 82,58 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se concentra al vacío, el residuo se disuelve en acetato de etilo y se extrae con agua, ácido acético acuoso 1 mol/l y agua. La capa orgánica se seca sobre MgSO_4 , se filtra y se concentra al vacío. El residuo se recrystaliza en acetonitrilo y se retira por filtración. Rendimiento del 71 %, m/z 466 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,98 min, Método de CL-EM Z018_S04.

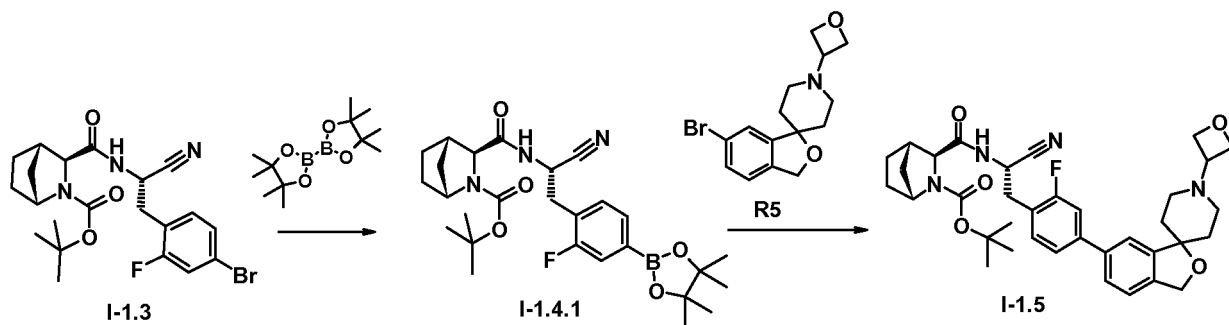
15 Etapa 4: Síntesis del Intermedio 1-1.4

20 A 1-1.3 (1,5 g, 3,22 mmol) en dioxano (20 ml) se le añaden R4 (799,22 mg, 3,54 mmol), acetato de potasio (0,947 g, 9,65 mmol) y $[1,1'\text{-bis(difenilfosfino)ferroceno}]\text{dicloropaladio (II)}$, complejo con diclorometano (1:1) (52,54 mg, 0,064 mmol). La mezcla de reacción se purga con nitrógeno y se calienta a 70 °C durante 1,5 h. La mezcla de reacción se diluye con diclorometano y agua. La capa orgánica se separa y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante HPLC de fase inversa. Rendimiento del 94 % m/z 332 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}]^+$, tr 0,96 min, Método de CL-EM Z020_S01.

25 Etapa 5: Síntesis del Intermedio 1-1.5

30 A 1-1.4 (400,0 mg, 0,93 mmol) en acetonitrilo (18 ml) se le añade R5 (301,0 mg, 0,93 mmol) y la mezcla se purga con argón. Se añaden solución acuosa de carbonato de sodio 2 mol/l (928 μl , 1,86 mmol) y dicloruro de 1,1'-bis(di-*tert*-butilfosfino)ferroceno paladio (60,5 mg, 0,09 mmol), la mezcla de reacción se purga nuevamente con argón y se agita a 80 °C en el reactor de microondas durante 45 minutos. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM:MeOH = 98:2 a 92:8) para proporcionar I-1.5. Rendimiento del 79 % m/z 631 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 1,09 min, Método de CL-EM Z011_S03.

35 Síntesis alternativa del Intermedio 1-1.5



40 Síntesis del Intermedio 1-1.4.1

45 A 1-1.3 (20 g, 42,89 mmol) en dioxano (255 ml) se le añaden bis(pinacolato)diboro (13,07 g, 51,46 mmol), acetato de potasio (12,63 g, 128,66 mmol) y $[1,1'\text{-bis(difenilfosfino)ferroceno}]\text{dicloropaladio (II)}$, complejo con diclorometano (1:1) (1,75 g, 2,14 mmol). La mezcla se purga con nitrógeno durante 5 minutos, se calienta a 70 °C y se agita durante la noche a esta temperatura. La mezcla de reacción se diluye con diclorometano y agua. La capa orgánica se separa y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo:EtOAc = de 92:8 a 34:66). Rendimiento del 64 % m/z 332 $[\text{M}+\text{H} - \text{Boc} - ((\text{CH}_3)_2\text{CH})_2]^+$, tr 0,73 min, Método de CL-EM Z011_S03.

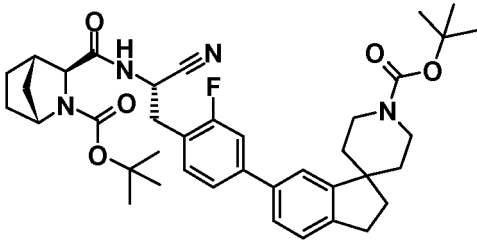
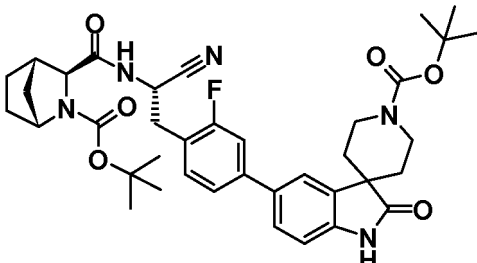
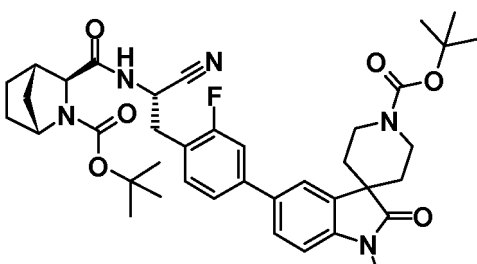
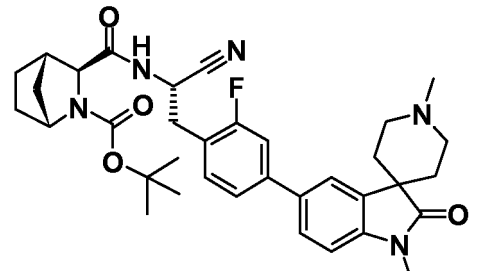
50 Síntesis del Intermedio 1-1.5

55 A 1-1.4.1 (3,96 g, 7,71 mmol) en acetonitrilo (60 ml) se le añade R5 (2,50 g, 7,71 mmol) y la mezcla se purga con argón. Se añaden solución acuosa de carbonato de sodio 2 mol/l (7,71 ml, 15,42 mmol) y dicloruro de 1,1'-bis(di-*tert*-butilfosfino)ferroceno paladio (502,6 mg, 0,77 mmol), la mezcla de reacción se purga nuevamente con argón y se agita a 80 °C durante 90 minutos. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lavó con salmuera, se seca sobre

Na₂SO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM:MeOH = 99:1 a 94:6) para proporcionar 1-1.5. Rendimiento del 75 % *m/z* 631 [M+H]⁺, tr 1,09 min, Método de CL-EM Z011_S03.

- 5 Los siguientes intermedios que se muestran en la Tabla 1 se sintetizan de manera similar a partir del intermedio 1-1.4 y los eductos apropiados:

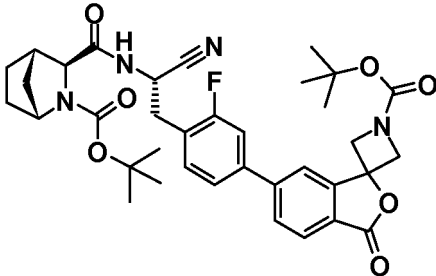
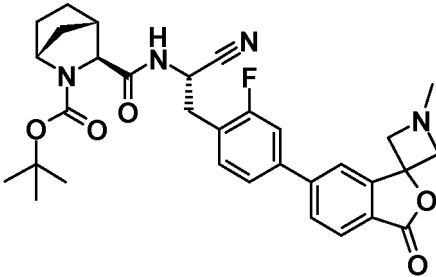
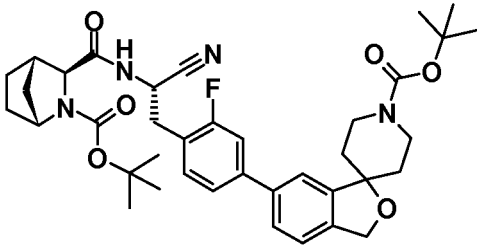
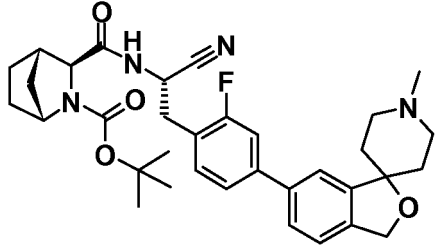
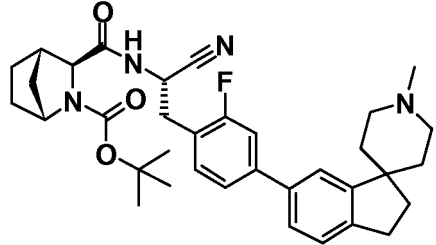
Tabla 1

Intermedio	Educto	Estructura del Intermedio	<i>m/z</i> [M+H] ⁺	tr (min)	Método de CL-EM
I-1.5.1	R6		517 [M-Boc-t.but+H] ⁺	1,29	Z012_S04
I-1.5.2	R8		532 [M-Boc-t.but+H] ⁺	1,14	Z012_S04
I-1.5.3	R9		546 [M-Boc-t.but+H] ⁺	1,19	Z012_S04
I-1.5.4	R10		616	0,95	Z012_S04

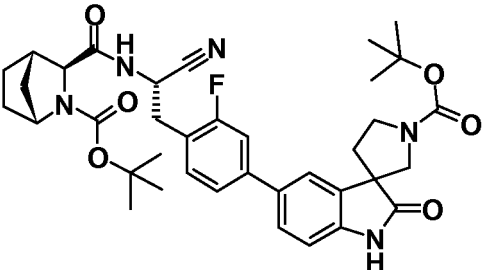
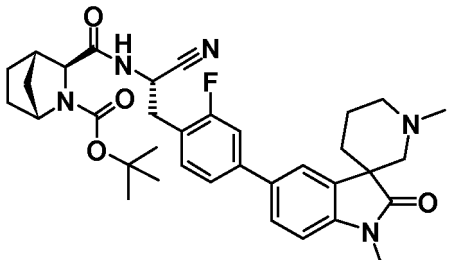
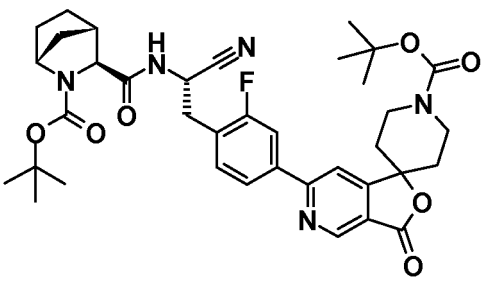
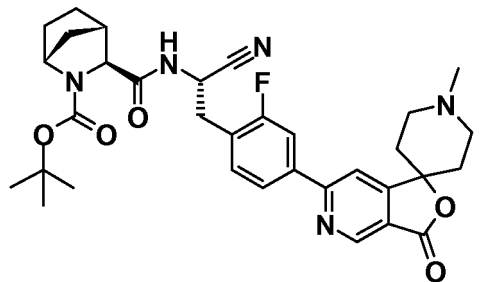
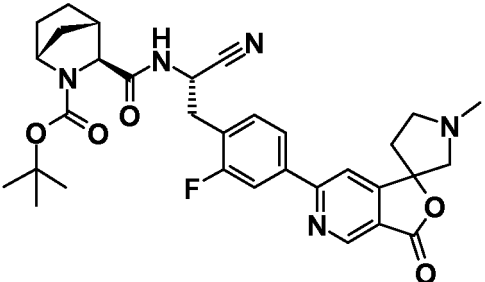
(continuación)

Intermedio	Educto	Estructura del Intermedio	m/z[M+H] ⁺	tr (min)	Método de CL-EM
I-1.5.5	R10.1		602	0,91	Z012_S04
I-1.5.6	I-7.2		589 [M-Boc +H] ⁺	1,19	Z012_S04
I-1.5.7	R10.2		603	0,94	Z012_S04
I-1.5.8	I-7.2.1		575 [M-Boc +H] ⁺	1,15	Z011_S03
I-1.5.9	R10.3		589	0,95	Z012_S04

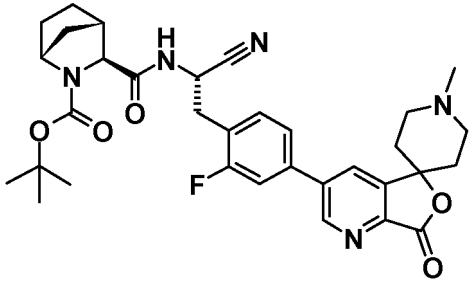
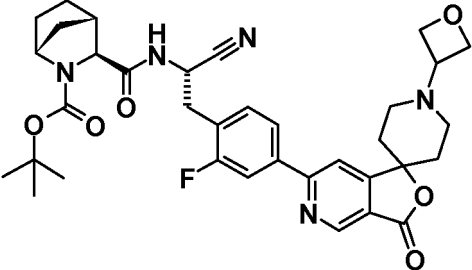
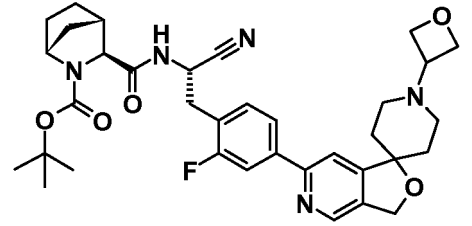
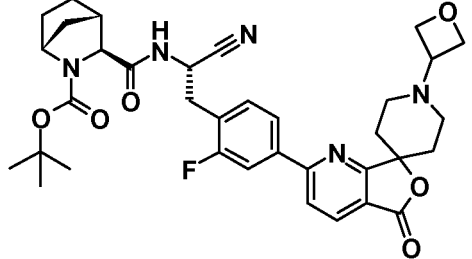
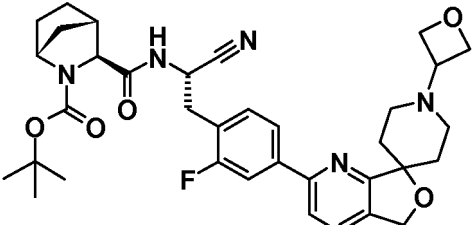
(continuación)

Intermedio	Educto	Estructura del Intermedio	m/z[M+H] ⁺	tr (min)	Método de CL-EM
I-1.5.10	I-7.2.2		561 [M-Boc +H] ⁺	1,17	Z012_S04
I-1.5.11	R10.4		575	1,04	Z011_S03
I-1.5.12	I-7.4		575 [M-Boc +H] ⁺	1,24	Z011_S03
I-1.5.13	R10.5		589	1,12	Z011_S03
I-1.5.14	R7		587	1,19	Z011_S03

(continuación)

Intermedio	Educto	Estructura del Intermedio	m/z[M+H] ⁺	tr (min)	Método de CL-EM
I-1.5.15	R12		574 [M-Boc +H] ⁺	1,10	Z011_S03
I-1.5.16	R10.6		615	0,80	Z020_S01
I-1.5.17	R14		590 [M-Boc +H] ⁺	1,16	Z011_S03
I-1.5.18	R10.7		604	1,04	Z011_S03
I-1.5.19	I-11.1.1		590	1,02	Z011_S03

(continuación)

Intermedio	Educto	Estructura del Intermedio	m/z[M+H] ⁺	tr (min)	Método de CL-EM
I-1.5.20	R15		604	1,03	Z011_S03
I-1.5.21	R16		546 [M-Boc +H] ⁺	1,00	Z011_S03
I-1.5.22	R17		632	1,03	Z011_S03
I-1.5.23	R18		646	0,90	Z011_S03
I-1.5.24	R19		632	1,04	Z011_S03

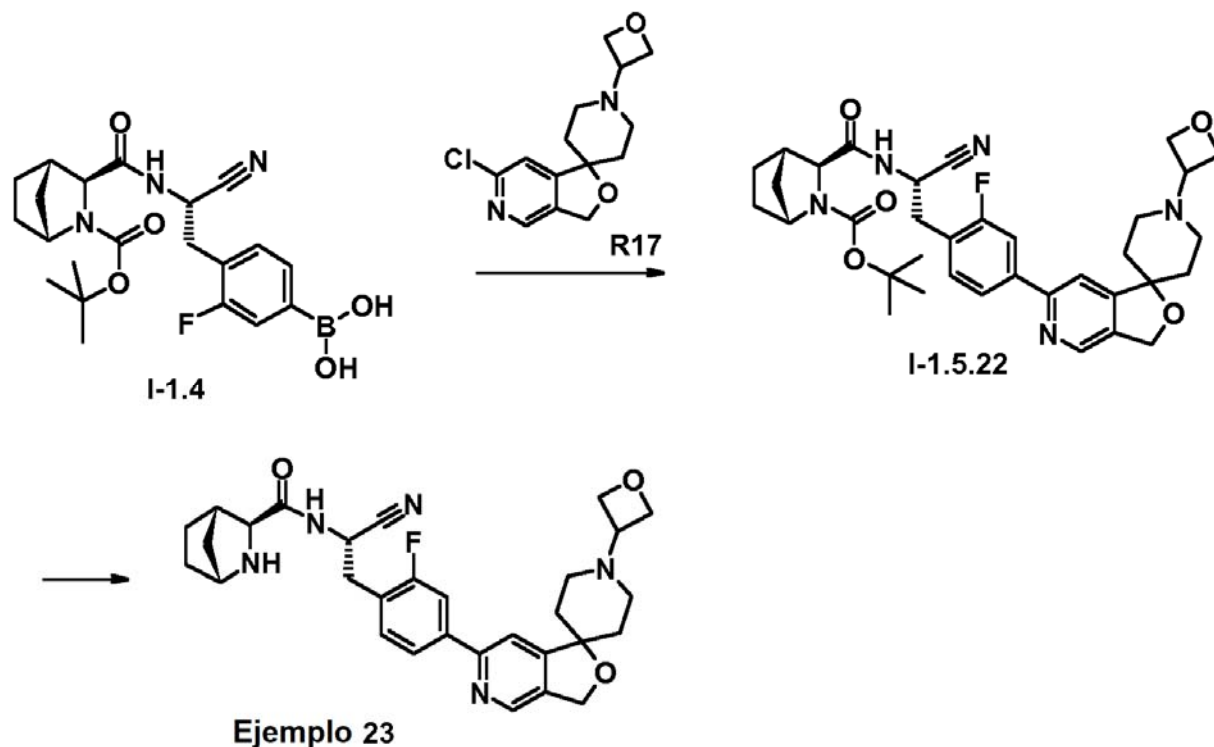
Etapa 6: Síntesis del Ejemplo 1

5

A 1-1.5 (3,64 g, 5,78 mmol) en acetonitrilo (60 ml) se le añade monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (5,49 g, 28,88 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante HPLC de fase inversa.

Rendimiento del 84 % m/z 531 [M+H]⁺, tr 1,00 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Síntesis de (1S,2S,4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[2-fluoro-4-[1'-(oxetan-3-il)espiro[3H-furo[3,4-c]piridina-1,4'-piperidin]-6-il]fenil]etil]-3-azabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxamida (Ejemplo 23)



5

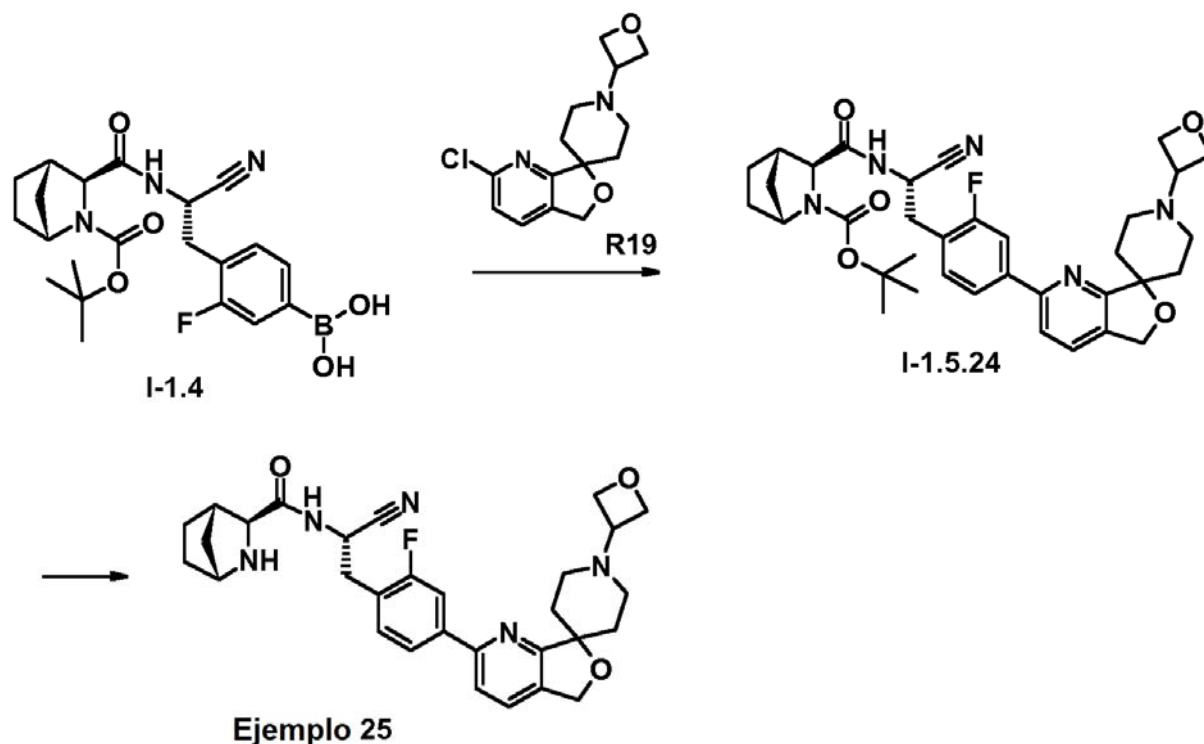
Etapas 1: Síntesis del Intermedio I-1.5.22

- 10 A I-1.4 (92,2 mg, 0,17 mmol) en acetonitrilo (3 ml) se le añade R17 (48,0 mg, 0,17 mmol) y la mezcla se purga con argón. Se añaden solución acuosa de carbonato de cesio 2 mol/l (171 µl, 0,34 mmol) y dicloruro de 1,1'-bis(di-*tert*-butilfosfina)ferroceno paladio (11,1 mg, 0,02 mmol), la mezcla de reacción se purga nuevamente con argón y se agita a 80 °C en el reactor de microondas durante 45 minutos. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante HPLC de fase inversa para proporcionar I-1.5.22.
- 15 Rendimiento del 52 % *m/z* 632 [M+H]⁺, tr 1,04 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapas 2: Síntesis del Ejemplo 23

