

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 768 823**

51 Int. Cl.:

C07D 403/12 (2006.01)
C07D 401/10 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
C07D 403/10 (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)
A61K 31/506 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.12.2015** **PCT/EP2015/079981**
87 Fecha y número de publicación internacional: **23.06.2016** **WO16096979**
96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.12.2015** **E 15820456 (0)**
97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.11.2019** **EP 3233834**

54 Título: **Derivados de 2,3,4,5-tetrahidropiridin-6-amina y 3,4-dihidro-2H-pirrol-5-amina útiles como inhibidores de beta-secretasa**

30 Prioridad:

18.12.2014 EP 14198977
22.04.2015 EP 15164704

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.06.2020

73 Titular/es:

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

72 Inventor/es:

TRABANCO-SUÁREZ, ANDRÉS, AVELINO;
DELGADO-GONZÁLEZ, ÓSCAR;
GIJSEN, HENRICUS, JACOBUS, MARIA;
VAN GOOL, MICHIEL, LUC, MARIA;
VAN BRANDT, SVEN, FRANCISCUS, ANNA;
DE CLEYN, MICHEL, ANNA, JOZEF;
FUSTERO LARDIÉS, SANTOS y
MATEU SANCHÍS, NATALIA

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 768 823 T3

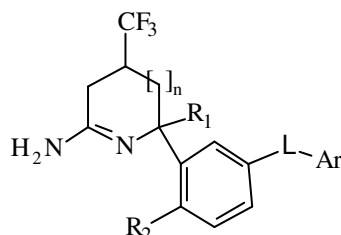
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de 2,3,4,5-tetrahidropiridin-6-amina y 3,4-dihidro-2H-pirrol-5-amina útiles como inhibidores de beta-secretasa

CAMPO DE LA INVENCION

- 5 La presente invención se refiere a compuestos 2,3,4,5-tetrahidropiridin-6-amina y 3,4-dihidro-2H-pirrol-5-amina inhibidores de beta-secretasa que tienen la estructura mostrada en la Fórmula (I)



10 en donde los radicales son como se definen en la memoria descriptiva. La invención se dirige también a composiciones farmacéuticas que comprenden este tipo de compuestos, a procedimientos para preparar compuestos y composiciones de este tipo y a compuestos y composiciones de este tipo para uso en la prevención y el tratamiento de trastornos en los que está implicada beta-secretasa tales como la enfermedad de Alzheimer (EA), defecto cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada a apoplejía, demencia asociada con la enfermedad de Parkinson, demencia asociada con beta-amiloide, degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos.

15 ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa asociada con el envejecimiento. Los pacientes con EA padecen deficiencias cognitivas y pérdidas de memoria, así como también problemas conductuales tales como la ansiedad. Más del 90% de las personas que padecen EA presentan una forma esporádica del trastorno mientras que menos del 10% de los casos son hereditarios o familiares. En los estados unidos, aproximadamente una de cada diez personas padece EA a la edad de 65 años, mientras que a la edad de 85 años, uno de cada dos individuos están afectados de EA. La esperanza de vida media desde el diagnóstico inicial es de 7-10 años, y los pacientes con EA requieren asistencia continua ya sea en una residencia con asistencia especializada o por miembros de la familia. Debido a que cada vez hay más ancianos en la población, la EA es un problema médico cada vez más importante. Las terapias disponibles en la actualidad para la EA simplemente tratan los síntomas de la enfermedad e incluyen inhibidores de la acetilcolinesterasa para mejorar las propiedades cognitivas, así como también ansiolíticos y antipsicóticos para controlar los problemas conductuales asociados con esta enfermedad.

30 Las características patológicas distintivas en el cerebro de los pacientes con EA son ovillos neurofibrilares que se genera por hiperfosforilación de la proteína tau y placas amiloides que se forman por agregación del péptido beta-amiloide 1-42 (Abeta 1-42). El Abeta 1-42 forma oligómeros y después fibrillas y, en último lugar, placas amiloides. Se cree que los oligómeros y las fibrillas son especialmente neurotóxicos y pueden provocar la mayor parte del daño neurológico asociado con la EA. Los agentes que previenen la formación de Abeta 1-42 presentan el potencial de ser agentes modificadores de la enfermedad para tratar la EA. El Abeta 1-42 se genera a partir de la proteína precursora de amiloide (APP), constituida por 770 aminoácidos. El extremo N-terminal de Abeta 1-42 es escindido por la beta-secretasa (BACE1) y a continuación la gamma-secretasa escinde el extremo C-terminal. Además de Abeta 1-42, la gamma-secretasa también libera Abeta 1-40, que es el producto de escisión predominante, así como también Abeta 1-38 y Abeta 1-43. Estas formas de Abeta también se pueden agregar para formar oligómeros y fibrillas. Por lo tanto, cabría esperar que los inhibidores de BACE1 prevengan la formación de Abeta 1-42 así como también Abeta 1-40, Abeta 1-38 y Abeta 1-43, y podrían ser agentes terapéuticos potenciales en el tratamiento de la EA.

45 La diabetes tipo 2 (T2D) es provocada por resistencia a insulina y secreción inadecuada de insulina a partir de células beta pancreáticas que conduce a un deficiente control de glucosa en sangre e hiperglucemia. Pacientes con T2D tienen un riesgo incrementado de enfermedad microvascular y macrovascular y una gama de complicaciones relacionadas, incluyendo nefropatía diabética, retinopatía y enfermedad cardiovascular. El aumento en la prevalencia de T2D está asociado con un estilo de vida crecientemente sedentario y una ingesta de comida de alta energía de la población del mundo.

La insuficiencia de células beta y la consiguiente disminución drástica en la secreción de insulina y la hiperglucemia marca el inicio de T2D. Los tratamientos más actuales no previenen la pérdida de masa de células beta que caracteriza una T2D manifiesta. Sin embargo, desarrollos recientes con análogos de GLP-1, gastrina y otros

agentes demuestran que es posible conseguir la prevención y proliferación de células beta, lo que conduce a una tolerancia mejorada a la glucosa y una progresión más lenta a una T2D manifiesta.

Tmem27 se ha identificado como una proteína que fomenta la proliferación de células beta y la secreción de insulina. Tmem27 es una glicoproteína de la membrana de 42 kDa que es derramada constitutivamente de la superficie de células beta, que resulta de una degradación de la Tmem27 celular de longitud completa. La sobre-expresión de Tmem27 en un ratón transgénico aumenta la masa de células beta y mejora la tolerancia a la glucosa en un modelo de diabetes de obesidad inducida por la dieta DIO. Además, la inactivación por ARNsi de Tmem27 en un ensayo de proliferación de células beta de roedores (p. ej., utilizando células INS1e) reduce la tasa de proliferación, indicando un papel para Tmem27 en el control de la masa de células beta.

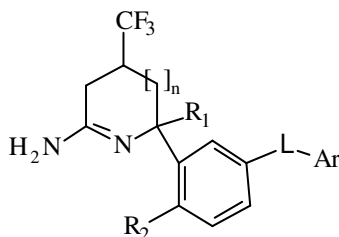
BACE2 es la proteasa responsable de la degradación de Tmem27. Es una aspartil proteasa unida a membrana y está co-localizada con Tmem27 en células beta pancreáticas humanas. Es también sabido que es capaz de degradar APP, IL-1R2 y ACE2. La capacidad de degradar ACE2 indica un posible papel de BACE2 en el control de la hipertensión.

Inhibidores de BACE1 y/o BACE2 pueden utilizarse, además, para el tratamiento terapéutico y/o profiláctico de esclerosis lateral amiotrófica (ALS), trombosis arterial, enfermedades autoinmunes/inflamatorias, cáncer tal como cáncer de mama, enfermedades cardiovasculares tales como infarto de miocardio y apoplejía, dermatomiositis, Síndrome de Down, enfermedades gastrointestinales, glioblastoma multiforme, Enfermedad de Graves, Enfermedad de Huntington, miositis por cuerpos de inclusión (IBM), reacciones inflamatorias, Sarcoma de Kaposi, Enfermedad de Kostmann, lupus eritematoso, miofasciitis macrófaga, artritis idiopática juvenil, artritis granulomatosa, melanoma maligno, mieloma múltiple, artritis reumatoide, síndrome de Sjogren, Ataxia Espinocerebelosa 1, Ataxia Espinocerebelosa 7, Enfermedad de Whipple o Enfermedad de Wilson.