- 20 A I-1.5.22 (56,0 mg, 0,09 mmol) en acetonitrilo (2 ml) se le añade monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (84,3 mg, 0,44 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se basicifica con TEA, se filtra a través de un filtro de membrana y se purifica mediante HPLC de fase inversa.
- 25 Rendimiento del 83 % *m/z* 532 [M+H]⁺, tr 0,96 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Síntesis de (1S,2S,4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[2-fluoro-4-[1'-(oxetan-3-il)espiro[5H-furo[3,4-b] piridina-7,4'-piperidin]-2-il]fenil]etil]-3-azabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxamida (Ejemplo 25)



Etapa 1: Síntesis del Intermedio I-1.5.24

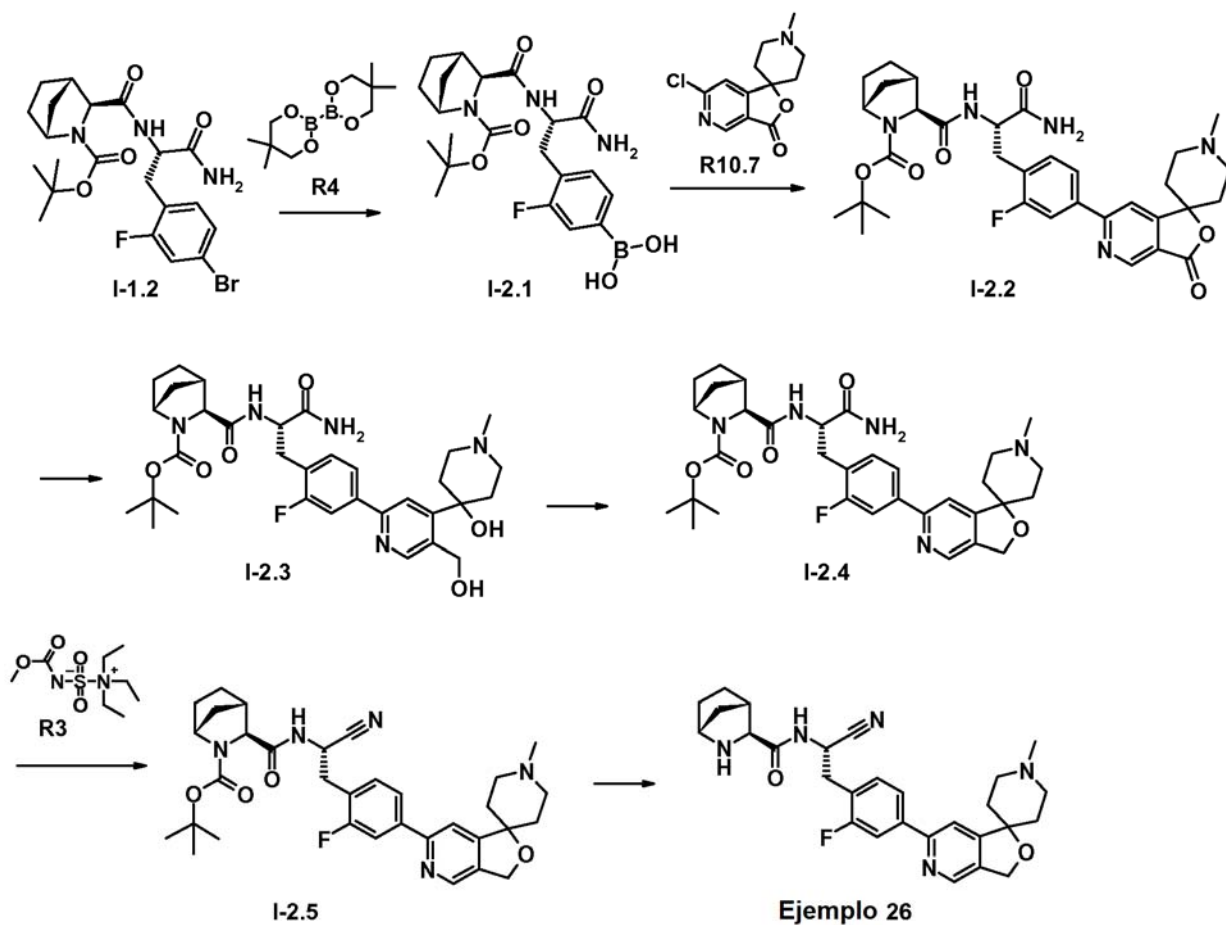
- 5 A 1-1.4 (2,304 g, 5,34 mmol) en acetonitrilo (50 ml) se le añade R19 (1,50 g, 5,34 mmol) y la mezcla se purga con argón. Se añaden solución acuosa de carbonato de sodio 2 mol/l (5,343 ml, 10,69 mmol) y dicloruro de 1,1'-bis(di-*tert*-butilfosfino)ferroceno paladio (348,2 mg, 0,53 mmol), la mezcla de reacción se purga nuevamente con argón y se agita a 70 °C en el reactor de microondas durante 45 minutos. Se añade una cantidad adicional de 1-1.4 (150 mg, 0,35 mmol) y la mezcla de reacción se agita a 70 °C durante 25 minutos. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM:MeOH = 99:1 a 9:1) para proporcionar 1-1.5.24. Rendimiento del 55 % *m/z* 632 [M+H]⁺, tr 1,05 min, Método de CL-EM Z011_S03.
- 10

15 Etapa 2: Síntesis del Ejemplo 25

- A 1-1.5.24 (1,85 g, 2,93 mmol) en acetonitrilo (50 ml) se le añade monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (2,78 g, 14,64 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante HPLC de fase inversa. Rendimiento del 88 % *m/z* 532 [M+H]⁺, tr 0,97 min, Método de CL-EM Z011_S03.
- 20

Método B

- 25 Síntesis de (1S,2S,4R)-N-[(1S)-1-ciano-2-[2-fluoro-4-(1'-metilespiro[3H-furo[3,4-c]piridina-1,4'-piperidin]-6-il)fenil]etil]-3-azabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxamida (Ejemplo 26)



Etapa 1: Síntesis del Intermedio 1-2.1

5 A 1-1.2 (1,0 g, 2,07 mmol) en dioxano (10 ml) se le añaden R4 (512,99 mg, 2,27 mmol), acetato de potasio (607,92 mg, 9,65 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II), complejo con diclorometano (1:1) (33,72 mg, 0,041 mmol). La mezcla de reacción se purga con nitrógeno y se calienta a 70 °C durante la noche. Nuevamente, se añaden R4 (100 mg, 0,44 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaldio (II), complejo con diclorometano (1:1) (10 mg, 0,01 mmol) y la mezcla de reacción se agita a 70 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante HPLC de fase inversa. Rendimiento del 50 % *m/z* 450 [M+H]⁺.

Etapa 2: Síntesis del Intermedio 1-2.2

15 A 1-2.1 (204,46 mg, 0,46 mmol) en acetonitrilo (4 ml) se le añade R10,7 (115 mg, 0,46 mmol) y la mezcla se purga con argón. Se añaden solución de carbonato de cesio 2 mol/l (455,09 µl, 0,91 mmol) y dicloruro de 1,1'-bis(di-*tert*-butilfosfino)ferroceno paladio (29,66 mg, 0,046 mmol), la mezcla de reacción se purga nuevamente con argón y se agita a 80 °C en el reactor de microondas durante 45 minutos. La mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante HPLC de fase inversa. Rendimiento del 75 %.

Etapa 3: Síntesis del Intermedio 1-2.3

25 A 1-2.2 (212 mg, 0,34 mmol) en THF (5 ml) se le añade borohidruro de litio (2 mol/l, 0,26 ml, 0,51 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 3 horas a t.a. La mezcla de reacción se enfría con metanol, se diluye con agua y acetato de etilo. La capa orgánica se lava con solución de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra al vacío. Rendimiento del 91 %.

Etapa 4: Síntesis del Intermedio 1-2.4

A 1-2.3 (194 mg, 0,31 mmol) en THF (5 ml) se le añaden TEA (0,22 ml, 1,55 mmol) y anhídrido p-toluenosulfónico (121,43 mg, 0,37 mmol) a 0 °C. Se deja que la mezcla de reacción llegue a t.a. y se agita durante la noche. La mezcla de reacción se inactiva con agua y se concentra al vacío. El residuo se diluye con solución de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante HPLC de fase inversa. Rendimiento del 34 % *m/z* 608 [M+H]⁺.

Etapa 5: Síntesis del Intermedio 1-2.5

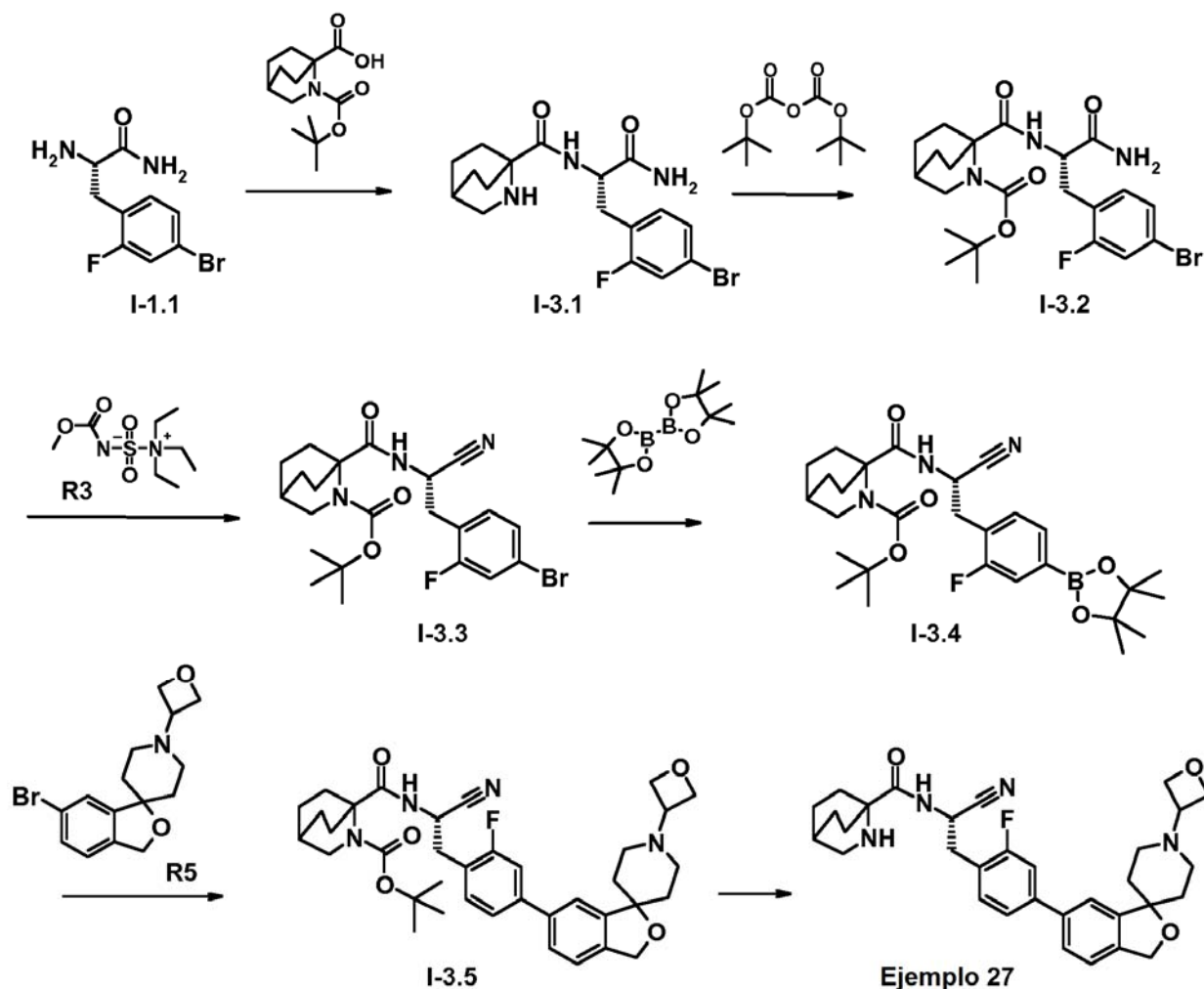
A 1-2.4 (65 mg, 0,11 mmol) en diclorometano (2,5 ml) se le añade R3 (63,72 mg, 0,27 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se diluye con acetato de etilo y se extrae con agua. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. Rendimiento del >95 %.

Etapa 6: Síntesis del Ejemplo 26

A 1-2.5 (68 mg, 0,10 mmol) en acetonitrilo (2 ml) se le añade monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (98,70 mg, 0,52 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 1 hora a t.a. La mezcla de reacción se basicifica con TEA y se purifica mediante HPLC de fase inversa. Rendimiento del 28 % *m/z* 490 [M+H]⁺, tr 0,96 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Método C

Síntesis de N-[(1S)-1-ciano-2-[2-fluoro-4-[1'-(oxetan-3-il)espiro[1H-isobenzofuran-3,4'-piperidin]-5-il]fenil]etil]-3-azabicyclo[2.2.2]octano-4-carboxamida (Ejemplo 27)



Etapa 1: Síntesis del Intermedio 1-3.1

A una solución enfriada a 0 °C de I-1.1 (5,80 g, 22,2 mmol), ácido 3-*tert*-butoxicarbonil-3-azabicyclo[2.2.2]octano-4-carboxílico, preparada de acuerdo con Radchenko et al. *J. Org. Chem.* 2009, 5541-5544 (5,67 g, 22,2 mmol) y N-metil-morfolina (12,2 ml, 111,0 mmol) en diclorometano seco (67 ml) se le añade PPA (13,08 ml (al 50 % en acetato de etilo), 22,2 mmol). Se deja que la mezcla de reacción alcance la t.a. y se agita durante la noche. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con diclorometano varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío para proporcionar 1-3.1, que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Rendimiento del 73 %, *m/z* 398/400 [M+H]⁺, tr 0,87 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 2: Síntesis del Intermedio 1-3.2

A una solución enfriada a 0 °C de 1-3.1 (8,625 g, 21,66 mmol) en 300 ml de diclorometano seco se le añade gota a gota una solución de dicarbonato de di-*tert*-butilo (6,26 g, 28,70 mmol) en 20 ml de diclorometano seco. La mezcla de reacción se agita durante 2 h a 0 °C, se deja que alcance la t.a. y se agita durante 2 días. La mezcla de reacción se concentra al vacío para proporcionar 1-3.2 que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Rendimiento del 98 %, *m/z* 398/400 [M+H - Boc]⁺, tr 1,04 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 3: Síntesis del Intermedio 1-3.3

A una suspensión de 1-3.2 (5,52 g, 11,07 mmol) en diclorometano seco (70 ml) se le añade R3 (3,96 g, 16,60 mmol) en cuatro porciones y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. Se añade una cantidad adicional de R3 (791,0 mg, 3,32 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 6 h a t.a. La mezcla de reacción se diluye con diclorometano, se lava con solución acuosa al 10 % de ácido tartárico, solución de hidrogenocarbonato de sodio saturado, salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo obtenido se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo:EtOAc = 94:6 a 69:31) para proporcionar I-3.3.

Rendimiento del 77 % *m/z* 380/382 [M+H - Boc]⁺, tr 1,10 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 4: Síntesis del Intermedio 1-3.4

A 1-3.3 (3,61 g, 7,52 mmol) en dioxano (45 ml) se le añaden bis(pinacolato)diboro (3,24 g, 12,78 mmol), acetato de potasio (2,21 g, 22,55 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (61,4 mg, 0,08 mmol). La mezcla se purga con nitrógeno durante 5 minutos y se calienta a 70 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae con diclorometano. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (éter de petróleo:EtOAc = 100:0 a 91:9) para proporcionar 1-3.4.

Rendimiento del 68 % *m/z* 346 [M+H - Boc - ((CH₃)₂CH)₂]⁺, tr 0,77 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 5: Síntesis del Intermedio 1-3.5

A 1-3.4 (1,14 g, 2,16 mmol) en acetonitrilo (30 ml) se le añade R5 (0,70 g, 2,16 mmol) y la mezcla se purga con argón. Se añaden solución acuosa de carbonato de sodio 2 mol/l (2,16 ml, 4,32 mmol) y dicloruro de paladio de 1,1'-bis(di-*tert*-butilfosfino)ferroceno (141,0 mg, 0,22 mmol), la mezcla de reacción se purga nuevamente con argón durante 5 minutos y se agita a 80 °C durante 70 minutos en el reactor de microondas. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (DCM:MeOH = 99:1 a 9:1) para proporcionar I-3.5.

Rendimiento del 81 % *m/z* 645 [M+H]⁺, tr 1,11 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 6: Síntesis del Ejemplo 27

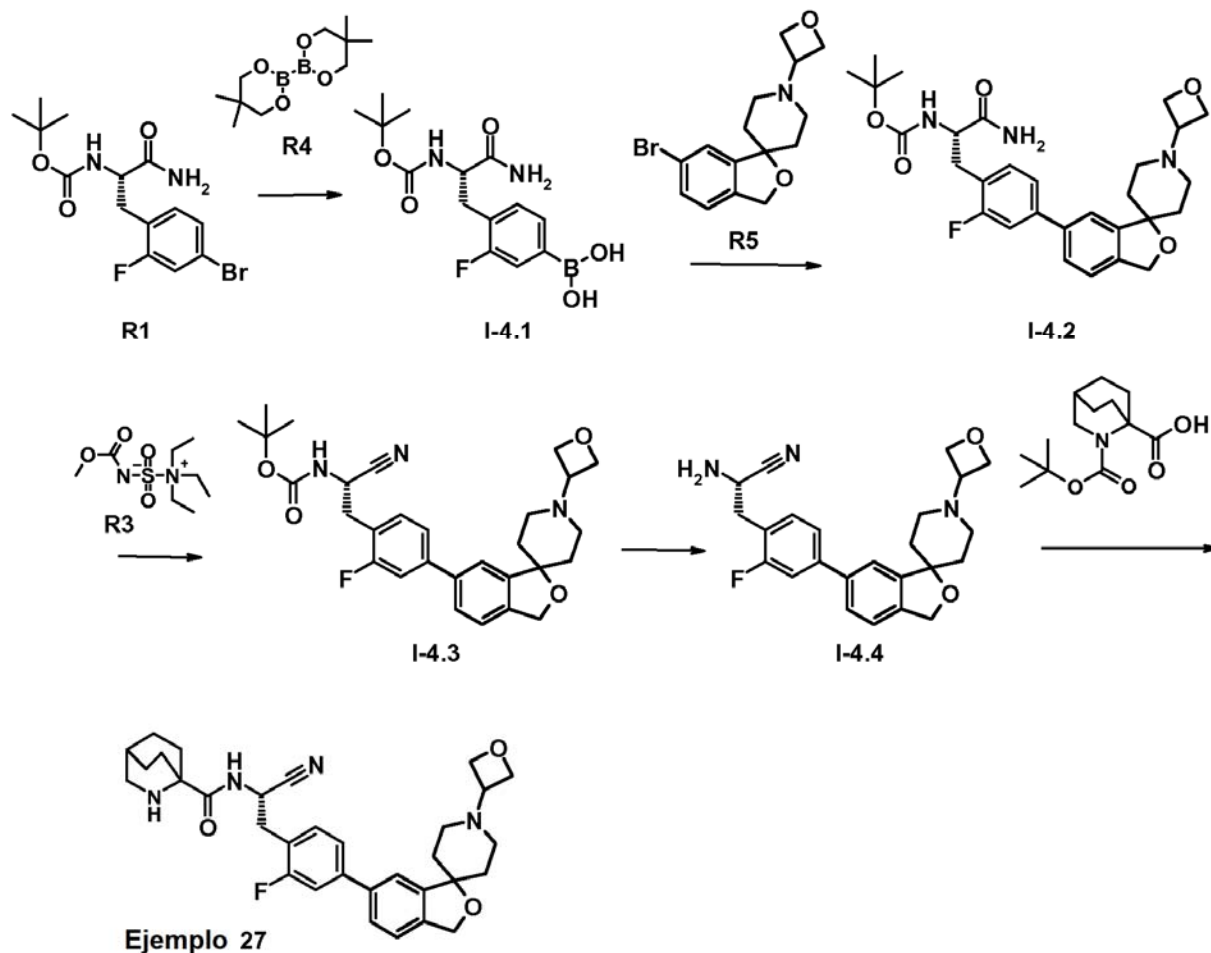
A I-3.5 (923,0 mg, 1,43 mmol) en acetonitrilo (40 ml) se le añade monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (681,0 mg, 3,58 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 3 días a t.a. La mezcla de reacción se neutraliza con TEA y se concentra al vacío. Se añadió agua y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante HPLC de fase inversa.

Rendimiento del 61 %, *m/z* 545 [M+H]⁺, tr 1,02 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Método D

Síntesis alternativa de N-[(1S)-1-ciano-2-[2-fluoro-4-[1'-(oxetan-3-il)espiro[1H-isobenzofuran-3,4'-piperidin]-5-il]fenil]etil]-3-azabicyclo[2.2.2]octano-4-carboxamida (Ejemplo 27)

5



Etapa 1: Síntesis del Intermedio 1-4.1

- 10 A R1 (340 mg, 0,94 mmol) en dioxano (7 ml) se le añaden R4 (288 mg, 1,28 mmol), acetato de potasio (277 mg, 2,82 mmol) y [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo con diclorometano (1:1) (15,3 mg, 0,02 mmol). La mezcla se purga con nitrógeno y se calienta a 70 °C durante 2 h. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante HPLC de fase inversa para proporcionar 1-4.1.
- 15 Rendimiento del 90 %, *m/z* 325 [M-H]⁻, *tr* 0,94 min, Método de CL-EM Z020_S01.

Etapa 2: Síntesis del Intermedio 1-4.2

- 20 A 1-4.1 (228 mg, 0,70 mmol) en acetonitrilo (10 ml) se le añade R5 (239 mg, 0,70 mmol) y la mezcla se purga con argón. Se añaden solución acuosa de carbonato de potasio 2 mol/l (700 µl, 1,4 mmol) y dicloruro de 1,1-bis(di-*tert*-butilfosfino)ferroceno paladio (46 mg, 0,07 mmol), la mezcla de reacción se purga nuevamente con argón y se agita a 80 °C durante 45 minutos en el reactor de microondas. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante HPLC de fase inversa para proporcionar 1-4.2.
- 25 Rendimiento del 80 %, *m/z* 526 [M+H]⁺, *tr* 0,83 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 3: Síntesis del Intermedio I-4.3

- 30 A 1-4.2 (294 mg, 0,56 mmol) en diclorometano (10 ml) se le añade R3 (333 mg, 1,4 mmol) y la mezcla de reacción

se agita durante 40 minutos a t.a. El DCM se retira al vacío, el residuo obtenido se reparte entre acetato de etilo y una solución acuosa de ácido tartárico al 10 %, las fases se separan y la fase acuosa se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lava con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio, salmuera, se seca sobre MgSO_4 , se filtra y se concentra al vacío para proporcionar 1-4.3.

5 Rendimiento del 95 %, m/z 508 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 1,06 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 4: Síntesis del Intermedio I-4.4

10 A 1-4.3 (320 mg, 0,63 mmol) en acetonitrilo (8 ml) se le añade monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (600 mg, 3,15 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo tres veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO_4 , se filtra y se concentra al vacío.

Rendimiento del 80 %, m/z 408 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,90 min, Método de CL-EM Z011_S03.

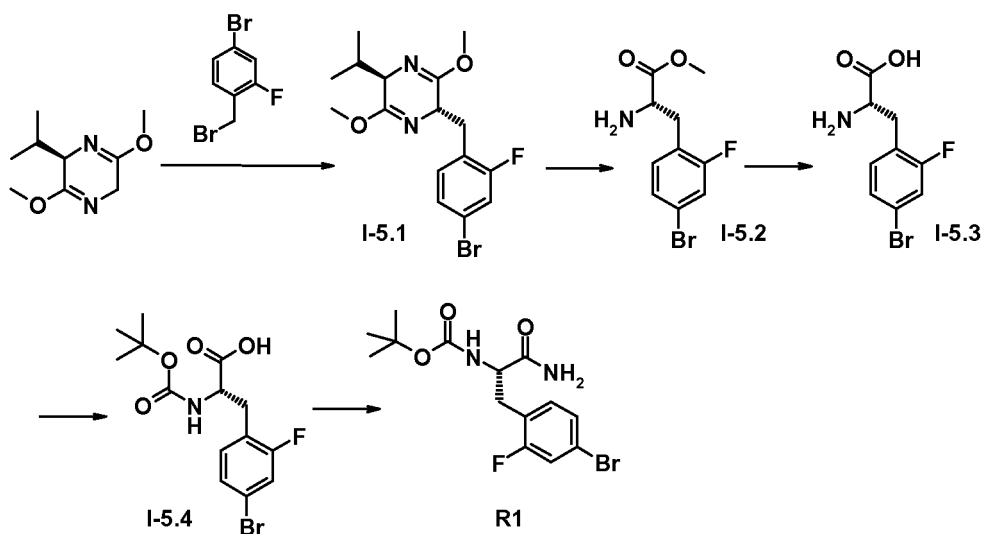
15 Etapa 5: Síntesis del Ejemplo 27

20 A 1-4.4 (30 mg, 0,07 mmol) en DMF (1 ml) se le añaden ácido 3-*tert*-butoxicarbonil-3-azabicyclo[2.2.2]octano-4-carboxílico, preparado de acuerdo con Radchenko et al. *J. Org. Chem.* 2009, 5541-5544 (19 mg, 0,07 mmol), N-metil-morfolina (16 μl , 0,15 mmol) y PPA (43 μl , al 50 % en DMF) a t.a. La mezcla de reacción se agita durante 2,5 horas a t.a., se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO_4 , se filtra y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante HPLC de fase inversa para proporcionar el Ejemplo 27 (durante el tratamiento y/o la purificación se produce la desprotección del grupo Boc).

25 Rendimiento del 32 %, m/z 545 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 1,02 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Síntesis de materiales de partida/eductos

Síntesis de N-[(1S)-2-amino-1-[(4-bromo-2-fluoro-fenil)metil]-2-oxoetil]carbamato de *tert*-butilo (R1)



30

Etapa 1: Síntesis del Intermedio I-5.1

35 Se enfría (2R)-(-)-2,5-dihidro-3,6-dimetoxi-2-isopropilpirazina (212 g, 1151 mmol) en tetrahidrofurano seco (600 ml) a -78 °C. Después se añade n-butil-litio (2,5 M en hexanos, 552 ml, 1381 mmol) gota a gota, manteniendo la temperatura por debajo de -78 °C. Después de 30 minutos, se añade gota a gota bromuro de 4-bromo-2-fluorobencilo (324 g, 1209 mmol) en tetrahidrofurano seco (120 ml). La mezcla de reacción se agita a -78 °C durante 1 h. La mezcla se inactiva con solución saturada de NH_4Cl y se extrae tres veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se evapora al vacío. El residuo se purifica mediante cromatografía ultrarrápida (heptano/acetato de etilo = 80/20). Rendimiento del 60 %.

40

Etapa 2: Síntesis del Intermedio I-5.2

45 A 1-5.1 (104 g, 265 mmol) en acetonitrilo (600 ml) se le añade HCl 0,2 M ac. (2788 ml, 558 mmol). La mezcla se agita a TA durante 12 h. La mezcla se extrae con dietil éter y el pH de la capa acuosa se ajusta a ~8 con solución saturada de NaHCO_3 . Después se extrae tres veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se concentra. Rendimiento del 80 %.

Etapa 3: Síntesis del Intermedio I-5.3

Se agita 1-5.2 (62,4 g, 211 mmol) en HCl 3 M acuoso (3 mol/l, 1000 ml) a 60 °C durante 16 h. La mezcla se enfría y el pH se ajusta a ~7 con NaOH 6 M acuoso. Después la mezcla de reacción se filtra, se lava tres veces con agua y se seca en un horno de vacío a 40 °C durante 12 h. Rendimiento del 74 %.

Etapa 4: Síntesis del Intermedio I-5.4

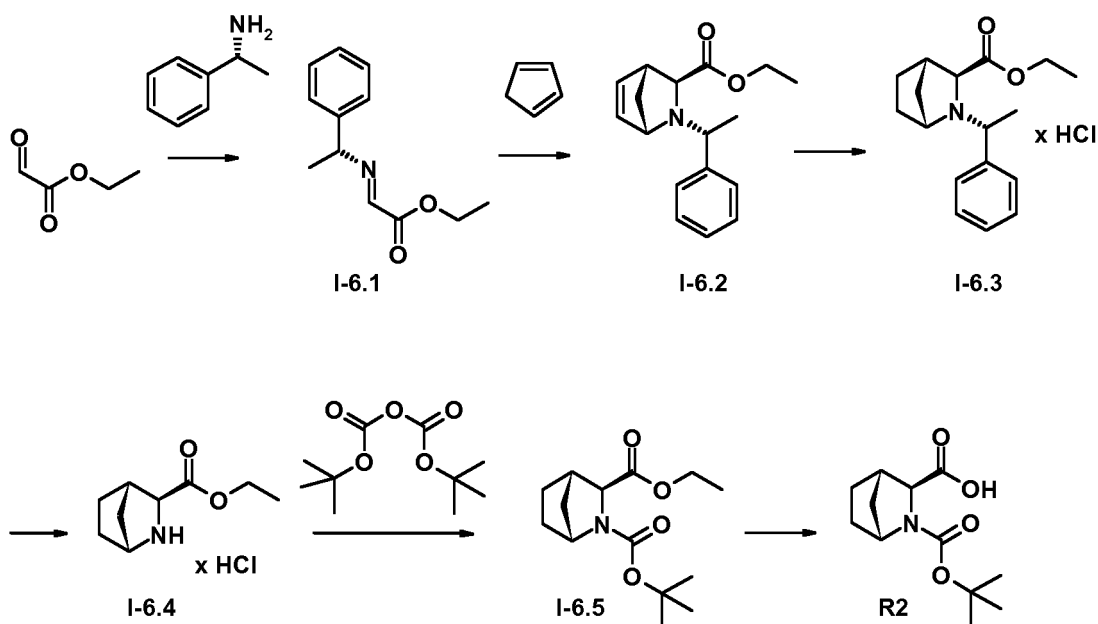
A 1-5.3 (151 g, 546 mmol) en 1,4-dioxano (2,2 l) se le añade carbonato de sodio 2 M acuoso (301 ml, 602 mmol) y dicarbonato de di-tercbutilo (138 g, 632 mmol). La mezcla se agita durante 4 h. Después se añade agua y el pH se ajusta a ~4-5 con ácido cítrico. La mezcla se extrae tres veces con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra. El residuo se agita en heptano durante 15 minutos y el producto se retira por filtración. Rendimiento del 87 %.

Etapa 5: Síntesis de R1

A 1-5.4 (181 g, 476 mmol) en DMF seco (1200 ml) se le añaden N-metilmorfolina (72 g, 713 mmol) y TBTU (153 g, 476 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 30 min. Después, la mezcla de reacción se enfría a 0°C y se añade solución acuosa de cloruro de amonio al 35 % (47 ml, 856 mmol) y la mezcla se agita a t.a. durante 12 h. Se añade agua y el producto formado se filtra y se lava tres veces con agua. El producto se seca en un horno de vacío a 40 °C durante 72 h. Rendimiento del 64 %.

Síntesis de (1S,2S,4R)-3-[(*tert*-butoxi)carbonil]-3-azabicyclo[2.2.1]heptano-2-carboxilato (R2)

El compuesto está disponible en el mercado o puede sintetizarse en analogía con Tararov et al, *Tetrahedron Asymmetry* 13 (2002), 25-28.



Etapa 1: Síntesis del Intermedio I-6.1

Una solución de oxoacetato de etilo (44,9 g, 0,44 mol), recién destilada de una solución disponible en el mercado en tolueno (a 50 hPa (50 mbar), 55 °C) en dietil éter (300 ml) se enfría a -10 °C, seguido de la adición gota a gota de (R)-(+)-1-feniletanoamina (53 g, 440 mmol), manteniendo la temperatura por debajo de 0 °C. Después de la adición completa, se añade MgSO₄·H₂O (91 g, 660 mmol) y la mezcla resultante se agita a t.a. durante la noche. La mezcla se filtra, las aguas madres se concentran al vacío y el residuo se destila a presión reducida para proporcionar 1-6.1 (47 g, *m/z* 206 [M+H]⁺, tr 1,29 min, Método de CL-EM V003_003). El producto se usa sin purificación adicional.

Etapa 2: Síntesis del Intermedio I-6.2

Una solución de 1-6.1 (47 g, 229 mmol) y 1,3-ciclopentadieno (30 g, 458 mmol) (recién destilada de dicitopentadieno) en DMF (150 ml) y 120 µl de agua se enfría a 0 °C, antes se añade TFA (18 ml, 234 mmol) gota a gota. La mezcla se agita durante la noche a t.a., después se añade a una solución de 40 g de NaHCO₃ en 1200 ml de agua y se extrae con dietil éter. La capa orgánica se separa, se lava posteriormente con NaHCO₃ acuoso y agua,

se seca sobre MgSO_4 y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo = 9:1) para proporcionar 1-6.2 (Rendimiento del 52 % m/z 272 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,42 min, Método de CL-EM X001_004).

5 Etapa 3: Síntesis del Intermedio I-6.3

A una solución de 1-6.2 (24,8 g, 91 mmol) en etanol (250 ml), se le añade níquel Raney (2,5 g) y la mezcla se hace reaccionar a 3447,33 hPa (50 psi) en atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente. El catalizador se filtra, la solución se concentra al vacío y el residuo se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice (ciclohexano/acetato de etilo 9:1). Después de la evaporación del disolvente orgánico, el producto obtenido se redissuelve en dietil éter y se tritura con una solución de HCl en dioxano, se concentra al vacío, se redissuelve en 200 ml de etanol y se concentra al vacío para obtener 1-6.3. (Rendimiento del 78 % m/z 274 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,42 min, Método de CL-EM X001_004).

15 Etapa 4: Síntesis del Intermedio I-6.4

A una solución de 1-6.3 (22 g, 71 mmol) en etanol (250 ml), se le añade Pd/C al 10 % (2,5 g) y se hace reaccionar a 1,5 MPa (15 bar) en atmósfera de hidrógeno a t.a. El catalizador se filtra, la solución se concentra al vacío. El residuo se lava con diisopropil éter para producir 1-6.4 (Rendimiento del 98 % m/z 170 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,48 min, Método de CL-EM V001_007).

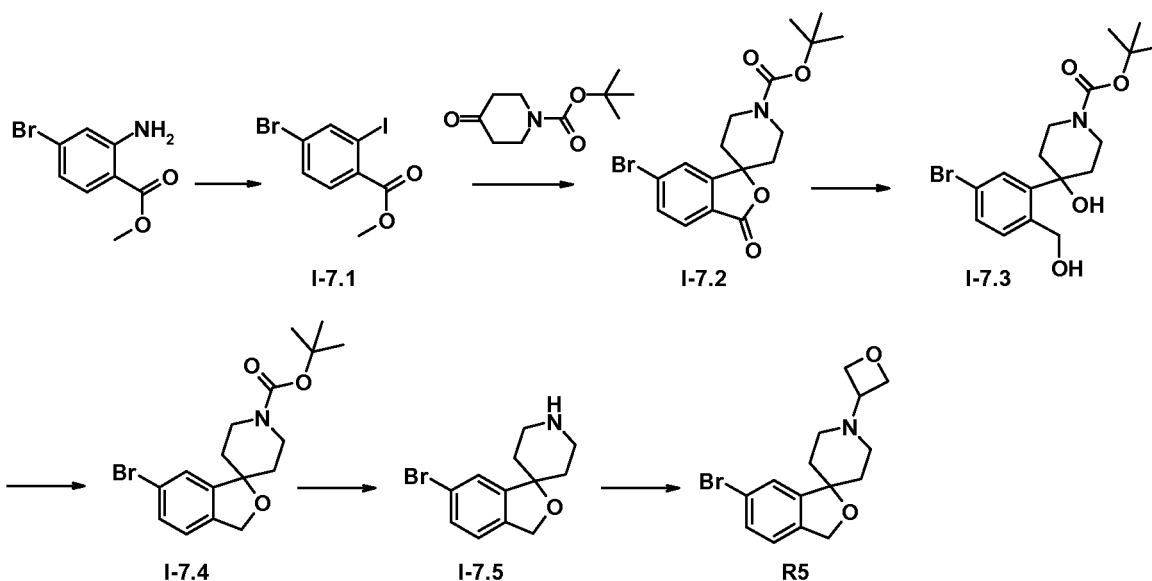
Etapa 5: Síntesis del Intermedio I-6.5

A 1-6.4 (14,3 g, 69,3 mmol) en una solución de trietilamina (24,6 ml, 175,3 mmol), THF (150 ml) y agua (2 ml), se le añade dicarbonato de di-*tert*-butilo (15,9 g, 73 mmol) y la mezcla resultante se agita durante 40 horas a t.a., después se concentra al vacío. Se añade acetato de etilo al residuo, posteriormente se extrae con agua, ácido acético acuoso 1 N y agua, antes de que la capa orgánica se seque sobre MgSO_4 , se filtra y se concentra al vacío para proporcionar 1-6.5 (Rendimiento del 95 % m/z 270 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 1,33 min, Método de CL-EM V003_003).

30 Etapa 6: Síntesis de R2

Una mezcla de 1-6.5 (16,9 g; 63 mmol) en acetona (152 ml), agua (50 ml) e hidróxido de litio (3 g, 126 mmol) se agita durante la noche a t.a. Se añade agua (100 ml), el volumen se reduce al vacío antes de enfriar a 0 °C seguido de la adición de HCl acuoso 1 N para acidificar a un pH de 2-3, seguido inmediatamente de extracción con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con agua, se seca (MgSO_4) y se concentra. Al residuo, se le añaden diclorometano (100 ml) y ciclohexano (100 ml), el volumen se reduce al vacío a la mitad y la mezcla se temple a 15 °C. El precipitado se filtra, se lava con ciclohexano para proporcionar R2 (Rendimiento del 66 %, m/z 242 $[\text{M}+\text{H}]^+$).

40 Síntesis de 5-bromo-1'-(oxetan-3-il)espiro[1H-isobenzofuran-3,4'-piperidina] (R5)



Etapa 1: Síntesis del Intermedio I-7.1

Se suspende 2-amino-4-bromobenzoato de metilo (10 g, 43,47 mmol) en ácido sulfúrico al 20 % (200 ml) y la solución

obtenida se enfría a 0 °C. Se añade gota a gota nitrito de sodio (3,60 g, 52,16 mmol), disuelto en agua (40 ml), entre 0 °C - 5 °C y la mezcla de reacción se agita durante 40 minutos adicionales a esta temperatura. Después se añade gota a gota una solución enfriada (aprox. 0 °C) de yoduro de potasio (14,43 g, 86,93 mmol) en agua (40 ml) y la mezcla de reacción se agita durante 1 hora a 5 °C. La mezcla de reacción se vierte sobre agua con hielo y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con agua, solución al 10 % ac. de tiosulfato de sodio, salmuera, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra al vacío. Rendimiento del 94 %.

Etapa 2: Síntesis del Intermedio I-7.2

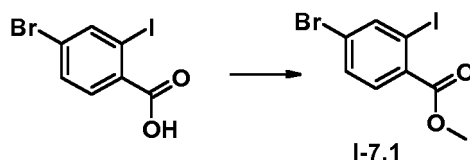
Se enfría I-7.1 (9,42 g, 27,63 mmol) y 4-oxopiperidina-1-carboxilato de *terc*-butilo (6,24 g, 30,40 mmol) en THF seco (200 ml) a -70 °C. Se añade gota a gota complejo de cloruro de isopropilmagnesio-cloruro de litio (1,3 mol/l en THF, 23,38 ml, 30,40 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 20 minutos adicionales a esta temperatura, se deja que alcance la t.a. y se agita durante 45 minutos. La mezcla de reacción se inactiva con agua y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante cromatografía de columna ultrarrápida (éter de petróleo:EtOAc = de 95:5 a 40:60) para proporcionar I-7.2. Rendimiento del 74 %, *m/z* 326,328 [M+H - *terc*-Bu]⁺, tr 1,09 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Los siguientes intermedios que se muestran en la Tabla 2 se sintetizan de manera similar a partir de los intermedios apropiados:

Tabla 2

Intermedio	Estructura	<i>m/z</i> [M+H] ⁺	tr (min)	Método de CL-EM
I-7.2.1		312; 314 [M- <i>terc</i> -But+H] ⁺	1,06	Z011_S03
I-7.2.2		298; 300 [M- <i>tert</i> -But+H] ⁺	1,07	Z012_S04

Síntesis alternativa del Intermedio I-7.1



A ácido 4-bromo-2-yodobenzoico (9,0 g, 27,53 mmol) en metanol (50 ml) se le añade ácido sulfúrico concentrado (10 ml) y la mezcla de reacción se agita durante 90 minutos a 80 °C. La mezcla de reacción se vierte sobre agua con hielo, se añade hidrogenocarbonato de sodio hasta que se alcanza un valor de pH de 7 y la mezcla de reacción se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO₄, se filtra y se concentra al vacío. Rendimiento del 95 %.

Etapa 3: Síntesis del Intermedio I-7.3

A I-7.2 (8,11 g, 21,22 mmol) en THF (100 ml) se le añade borohidruro de litio (2 mol/l en THF, 21,22 ml, 42,44 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. El análisis por HPCL-EM indicó una conversión del 20 %. Se añade borohidruro de litio adicional (2 mol/l en THF, 27,0 ml, 54,0 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se agita durante 6 días a t.a. La mezcla de reacción se inactiva cuidadosamente con agua mientras se enfría a aprox. 0 °C con un baño de hielo. Se añade solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio a la mezcla

de reacción, el precipitado obtenido se retira por filtración y las aguas madres se extraen con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO_4 , se filtra y se concentra al vacío. Rendimiento del >95 %, m/z 312/314 $[\text{M}+\text{H}-\text{terc-Butilo}-\text{H}_2\text{O}]^+$, TR 1,01 min, Método de CL-EM Z011_S03.

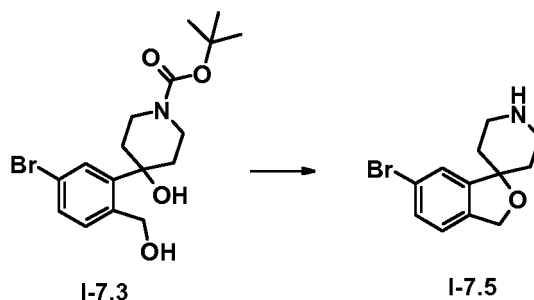
5 Etapa 4: Síntesis del Intermedio I-7.4

Se disuelve 1-7.3 (605 mg, 1,57 mmol) en THF seco (20 ml) y la mezcla se enfría a 0 °C, se añaden TEA (1,09 ml, 7,83 mmol) y anhídrido p-toluenosulfónico (613,44 mg, 1,88 mmol). Se deja que la mezcla de reacción llegue a t.a. y se agita durante la noche. La mezcla de reacción se diluye con agua y solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante HPLC de fase inversa. Rendimiento del 72 %, m/z 368; 370 $[\text{M}+\text{H}]^+$

15 Etapa 5: Síntesis del Intermedio I-7.5

Se disuelve 1-7.4 (240 mg, 1,57 mmol) en DCM seco (2 ml) y se añade TFA (500 μl , 6,53 mmol). La mezcla de reacción se deja durante 70 minutos a t.a. La mezcla de reacción se concentra al vacío, el residuo se redisuelve en metanol, se filtra a través de un cartucho de fase sólida (resina StratoSpheres™ PL-HCO3 MP) y el metanol se retira al vacío. Rendimiento del 97 %, m/z 268; 270 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,93 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Síntesis alternativa del Intermedio I-7.5

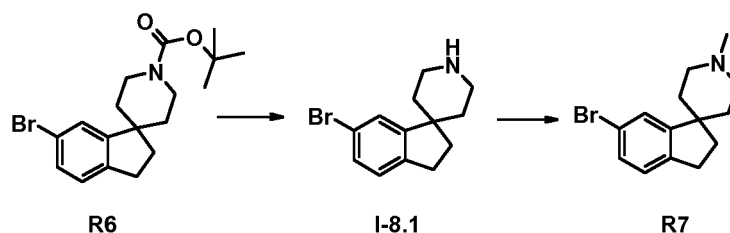


Se disuelve 1-7.3 (8,39 g, 21,71 mmol) en THF seco (25 ml), se añade HCl acuoso 5 N (25 ml) y la mezcla de reacción se agita a 90 °C durante 30 h. La mezcla de reacción se enfría a t.a., se basicifica con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se concentra al vacío. Rendimiento del 76 %, m/z 268; 270 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,93 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 6: Síntesis de R5

Se disuelve 1-7.5 (5,0 g, 18,49 mmol) en tetrahidrofurano seco (20 ml), se añaden 3-oxetanona (1,78 ml, 27,73 mmol) y ácido acético (1,06 ml, 18,49 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 25 minutos a t.a. Se añade triacetoxiborohidruro de sodio (6,82 g, 30,57 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 30 minutos adicionalmente a t.a. La mezcla de reacción se inactiva con MeOH, se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO_4 y se concentra al vacío para proporcionar R5. Rendimiento del 89 %, m/z 324, 326 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,93 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Síntesis de 6-bromo-1'-metil-espiro[indano-1,4'-piperidina] (R7)



45 Etapa 1: Síntesis del Intermedio I-8.1

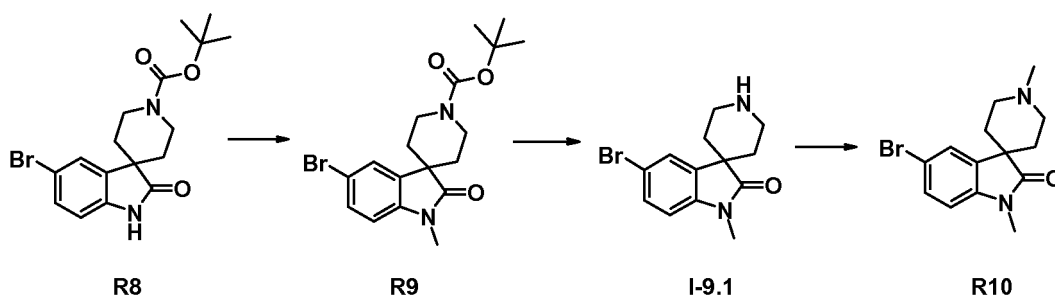
A R6, adquirido en WUXI APPTec (200 mg, 0,55 mmol) en diclorometano (3 ml) se le añade ácido trifluoroacético (0,25 ml) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se concentra al vacío, el

residuo se redissuelve en metanol, se filtra a través de un cartucho de fase sólida (Resina StratoSpheres™ PL-HCO₃ MP) y el metanol se retira al vacío. Rendimiento del >95 %.