En los documentos (a) EP-2518059, (b) J. Med. Chem. 2013 56 3980-3995, (c) Bioorg. Med. Chem. Lett. 2013 23 4239-4243 y (d) J. Med. Chem. 2013 55 4181-4205, se describen compuestos que inhiben BACE1 pero que tienen estructuras centrales diferentes a las de los compuestos de la presente invención.

COMPENDIO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula (I)



y los tautómeros y las formas estereoisoméricas de estos, donde

n es 0 o 1;

R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₃, ciclopropilo, mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃);

R² es hidrógeno o flúor;

L es un enlace o -NHCO-;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

donde homoarilo es fenilo o fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados del grupo constituido por halo, ciano, alquilo C₁₋₃, alquilo C₁₋₃, mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃), mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃);

heteroarilo se selecciona del grupo constituido por piridilo, pirimidilo, pirazilo, piridazilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo y oxadiazolilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados del grupo constituido por halo, ciano, alquilo C₁₋₃, alquilo C₂₋₃, alquilo C₁₋₃, mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃), mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃) y (alquilo C₁₋₃)-(alquilo C₁₋₃);

y las sales por adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de estos.

Una composición farmacéutica que comprenda un portador farmacéuticamente aceptable y cualquiera de los compuestos descritos anteriormente son ilustrativos de la invención. Una ilustración de la invención es una

composición farmacéutica preparada mezclando cualquiera de los compuestos descritos anteriormente con un portador farmacéuticamente aceptable. Como ilustración de la invención se encuentra un proceso para preparar una composición farmacéutica que comprende mezclar cualquiera de los compuestos descritos anteriormente con un portador farmacéuticamente aceptable.

- 5 Otro ejemplo de la invención es cualquiera de los compuestos descritos anteriormente para utilizar en el tratamiento de: (a) enfermedad de Alzheimer, (b) defecto cognitivo leve, (c) senilidad, (d) demencia, (e) demencia con cuerpos de Lewy, (f) síndrome de Down, (g) demencia asociada a apoplejía, (h) demencia asociada con la enfermedad de Parkinson, (i) demencia asociada con beta-amiloide o (j) degeneración macular relacionada con la edad, (k) diabetes tipo 2 y (l) otros trastornos metabólicos, en un sujeto en necesidad de los mismos.

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

- La presente invención se refiere a compuestos de fórmula (I) como los definidos anteriormente en la presente, y sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de estos. Los compuestos de fórmula (I) son inhibidores de la enzima beta-secretasa (también conocida como enzima de escisión del sitio beta BACE, BACE1, Asp2 o memapsina 2, o BACE2), y son útiles en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, defecto cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia asociada con apoplejía, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada con la enfermedad de Parkinson, demencia asociada con beta-amiloide y degeneración macular relacionada con la edad, preferiblemente enfermedad de Alzheimer, defecto cognitivo leve o demencia, más preferiblemente enfermedad de Alzheimer, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos.

En una realización, R^1 es metilo.

- 20 En una realización, R^2 es hidrógeno.

En una realización, L es $-NH-C(=O)-$.

En una realización, Ar es piridinilo o pirazinilo sustituido con uno o dos átomos de halógeno o alquilo C_{1-3} .

En una realización, R^1 es metilo, R^2 es hidrógeno, L es $-NH-C(=O)-$ y Ar es piridinilo o pirazinilo sustituido con uno o dos átomos de halógeno o alquilo C_{1-3} .

- 25 En una realización, R^1 es metilo, R^2 es hidrógeno, L es $-NH-C(=O)-$ y Ar es

5-metoxipirazin-2-ilo, 5-bromo-piridin-2-ilo, 5-cloro-3-fluoro-piridin-2-ilo o 5-ciano-piridin-2-ilo.

En una realización, el átomo de carbono sustituido con trifluorometilo tiene la configuración R.

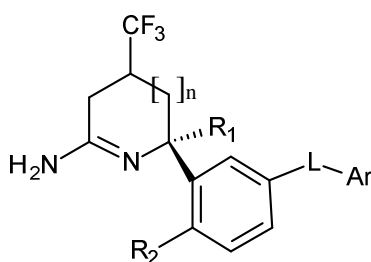
En una realización, R^2 es fluoro.

En una realización, n es 1.

- 30 En una realización, R^1 es metilo, R^2 es fluoro, n es 1, L es $-NH-C(=O)-$ y Ar es

5-metoxipirazin-2-ilo, 5-cloro-piridin-2-ilo, 5-fluoro-piridin-2-ilo, 5-ciano-piridin-2-ilo, 5-cloro-3-fluoro-piridin-2-ilo o 1-difluorometil-pirazol-3-ilo.

- En aún una realización adicional, la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula (I) según se define antes en esta memoria, en donde el átomo de carbono cuaternario sustituido con R^1 tiene una configuración tal como se representa en la estructura (I') que figura más adelante, en donde el núcleo de 2,3,4,5-tetrahidropiridinilo o el núcleo de 3,4-dihidro-2H-pirrolilo está en el plano del dibujo, R^1 se proyecta por debajo del plano del dibujo (con el enlace mostrado con una cuña de líneas paralelas $\text{---}\text{|||}$) y Ar se proyecta por encima del plano del dibujo (con el enlace mostrado con una cuña en negrillas $\text{---}\text{|||}$). Cuando R^1 es metilo, el átomo de carbono cuaternario tiene la configuración S.



(I')

DEFINICIONES

"Halo" debe designar fluoro, cloro y bromo; "alquiloC₁₋₃" debe designar un grupo alquilo saturado, lineal o ramificado que tiene 1, 2 o 3 átomos de carbono, p. ej., metilo, etilo, 1-propilo y 2-propilo; "alquiloxiC₁₋₃" debe designar un radical éter, en donde alquiloC₁₋₃ es como se define antes; "mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃)" debe designar alquiloC₁₋₃ tal como se define antes, sustituido con 1, 2, 3 o, cuando sea posible, con más átomos de halo tal como se definen antes; "mono- y polihalo(alquiloxi C₁₋₃)" debe designar un radical éter, en donde mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃) es como se define antes.

El término sujeto, tal como se utiliza en esta memoria, se refiere a un animal, preferiblemente un mamífero, lo más preferiblemente un ser humano, que es o ha sido objeto de tratamiento, observación o experimento.

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

Tal como se usa en esta memoria, se pretende que el término "composición" abarque un producto que comprende los componentes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de combinaciones de los componentes especificados en las cantidades especificadas.

En lo que antecede y en lo que sigue en esta memoria, la expresión "compuesto de fórmula (I)" pretende incluir las sales por adición, los solvatos y los estereoisómeros de los mismos.

El término "estereoisómeros" o la expresión "formas estereoquímicamente isoméricas", en lo que antecede y en lo que sigue en esta memoria, se utilizan de manera indistinta.

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

Los enantiómeros son estereoisómeros que son imágenes especulares no superponibles entre sí. Una mezcla 1:1 de un par de enantiómeros es un racemato o mezcla racémica. Los diastereómeros (o diastereoisómeros) son estereoisómeros que no son enantiómeros, es decir, que no están relacionados como imágenes especulares. Si un compuesto contiene un doble enlace, los sustituyentes pueden estar en la configuración E o en la configuración Z. Si un compuesto contiene un grupo cicloalquilo disustituido, los sustituyentes pueden estar en la configuración cis o trans. Por lo tanto, la invención incluye enantiómeros, diastereómeros, racematos, isómeros E, isómeros Z, isómeros cis, isómeros trans y mezclas de los mismos.