Etapa 2: Síntesis de R7

A 1-8.1 (152 mg, 0,57 mmol) en metanol (4 ml) se le añaden formaldehído (37 % en agua, 0,21 ml, 2,86 mmol) y ácido acético (0,05 ml, 0,86 mmol). La mezcla de reacción se agita 2 h a t.a. Se añade triacetoxiborohidruro de sodio (302,6 mg, 1,43 mmol) y la mezcla de reacción se agita 80 minutos a t.a. La mezcla de reacción se concentra, se tritura con agua y solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y salmuera. El precipitado se retira por filtración y el filtrado se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra al vacío para producir R7. Rendimiento del 89 %.

Síntesis de 5-bromo-1,1'-dimetil-espiro[indolina-3,4'-piperidina]-2-ona (R10)



Etapa 1: Síntesis de R9

A R8, adquirido en ACTIVATE (200 mg, 0,53 mmol) en DMF (4 ml) se le añade hidruro de sodio (dispersión al 60 % en aceite mineral, 31,5 mg, 0,79 mmol) con enfriamiento a 0 °C y la mezcla de reacción se agita durante 30 minutos adicionales a t.a. Se añade yoduro de metilo (36 µl, 0,58 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 40 minutos a t.a. La mezcla de reacción se diluye con agua y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con agua y salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra al vacío para proporcionar R9. Rendimiento del 98 %.

Etapa 2: Síntesis del Intermedio I-9.1

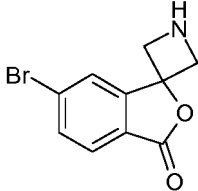
A R9 (191 mg, 0,48 mmol) en diclorometano (5 ml) se le añade ácido trifluoroacético (0,5 ml) y la mezcla de reacción se agita durante 20 minutos a t.a. La mezcla de reacción se concentra al vacío, el residuo se redissuelve en metanol, se filtra a través de un cartucho de fase sólida (resina StratoSpheres™ PL-HCO₃ MP) y el metanol se retira al vacío. Rendimiento del >95 %

Los siguientes intermedios que se muestran en la Tabla 3 se sintetizan de manera similar a partir de los intermedios apropiados:

Tabla 3

Intermedio	Estructura	m/z [M+H] ⁺	tr (min)	Método de CL-EM
I-9.1.1		282; 284	0,69	Z012_S04
I-9.1.2		268; 270	0,57	Z021_S01

(continuación)

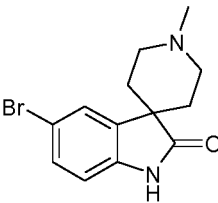
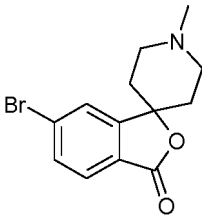
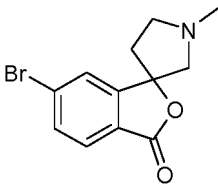
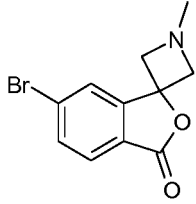
Intermedio	Estructura	m/z [M+H] ⁺	tr (min)	Método de CL-EM
I-9.1.3		254; 256	0,62	Z012_S04

Etapa 3: Síntesis de R10

- 5 A 1-9.1 (152 mg, 0,52 mmol) en metanol (5 ml) se le añaden formaldehído (al 37 % en agua, 0,19 ml, 2,58 mmol) y ácido acético (0,044 ml, 0,77 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 2 horas a t.a. Se añade triacetoxiborohidruro de sodio (273,0 mg, 1,29 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 40 minutos a t.a. La mezcla de reacción se concentra, se diluye con agua y solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄, se filtra y se concentra al vacío.
- 10 Rendimiento del >95 %, 309; 311 [M+H]⁺, tr 0,75 min, Método de CL-EM Z012_S04.

Los siguientes intermedios que se muestran en la Tabla 4 se sintetizan de manera similar a partir de los intermedios apropiados:

Tabla 4

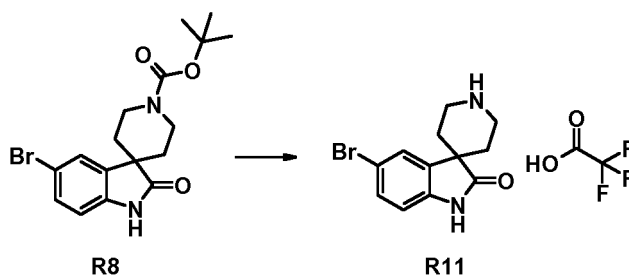
Intermedio	Estructura	m/z [M+H] ⁺	tr (min)	Método de CL-EM
R10.1		295; 297	0,69	Z012_S04
R10.2		296; 298	0,70	Z012_S04
R10.3		282; 284	0,68	Z012_S04
R10.4		268; 270	0,62	Z012_S04

(continuación)

Intermedio	Estructura	m/z [M+H] ⁺	tr (min)	Método de CL-EM
R10.5		282; 284	0,77	Z012_S04
R10.6		309; 311	0,59	Z020_S01
R10.7		253	0,24	Z021_S01

Síntesis de sal de TFA de 5-bromoespiro[indolina-3,4'-piperidin]-2-ona (R11)

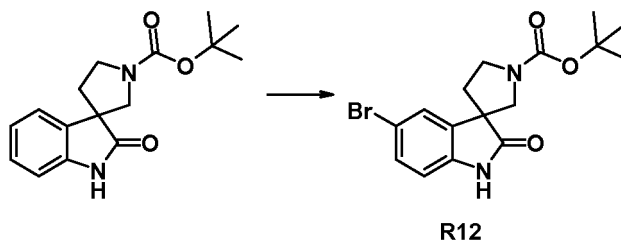
5



A R8, adquirido en ACTIVATE (150 mg, 0,39 mmol) en diclorometano (3 ml) se le añade ácido trifluoroacético (0,5 ml) y la mezcla de reacción se agita durante 45 minutos a t.a. La mezcla de reacción se concentra. Rendimiento del 100 %.

10

Síntesis de 5-bromo-2-oxo-espiro[indolina-3,3'-pirrolidina]-1'-carboxilato de *tert*-butilo (R12)

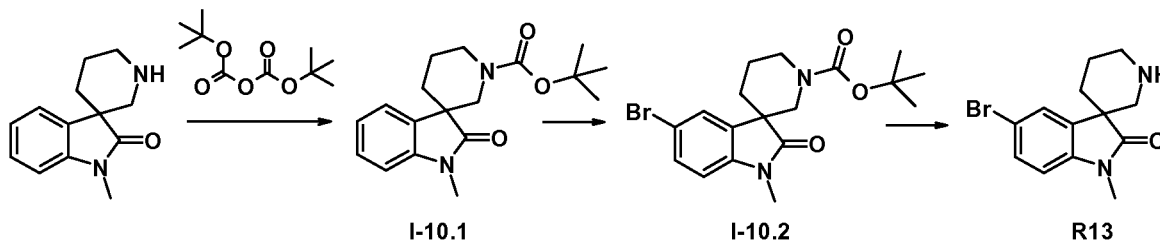


15

A 2-oxoespiro[indolina-3,3'-pirrolidina]-1-carboxilato de *tert*-butilo, adquirido en Zerenex (50,0 mg, 0,17 mmol) en acetonitrilo (1,5 ml) se le añade N-bromosuccinimida (30,5 mg, 0,17 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 5 h a t.a. La mezcla de reacción se diluye con agua y solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca y se concentra al vacío. Rendimiento del 80 %, m/z 367; 369 [M+H]⁺

20

Síntesis de 5-bromo-1-metil-espiro [indolina-3,3'-piperidina]-2-ona (R13)



5 Etapa 1: Síntesis del Intermedio I-10.1

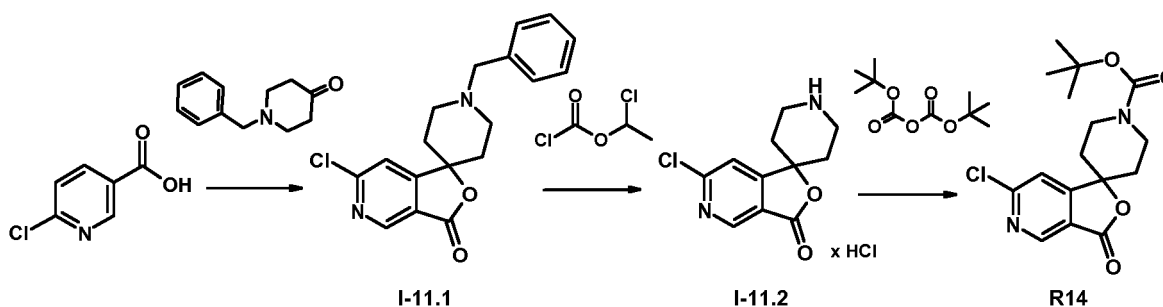
A 1-metilespiro[indol-3,3'-piperidina]-2(1H)-ona, adquirido en ChemBridge Corporation (1,0 g, 4,62 mmol) en diclorometano (20 ml) se le añaden TEA (0,64 ml, 4,62 mmol) y dicarbonato de di-*terc*-butilo (958,6 mg, 4,39 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 10 minutos a t.a., se diluye con agua y solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con diclorometano. Las fases se separan y la capa acuosa se extrae con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secan sobre MgSO_4 y se concentran al vacío. Rendimiento del >95 %, m/z 261 $[\text{M}+\text{H} - \text{terc-Butilo}]^+$, tr 1,06 min, Método de CL-EM Z020_S01.

15 Etapa 2: Síntesis del Intermedio I-10.2

A I-10.1 (1,54 g, 4,87 mmol) en acetonitrilo (35 ml) se le añade N-bromosuccinimida (856,7 mg, 5 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se diluye con agua y solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con solución de hidrogenocarbonato de sodio saturado y salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y se concentra al vacío. Rendimiento del 93 %, m/z 340 $[\text{M}+\text{H} - \text{terc-Butilo}]^+$, tr 1,13 min, Método de CL-EM Z020_S01.

Etapa 3: Síntesis de R13

A I-10.2 (200 mg, 0,51 mmol) en diclorometano (10 ml) se le añade ácido trifluoroacético (5 ml) y la mezcla de reacción se agita durante 15 minutos a t.a. La mezcla de reacción se concentra al vacío y se liofiliza. El residuo se disuelve en diclorometano y se extrae con hidróxido de sodio acuoso al 1 mol/l y salmuera. La capa orgánica se seca y se concentra al vacío. Rendimiento del 88 %, m/z 295; 297 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,59 min, Método de CL-EM Z020_S01.

30 Síntesis de 6-cloro-3-oxo-espiro[furo[3,4-c]piridina-1,4'-piperidina]-1'-carboxilato de *terc*-butilo (R14)

35 Etapa 1: Síntesis del Intermedio I-11.1

La síntesis del intermedio I-11.1 se describe en el documento EP2072519 A1, p. 36.

A -78 °C, una solución de hexano (94 ml, 150,81 mmol) de *n*-butil-litio 1,6 M se añade gota a gota a una solución de THF (110 ml) de 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (16,14 g, 113,10 mmol) y la solución obtenida se agita durante 1 hora. Después se añade gota a gota una solución en THF (50 ml) de ácido 6-cloronicotínico (6,0 g, 37,70 mmol) durante 1 hora y la mezcla de reacción se agita durante 2 horas. Se añade una solución en THF (50 ml) de 1-bencil-4-piperidona (21,6 g, 113,10 mmol) gota a gota a -78 °C. Después de agitar durante 2 horas, se añade agua (70 ml) y la mezcla de reacción se calienta a t.a.

La capa acuosa se separa y la capa orgánica se extrae con solución acuosa de hidróxido de sodio 1 N (75 ml, 2 veces). La capa acuosa obtenida se extrae con dietil éter (100 ml) y la capa acuosa se acidifica (pH~1) mediante la adición de ácido clorhídrico concentrado.

Después de agitar durante 1 hora, el precipitado se retira por filtración, se lava con agua y se disuelve en acetato de etilo.

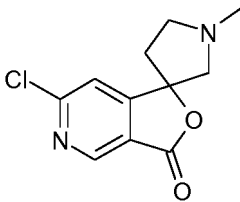
La capa orgánica se lava con solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio, se seca sobre Na_2SO_4 y se concentra al vacío. El residuo se lava con dietil éter.

Rendimiento del 66 %, m/z 329 $[M+H]^+$, tr 0,72 min, Método de CL-EM Z012_S04.

El siguiente intermedio que se muestra en la Tabla 5 se sintetiza de manera similar a partir del intermedio apropiado:

5

Tabla 5

Intermedio	Estructura	m/z $[M+H]^+$	tr (min)	Método de CL-EM
I-11.1.1		239	0,75	Z011_S03

Etapas 2: Síntesis del Intermedio I-11.2

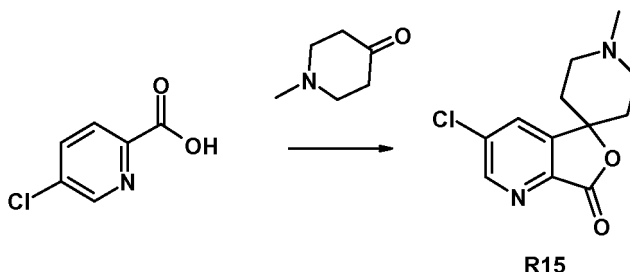
Se enfría I-11.1 (2,0 g, 6,08 mmol) en dicloroetano (15 ml) a 0 °C. Se añade lentamente una solución de cloroformiato de 1-cloroetilo (1,98 ml, 18,25 mmol) en dicloroetano (5 ml) y la mezcla de reacción se agita durante 15 minutos adicionales a 0 °C. Después, la mezcla de reacción se somete a reflujo y se agita durante la noche. La mezcla de reacción se concentra al vacío. El residuo se disuelve en metanol y se somete a reflujo durante 30 minutos, durante este tiempo se forma un precipitado. La mezcla de reacción se diluye con diclorometano y el precipitado se filtra para proporcionar I-11.2 (clorhidrato).
Rendimiento del 61 %.

Etapas 3: Síntesis de R14

A I-11.2 (500 mg, 1,82 mmol) en diclorometano (10 ml) se le añaden TEA (0,51 ml, 3,64 mmol) y dicarbonato de di-*tert*-butilo (396,6 mg, 1,82 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 20 minutos a t.a., se diluye con agua y solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con diclorometano. La capa orgánica se seca y se concentra al vacío. Rendimiento del 91 %.

Síntesis de 3-cloro-1'-metil-espiro[furo [3,4-b]piridina-5,4'-piperidin]-7-ona (R15)

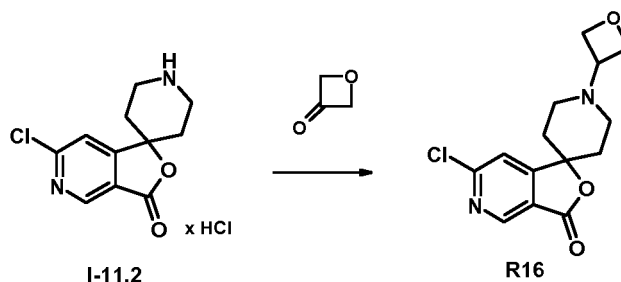
25



A -78 °C, una solución de hexano (2,38 ml, 3,81 mmol) de *n*-butil-litio 1,6 M se añade gota a gota a una solución de THF (5 ml) de 2,2,6,6-tetrametilpiperidina (0,76 ml, 4,43 mmol) y la solución obtenida se agita durante 1 hora a esta temperatura. Posteriormente, se añade una solución en THF (1 ml) de ácido 5-cloro-2-piridincarboxílico (0,2 g, 1,27 mmol) gota a gota durante 5 minutos y la mezcla de reacción se agita durante 45 minutos. Una solución de THF (1 ml) de 1-metil-4-piperidona (0,44 ml, 3,81 mmol) se añade gota a gota a -78 °C. Después de 1 hora, se añade agua (10 ml) y la mezcla de reacción se calienta a t.a.
Se añaden acetato de etilo (15 ml) y solución saturada acuosa de NaHCO_3 (15 ml) a la mezcla de reacción y la capa acuosa se separa. La capa orgánica se extrae con solución saturada acuosa de NaHCO_3 (10 ml, 2 veces). La fase acuosa combinada se acidifica (pH ~1) mediante la adición de ácido clorhídrico concentrado. Después de agitar durante 1 hora la mezcla de reacción se basificó mediante la adición de solución saturada acuosa de NaHCO_3 y se extrajo con acetato de etilo (25 ml, 2 veces). La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na_2SO_4 y se concentra al vacío para proporcionar R15. Rendimiento del 21 %, m/z 253, 255 $[M+H]^+$, tr 0,41 min, Método de CL-EM Z012_S04.

40

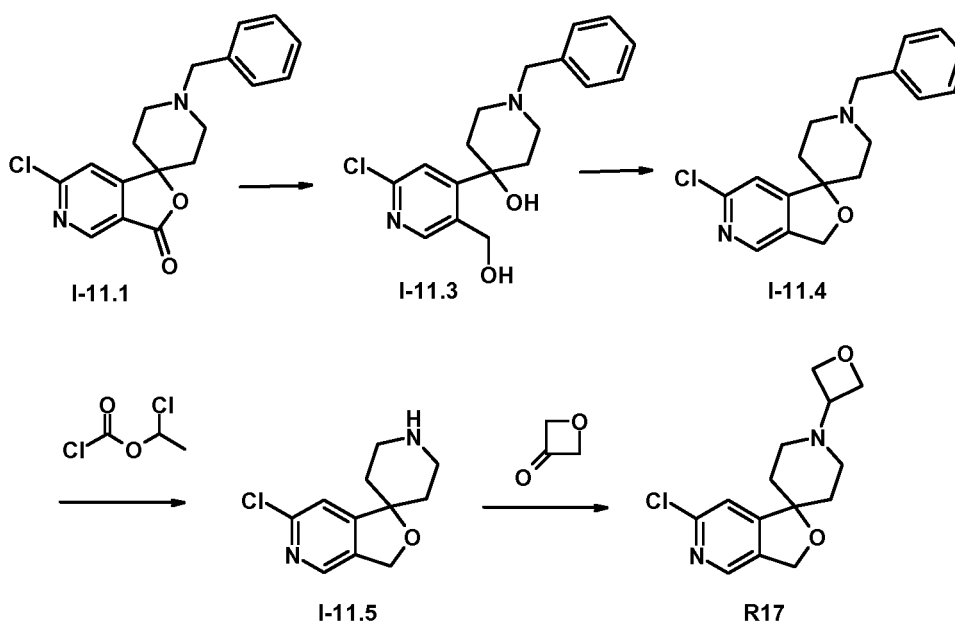
Síntesis de 6-cloro-1'-(oxetan-3-il)espiro[furo[3,4-c]piridina-1,4'-piperidina]-3-ona (R16)



a) Generación de base libre: se disolvió I-11.2 (200 mg, 0,73 mmol) parcialmente en metanol seco, se añadió carbonato de tetraalquilamonio unido a polímero (Aldrich, 540293) y esta mezcla se agita durante 2 horas a t.a. El carbonato de tetraalquilamonio unido a polímero se separa por filtración y el metanol se retira al vacío para entregar base libre de I-11.2.

b) Se disuelve base libre de I-11.2 en la mezcla de diclorometano seco (3 ml)/tetrahidrofurano seco (1 ml), se añade 3-oxetanona (0,23 ml, 3,64 mmol) y ácido acético (0,06 ml, 1,1 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 75 minutos a t.a., después se añade triacetoxiborohidruro de sodio y la mezcla de reacción se agita durante 15 minutos a t.a. La mezcla de reacción se diluye con una solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra al vacío. Rendimiento del 80 %, *m/z* 295 [M+H]⁺, tr 0,75 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Síntesis de 6-cloro-1'-(oxetan-3-il)espiro[3H-furo[3,4-c]piridina-1,4'-piperidina] (R17)



Etapa 1: Síntesis del Intermedio I-11.3

A I-11.1 (1,00 g, 3,04 mmol) en metanol (15 ml) se le añade borohidruro de sodio (345 mg, 9,12 mmol) en porciones pequeñas y la mezcla de reacción se agita durante 20 h a t.a. Se añade borohidruro de sodio adicional (750 mg, 19,82 mmol) en 3 porciones (cada una de 250 mg) durante 5 h a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se inactiva con agua y se diluye con acetato de etilo. La capa orgánica se separa y la capa acuosa se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica combinada se lava con solución de hidrogenocarbonato de sodio saturado, salmuera, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra al vacío. El residuo se purifica mediante HPLC de fase inversa para proporcionar I-11.3. Rendimiento del 40 %, *m/z* 333 [M+H]⁺, tr 0,91 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 2: Síntesis del Intermedio I-11.4

A I-11.3 (378 mg, 1,14 mmol) en THF seco (5 ml) se le añaden TEA (0,95 ml, 6,81 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,26 ml, 3,5 mmol) a 0 °C. Se deja que la mezcla de reacción llegue a t.a. y se agita durante 1 h. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre Na₂SO₄ y se concentra al vacío para proporcionar producto

en bruto que se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Rendimiento del 95 %, m/z 315 $[M+H]^+$, tr 1,06 min, Método de CL-EM Z011_S03.

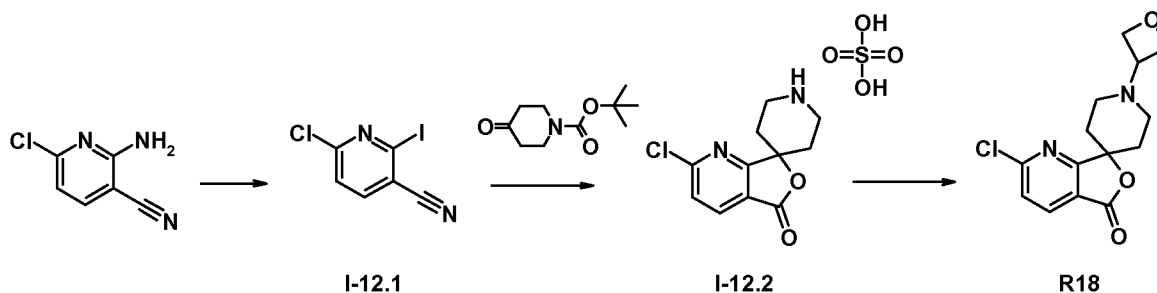
Etapa 3: Síntesis del Intermedio I-11.5

A una solución de I-11.4 (246 mg, 0,78 mmol) en dicloroetano (4 ml) se le añade cloroformiato de 1-cloroetilo (0,42 ml, 3,91 mmol) y la mezcla de reacción se somete a reflujo y se agita durante 3 horas. El dicloroetano se retira al vacío, el residuo obtenido se redisuelve en metanol (3 ml) y la solución obtenida se somete a reflujo durante 30 minutos. La mezcla de reacción se enfría a t.a. y se purifica mediante HPLC de fase inversa para proporcionar I-11.5. Rendimiento del 72 %, m/z 225 $[M+H]^+$, tr 0,71 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 4: Síntesis de R17

Se disuelve I-11.5 (114 mg, 0,51 mmol) en tetrahidrofurano seco (2 ml), se añaden 3-oxetanona (0,05 ml, 0,76 mmol) y ácido acético (0,044 ml, 0,76 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 1 hora a t.a. Se añade triacetoxiborohidruro de sodio (269 mg, 1,27 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 15 minutos adicionales a t.a. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre $MgSO_4$ y se concentra al vacío para proporcionar R17. Rendimiento del 62 %, m/z 281 $[M+H]^+$, tr 0,76 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Síntesis de 2-cloro-1'-(oxetan-3-il)espiro[furo[3,4-b]piridina-7,4'-piperidin]-5-ona (R18)



Etapa 1: Síntesis del Intermedio I-12.1

Se disuelve 2-amino-6-clorinicotinonitrilo, adquirido en ABLOCK PHARMATECH (2,0 g, 13,02 mmol) en tetrahidrofurano seco (40 ml), se añaden yoduro de cobre (I) (3,72 g, 19,54 mmol), diyodometano (8,39 ml, 104,2 mmol) y *tert*-butil nitrito (6,20 ml, 52,1 mmol). La mezcla de reacción se somete a reflujo durante 1,5 h, se enfría a TA y todos los compuestos volátiles se retiran al vacío. El resto obtenido se disuelve en acetato de etilo (100 ml) y se lava con solución acuosa al 10 % de tiosulfato de sodio (25 ml), solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (25 ml), se seca sobre $MgSO_4$, se filtra y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante cromatografía en columna ultrarrápida para proporcionar I-12.1 (eluyente: éter de petróleo/acetato de etilo).

Rendimiento del 74 %, m/z 265 $[M+H]^+$, tr 0,90 min, Método de CL-EM Z012_S04.

Etapa 2: Síntesis del Intermedio I-12.2

Se disuelven I-12.1 (1,0 g, 3,78 mmol) y 4-oxopiperidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (753 mg, 3,78 mmol) en THF seco (10 ml) y la mezcla de reacción se enfría a $-65^\circ C$. Se añade complejo de cloruro de isopropilmagnesio-cloruro de litio (1,3 mol/l en THF, 3,78 ml, 4,92 mmol) gota a gota y la mezcla de reacción se agita durante 10 min adicionales a esta temperatura. Posteriormente se deja que la mezcla de reacción alcance la t.a., se agita durante 20 minutos y se añade metanol (0,8 ml, 19,7 mmol). La mezcla de reacción se enfría a $0^\circ C$ y se añade gota a gota una solución acuosa de ácido sulfúrico al 50 % (2,0 ml). La mezcla de reacción se calienta a t.a. y se agita durante la noche. El precipitado de color blanco formado se filtra, se lava con THF y se seca al vacío para proporcionar I-12.2 (sal de sulfato) en bruto en forma de un sólido de color blanco. El producto en bruto se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Rendimiento del 94 %, m/z 239 $[M+H]^+$, tr 0,69 min, Método de CL-EM Z011_S03.

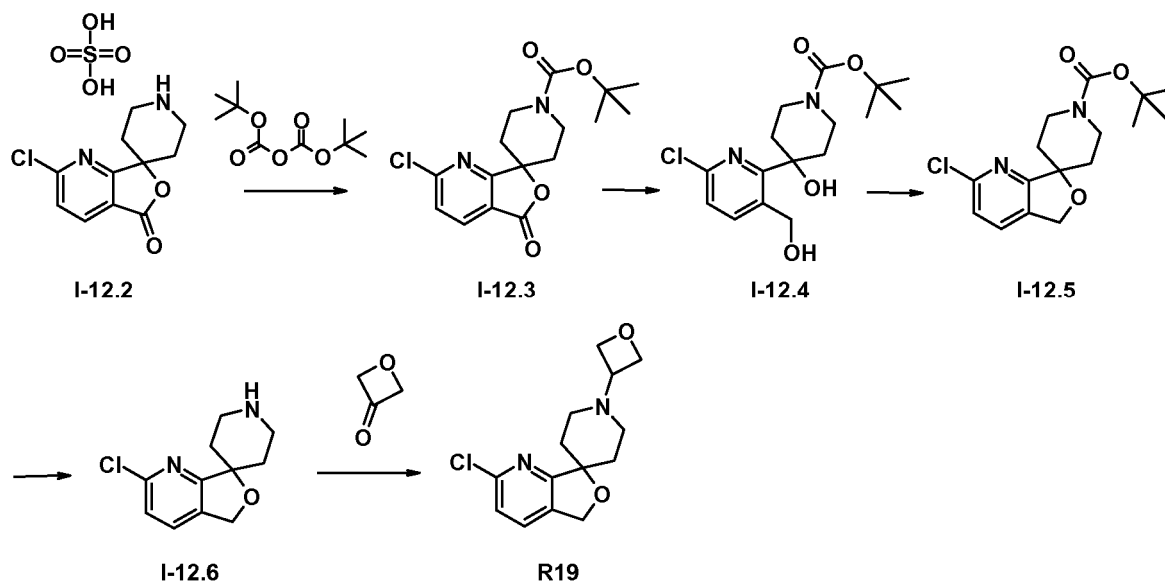
Etapa 3: Síntesis de R18

a) Generación de base libre:

se disolvió I-12.2 (150 mg, 0,45 mmol) en una mezcla de metanol (2 ml)/agua (2 ml), se añade carbonato de tetraalquilamonio unido a polímero (Aldrich, 540293) y esta mezcla se agita durante 1 hora a t.a. El carbonato de tetraalquilamonio unido a polímero se retira por filtración, el metanol y el agua se retiran al vacío para entregar la base libre de I-12.2.

b) El residuo obtenido se redissuelve en una mezcla de THF (2 ml)/agua (0,1 ml), se añaden 3-oxetanona (0,04 ml, 0,67 mmol) y ácido acético (0,038 ml, 0,67 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 1 hora a t.a. Se añade triacetoxi-borohidruro de sodio y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO_4 y se concentra al vacío. El residuo en bruto se purifica mediante cromatografía en columna ultrarrápida para proporcionar R18 (eluyente: DCM/MeOH). Rendimiento del 18 %, m/z 295 $[\text{M}+\text{H}]^+$, tr 0,74 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Síntesis de 2-cloro-1'-(oxetan-3-il)espiro[5H-furo[3,4-b]piridina-7,4'-piperidina] (R19)



Etapas 1: Síntesis del Intermedio I-12.3

A I-12.2 (3,25 g, 9,65 mmol) en diclorometano (50 ml) se le añade TEA (4,04 ml, 28,95 mmol), la mezcla de reacción se agita durante 20 minutos a t.a. y se añade dicarbonato de di-*tert*-butilo (2,11 g, 9,65 mmol). La mezcla de reacción se agita durante 90 minutos a t.a., se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO_4 , se concentra al vacío y el residuo obtenido se purifica mediante cromatografía en columna ultrarrápida (éter de petróleo: EtOAc = de 95:5 a 60:40) para proporcionar I-12.3. Rendimiento del 49 %, m/z 239 $[\text{M}-\text{Boc}+\text{H}]^+$, tr 1,03 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapas 2: Síntesis del Intermedio I-12.4

A I-12.3 (10,0 g, 29,52 mmol) en etanol (500 ml) se le añade borohidruro de sodio (2,23 g, 59,03 mmol) y cloruro de calcio (6,55 g, 59,03 mmol) en dos porciones y la mezcla de reacción se agita durante la noche a t.a. La HPCL-EM indicó una conversión del 85 % en el producto deseado. Se añade una cantidad adicional de borohidruro de sodio (350 mg, 9,25 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 6 h a t.a. La mezcla de reacción se inactiva con una solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio, el etanol se retira al vacío y el residuo obtenido se tritura con acetato de etilo. El precipitado formado se filtra y las aguas madres se extraen con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica combinada se lava con salmuera, se seca sobre MgSO_4 , se filtra y se concentra al vacío. El residuo obtenido se tritura con acetonitrilo, el precipitado formado se retira por filtración, las aguas madres se concentran al vacío y este procedimiento se repite dos veces más. Los precipitados se combinan y se secan al vacío para proporcionar I-12.4. Rendimiento del 54 %, m/z 243 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}]^+$, tr 0,97 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapas 3: Síntesis del Intermedio I-12.5

A I-12.4 (6,77 g, 17,77 mmol) en THF seco (75 ml) se le añaden TEA (14,84 ml, 106,64 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (5,50 ml, 71,09 mmol) a 0 °C. Se deja que la mezcla de reacción alcance la t.a. y se agita durante 1 h. La mezcla de reacción se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con diclorometano varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre MgSO_4 , se concentra al vacío y el residuo obtenido se purifica mediante cromatografía en columna ultrarrápida (éter de petróleo:EtOAc = de 95:5 a 72:28) para proporcionar I-12.5. Rendimiento del 65 %, m/z 225 $[\text{M}+\text{H}-\text{Boc}]^+$, tr 1,07 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 4: Síntesis del Intermedio I-12.6

A I-12.5 (4,13 g, 12,07 mmol) en diclorometano (15 ml) se le añade ácido trifluoroacético (5 ml) y la mezcla de reacción se agita durante 3 h a t.a. La mezcla de reacción se concentra al vacío, el residuo obtenido se redisuelve en metanol (50 ml), se añade carbonato de tetraalquilamonio unido a polímero (Aldrich, 540293) y esta mezcla se agita durante 30 minutos a t.a. El carbonato de tetraalquilamonio unido a polímero se retira por filtración y el metanol se retira al vacío para entregar I-12.6.

Rendimiento del 99 %, m/z 225 $[M+H]^+$, tr 0,74 min, Método de CL-EM Z011_S03.

Etapa 5: síntesis de R19

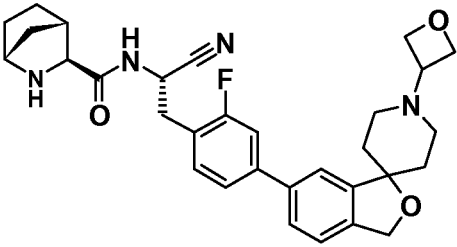
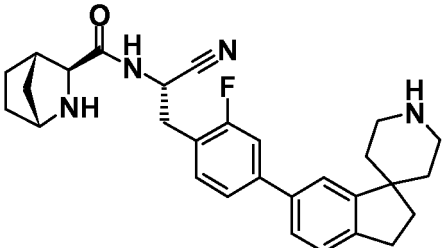
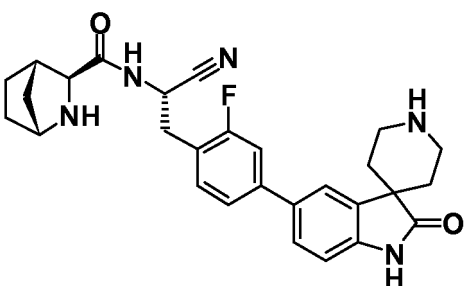
Se disolvió I-12.6 (3,62 g, 12,08 mmol) en tetrahidrofurano seco (40 ml), se añaden 3-oxetanona (1,16 ml, 18,13 mmol) y ácido acético (691 μ l, 12,08 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 20 minutos a t.a. Se añade triacetoxiborohidruro de sodio (6,74 g, 30,21 mmol) y la mezcla de reacción se agita durante 25 minutos a t.a. La mezcla de reacción se inactiva con metanol, se diluye con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio y se extrae con acetato de etilo varias veces. La capa orgánica se lava con salmuera, se seca sobre $MgSO_4$ y se concentra al vacío. El residuo obtenido se tritura con una mezcla de acetonitrilo/metanol (9:1), el precipitado formado se filtra, las aguas madres se concentran al vacío y este procedimiento se repite dos veces más. Los precipitados se combinan y se secan al vacío para proporcionar 2,47 g de R19. Las aguas madres se concentran al vacío, el residuo obtenido se redisuelve en acetonitrilo y se purifica mediante HPLC de fase inversa para proporcionar una cantidad adicional (0,32 g) de R19.

Rendimiento del 78 %, m/z 281 $[M+H]^+$, tr 0,78 min, Método de CL-EM Z011_S03.

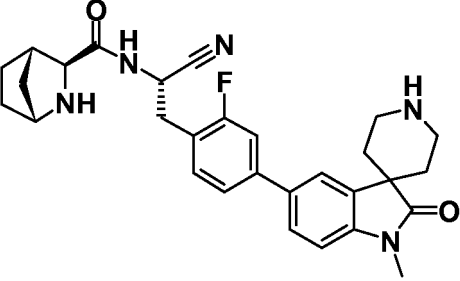
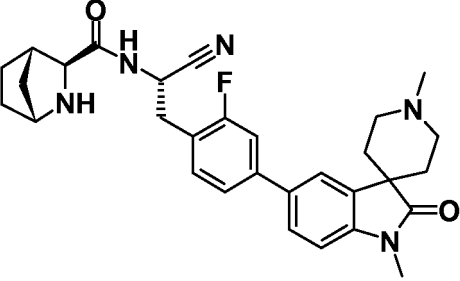
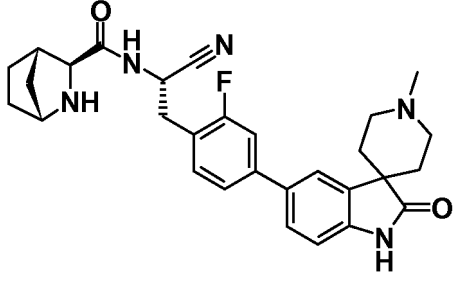
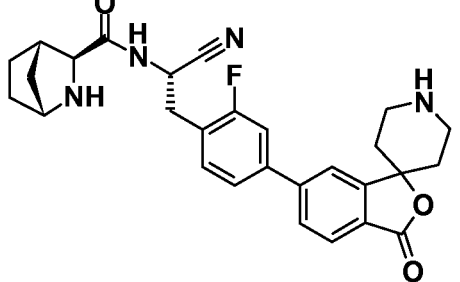
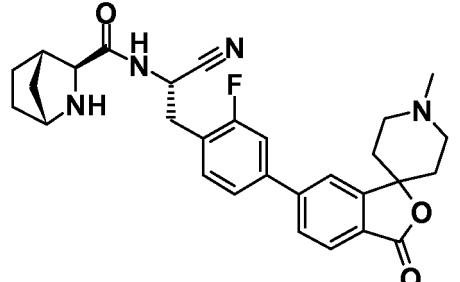
Ejemplos

(tr = tiempo de retención). Métodos de desprotección: TSA (ácido toluenosulfónico, véase el Ejemplo 1). Se asigna la estereoquímica en el átomo de carbono adyacente al grupo nitrilo: enlace estéreo significa isómero S.

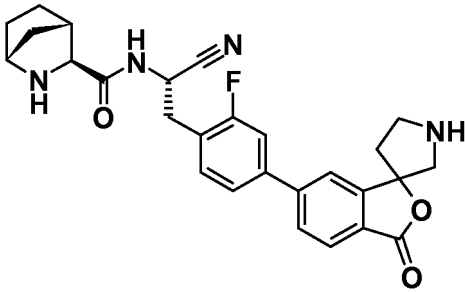
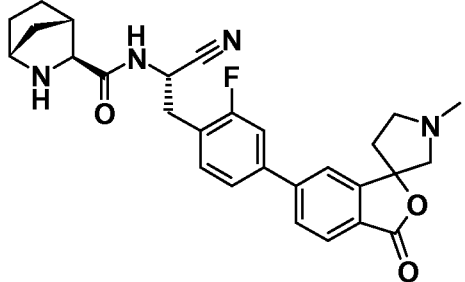
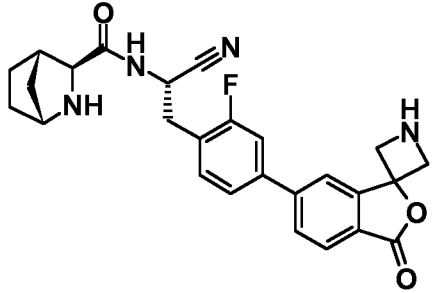
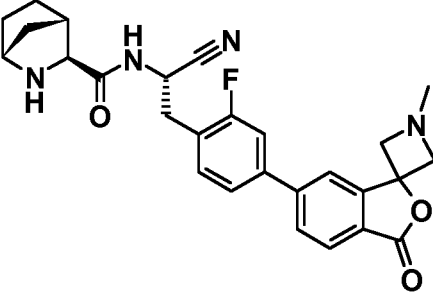
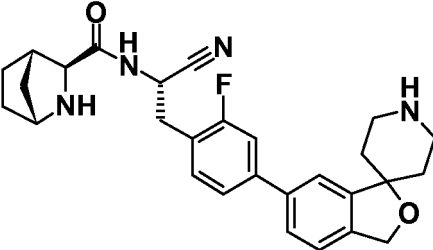
Tabla 6

n.º	Estructura	Educto	Método de síntesis/desprotección	Rendimiento [%]
1		I-1.5	A/TSA	84
2		I-1.5.1	A/TSA	>95
3		I-1.5.2	A/TSA	35

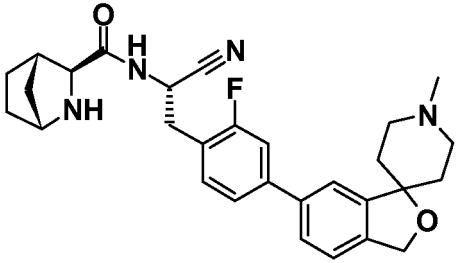
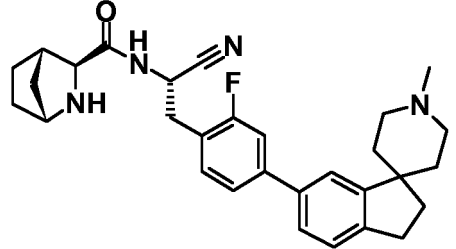
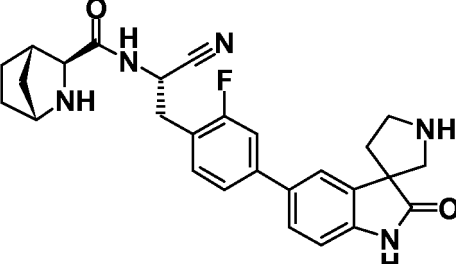
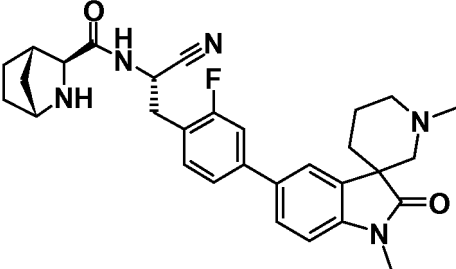
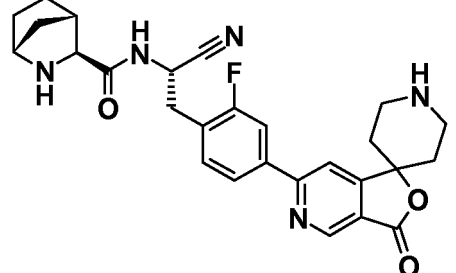
(continuación)

n.º	Estructura	Educto	Método de síntesis/desprotección	Rendimiento [%]
4		I-1.5.3	A/TSA	48
5		I-1.5.4	A/TSA	48
6		I-1.5.5	A/TSA	7
7		I-1.5.6	A/TSA	43
8		I-1.5.7	A/TSA	41

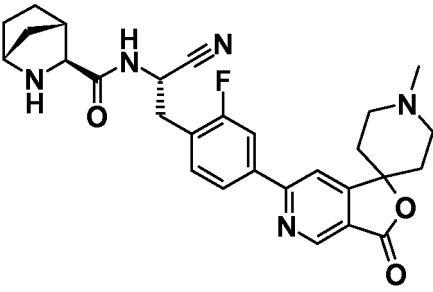
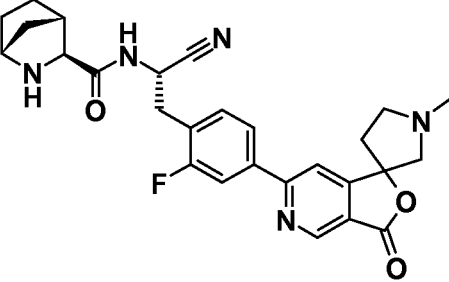
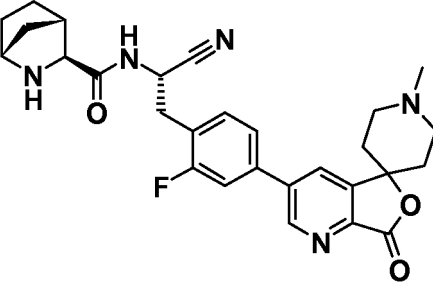
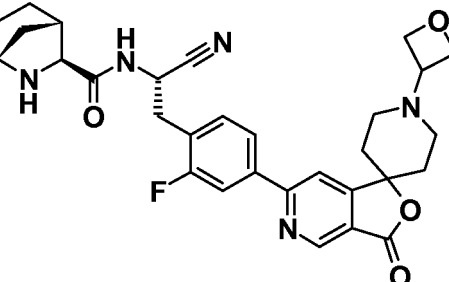
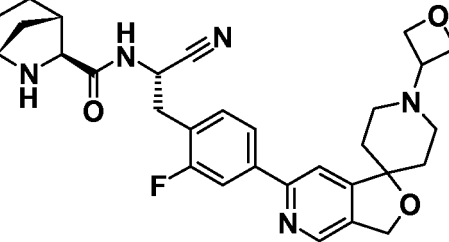
(continuación)

n.º	Estructura	Educto	Método de síntesis/desprotección	Rendimiento [%]
9		I-1.5.8	A/TSA	90
10		I-1.5.9	A/TSA	16
11		I-1.5.10	A/TSA	20
12		I-1.5.11	A/TSA	54
13		I-1.5.12	A/TSA	9