La configuración absoluta se especifica de acuerdo con el sistema de Cahn-Ingold-Prelog. La configuración en un átomo asimétrico se especifica como R o S. Los compuestos resueltos cuya configuración absoluta se desconoce se pueden designar como (+) o (-) dependiendo de la dirección en la que hagan rotar el plano de la luz polarizada.

Cuando se identifica un estereoisómero específico, esto significa que dicho estereoisómero está sustancialmente libre, es decir, asociado con menos del 50%, preferiblemente menos del 20%, más preferiblemente menos del 10%, aún más preferiblemente menos del 5%, en particular menos del 2% y lo más preferiblemente menos del 1%, de los otros isómeros. Por lo tanto, cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como (R), esto significa que el compuesto está esencialmente libre del isómero (S); cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como E, esto significa que el compuesto está esencialmente libre del isómero Z; cuando un compuesto de fórmula (I) se especifica, por ejemplo, como cis, esto significa que el compuesto está esencialmente libre del isómero trans.

Para el uso en medicina, las sales de los compuestos de esta invención se refieren a "sales farmacéuticamente aceptables" atóxicas. Sin embargo, otras sales pueden ser útiles en la preparación de compuestos de acuerdo con esta invención o de sus sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos incluyen las sales de adición de ácido que se pueden formar, por ejemplo, mezclando una solución del compuesto con una solución de un ácido farmacéuticamente aceptable tal como el ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido succínico, ácido acético, ácido benzoico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido carbónico o ácido fosfórico. Además, cuando los compuestos de la invención contienen un resto ácido, las sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de estos pueden incluir sales de metales alcalinos, p. ej., sales de sodio o potasio; sales de metales alcalinotérreos, p. ej., sales de calcio o magnesio; y sales formadas con ligandos orgánicos adecuados, p. ej., sales de amonio cuaternario.

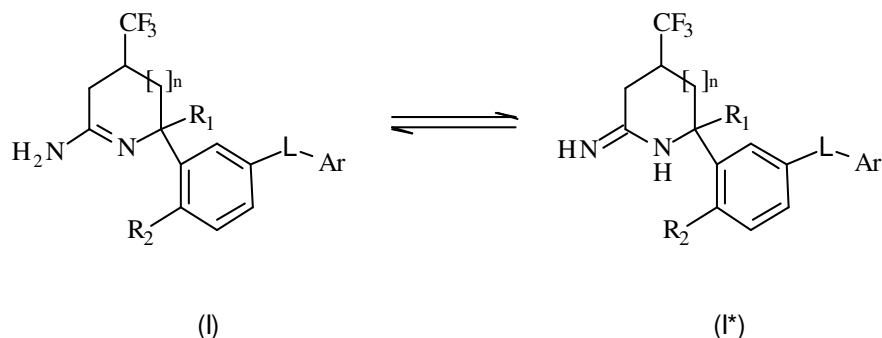
Los ácidos representativos que se pueden utilizar en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, sin carácter limitante, los siguientes: ácido acético, ácido 2,2-dicloroacético, aminoácidos acilados, ácido adípico, ácido alginico, ácido ascórbico, ácido L-aspartico, ácido benzenosulfónico, ácido benzoico, ácido 4-acetamidobenzoico, ácido (+)-canfórico, ácido canfosulfónico, ácido cáprico, ácido caproico, ácido caprílico, ácido cinámico, ácido cítrico, ácido ciclámico, ácido etano-1,2-disulfónico, ácido etanesulfónico, ácido 2-hidroxi-etanosulfónico, ácido fórmico, ácido fumárico, ácido galactárico, ácido gentísico, ácido glucoheptónico, ácido D-

glucónico, ácido D-glucorónico, ácido L-glutámico, ácido beta-oxo-glutámico, ácido glicólico, ácido hipúrico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido (+)-L-láctico, ácido (±)-DL-láctico, ácido lactobiónico, ácido maleico, ácido (-)-L-málico, ácido malónico, ácido (±)-DL-mandélico, ácido metanosulfónico, ácido naftaleno-2-sulfónico, ácido naftaleno-1,5-disulfónico, ácido 1-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido nítrico, ácido oleico, ácido orótico, ácido oxálico, ácido palmítico, ácido pamoico, ácido fosfórico, ácido L- piroglutámico, ácido salicílico, ácido 4-amino-salicílico, ácido sebácico, ácido esteárico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tánico, ácido (+)-L-tartárico, ácido tiocianico, ácido p-toluenosulfónico, ácido trifluorometilsulfónico y ácido undecilénico. Bases representativas que se pueden utilizar en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a las siguientes: amoniaco, L-arginina, benetamina, benzetina, hidróxido de calcio, colina, dimetiletanolamina, dietanolamina, dietilamina, 2-(dietilamino)-etanol, etanolamina, etilen-diamina, N-metil-glucamina, hidrabamina, 1H-imidazol, L-lisina, hidróxido de magnesio, 4-(2-hidroxietil)-morfolina, piperazina, hidróxido de potasio,

1-(2-hidroxietil)pirrolidina, amina secundaria, hidróxido de sodio, trietanolamina, trometamina e hidróxido de zinc.

Los nombres de los compuestos de la presente invención se generaron de acuerdo con las reglas de nomenclatura acordada por el Chemical Abstracts Service (CAS) utilizando el software Advanced Chemical Development, Inc. (ACD/Name product, versión 10.01; Build 15494, 1 de diciembre de 2006) o de acuerdo con las reglas de nomenclatura acordadas por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, por sus siglas en inglés) utilizando el software Advanced Chemical Development, Inc. (ACD/Name product, versión 10.01.0.14105, octubre de 2006). En el caso de formas tautoméricas, se generó el nombre de la forma tautomérica representada de la estructura. La otra forma tautomérica no representada también se incluye dentro del alcance de la presente invención.

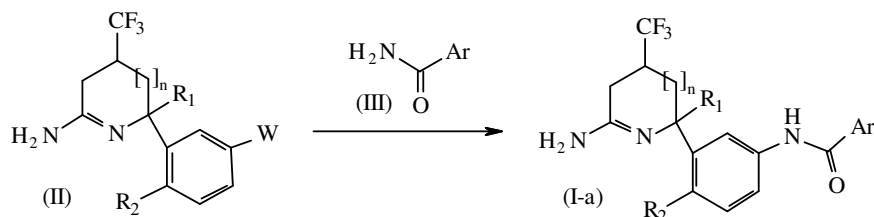
Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) pueden estar en equilibrio dinámico con su forma tautomérica (I*) y forman una mezcla inseparable. Se pretende que dichas formas tautoméricas, aunque no se indiquen explícitamente en la fórmula anterior, estén incluidas dentro del alcance de la presente invención.



25 PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS

Procedimiento experimental 1

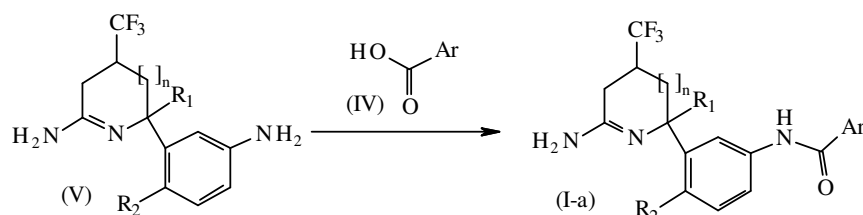
Los compuestos finales de acuerdo con la Fórmula (I-a) se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (II) con un compuesto de Fórmula (III) de acuerdo con el esquema de reacción (1), una reacción que se realiza en un disolvente inerte a la reacción adecuado tal como, por ejemplo, N,N-dimetilformamida, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, K₃PO₄, un catalizador de cobre tal como, por ejemplo, CuI y una diamina tal como, por ejemplo, (1R,2R)-(-)-1,2-diaminociclohexano, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 180 °C, por ejemplo durante 135 minutos bajo irradiación de microondas. En el esquema de reacción (1), todas las variables se definen como en la fórmula (I) y W es halo.