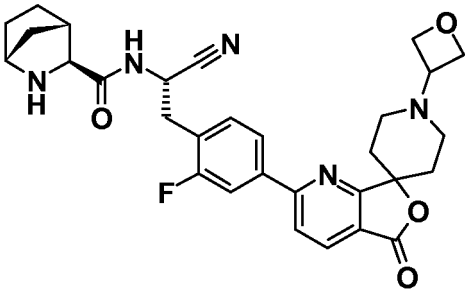
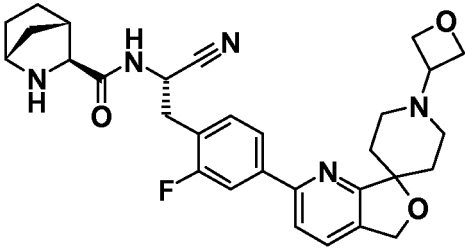
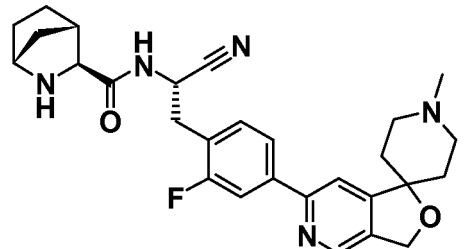
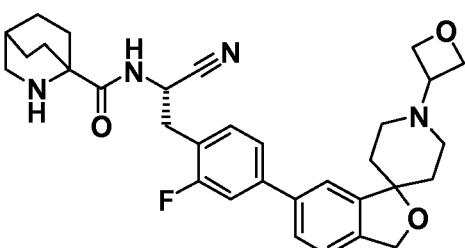
(continuación)

n.º	Estructura	Educto	Método de síntesis/desprotección	Rendimiento [%]
14		I-1.5.13	A/TSA	43
15		I-1.5.14	A/TSA	49
16		I-1.5.15	A/TSA	58
17		I-1.5.16	A/TSA	46
18		I-1.5.17	A/TSA	35

(continuación)

n.º	Estructura	Educto	Método de síntesis/desprotección	Rendimiento [%]
19		I-1.5.18	A/TSA	73
20		I-1.5.19	A/TSA	47
21		I-1.5.20	A/TSA	36
22		I-1.5.21	A/TSA	35
23		I-1.5.22	A/TSA	83

(continuación)

n.º	Estructura	Educto	Método de síntesis/desprotección	Rendimiento [%]
24		I-1.5.23	A/TSA	>95
25		I-1.5.24	A/TSA	88
26		I-2.5	B/TSA	28
27		I-3.5	C/TSA	61

DATOS ANALÍTICOS DE LOS EJEMPLOS

Tabla 7

Ej.	m/z [M+H] ⁺	tr [min]	Método de CL-EM
1	531	1,00	Z011_S03
2	473	1,19	Z011_S03
3	488	0,89	Z012_S04
4	502	0,73	Z012_S04
5	516	0,74	Z012_S04
6	502	0,70	Z012_S04
7	489	0,72	Z012_S04
8	503	0,72	Z012_S04
9	475	0,91	Z011_S03
10	489	0,96	Z011_S03

(continuación)

Ej.	m/z [M+H] ⁺	tr [min]	Método de CL-EM
11	461	0,91	Z011_S03
12	475	0,97	Z011_S03
13	475	0,76	Z012_S04
14	489	1,05	Z011_S03
15	487	1,17	Z011_S03
16	474	0,89	Z011_S03
17	516	0,60	Z020_S01
18	490	0,90	Z011_S03
19	504	0,95	Z011_S03
20	490	0,92	Z011_S03
21	504	0,92	Z011_S03
22	546	0,94	Z011_S03
23	532	0,96	Z011_S03
24	546	0,93	Z011_S03
25	532	0,97	Z011_S03
26	490	0,96	Z011_S03
27	545	1,02	Z011_S03

Tabla 8

Lista de abreviaturas	
ACN	acetonitrilo
ac.	acuoso
BOC, Boc	terc-butiloxycarbonilo
d	día
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
DCM	diclorometano
DEA	dietilamina
DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
DIPE	diisopropil éter
DMAP	4-dimetilaminopiridina
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	sulfóxido de dimetilo
EA, EtOAc	acetato de etilo
FA	ácido fórmico
h	hora
HATU	hexafluorofosfato de o-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
LiOH	hidróxido de litio
MeOH	metanol
MeTHF	metil tetrahidrofurano
min	minuto
NaH	hidruro de sodio
PE	éter de petróleo
PPA	anhídrido cíclico del ácido 1-propanofosfónico
TA, ta	temperatura ambiente, por ejemplo, 15-25 °C
tr	tiempo de retención
TBME	terc-butil metil éter
TBTU	tetrafluoroborato de O-(1H-benzo-1,2,3-triazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
TEA	triethylamina
TFA	ácido trifluoroacético
THF	tetrahidrofurano
TSA	monohidrato del ácido p-toluenosulfónico

DATOS FARMACOLÓGICOS

Otras características y ventajas de la presente invención serán evidentes a partir de los siguientes ejemplos más detallados que ilustran, a modo de ejemplo, los principios de la invención.

INHIBICIÓN DE LA DPPI HUMANA (CATEPSINA C)

Materiales: Se adquirieron placas de microtitulación (Optiplate-384 F) en PerkinElmer (N.º de Prod. 10 6007270). El sustrato Gly-Arg-AMC era de Biotrend (N.º de Prod. 808756 péptido personalizado).

La albúmina de suero bovino (BSA; N.º de Prod. A3059) y el ditioneitol (DTT; N.º de Prod. D0632) eran de Sigma. El tampón TagZyme era de Riedel-de-Haen (N.º de Prod. 04269), el NaCl era de Merck (N.º de Prod. 1.06404.1000) y el ácido morfolinoetano sulfónico (MES), era de Serva (N.º de Prod. 29834). El inhibidor de DPP1 Gly-Phe-DMK se adquirió en MP Biomedicals (N.º de Prod. 03DK00625). La DPPI humana recombinante se adquirió en Prozymex. Todos los demás materiales eran de la calidad más alta disponible en el mercado.

Se usaron los siguientes tampones: tampón MES: MES 25 mM, NaCl 50 mM, DTT 5 mM, ajustado a pH 6,0, que contenía BSA al 0,1 %; Tampón TAGZyme: NaH₂PO₄ 20 mM, NaCl 150 mM ajustado a pH 20 6,0 con HCl

Condiciones de ensayo: La DPPI humana recombinante se diluyó en tampón TAGZyme a 1 U/ml (38,1 µg/ml, respectivamente) y después se activó mezclándola en una relación 1:2 con una solución acuosa de cisteamina (2 mM) e incubando durante 5 min a t.a.

Se mezclaron cinco µl del compuesto de ensayo (concentración final de 0,1 nM a 100 µM) en agua bidestilada 5 (que contenía DMSO al 4 %, concentración final de DMSO 1 %) con 10 µl de DPPI en tampón MES (concentración final 0,0125 ng/µl) y se incubaron durante 10 min. Después, se añadieron 5 µl de sustrato en tampón MES (concentración final 50 µM). Después, las placas de microtitulación se incubaron a t.a. durante 30 min. Después, la reacción se detuvo mediante la adición de 10 µl de Gly-Phe-DMK en 10 MES-tampón (concentración final 1 µM). La fluorescencia en los pocillos se determinó usando un lector de fluorescencia Spec-traMax M5 de Molecular Devices (Ex 360 nm, Em 460 nm) o un lector de fluorescencia Envision (Ex 355 nm, Em 460 nm).

Cada placa de microtitulación de ensayo contenía pocillos con controles de vehículo (DMSO al 1 % en agua bidestilada + 15 BSA al 0,075 %) como referencia para la actividad enzimática no inhibida (100 % de Ctl; valores altos) y pocillos con inhibidor (Gly-Phe-DMK, en agua bidestilada + DMSO al 1 % + BSA al 0,075 %, concentración final 1 µM) como controles para la fluorescencia de fondo (0 % de Ctl; valores bajos).

El análisis de los datos se realizó calculando el porcentaje de fluorescencia en presencia de compuesto de ensayo en comparación con la fluorescencia del control de vehículo después de restar la fluorescencia de fondo usando la siguiente fórmula:

$$(\text{UFR (muestra)} - \text{UFR (fondo)}) * 100 / (\text{UFR (control)} - \text{UFR (fondo)})$$

Los datos de estos cálculos se usaron para generar valores de CI₅₀ para la inhibición de la DPPI, respectivamente.

Tabla 9

Ejemplo	CI ₅₀ para la inhibición de DPPI [mM]
1	0,0011
2	0,0006
3	0,0003
4	0,0004
5	0,0006
6	0,0002
7	0,0005
8	0,0007
9	0,0005
10	0,0006
11	0,0007
12	0,0005
13	0,0006
14	0,0010
15	0,0005

(continuación)

Ejemplo	Cl ₅₀ para la inhibición de DPPI [mM]
16	0,0005
17	0,0016
18	0,0016
19	0,0010
20	0,0016
21	0,0014
22	0,0048
23	0,0050
24	0,0027
25	0,0018
26	0,0020
27	0,0029

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE LA ELASTASA DE NEUTRÓFILOS EN PREPARACIÓN DE LISADO CITOSÓLICO DE U937 DESPUÉS DE LA INCUBACIÓN CON COMPUESTO DE ENSAYO

Materiales:

Se adquirieron Optiplate 384F en PerkinElmer (N.º de Prod. #6007270). Las placas de cultivo celular Nunclon de 24 pocillos (N.º 142475) y las placas de 96 pocillos (N.º 267245) eran de Nunc. El dimetilsulfóxido (DMSO) era de Sigma (N.º de Prod. D8418). Nonidet-P40 (NP40) era de USBiological (N.º de Prod. N3500). El sustrato, específico para elastasa de neutrófilos, era de Bachem (MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC; N.º de Prod. I-1270).

La elastasa de neutrófilos humana era de Calbiochem (N.º de Prod. 324681)

Tampones:

Tampón Tris (Tris 100 mM; NaCl 1 M; pH 7,5)

Tampón Tris + HSA al 0,1 %; Albúmina de suero humano de Calbiochem (n.º de cat. 126658)

Tampón de serina-proteasa (Tris-HCl 20 mM; NaCl 100 mM; pH 7,5) +HSA al 0,1 %

Tampón de lisis de serina proteasa: Tris-HCl 20 mM; NaCl 100 mM pH 7,5; + Nonidet-P40 al 0,2 %; PBS: solución salina tamponada con fosfato, sin Ca y Mg, de Gibco

Cultivo celular:

U937 de ECACC (N.º de Cat. 85011440) cultivadas en suspensión a 37 °C y CO₂ al 5 %.

Densidad celular: 0,2-1 células Mio/ml.

Medio: RPMI1640 GlutaMAX (N.º 61870) con FCS al 10 % de Gibco

Cultivo de células y tratamiento:

Los compuestos en DMSO al 100 % se diluyeron en Medio (-FCS) con DMSO al 10 % y se diluyeron adicionalmente de acuerdo con el experimento planeado.

Se transfirieron 20 µl de la solución del compuesto en los pocillos respectivos de la placa de 24 pocillos y se diluyeron con 2 ml de suspensión celular/pocillo que contenía 1x10⁵ células/ml (concentración final de DMSO = 0,1 %). Factor de dilución del compuesto = 100

Los compuestos (hasta 7 concentraciones) se sometieron a ensayo por triplicado con 3 pocillos para el control de DMSO al 0,1 %, se incubaron durante 48 horas sin cambio de medio a 37 °C, CO₂ al 5 % y una humedad relativa del 95 %.

Recogida de células y lisado celular:

Transferir la suspensión celular en 2 ml de bloque de ensayo de 96 pocillos. Separar las células del medio por centrifugación (500 X g; 10 min; TA); desechar el sobrenadante. Resuspender en 1 ml de PBS; centrifugación (500 X g; 10 min; TA); lavar las células dos veces con PBS. Añadir 80 µl de tampón de lisis de serina proteasa (enfriado con hielo) al sedimento celular; resuspender el sedimento y almacenar en hielo durante 10 minutos. Retirar los residuos mediante centrifugación a 1000 X g durante 10 min a 4 °C. Transferir 80-100 µl de sobrenadante de lisado en una placa de 96 pocillos y almacenar inmediatamente a -80 °C.

Ensayo de actividad de elastasa de neutrófilos

Los lisados congelados se descongelaron a 37 °C durante 10 minutos y se almacenaron en hielo. El contenido de proteínas se determinó con el ensayo de proteínas de Bradford. Los lisados se diluyeron a 0,2-0,5 mg/ml de proteína en tampón de serina proteasa + HSA.

Patrón: se diluyó (solución madre 100 µg/ml en tampón Tris; almacenada a -80 °C) en tampón Tris + HSA a 750 ng/ml y se diluyó adicionalmente en serie 1:2 para la curva patrón. Se transfirieron tampón, blanco, patrón y muestras de lisado a una placa de 384 pocillos

Plan de pipeteo

Blanco:	5 µl de tampón Tris	+ 10 µl de tampón de serina proteasa	+ 5 µl de sustrato
Patrón:	5 µl de tampón Tris	+ 10 µl de EN (conc. dif.)	+ 5 µl de sustrato
Lisado:	5 µl de tampón Tris	+ 10 µl de Lisado	+ 5 µl de sustrato.

El aumento de la fluorescencia (Ex 360 nm/Em 460 nm) se determina después de 30 minutos con un lector de fluorescencia Spectramax M5 de Molecular Device. El resultado se interpola a ng/mg de proteína lisada usando funciones de fórmula de Excel. El porcentaje de inhibición en las muestras de lisado tratadas con compuesto se calcula con respecto a la muestra de control tratada con DMSO ($100 - (\text{muestra de compuesto} \times 100) / \text{muestra de control}$)

Un compuesto de ensayo proporcionará valores entre el 0 % y el 100 % de inhibición de elastasa de neutrófilos. La CI50 se calcula usando GraphpadPrism; ajuste no lineal (log(inhibidor) frente a pendiente Variable de respuesta). El valor de CI50 se interpola como la concentración del compuesto de ensayo que conduce a una reducción de la actividad de la elastasa de neutrófilos del 50 % (con respecto al control tratado con DMSO).

Tabla 10

Ejemplo	CI50 para la reducción de la actividad de EN en células U937 [µM]
1	0,0010
2	0,0068
3	0,5030
4	0,0910
5	0,0023
6	0,0222
7	0,0349
8	0,0008
9	0,0215
10	0,0014
11	0,0107
12	0,0012
13	0,0167
14	0,0011
15	0,0002
16	0,0738
17	0,0006
18	0,2202
19	0,0050
20	0,0232
21	0,0637
22	0,0157
23	0,0075
24	0,0060
25	0,0016
26	0,0046
27	0,0007

INHIBICIÓN DE LA CATEPSINA HUMANA K

Materiales:

5 Placas de microtitulación (Optiplate-384 F se adquirieron en PerkinElmer (N.º de Prod. 6007270) El sustrato Z-Gly-Pro-Arg-AMC era de Biomol (N.º de Prod. P-142). La L-Cisteína (N.º de Prod. 168149) era de Sigma. El acetato de sodio era de Merck (N.º de Prod. 6268.0250), EDTA era de Fluka (N.º de Prod. 03680). El inhibidor E-64 se adquirió en Sigma (N.º de Prod. E3132). La proenzima de Catepsina K humana recombinante se adquirió en Biomol (N.º de Prod. SE-367). Todos los demás materiales eran de la calidad más alta disponible en el mercado.

10 Se usaron los siguientes tampones: tampón de activación: acetato de sodio 32,5 mM, ajustado a pH 3,5 con HCl; tampón de ensayo: acetato de sodio 150 mM, EDTA 4 mM, L-cisteína 20 mM, ajustada a pH 5,5 con HCl,

Condiciones de ensayo:

15 Para activar la proenzima, se mezclaron 5 µl de procatepsina K con 1 µl de tampón de activación y se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos.

20 Se mezclaron 5 µl de compuesto de ensayo (concentración final de 0,1 nM a 100 µM) en agua bidestilada (que contenía DMSO al 4 %, concentración DMSO final del 1 %) con 10 µl de Catepsina K en tampón de ensayo (concentración final 2 ng/µl) y se incubaron durante 10 min. Después se añadieron 5 µl de sustrato en tampón de ensayo (concentración final 12,5 µM). Después, las placas se incubaron a temperatura ambiente durante 60 min. Después, la reacción se detuvo añadiendo 10 µl de E64 en tampón de ensayo (concentración final 1 µM). La fluorescencia en los pocillos se determinó usando un lector de fluorescencia SpectraMax M5 de Molecular Devices (Ex 360 nm, Em 460 nm).

25 Cada placa de microtitulación de ensayo contenía pocillos con controles de vehículo (DMSO al 1 % en agua bidestilada) como referencia para la actividad enzimática no inhibida (100 % de Ctl; valores altos) y pocillos con inhibidor (E64 en agua bidestilada + DMSO al 1 %, concentración final 1 %) como controles para la fluorescencia de fondo (0 % de Ctl; valores bajos). El análisis de los datos se realizó calculando el porcentaje de fluorescencia en presencia de compuesto de ensayo en comparación con la fluorescencia del control de vehículo después de restar la fluorescencia de fondo:

$$(UFR \text{ (muestra)} - UFR \text{ (fondo)}) * 100 / (UFR \text{ (control)} - UFR \text{ (fondo)})$$

35 Se usaron datos de estos cálculos se usaron para generar valores de CI_{50} para la inhibición de la Catepsina K, respectivamente.

DETERMINACIÓN DE LA ESTABILIDAD METABÓLICA CON MICROSOMAS HEPÁTICOS HUMANO

40 La degradación metabólica del compuesto de ensayo se somete a ensayo a 37 °C con microsomas hepáticos humanos agrupados. El volumen de incubación final de 100 µl por punto temporal contiene tampón TRIS pH 7,6 (0,1 M), cloruro de magnesio (5 mM), proteína microsómica (1 mg/ml) y el compuesto de ensayo a una concentración final de 1 µM. Después de un corto período de preincubación a 37 °C, las reacciones se inician mediante la adición de dinucleótido fosfato de beta-nicotinamida adenina, forma reducida (NADPH, 1 mM) y finalizan transfiriendo una alícuota a acetonitrilo después de diferentes puntos temporales. Adicionalmente, la degradación independiente de NADPH se controla en incubaciones sin NADPH, terminada en el último punto temporal. El [%] compuesto de ensayo restante después de la incubación independiente de NADPH se refleja mediante el parámetro c(control) (estabilidad metabólica). Las incubaciones interrumpidas se sedimentan por centrifugación (10.000 g, 5 min). Se analiza una alícuota del sobrenadante mediante CL-EM/EM para determinar la cantidad de compuesto parental.

50 La semivida ($t_{1/2}$ INVITRO) se determina mediante la pendiente de la gráfica semilogarítmica del perfil de concentración-tiempo. El aclaramiento intrínseco (CL_INTRÍNSECO) se calcula considerando la cantidad de proteína en la incubación:

$$CL_INTRÍNSECO [\mu\text{l}/\text{min}/\text{mg de proteína}] = (\ln 2 / (\text{semivida} [\text{min}] * \text{contenido de proteína} [\text{mg}/\text{ml}])) * 1000$$

60 Los valores de semivida ($t_{1/2}$ INVITRO) de compuestos seleccionados en el ensayo de estabilidad metabólica descrito anteriormente se enumeran en la siguiente tabla.

Tabla 11

Ejemplo	Estabilidad in vitro en incubaciones de microsomas hepáticos humanos t1/2[min]
1	>130
2	>130
3	>130
4	>130
5	>130
6	110
7	>130
8	74
9	>130
10	>130
11	>130
12	46
13	>130
14	>130
15	>130
16	>130
17	60
18	>130
19	>130
20	>130
21	>130
22	>130
23	>130
24	>130
25	>130
26	55
27	120

MODELO DE RATÓN DE ACOPLAMIENTO A DIANA

5 Tratamiento con compuesto:

Para controlar el efecto de los compuestos de ensayo sobre la actividad de elastasa de neutrófilos en neutrófilos periféricos, se trataron ratones CrI:NMRI hembra como se indica a continuación:

- 10 Grupo 1 (6 animales): compuesto de ensayo 0,5 mg/kg en Natrosol al 0,5 % (pH 2-3)
 Grupo 2 (6 animales): Natrosol al 0,5 % (pH 2-3)
 Grupo 3 (2 animales): Natrosol al 0,5 % (pH 2-3)
 Se aplicaron compuestos de ensayo o solución de Natrosol de lunes a viernes a las 7:00 a.m. y a las 4:00 p.m. cada día de la primera semana del estudio y los lunes y martes (7:00 a.m. y 4:00 p.m.) la segunda semana. Los
 15 compuestos de ensayo o Natrosol se aplicaron por vía oral.

Provocación con LPS y preparación de lavado bronquioalveolar:

- 20 El miércoles de la segunda semana, los animales se trataron con compuesto de ensayo o solución de Natrosol como se ha descrito anteriormente (7:00 a.m.) seguido de provocación por inhalación de LPS (lipopolisacárido):

- Grupo 1 y 2: 20 minutos de inhalación de LPS (E. coli Serotipo 055:B5; 1 mg/ml en PBS) usando un nebulizador continuo MiniHeart Hi-Flo (Westmed)
 Grupo 3: Sin provocación con LPS
 25 4 horas después de la provocación con LPS, se preparó un lavado bronquioalveolar usando 2 x 1 ml de solución salina de Hank por animal de todos los animales y el número de células en el fluido de lavado se determinó usando un Sysmex XT-1800i. Las células en el fluido de lavado se separaron por centrifugación y se lisaron en tampón de lisis (TRIS 100 mM, pH 7,5, NaCl 1 M, NP40 al 0,2 %).

30 Medición de elastasa de neutrófilos (EN):

La actividad de EN en el lisado celular de FLBA (fluido de lavado bronquioalveolar) se midió usando el sustrato de EN fluorescente MeOSuc-Ala-Ala-Pro-Val-AMC (Bachem): se mezclaron 10 µl de lisado celular con 5 µl de tampón de ensayo (Tris 20 mM pH 7,5, NaCl 100 mM, albúmina de suero humano al 0,1 %) y 5 µl de sustrato (1 mM en tampón de ensayo) en una placa de 384 pocillos (Optiplat 384f, PerkinElmer). La mezcla de reacción se incubó durante 60 min a temperatura ambiente y se midió la fluorescencia (excitación a 360 nm, emisión a 460 nm). Los valores de fluorescencia obtenidos se normalizaron a los números de neutrófilos de FLBA para cada animal. Para calcular la inhibición de la actividad de EN por los compuestos de ensayo, se resta el valor medio de fluorescencia del grupo 3 de los valores de fluorescencia para los grupos 1 y 2 y se calcula el % de inhibición de la actividad de EN en el grupo 1 en comparación con el valor medio de fluorescencia en el grupo 2 calculado.

La actividad de elastasa de neutrófilos en lisado de FLBA después del pretratamiento con inhibidores de Catepsina C (administración 7d dvd (dos veces al día)) se enumeran en la siguiente tabla:

Tabla 12

Ejemplo	Inhibición de la actividad de elastasa de neutrófilos en lisado de FLBA después del pretratamiento con inhibidor de Catepsina C (dosis: 0,5 mg/kg dos veces al día durante 7 días)
1	96
25	94

ESTRUCTURAS CRISTALINAS DE COMPLEJOS DE CATEPSINA C LIGANDO

MÉTODOS

Proteína:

La Catepsina C humana recombinante (Cat C) se produjo de acuerdo con los protocolos convencionales de biología molecular (Bibliografía: 1 - 3).

Cristalización e inmersión:

Antes de la cristalización, se cambió el tampón de proteína a Bis-Tris 20 mM pH 7,0, NaCl 150 mM, EDTA 2 mM, DTT 2 mM con una columna NAP10 (GE Healthcare). La muestra de proteína se concentró a 9-10 mg/ml. Los cristales se cultivaron a 20 °C en gotas colgantes usando 1,0 µl de proteína y 1,0 µl de solución de pocillo (Bis-Tris-Propano 0,1 M pH 6,0-6,5, PEG 3350 al 18-20 % (p/v), NaF 200 mM, DDT 1 mM). Los cristales aparecieron durante la noche y crecieron a su tamaño completo en 2-3 días. Se obtuvieron coestructuras de ligando sumergiendo apocristales en una solución de pocillo complementada con 1 mM del ligando respectivo (a través de dilución de una solución madre 100 mM en DMSO) durante la noche. Los cristales se congelaron después en nitrógeno líquido antes de la recopilación de datos usando glicerol al 20 % y solución de pocillo como crio protector.

Recopilación de datos, solución de estructura y refinamiento:

Todos los datos de difracción se recopilaron a 100 K en un generador de ánodo giratorio (Rigaku) usando radiación CuKα y se procesaron con XDS (Bibliografía: 4). Las coestructuras de ligandos se resolvieron mediante el método de Fourier de diferencia y se refinaron con el programa autoBuster (Global Phasing Ltd.) iterado con reconstrucción manual usando el programa coot (Bibliografía: 5). El procesamiento final de datos y las estadísticas de refinamiento se enumeran en la Tabla 13. El programa PyMOL (DeLano Scientific LLC) se usó para la preparación de figuras.

RESULTADOS

Estructura de los complejos de Catepsina C ligando:

La estructura de la Catepsina C humana (Cat C) se describe en la bibliografía (Bibliografía 2) como un tetrámero que contiene cuatro subunidades idénticas. Cada subunidad se compone de tres cadenas: las cadenas ligeras y pesadas forman el dominio catalítico, mientras que el denominado dominio de exclusión bloquea el sitio activo hendido más allá del bolsillo S2 y es responsable de la actividad exopeptidasa de Cat C. Las estructuras de Cat C en complejo con los Ejemplos 11 y 16 (Tabla 14, Figura 1) se determinaron para dilucidar el modo de unión de esta clase de compuestos. Los ejemplos 11 y 16 se unen a través de una interacción covalente del grupo nitrilo con Cys234. El Ejemplo 11 es un enantiómero único con el átomo de carbono adyacente al grupo nitrilo en configuración (S), mientras que el Ejemplo 16 (el átomo de carbono espirocíclico tiene estereoquímica RS) es una mezcla de diastereómeros. El aminoácido bicíclico llega al bolsillo S1 de la enzima donde se ancla a través de enlaces de hidrógeno a los átomos de la estructura principal de Gly277 y Asn380, así como a la cadena lateral de Asp1. El sistema bis-arilo se orienta hacia el bolsillo S2 donde está implicado en las interacciones de van der Waals con los restos Asp1 y Pro3 del dominio de exclusión. Sorprendentemente, los inventores observaron una interacción adicional de la amina espirocíclica: espiro-azetidina en el Ejemplo 11 y espiro-pirrolidina en el Ejemplo 16. En ambos casos, el átomo de nitrógeno básico forma un puente salino con Glu275 coherente con la alta actividad enzimática

de esta clase de compuesto.

Referencias:

- 5 (1) Søren W. Dahl, Torben Halkier, Conni Lauritzen, Iztok Dolenc, John Pedersen, Vito Turk y Boris Turk. (2001) *Human Recombinant Pro-dipeptidyl Peptidase I (Cathepsin C) Can Be Activated by Cathepsins L and S but Not by Autocatalytic Processing*. *Biochemistry* 40, 1671-1678.
- 10 (2) Dusan Turk, Vojko Janjic, Igor Stern, Marjetka Podobnik, Dorian Lamba, Søren Weis Dahl, Connie Lauritzen, John Pedersen, Vito Turk y Boris Turk (2001) *Structure of human dipeptidyl peptidase I (cathepsin C): exclusion domain added to an endopeptidase framework creates the machine for activation of granular serine proteases*. *The EMBO Journal* 20, 6570-6582.
- 15 (3) Furber, M. et al. (2014) *Cathepsin C Inhibitors: Property Optimization and Identification of a Clinical Candidate*. *J. Med. Chem.*, 57, 2357-2367.
- (4) Kabsch, W. (2010) *XDS*. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 66, 125-132.
- 20 (5) Emsley, P. y Cowtan, K. (2004) *Coot: model-building tools for molecular graphics*. *Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr.* 60, 2126-2132.

Tabla 13. Recopilación de datos y estadísticas de refinamiento

Recopilación de datos ¹

Conjunto de datos	Ejemplo 11	Ejemplo 16
Detector	Saturn944	Mar345
Grupo espacial	1222	1222
Dimensiones de celda unitaria a, b, c (Å)	86,0, 89,3, 114,6	86,5, 88,7, 114,5
Resolución (Å)	1,7	1,5
Complejidad (%)	81,0 (9,1)	93,3 (43,5)
R _{sym} (%)	4,2 (31,6)	3,5 (28,0)
<I/σ (I)>	32,1 (2,9)	32,5 (4,7)

Refinamiento ²

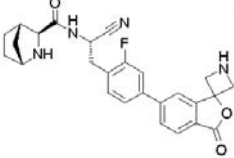
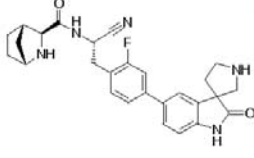
R-factor/R-libre (%)	17,8/19,2	21,3/21,7
Longitud de enlace D _{cmr} (Å)	0,008	0,008
Ángulos de enlace D _{cmr} (°)	0,90	0,93

¹ Los valores entre paréntesis son para la carcasa de mayor resolución; $R_{sim} = \frac{\sum_{hkl} \sum_i |I_i - \langle I \rangle|}{\sum_{hkl} \sum_i I_i}$

² Factor-R = $\frac{\sum_{hkl} |F_{obs} - F_{calc}|}{\sum_{hkl} |F_{obs}|}$; R-libre se calculó usando el 5 % de los datos excluidos del refinamiento;

D_{cmr}, desviación cuadrática media de la raíz

Tabla 14. Compuestos examinados en cristalografía de rayos X

Compuesto	Ejemplo 11	Ejemplo 16
Estructura		
Estereoisómero	Diastereómero único	Mezcla de diastereómeros
Cl ₅₀ de CatC (nM)	0,7	0,5

COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

Las preparaciones adecuadas para administrar los compuestos de fórmula I serán evidentes para los expertos en la materia e incluyen, por ejemplo, comprimidos, píldoras, cápsulas, supositorios, pastillas para chupar, trociscos, soluciones, jarabes, elixires, sobres, inyectables, inhalantes y polvos, etc., preferentemente comprimidos.

Pueden obtenerse comprimidos adecuadas, por ejemplo, mezclando uno o más compuestos de acuerdo con la fórmula I con excipientes conocidos, por ejemplo, diluyentes inertes, vehículos, disgregantes, adyuvantes, tensioactivos, aglutinantes y/o lubricantes. Los comprimidos también pueden consistir en varias capas.

COMBINACIONES

Los compuestos de fórmula general I pueden usarse solos o combinados con otras sustancias activas de fórmula I de acuerdo con la invención. Los compuestos de fórmula general I también pueden combinarse opcionalmente con otras sustancias farmacológicamente activas. Estas incluyen, agonistas del adrenorreceptor $\beta 2$ (acción de corta y larga duración), anticolinérgicos (acción de corta y larga duración), esteroides antiinflamatorios (corticoesteroides orales y tópicos), cromoglicato, metilxantina, miméticos de glucocorticoides disociados, inhibidores de PDE3, inhibidores de PDE4, inhibidores de PDE7, antagonistas de LTD4, inhibidores de EGFR, agonistas de dopamina, antagonistas de PAF, derivados de Lipoxina A4, moduladores de FPRL1, antagonistas de receptores LTB4 (BLT1, BLT2), antagonistas de receptores de histamina H1, antagonistas de receptores de histamina H4, antagonistas duales de los receptores de histamina H1/H3, inhibidores de PI3-cinasa, inhibidores de tirosina cinasas no receptoras tales como, por ejemplo, LYN, LCK, SYK, ZAP-70, FYN, BTK o ITK, inhibidores de MAP cinasas como, por ejemplo, p38, ERK1, ERK2, JNK1, JNK2, JNK3 o SAP, inhibidores de la vía de señalización de NF- κ B como, por ejemplo, inhibidores de la cinasa IKK2, inhibidores de iNOS, inhibidores de MRP4, inhibidores de la biosíntesis de leucotrienos como, por ejemplo, inhibidores de 5-lipoxigenasa (5-LO), inhibidores de cPLA2, inhibidores de Leucotrieno A4 hidrolasa o inhibidores de FLAP, agentes antiinflamatorios no esteroideos (AINE), antagonistas de CRTH2, moduladores de receptores de DPI, antagonistas de receptores de tromboxano, antagonistas de CCR3, antagonistas de CCR4, antagonistas de CCR1, antagonistas de CCR5, antagonistas de CCR6, antagonistas de CCR7, antagonistas de CCR8, antagonistas de CCR9, antagonistas de CCR30, antagonistas de CXCR3, antagonistas de CXCR4, antagonistas de CXCR2, antagonistas de CXCR1, antagonistas de CXCR5, antagonistas de CXCR6, antagonistas de CX3CR3, antagonistas de neurocinina (NK1, NK2), moduladores de receptores de esfingosina 1-fosfato, moduladores de receptores de esfingosina 1-Fosfato, inhibidores de la esfingosina-1-fosfato liasa, moduladores de receptores de adenosina como, por ejemplo, agonistas de A2a, moduladores de receptores purinérgicos como, por ejemplo, inhibidores de P2X7, activadores de histona desacetilasa (HDAC), antagonistas de la bradicinina (BK1, BK2), inhibidores de la TACE, moduladores de PPAR gamma, inhibidores de Rho-cinasa, inhibidores de la enzima convertidora de interleucina 1-beta (ECI), moduladores del receptor Toll-Like (TLR), inhibidores de la HMG-CoA reductasa, antagonistas de VLA-4, inhibidores de ICAM-1, agonistas de SHIP, antagonista de receptores de GABAa, inhibidores de ENaC, inhibidores de prostasina, inhibidores de matriptasa, inhibidores de receptores de melanocortina (MC1R, MC2R, MC3R, MC4R, MC5R), antagonistas de CGRP, antagonistas de endotelina, antagonistas de TNF α , anticuerpos anti-TNF, anticuerpos anti-GM-CSF, anticuerpos anti-CD46, anticuerpos anti-IL-1, anticuerpos anti-IL-2, anticuerpos anti-IL-4, anticuerpos anti-IL-5, anticuerpos anti-IL-13, anticuerpos anti-IL-4/IL-13, anticuerpos anti-TSLP, anticuerpos anti-OX40, mucorreguladores, agentes inmunoterápicos, compuestos contra la inflamación de las vías respiratorias, compuestos contra la tos, inhibidores de VEGF, inhibidores de EN, inhibidores de MMP9, inhibidores de MMP12, pero también combinaciones de dos o tres sustancias activas.

Se prefieren los betamiméticos, anticolinérgicos, corticoesteroides, inhibidores de PDE4, antagonistas de LTD4, inhibidores de EGFR, inhibidores de CRTH2, inhibidores de 5-LO, antagonistas de receptores de histamina e inhibidores de SYK, inhibidores de EN, inhibidores de MMP9, inhibidores de MMP12, pero también combinaciones de dos o tres sustancias activas, es decir:

- Betamiméticos con corticoesteroides, inhibidores de PDE4, inhibidores de CRTH2 o antagonistas de LTD4,
- Anticolinérgicos con betamiméticos, corticoesteroides, inhibidores de PDE4, inhibidores de CRTH2 o antagonistas de LTD4,
- Corticoesteroides con inhibidores de PDE4, Inhibidores de CRTH2 o antagonistas de LTD4
- Inhibidores de PDE4 con inhibidores de CRTH2 o antagonistas de LTD4
- Inhibidores de CRTH2 con antagonistas de LTD4.

INDICACIONES

Los compuestos de la invención y sus sales farmacéuticamente aceptables tienen actividad como productos farmacéuticos, en particular como inhibidores de la actividad de la dipeptidil peptidasa I y, por tanto, pueden usarse en el tratamiento de:

1. tracto respiratorio: enfermedades obstructivas de las vías respiratorias incluyendo: asma, incluyendo bronquial, asma alérgica, intrínseca, extrínseca, inducida por el ejercicio, inducida por fármacos (incluyendo inducida por aspirina y AINE) e inducida por el polvo, tanto intermitente como persistente y de todas las gravedades, y otras causas de hiperreactividad de las vías respiratorias; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); bronquitis, incluyendo bronquitis infecciosa y eosinofílica; enfisema; deficiencia de alfa1-antitripsina, bronquiectasias; fibrosis quística; sarcoidosis; pulmón del agricultor y enfermedades relacionadas; neumonitis por hipersensibilidad; fibrosis pulmonar, incluyendo alveolitis fibrosante críptogena, neumonías intersticiales idiopáticas, terapia antineoplásica que complica la fibrosis e infección crónica, incluyendo tuberculosis y aspergilosis y otras infecciones fúngicas; complicaciones del trasplante de pulmón; trastornos vasculíticos y trombóticos de la vasculatura pulmonar, poliangeítis (granulomatosis de Wegener) e hipertensión pulmonar; actividad antitusiva incluyendo el tratamiento de la tos crónica asociada a afecciones inflamatorias y secretoras de las vías respiratorias y la tos yatrogénica; rinitis aguda y crónica incluyendo rinitis medicamentosa y rinitis vasomotora; rinitis alérgica perenne y estacional incluyendo rinitis nerviosa (fiebre del heno); poliposis nasal;

infección vírica aguda, incluyendo el resfriado común, e infección por virus respiratorio sincitial, gripe, coronavirus (incluyendo SRAG) y adenovirus;

2. piel: psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto u otras dermatosis eccematosas y reacciones de hipersensibilidad de tipo retardado; fito y fotodermatitis; dermatitis seborreica, dermatitis herpetiforme, liquen plano, liquen escleroso y atrófico, pioderma gangrenoso, sarcoide cutáneo, lupus eritematoso discoide, pénfigo, penfigoide, epidermólisis ampollosa, urticaria, angioedema, vasculitis, eritemas tóxicos, eosinofilias cutáneas, alopecia areata, calvicie de patrón masculino, Síndrome de Sweet, síndrome de Weber-Christian, eritema multiforme; celulitis, tanto infecciosa como no infecciosa; paniculitis, linfomas cutáneos, cáncer de piel no melanoma y otras lesiones displásicas; trastornos inducidos por fármacos, incluyendo erupciones de por fármacos fijados;

3. ojos: blefaritis; conjuntivitis, incluyendo conjuntivitis alérgica perenne y primaveral; iritis; uveítis anterior y posterior; coroiditis; trastornos autoinmunitarios, degenerativos o inflamatorios que afectan a la retina; oftalmítis, incluyendo la oftalmítis simpática; sarcoidosis; infecciones incluyendo víricas, fúngicas y bacterianas;

4. genitourinario: nefritis incluyendo intersticial y glomerulonefritis; síndrome nefrótico; cistitis incluyendo cistitis aguda y crónica (intersticial) y úlcera de Hunner; uretritis aguda y crónica, prostatitis, epididimitis, ooforitis y salpingitis; vulvovaginitis; enfermedad de Peyronie; disfunción eréctil (tanto masculina como femenina);

5. rechazo de aloinjertos: seguimiento agudo y crónico, por ejemplo, trasplante de riñón, corazón, hígado, pulmón, médula ósea, piel o córnea o tras transfusión de sangre; o enfermedad crónica de injerto contra hospedador;

6. otros trastornos autoinmunitarios y alérgicos, incluyendo artritis reumatoide, síndrome del intestino irritable, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple, tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, enfermedad de Addison, diabetes mellitus, púrpura trombocitopénica idiopática, fascitis eosinofílica, síndrome hiper-IgE, síndrome antifosfolípido, síndrome de Sazary;

7. oncología: tratamiento de cánceres comunes incluyendo tumores de próstata, mama, pulmón, ovario, páncreas, intestino y colon, estómago, piel y cerebro y neoplasias que afectan a la médula ósea (incluyendo las leucemias) y los sistemas linfoproliferativos, tales como el linfoma de Hodgkin y no Hodgkin; incluyendo la prevención y el tratamiento de enfermedades metastásicas y recurrencias tumorales, y síndromes paraneoplásicos; y

8. enfermedades infecciosas: enfermedades víricas tales como verrugas genitales, verrugas comunes, verrugas plantares, hepatitis B, hepatitis C, virus del herpes simple, molusco contagioso, viruela, virus de inmunodeficiencia humana (VIH), virus del papiloma humano (VPH), citomegalovirus (CMV), virus de la varicela zoster (VVZ), rinovirus, adenovirus, coronavirus, gripe, para-gripe; enfermedades bacterianas tales como tuberculosis y *Mycobacterium avium*, lepra; otras enfermedades infecciosas, tales como enfermedades fúngicas, clamidia, *Candida*, *Aspergillus*, meningitis criptocócica, *Pneumocystis carinii*, criptosporidiosis, histoplasmosis, toxoplasmosis, infección por tripanosoma y leishmaniasis.

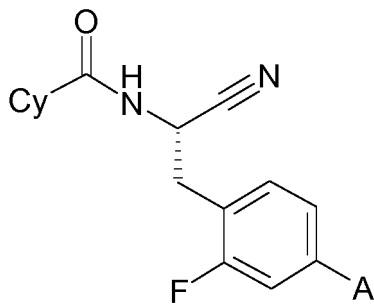
9. dolor: Datos bibliográficos recientes de ratones con deficiencia de Catepsina C apuntan a un papel modulador de la Catepsina C en la sensación de dolor. En consecuencia, los inhibidores de la Catepsina C también pueden ser útiles en el contexto clínico de diversas formas de dolor crónico, por ejemplo, dolor inflamatorio o neuropático.

Para el tratamiento de las enfermedades y afecciones descritas anteriormente, una dosis terapéuticamente eficaz estará generalmente en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal por dosis de un compuesto de la invención; preferentemente, de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 20 mg/kg de peso corporal por dosis. Por ejemplo, para la administración a una persona de 70 kg, el intervalo de dosificación sería de aproximadamente 0,7 mg a aproximadamente 7000 mg por dosis de un compuesto de la invención, preferentemente de aproximadamente 7,0 mg a aproximadamente 1400 mg por dosis. Puede ser necesario cierto grado de optimización de dosis habitual para determinar un nivel y patrón de dosificación óptimo. El principio activo puede administrarse de 1 a 6 veces al día.

La cantidad farmacéuticamente eficaz real o la dosis terapéutica dependerán, por supuesto, de factores conocidos por los expertos en la materia, tales como la edad y el peso del paciente, la vía de administración y la gravedad de la enfermedad. En cualquier caso, el principio activo se administrará en dosis y de una manera que permitan entregar una cantidad farmacéuticamente eficaz en función de la condición singular del paciente.

REIVINDICACIONES

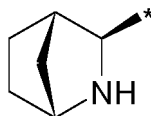
1. Un compuesto de fórmula I o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



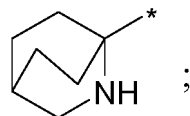
I

en la que

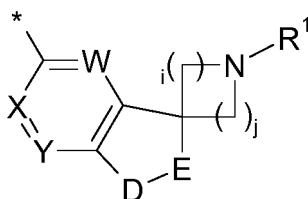
Cy es



o



A es



en la que

W se selecciona entre el grupo que consiste en CH y N;

X se selecciona entre el grupo que consiste en CH y N;

Y se selecciona entre el grupo que consiste en CH y N;

a condición de que un máximo de uno de W, X e Y puede ser N;

D-E se selecciona entre el grupo que consiste en N(R²)-C(O), CH₂CH₂, C(O)-O y CH₂-O;

R² se selecciona entre el grupo que consiste en H y alquilo C₁-₃;

R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H, alquilo C₁-₃, CH₃OCH₂CH₂-, oxetanilo, tetrahydrofuranilo, 4-tetrahidropiranilo y 3-tetrahidropiranilo;

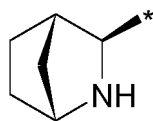
i es 1, 2 o 3;

j es 1, 2 o 3

a condición de que la suma de i+j sea 2, 3 o 4.

2. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que

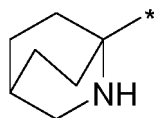
Cy es



3. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que

5

Cy es



10 4. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, 2 o 3, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que

R¹ se selecciona entre el grupo que consiste en H, CH₃- y oxetaniolo.

15 5. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que

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

20 6. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que

D-E es CH₂-O.

25 7. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1 o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que

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

R² es CH₃;

30 W se selecciona entre el grupo que consiste en CH y N;

X se selecciona entre el grupo que consiste en CH y N;

Y es CH;

a condición de que un máximo de uno de W, X e Y puede ser N;

35 D-E se selecciona entre el grupo que consiste en N(R²)-C(O), CH₂CH₂, C(O)-O y CH₂-O;

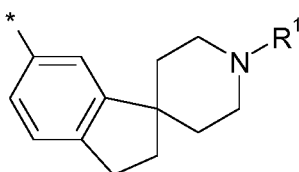
i es 1 o 2;

j es 1 o 2;

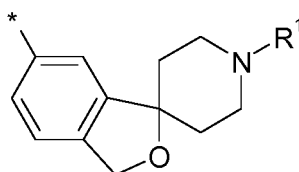
a condición de que la suma de i+j sea 2, 3 o 4.