35 Esquema de reacción 1

Procedimiento experimental 2

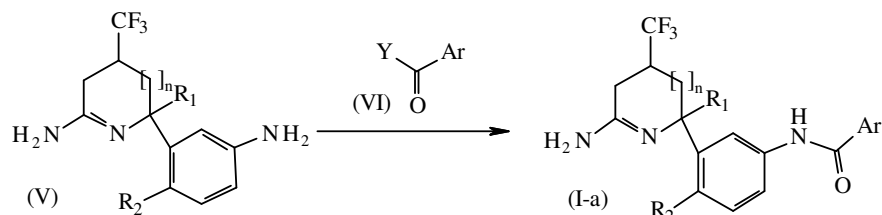
Adicionalmente, los compuestos finales de acuerdo con la Fórmula (I-a) se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (V) con un compuesto de Fórmula (IV) de acuerdo con el esquema de reacción (2), una reacción que se realiza en un disolvente inerte a la reacción adecuado tal como, por ejemplo, diclorometano, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, trietilamina, en presencia de un agente de condensación tal como, por ejemplo, CuI y una diamina tal como, por ejemplo, hexafluorofosfato de *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio [HATU, CAS 148893-10-1] o cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio [DMTMM, CAS 3945-69-5], bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 25 °C, por ejemplo durante 2 horas. En el esquema de reacción (2), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).



Esquema de reacción 2

Procedimiento experimental 3

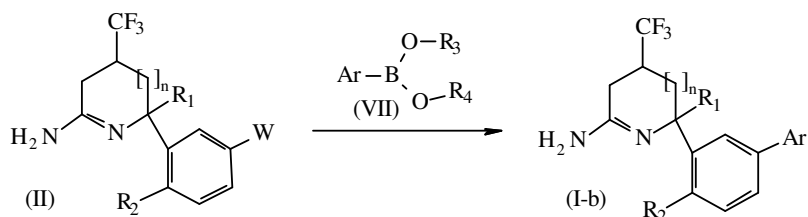
Adicionalmente, los compuestos finales de acuerdo con la Fórmula (I-a) se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (V) con un compuesto de Fórmula (VI) de acuerdo con el esquema de reacción (3), una reacción que se realiza en un disolvente inerte a la reacción adecuado, por ejemplo diclorometano, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, piridina, a temperatura ambiente durante 2 horas. En el esquema de reacción (3), todas las variables se definen como en la fórmula (I) e Y es halo.



Esquema de reacción 3

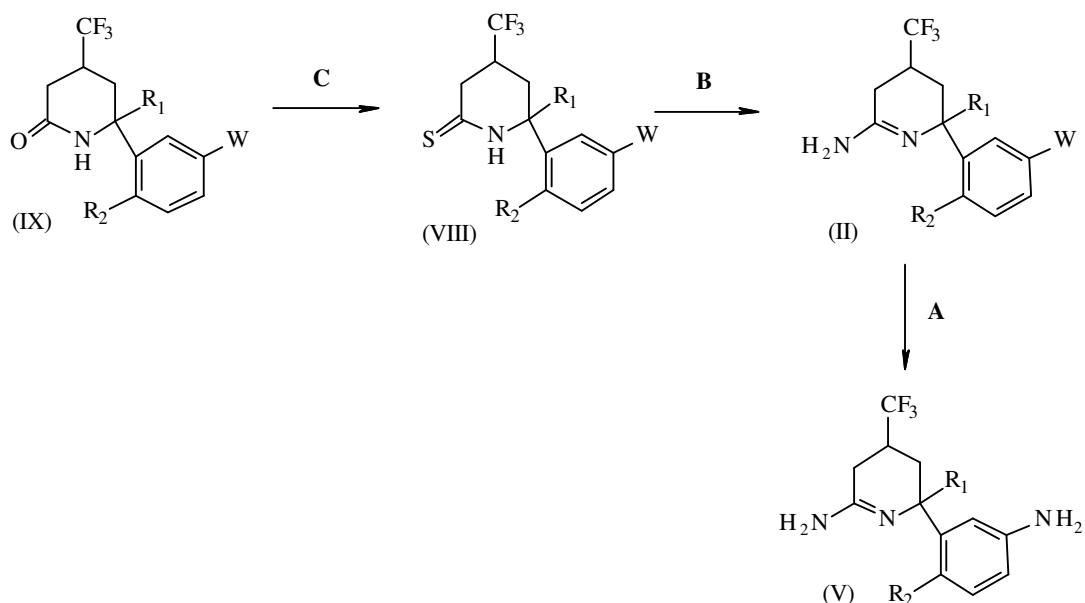
Procedimiento experimental 4

Los compuestos finales de acuerdo con la Fórmula (I-b) se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto intermedio de Fórmula (II) con un compuesto de Fórmula (VII) de acuerdo con el esquema de reacción (4), una reacción que se realiza en un disolvente inerte a la reacción adecuado tal como, por ejemplo, 1,4-dioxano, etanol o mezclas de disolventes inertes tales como, por ejemplo, 1,2-dimetoxietano/agua/etanol o 1,4-dioxano/agua, en presencia de una base adecuada tal como, por ejemplo, K₃PO₄ acuoso, NaHCO₃ o Cs₂CO₃, un catalizador de complejo de Pd tal como, por ejemplo, [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] dicloropaldio(II) [CAS 72287-26-4] o tetrakis(trifenilfosfina) paladio(0) o diacetato de trans-bisdiciclohexilamina)paladio [DAPCy, CAS 628339-96-8], bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 80 °C, hasta la compleción de la reacción, típicamente 2-20 horas o, por ejemplo calentamiento de la mezcla de reacción a 130 °C, por ejemplo durante 10 minutos bajo irradiación con microondas. En el esquema de reacción (4), todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y W es halo. R³ y R⁴ pueden ser hidrógeno o alquilo, o se pueden tomar juntos para formar, por ejemplo, un radical bivalente de fórmula -CH₂CH₂-, -CH₂CH₂CH₂- o -C(CH₃)₂C(CH₃)₂-.



Esquema de reacción 4Procedimiento experimental 5

Los compuestos intermedios de Fórmulas (V) y (II) se pueden preparar, generalmente, siguiendo las etapas de reacción mostradas en el esquema de reacción (5) que figura a continuación.



5

Esquema de reacción 5

A: Bromo-to-amineconversion

B: conversión de tioamida en amidina

C: conversión de amida en tioamida (tionación)

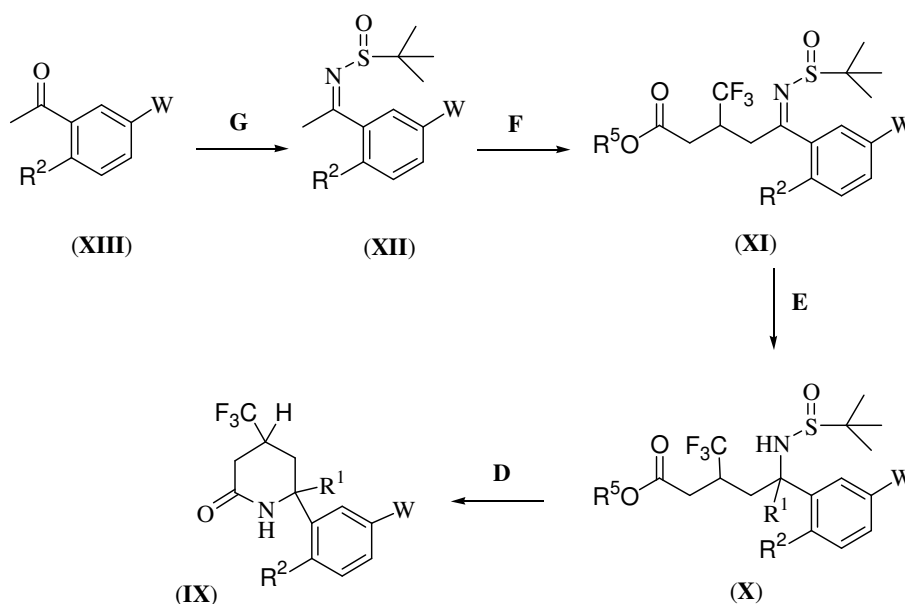
- 10 Compuestos intermedios de Fórmula (V) en el esquema de reacción (5) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (II), siguiendo un procedimiento de acoplamiento del tipo catalizado por cobre, conocido en la técnica (etapa A de la reacción). Dicho acoplamiento se puede realizar mediante tratamiento de dichos compuestos intermedios de Fórmula (II) con azida de sodio en un disolvente inerte a la reacción adecuado tal como, por ejemplo, DMSO, en presencia de una mezcla de bases adecuadas tales como, por ejemplo, dimetiletilendiamina y Na₂CO₃, y un catalizador de cobre tal como CuI, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 110 °C, hasta la compleción de la reacción, por ejemplo 1 hora.

- 20 Compuestos intermedios de Fórmula (II) en el esquema de reacción (5) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (VIII), siguiendo un procedimiento de conversión de tioamida en amidina conocido en la técnica (etapa B de la reacción). Dicha conversión se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (VIII) con una fuente de amoníaco tal como, por ejemplo, cloruro de amonio o amoníaco acuoso, en un disolvente inerte a la reacción adecuado tal como, por ejemplo, agua o metanol y similares, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 60 °C, por ejemplo durante 6 horas.

- 25 Compuestos intermedios de Fórmula (VIII) en el esquema de reacción (5) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (IX), siguiendo procedimientos de tionación conocidos en la técnica (etapa C de la reacción). Dicha conversión se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (IX) con un agente de tionación tal como, por ejemplo, pentasulfuro de fósforo o 2,4-disulfuro de 2,4-bis-(4-metoxifenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano [reactivo de Lawesson, CAS 19172-47-5], en un disolvente inerte a la reacción adecuado tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano o 1,4-dioxano y similares, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 50 °C, por ejemplo durante 50 minutos.

Procedimiento experimental 6

Los compuestos intermedios de Fórmula (IX) se pueden preparar, generalmente, siguiendo las etapas de reacción mostradas en el esquema de reacción (6) que figura a continuación.



Esquema de reacción 6

5 **D:** separación del grupo sulfinilo y lactamización intramolecular

E: adición de Grignard

F: adición de Michael

G: formación de sulfonilimino

10 El compuesto intermedio de Fórmula (IX) en el esquema de reacción (6) anterior se puede preparar a partir de compuestos intermedios de Fórmula (X), en donde R^5 es alquilo C_{1-4} , por separación del grupo sulfinilo, seguido de lactamización intramolecular (etapa D de la reacción). Dicha conversión se puede realizar mediante tratamiento del compuesto intermedio de Fórmula (X) con un ácido adecuado tal como, por ejemplo, ácido clorhídrico, en un disolvente inerte adecuado tal como, por ejemplo, 1,4-dioxano, a una temperatura adecuada, por ejemplo la temperatura ambiente, durante el tiempo requerido para conseguir la compleción de la reacción, por ejemplo 10 minutos. Después se realiza una ciclación intramolecular mediante la adición de una base acuosa tal como, por ejemplo, bicarbonato de sodio, a una temperatura adecuada, típicamente a la temperatura ambiente hasta la compleción de la reacción, por ejemplo 30 minutos.

20 El compuesto intermedio de Fórmula (X), en donde R^5 es alquilo C_{1-4} , en el esquema de reacción (6) anterior se puede preparar a partir de compuestos intermedios de Fórmula (XI), en donde R^5 es alquilo C_{1-4} por adición de Grignard (etapa E de la reacción). Dicha conversión se puede realizar mediante tratamiento de un compuesto intermedio de Fórmula (XI) con un reactivo de Grignard adecuado tal como, por ejemplo, bromuro de metilmagnesio, en presencia de un aditivo de ácido de Lewis tal como, por ejemplo, éterato de trifluoruro de boro, en un disolvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, THF. La mezcla de reacción se agita a temperatura adecuada, por ejemplo $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta la compleción de la reacción, por ejemplo 30 minutos.

25 El compuesto intermedio de Fórmula (XI), en donde R^5 es alquilo C_{1-4} en el esquema de reacción (6) anterior se puede preparar a partir de compuestos intermedios de Fórmula (XII) por adición de Michael (etapa F de la reacción). Dicha conversión se puede realizar mediante tratamiento de un compuesto intermedio de Fórmula (XII) con un aceptor de Michael apropiado tal como, por ejemplo, (2E)-4,4,4-trifluorobut-2-enoato de etilo, y una base adecuada tal como, por ejemplo, terc.-butóxido de potasio, en un disolvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, THF. La mezcla de reacción se agita a temperatura adecuada, por ejemplo $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta la compleción de la reacción, por ejemplo una hora.

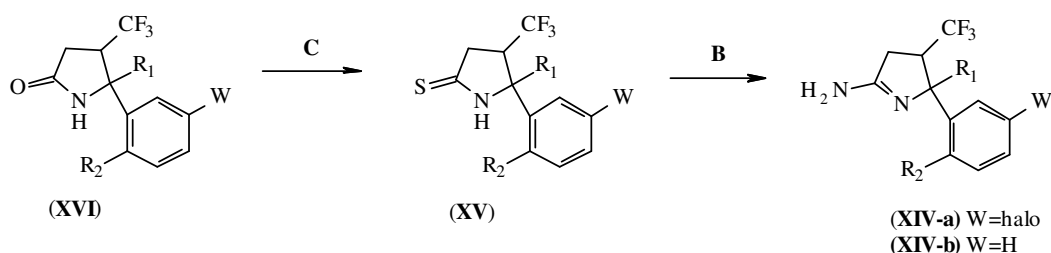
35 Compuestos intermedios de Fórmula (XII) en el esquema de reacción (6) anterior se pueden preparar mediante la reacción entre el compuesto intermedio de Fórmula (XIII) y terc.-butilsulfonamida (etapa G de la reacción) en un disolvente inerte a la reacción adecuado tal como, por ejemplo, heptano o THF, en presencia de un ácido de Lewis adecuado tal como, por ejemplo, tetraetóxido de titanio, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a $70\text{ }^{\circ}\text{C}$, por ejemplo durante un periodo de 16 horas.

En el esquema de reacción (6), todas las variables se definen como en la Fórmula (I), R^5 es alquilo C_{1-4} y W es halo.

Compuestos intermedios de Fórmula (XIII) están comercialmente disponibles o se pueden sintetizar por procedimientos de reacción conocidos en la técnica.

Procedimiento experimental 7

- 5 Los compuestos intermedios de Fórmula (XIV) se pueden preparar, generalmente, siguiendo las etapas de reacción mostradas en el esquema de reacción (7) que figura a continuación.