40 8. Un compuesto de fórmula I, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que

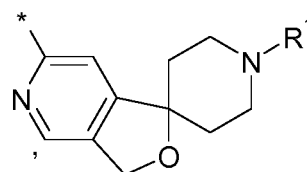
A se selecciona entre el grupo que consiste en las fórmulas A1 a A14:



A1

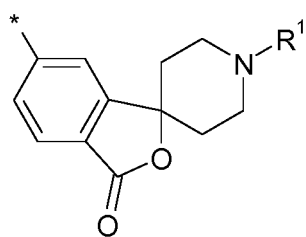


A2

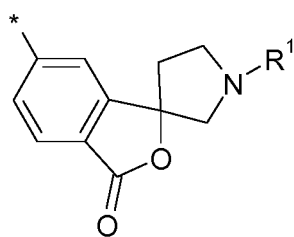


A3

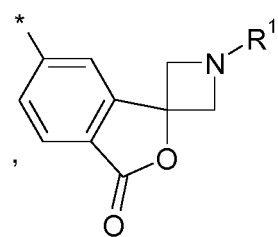
45



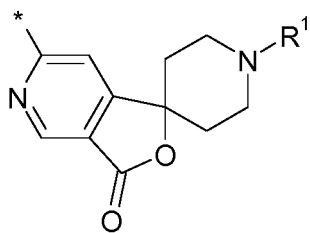
A4



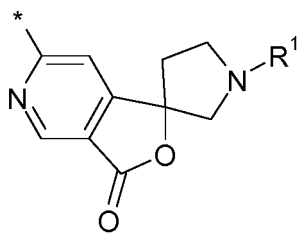
A5



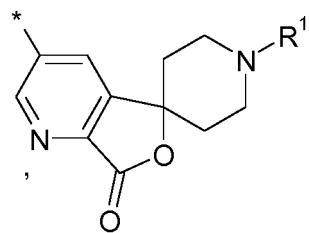
A6



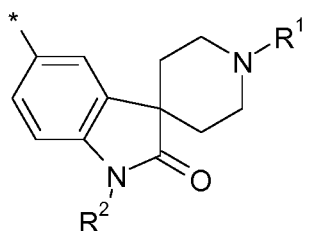
A7



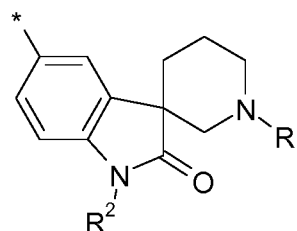
A8



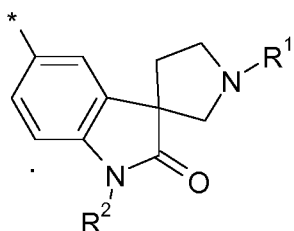
A9



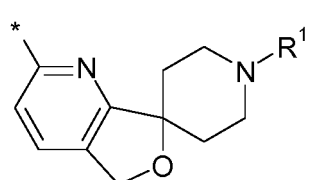
A10



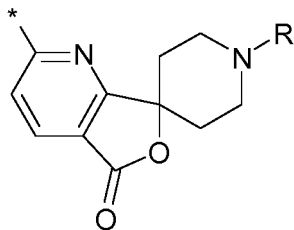
A11



A12

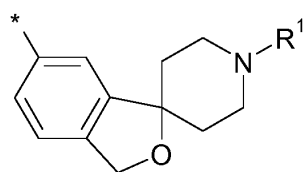


A13

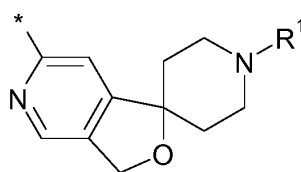


A14

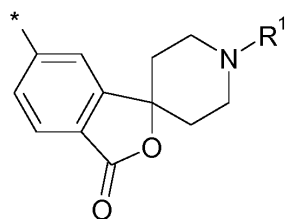
9. Un compuesto de fórmula I, de acuerdo con la reivindicación 8, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en A2, A3, A4, A5, A6, A7, A10, A13 y A14.



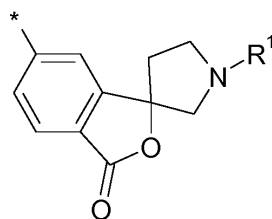
A2,



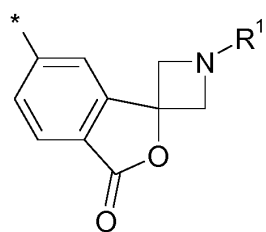
A3,



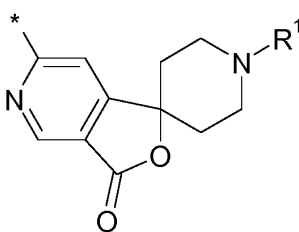
A4,



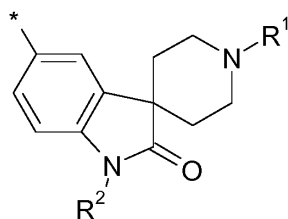
A5



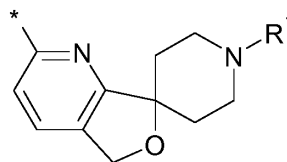
A6,



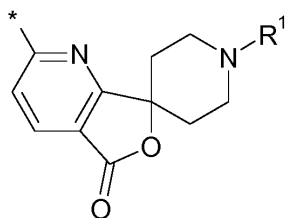
A7,



A10,

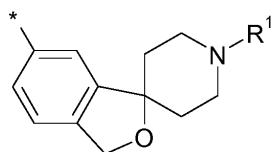


A13,

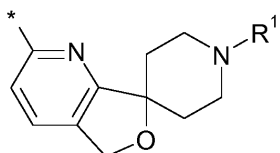


A14.

10. Un compuesto de fórmula I, de acuerdo con la reivindicación 8 o 9, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que A se selecciona entre el grupo que consiste en A2 y A13.

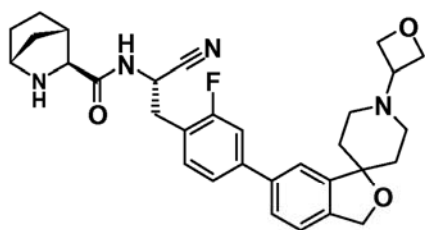


A2,

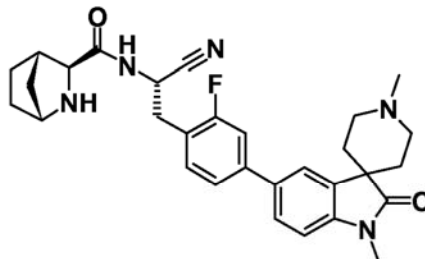


A13.

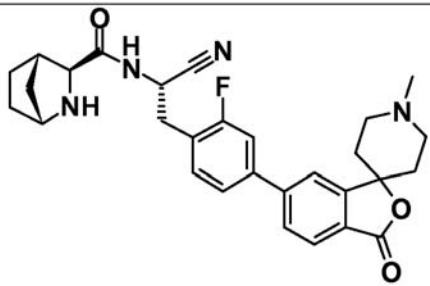
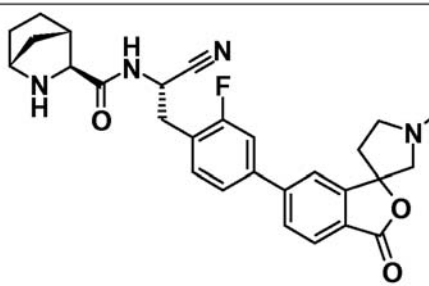
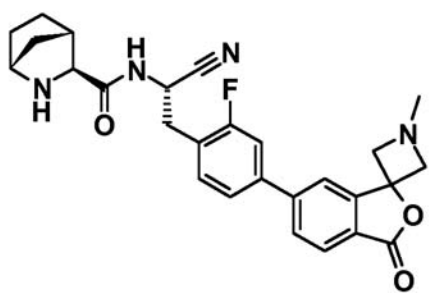
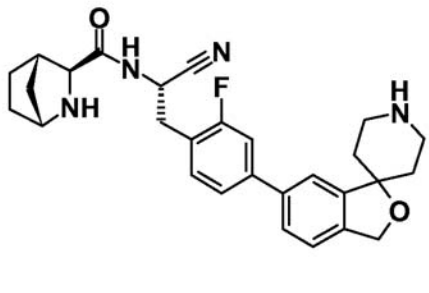
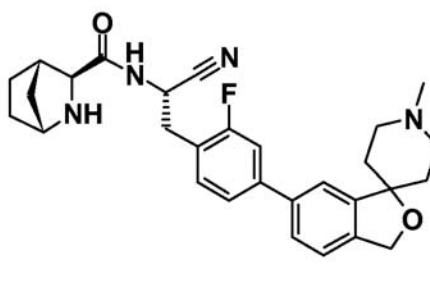
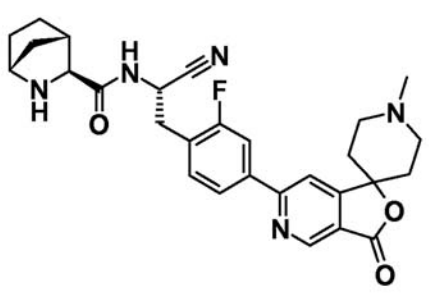
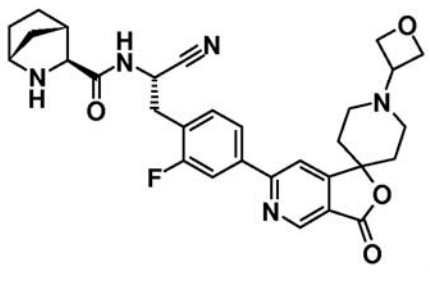
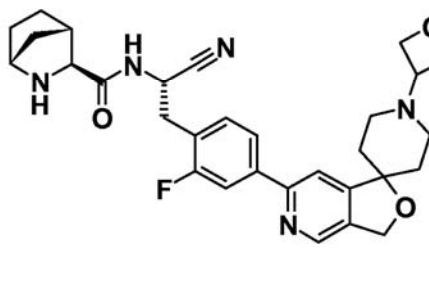
11. Un compuesto de fórmula I, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, seleccionado entre el grupo que consiste en los ejemplos 1, 5, 8, 10, 12, 13, 14, 19, 22, 23, 24, 25 y 27,

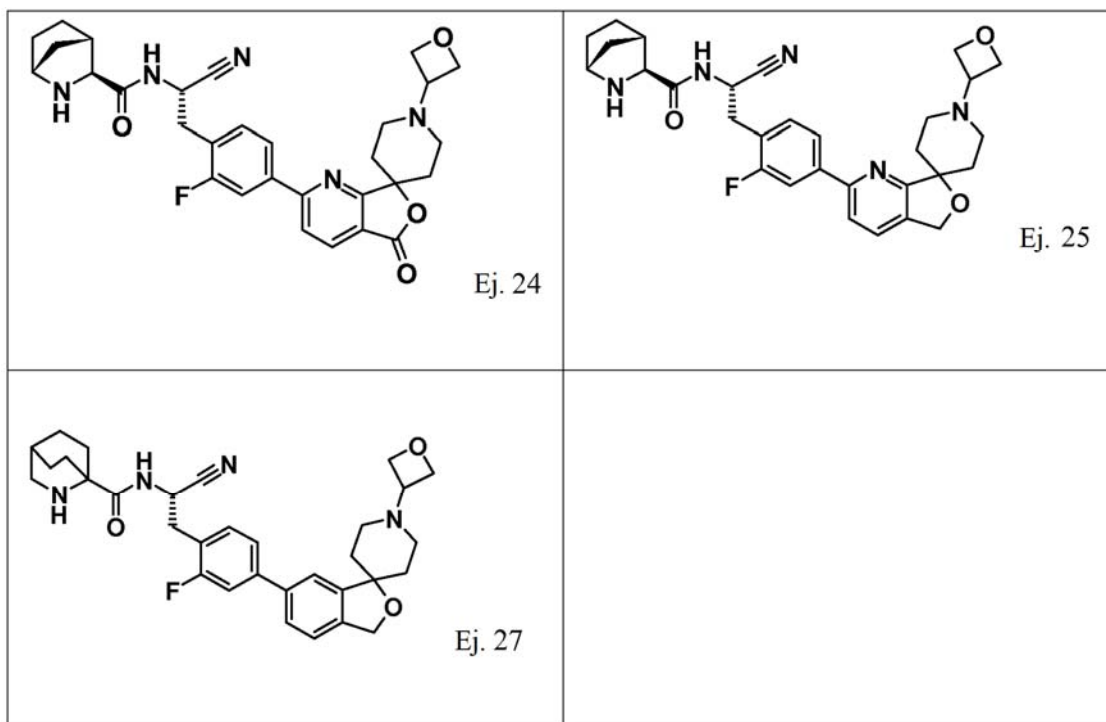


Ej. 1



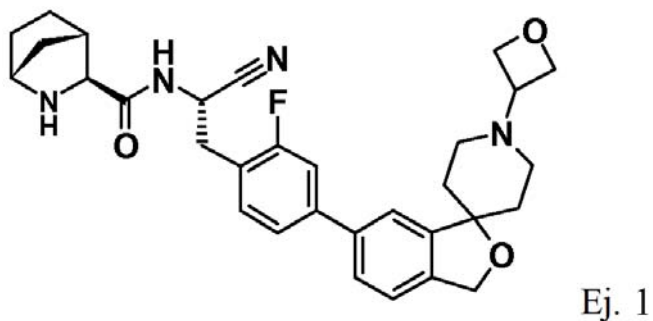
Ej. 5

 Ej. 8	 Ej. 10
 Ej. 12	 Ej. 13
 Ej. 14	 Ej. 19
 Ej. 22	 Ej. 23

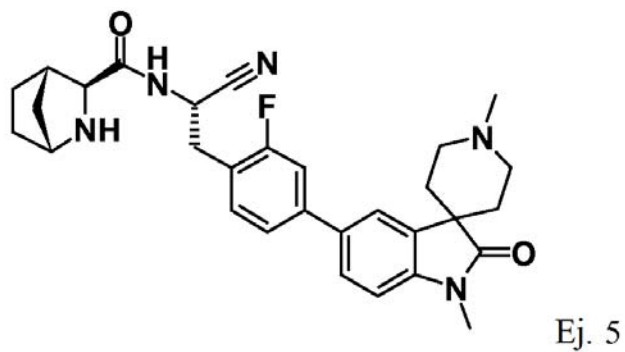


o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo.

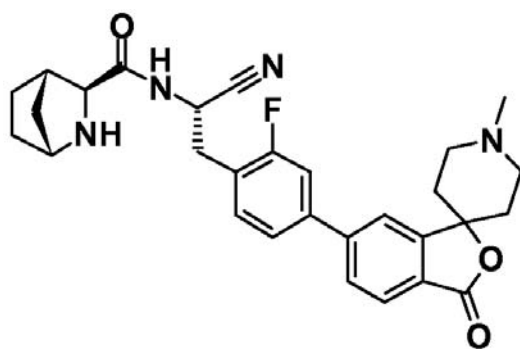
- 5 12. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



- 10 13. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



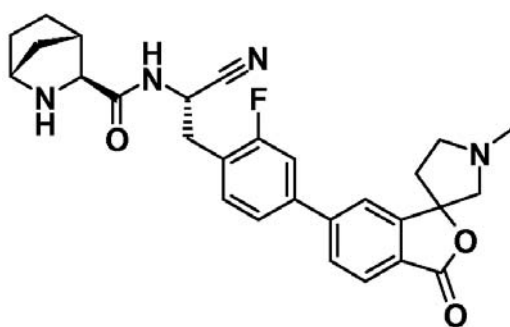
- 15 14. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



Ej. 8.

15. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,

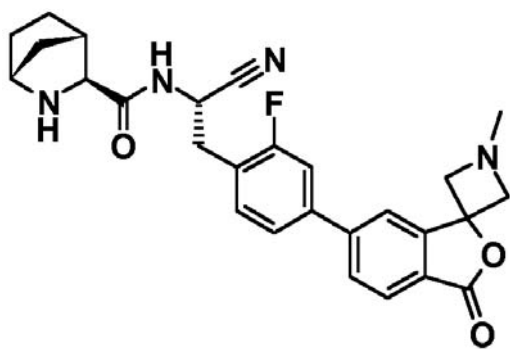
5



Ej. 10

16. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,

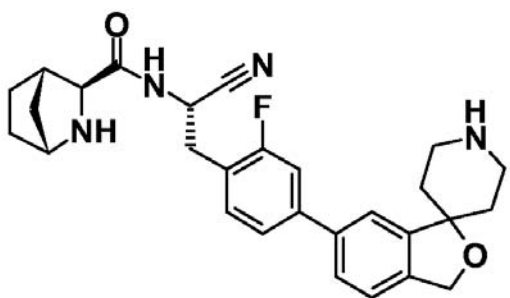
10



Ej. 12

17. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,

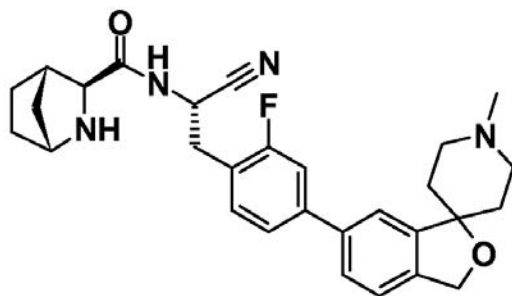
15



Ej. 13

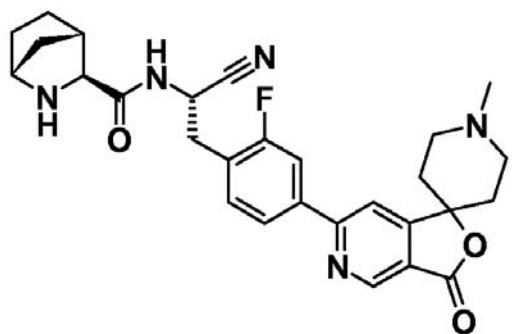
18. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente

aceptables del mismo,



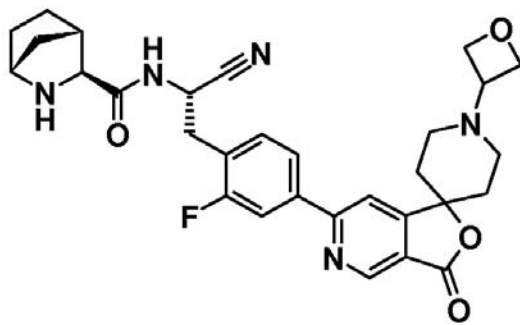
Ej. 14

- 5 19. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



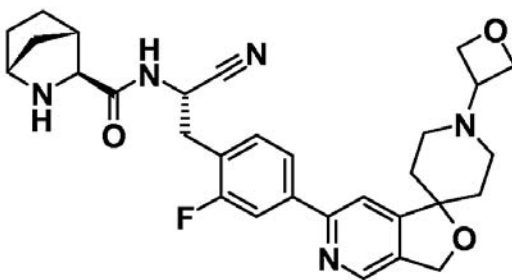
Ej. 19

- 10 20. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



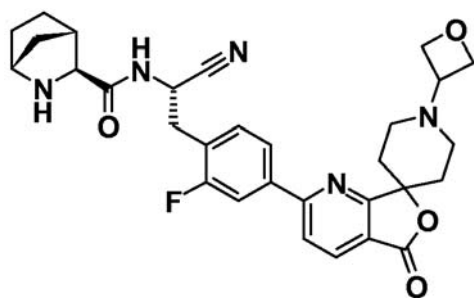
Ej. 22

- 15 21. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



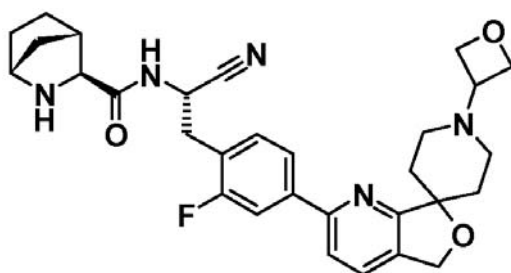
Ej. 23

- 20 22. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



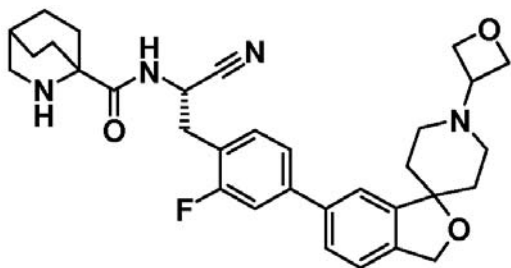
Ej. 24

23. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



Ej. 25

24. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 11, o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo,



Ej. 27

25. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo para su uso como medicamento.

26. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo para su uso como medicamento para el tratamiento del asma y enfermedades alérgicas, enfermedades inflamatorias gastrointestinales, glomerulonefritis, enfermedades eosinofílicas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, infección por microbios patógenos, artritis reumatoide, enfermedades neutrofílicas, fibrosis quística (FQ), fibrosis no quística, fibrosis pulmonar idiopática, bronquiectasia, vasculitis asociada a AACN, cáncer de pulmón, enfisema, bronquitis crónica, lesión pulmonar aguda (LPA), síndrome de dificultad respiratoria aguda (SDRA), hipertensión pulmonar, hipertensión arterial pulmonar (HAP) y deficiencia de alfa-1-antitripsina (DAAT), obesidad e inflamación relacionada, resistencia a la insulina, diabetes, hígado graso y esteatosis hepática.

27. Composición farmacéutica, caracterizada porque contiene uno o más compuestos de fórmula I de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24 o sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

28. Una composición farmacéutica que comprende adicionalmente un compuesto de fórmula I, de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 24, un compuesto farmacéuticamente activo seleccionado entre el grupo que consiste en betamiméticos, anticolinérgicos, corticoesteroides, inhibidores de PDE4, antagonistas de LTD4, inhibidores de EGFR, Inhibidores de CRTH2, inhibidores de 5-LO, antagonistas de receptores de histamina, antagonistas de CCR9 e inhibidores de SYK, inhibidores de EN, inhibidores de MMP9, inhibidores de MMP12, pero también combinaciones de dos o tres sustancias activas.

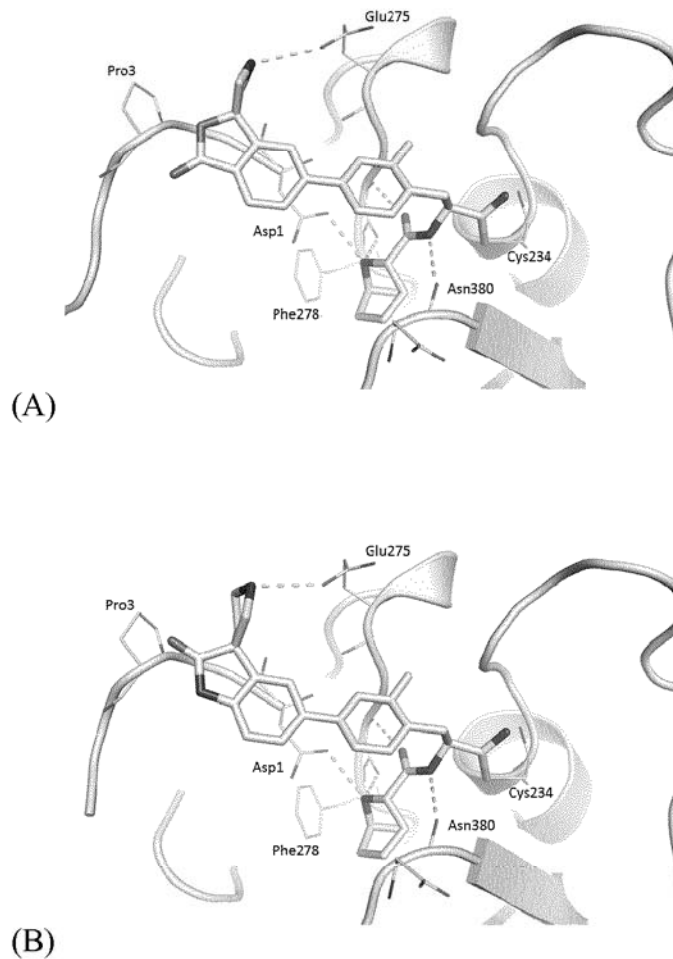


Figura 1. Estructuras de complejos Catepsina C ligando. (A) Ejemplo 11; (B) Ejemplo 16. La proteína se muestra en representación de cinta, mostrándose los restos seleccionados como varas. Los ligandos se muestran como representación de vara, enlaces de hidrógeno y líneas de puntos.