Esquema de reacción 7

B: conversión de tioamida en amidina

- 10 **C:** conversión de amida en tioamida (tionación)

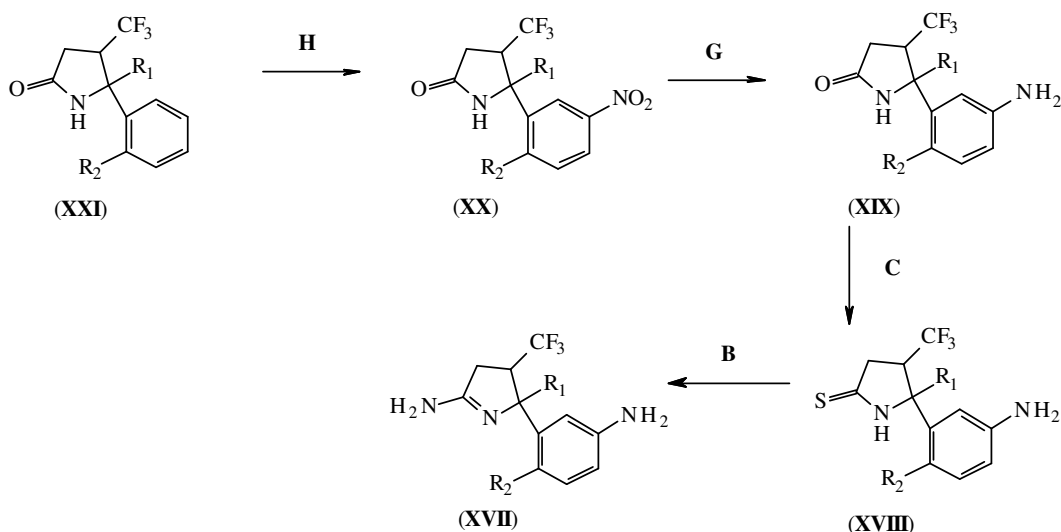
Compuestos intermedios de Fórmula (XIV-a o b) en el esquema de reacción (7) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XV), siguiendo un procedimiento de conversión de tioamida en amidina conocido en la técnica (etapa B de la reacción). Dicha conversión se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (XV) con una fuente de amoniaco tal como, por ejemplo, agua o metanol y similares, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 60 °C, por ejemplo durante 6 horas, o calentamiento de la mezcla de reacción bajo irradiación de microondas a 120 °C durante 1 hora.

- 20 Compuestos intermedios de Fórmula (XV) en el esquema de reacción (7) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XVI), siguiendo procedimientos de tionación conocidos en la técnica (etapa C de la reacción). Dicha conversión se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (XVI) con un agente de tionación tal como, por ejemplo, pentasulfuro de fósforo o 2,4-disulfuro de 2,4-bis-(4-metoxifenil)-1,3-ditio-2,4-difosfetano [reactivo de Lawesson, CAS 19172-47-5], en un disolvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano o 1,4-dioxano y similares, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 50 °C, por ejemplo durante 2 horas.

En el esquema de reacción (7), todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y W es halo o hidrógeno.

Procedimiento experimental 8

Los compuestos intermedios de Fórmula (XVII) se pueden preparar, generalmente, siguiendo las etapas de reacción mostradas en el esquema de reacción (8) que figura a continuación.



Esquema de reacción 8

B: conversión de tioamida en amidina

C: conversión de amida en tioamida (tionación)

5 **G:** reducción de nitro a amino

H: nitración

10 Compuestos intermedios de Fórmula (XVII) en el esquema de reacción (8) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XVIII), siguiendo un procedimiento de conversión de tioamida en amidina conocido en la técnica (etapa B de la reacción). Dicha conversión se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (XVIII) con una fuente de amoníaco tal como, por ejemplo, cloruro de amonio o amoníaco acuoso, en un disolvente inerte a la reacción adecuado tal como, por ejemplo, agua o metanol y similares, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 60 °C, por ejemplo durante 6 horas, o calentamiento de la mezcla de reacción bajo irradiación de microondas a 120 °C durante 1 hora.

15 Compuestos intermedios de Fórmula (XVIII) en el esquema de reacción (8) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XIX), siguiendo procedimientos de tionación conocidos en la técnica (etapa C de la reacción). Dicha conversión se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (XIX) con un agente de tionación tal como, por ejemplo, pentasulfuro de fósforo o 2,4-disulfuro de 2,4-bis-(4-metoxifenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano [reactivo de Lawesson, CAS 19172-47-5], en un disolvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano o 1,4-dioxano y similares, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 50 °C, por ejemplo durante 2 horas.

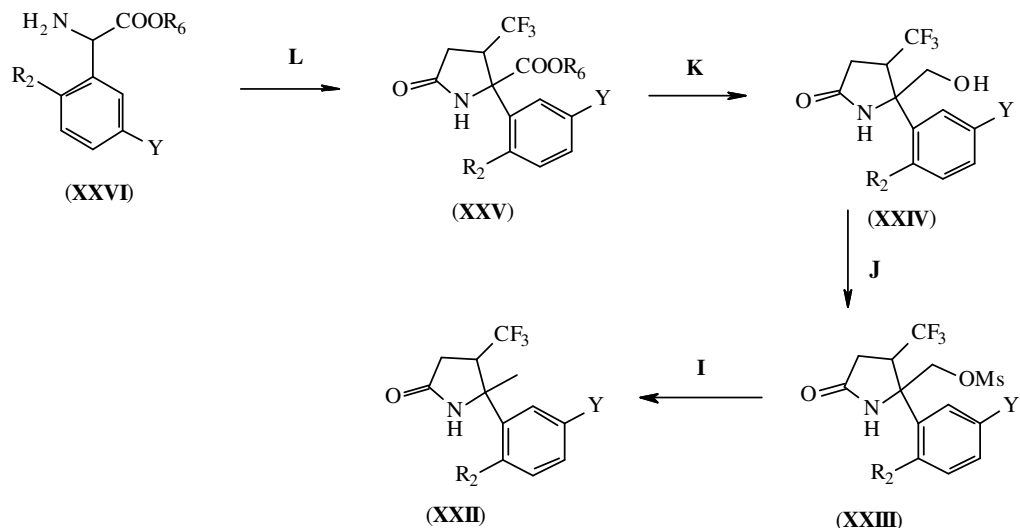
20 Compuestos intermedios de Fórmula (XIX) se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XX) siguiendo procedimientos de reducción de nitro a amino conocidos en la técnica (etapa G de la reacción) de acuerdo con el esquema de reacción (8). Dicha reducción se puede llevar a cabo convenientemente mediante procedimientos de hidrogenación catalítica conocidos en la técnica. Por ejemplo, dicha reducción se puede llevar a cabo agitando los compuestos intermedios de Fórmula (XX) bajo una atmósfera de hidrógeno y en presencia de un catalizador apropiado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón vegetal, platino sobre carbón vegetal, níquel Raney y catalizadores similares. Los disolventes adecuados son, por ejemplo, agua, alcoholes, p. ej., metanol, etanol y similares, ésteres, p. ej., acetato de etilo y similares. Para incrementar la velocidad de dicha reacción de reducción puede ser conveniente elevar la temperatura y/o la presión de la mezcla de reacción.

25 Compuestos intermedios de Fórmula (XX) se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XXI) siguiendo procedimientos de nitración conocidos en la técnica (etapa H de la reacción) de acuerdo con el esquema de reacción (8). Dicha nitración se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XXI) con un agente nitrante tal como, por ejemplo, ácido nítrico en presencia de un agente de protonación adecuado tal como, por ejemplo, ácido sulfúrico a temperatura moderada tal como, por ejemplo, 25 °C, por ejemplo durante 2 horas.

En el esquema de reacción (8), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).

Procedimiento experimental 9

Los compuestos intermedios de Fórmula (XXII) se pueden preparar, generalmente, siguiendo las etapas de reacción mostradas en el esquema de reacción (9) que figura a continuación.

5 Esquema de reacción 9

I: mesylate-to-methyl conversion

J: conversión de alcohol a mesilato

K: reducción de éster a alcohol

L: adición de Michael y lactamización intramolecular

- 10 Compuestos intermedios de Fórmula (XXII) en el esquema de reacción (9) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XXIII), siguiendo procedimientos de conversión de mesilato a metilo conocidos en la técnica (etapa I de la reacción). Dicha conversión se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (XXIII) con un agente reductor tal como, por ejemplo, borohidruro de sodio o hidruro de litio y aluminio, en un disolvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, dimetilformamida o tetrahidrofurano y similares, bajo condiciones térmicas tales como, por ejemplo, calentamiento de la mezcla de reacción a 70 °C, por ejemplo durante 4 horas.

- 20 Compuestos intermedios de Fórmula (XXIII) en el esquema de reacción (9) anterior se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XXIV), siguiendo procedimientos de conversión de alcohol a mesilato conocidos en la técnica (etapa J de la reacción). Dicha conversión se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (XXIV) con un reactivo adecuado tal como, por ejemplo, cloruro de metanosulfonilo, en un disolvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, diclorometano, en presencia de una base adecuada tal como trietilamina, a una temperatura moderada tal como, por ejemplo, 0 °C, durante 2 horas.

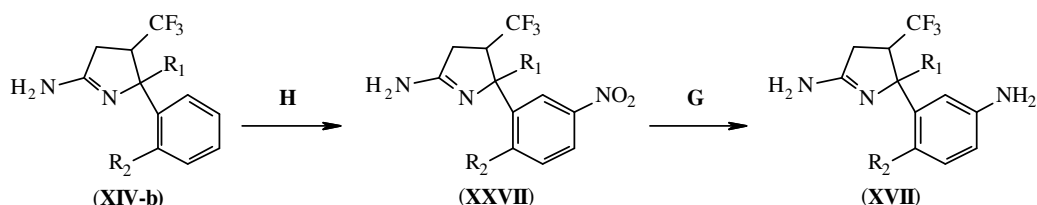
- 25 Compuestos intermedios de Fórmula (XXIV) se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XXV) siguiendo procedimientos de reducción de éster a alcohol conocidos en la técnica (etapa K de la reacción) de acuerdo con el esquema de reacción (9). Dicha reducción se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de compuestos intermedios de Fórmula (XXV) con un agente reductor adecuado tal como, por ejemplo, borohidruro de sodio, en un disolvente adecuado tal como, por ejemplo, tetrahidrofurano y similares, o mezclas de disolventes tales como, por ejemplo, tetrahidrofurano y agua. La reacción se puede llevar a cabo a una temperatura moderada tal como, por ejemplo, 0 °C, durante 2 horas.

- 30 El compuesto intermedio de Fórmula (XXV) en el esquema de reacción (9) anterior se puede preparar a partir de compuestos intermedios de Fórmula (XXVI) por adición de Michael, seguido de lactamización intramolecular (etapa L de la reacción). Dicha conversión se puede realizar mediante tratamiento de un compuesto intermedio de Fórmula (XXVI) con un aceptor de Michael apropiado tal como, por ejemplo, (2E)-4,4,4-trifluorobut-2-enoato de etilo, y una base adecuada tal como, por ejemplo, hidruro de sodio, en un disolvente inerte a la reacción tal como, por ejemplo, THF. La mezcla de reacción se agita a temperatura adecuada, por ejemplo 0 °C, hasta la compleción de la reacción, por ejemplo 6 horas.

En el esquema de reacción (9), todas las variables se definen como en la Fórmula (I) y Y es halo o hidrógeno, y R₆ es metilo o etilo.

Procedimiento experimental 10

- 5 Alternativamente, los compuestos intermedios de Fórmula (XVII) se pueden preparar siguiendo las etapas de reacción mostradas en el esquema de reacción (10) que figura a continuación.



Esquema de reacción 10

G: reducción de nitro a amino

H: nitración

- 10 Compuestos intermedios de Fórmula (XVII) se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XXVII) siguiendo procedimientos de reducción de nitro a amino conocidos en la técnica (etapa G de la reacción) de acuerdo con el esquema de reacción (10). Dicha reducción se puede llevar a cabo convenientemente mediante procedimientos de hidrogenación catalítica conocidos en la técnica. Por ejemplo, dicha
- 15 reducción se puede llevar a cabo agitando los compuestos intermedios de Fórmula (XXVII) bajo una atmósfera de hidrógeno y en presencia de un catalizador apropiado tal como, por ejemplo, paladio sobre carbón vegetal, platino sobre carbón vegetal, níquel Raney y catalizadores similares. Los disolventes adecuados son, por ejemplo, agua, alcanos, p. ej., metanol, etanol y similares, ésteres, p. ej., acetato de etilo y similares. Para incrementar la velocidad de dicha reacción de reducción puede ser conveniente elevar la temperatura y/o la presión de la mezcla de reacción.
- 20 Compuestos intermedios de Fórmula (XXVII) se pueden preparar a partir de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XIV-b) siguiendo procedimientos de nitración conocidos en la técnica (etapa H de la reacción) de acuerdo con el esquema de reacción (10). Dicha nitración se puede realizar convenientemente mediante tratamiento de los correspondientes compuestos intermedios de Fórmula (XIV-b) con un agente nitrante tal como, por ejemplo, ácido nítrico en presencia de un agente de protonación adecuado tal como, por ejemplo, ácido
- 25 sulfúrico a temperatura moderada tal como, por ejemplo, 0 °C, por ejemplo durante 30 minutos.

En el esquema de reacción (10), todas las variables se definen como en la Fórmula (I).

FARMACOLOGÍA

- Los compuestos de la presente invención y las composiciones farmacéuticamente aceptables de los mismos inhiben
- 30 BCE y, por lo tanto, pueden ser útiles en el tratamiento o la prevención de la Enfermedad de Alzheimer (EA), defecto cognitivo leve (MCI), senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia multi-infarto, síndrome de Down, demencia asociada con la enfermedad de Parkinson, demencia del tipo Alzheimer, demencia vascular, demencia debida a enfermedad del VIH, demencia debida a traumatismo craneal, enfermedad
- 35 de Down, demencia asociada con la enfermedad de Parkinson, demencia del tipo Alzheimer, demencia asociada con beta-amiloide y degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos.

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

- La invención también se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula general (I), una forma estereoisómerica
- 40 del mismo o una sal por adición de ácidos o bases farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento o la prevención de enfermedades o afecciones seleccionadas del grupo que consiste en EA, MCI, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, angiopatía amiloide cerebral, demencia multi-infarto, síndrome de Down, demencia asociada con la enfermedad de Parkinson, demencia del tipo Alzheimer, demencia asociada con beta-amiloide y degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos.

- 45 La invención también se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula general (I), una forma estereoisómerica del mismo o una sal por adición de ácidos o bases farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento, la prevención, la mejora, el control o la reducción del riesgo de enfermedades o afecciones seleccionadas del grupo que consiste en EA, MCI, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, angiopatía

amiloide cerebral, demencia multi-infarto, síndrome de Down, demencia asociada con la enfermedad de Parkinson, demencia del tipo Alzheimer, demencia asociada con beta-amiloide y degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos.

5 Dicho uso comprende la administración, es decir, administración sistémica o tópica, preferentemente administración oral, de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), de una forma estereoisomérica del mismo, de una sal de adición o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, a un sujeto, tal como un animal de sangre caliente, incluyendo un ser humano.

10 Los compuestos de la presente invención que pueden ser adecuados para tratar o prevenir la enfermedad de Alzheimer o los síntomas de esta, se pueden administrar solos o combinados con uno o más agentes terapéuticos adicionales. La terapia combinada incluye la administración de una única formulación farmacéutica que contenga un compuesto de fórmula (I) y uno o más agentes terapéuticos adicionales, así como también la administración del compuesto de fórmula (I) y cada agente terapéutico adicional en su propia formulación farmacéutica independiente. Por ejemplo, un compuesto de Fórmula (I) y un agente terapéutico se pueden administrar al paciente juntos en una única composición posológica oral, tal como un comprimido o una cápsula, o cada agente se puede administrar en formulaciones farmacéuticas orales independientes.

15 Un experto en la técnica estará familiarizado con nomenclaturas, nosologías y sistemas de clasificación alternativos para las enfermedades o afecciones a las que se hace referencia en esta memoria. Por ejemplo, la 5ª edición de Diagnostic & Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-5™) de la Asociación Psiquiátrica Americana utiliza términos y expresiones tales como trastornos neurocognitivos (NCDs) (tanto principales como leves), en particular trastornos neurocognitivos debidos a la enfermedad de Alzheimer, debidos a la lesión traumática del cerebro (TBI), debidos a la enfermedad de los cuerpos de Lewy, debidos a la enfermedad de Parkinson o a NCF¿D vascular (tal como NCD vascular presente con múltiples infartos). Dichos términos pueden usarse como una nomenclatura alternativa para algunas de las enfermedades o trastornos citados en el presente documento por el experto en la materia.

25 COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS

La presente invención proporciona también composiciones para prevenir o tratar enfermedades en las que es beneficiosa la inhibición de beta-secretasa tales como la enfermedad de Alzheimer (EA), defecto cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada a apoplejía, demencia asociada con la enfermedad de Parkinson y demencia asociada con beta-amiloide y degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 y otros trastornos metabólicos. Dichas composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la fórmula (I) y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptables.

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

40 Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden preparar mediante cualesquiera métodos conocidos en el campo de la farmacia. Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto particular, en forma de base o en forma de sal de adición, como principio activo se combina en mezcla íntima con un portador farmacéuticamente aceptable, que puede tomar una gran variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para su administración. Estas composiciones farmacéuticas se encuentran convenientemente en formas farmacéuticas unitarias adecuadas, preferentemente, para la administración sistémica tal como la administración oral, percutánea o parenteral; o la administración tópica tal como por inhalación, un spray nasal, colirio o mediante una crema, gel, champú o similar. Por ejemplo, puede emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, tal como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones orales líquidas, tales como suspensiones, jarabes, elixires y soluciones; o portadores sólidos, tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su fácil administración, los comprimidos y las cápsulas representan la forma farmacéutica unitaria oral más conveniente, en cuyo caso se emplean obviamente portadores farmacéuticos sólidos. Para las composiciones parenterales, el portador normalmente comprenderá agua esterilizada, al menos en gran parte, aunque puede incluir otros ingredientes, por ejemplo, para incrementar la solubilidad. Se pueden preparar soluciones inyectables, por ejemplo, en las que el portador comprenda solución salina, solución de glucosa o una mezcla de solución salina y de glucosa. También se pueden preparar suspensiones inyectables, en cuyo caso se pueden emplear portadores líquidos, agentes de suspensión y similares que sean adecuados. En las composiciones adecuadas para la administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinados con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones minoritarias, donde los aditivos no provocan ningún efecto perjudicial significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones se

pueden administrar de varias formas, p. ej., como un parche transdérmico, como una unción dorsal puntual o como una pomada.

Es especialmente conveniente formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en formas farmacéuticas unitarias debido a su fácil administración y a la uniformidad de la dosificación. La expresión "forma farmacéutica unitaria", tal como se utiliza en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones en la presente, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias, donde cada unidad contiene una cantidad predeterminada de principio activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, asociada con el portador farmacéutico requerido. Los ejemplos de tales formas farmacéuticas unitarias son comprimidos (incluidos los comprimidos recubiertos y ranurados), cápsulas, pastillas, sobres de polvos, obleas, soluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares, y múltiples segregados de estos.

La dosificación exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto particular de fórmula (I) utilizado, de la afección particular que esté siendo tratada, de la gravedad de la afección que esté siendo tratada, de la edad, peso, sexo, grado del trastorno y condición física general del paciente particular, así como de otra medicación que pueda estar tomando el individuo, como es bien conocidos por los expertos en la técnica. Además de ello, es evidente que dicha cantidad diaria eficaz se puede reducir o incrementar dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la presente invención.

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

Los presentes compuestos se pueden utilizar para la administración sistémica tal como la administración oral, percutánea o parenteral; o la administración tópica tal como por inhalación, un spray nasal, colirio o mediante una crema, gel, champú o similar. Los compuestos se administran preferentemente por vía oral. La dosis exacta y la frecuencia de administración dependen del compuesto particular de acuerdo con la fórmula (I) utilizado, la afección particular que se esté tratando, la gravedad de la afección que se esté tratando, la edad, el peso, el sexo, el alcance del trastorno y el estado físico general del paciente particular, así como también de otra medicación que el individuo pueda estar tomando, como bien sabrán los expertos en la técnica. Además de ello, es evidente que dicha cantidad diaria eficaz se puede reducir o incrementar dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la presente invención.

La cantidad de un compuesto de Fórmula (I) que se puede combinar con un material portador para producir una única forma farmacéutica variará dependiendo de la enfermedad tratada, la especie de mamífero y el modo particular de administración. Sin embargo, como orientación, las dosis unitarias adecuadas para los compuestos de la presente invención pueden contener, por ejemplo, entre 0.1 mg a aproximadamente 1000 mg del compuesto activo. Una dosis unitaria preferida es aquella comprendida entre 1 mg y aproximadamente 500 mg. Una dosis unitaria más preferida es aquella comprendida entre 1 mg y aproximadamente 300 mg. Una dosis unitaria aún más preferida es aquella comprendida entre 1 mg y aproximadamente 100 mg. Tales dosis unitarias se pueden administrar más de una vez al día, por ejemplo, 2, 3, 4, 5 o 6 veces al día, pero preferentemente 1 o 2 veces al día, de forma que la dosis total para un adulto de 70 kg está comprendida en el rango de 0.001 a aproximadamente 15 mg por kg de peso del sujeto por administración. Una dosis preferida es de 0.01 a aproximadamente 1.5 mg por kg de peso del sujeto por administración y dicha terapia puede extenderse a lo largo de una serie de semanas o meses y en algunos casos, años. Sin embargo, se sobreentenderá que el nivel posológico específico para cualquier paciente particular dependerá de varios factores, que incluyen la actividad del compuesto específico empleado; la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y la dieta del individuo que esté siendo tratado; el tiempo y la vía de administración; la tasa de excreción; otros fármacos que hayan sido administrados previamente; y la gravedad de la enfermedad particular que se esté tratando, como bien sabrán los expertos en la técnica.

Una dosis típica puede ser un comprimido de 1 mg a aproximadamente 100 mg, o de 1 mg a aproximadamente 300 mg tomado una vez al día o varias veces al día, o una cápsula o un comprimido de liberación lenta tomado una vez al día y que contenga un contenido proporcionalmente superior de principio activo. Puede obtenerse el efecto de liberación prolongada mediante materiales encapsulantes que se disuelven a diferentes valores de pH, mediante cápsulas que se liberan lentamente mediante presión osmótica o mediante cualquier otro medio conocido de liberación controlada.

Puede ser necesario emplear dosis que no estén comprendidas en estos rangos en algunos casos como será evidente para los expertos en la técnica. Además, cabe destacar que el profesional sanitario o médico responsable del tratamiento sabrá cómo y cuándo comenzar, interrumpir, ajustar o finalizar la terapia teniendo en cuenta la respuesta del paciente individual.

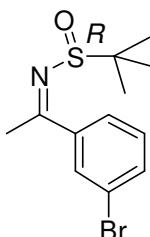
Un experto en la técnica comprenderá que los compuestos preferidos para utilizar en cada una de las composiciones, métodos y kits proporcionados anteriormente son aquellos compuestos que se indican como preferidos anteriormente. Otros compuestos preferidos adicionales para las composiciones, métodos y kits son aquellos compuestos que se proporcionan en los siguientes Ejemplos no limitantes.

PARTE EXPERIMENTAL

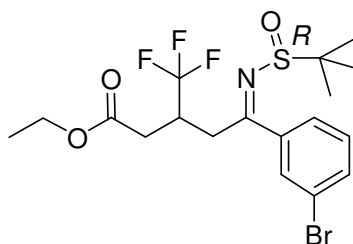
En lo que sigue, el término "p.f." significa punto de fusión, "min" significa minutos, "ac." significa acuoso, "m.r." significa mezcla de reacción, "t.a." significa temperatura ambiente, "THF" significa tetrahidrofurano, "DMF" significa dimetilformamida, "DCM" significa diclorometano, "EtOAc" significa acetato de etilo, "MeCN" significa acetonitrilo, "MeOH" significa metanol, "rac" significa racémico, "sat." significa saturado, "SFC" significa cromatografía de fluidos supercríticos, "SFC-MS" significa cromatografía de fluidos supercríticos/espectrometría de masas, "LC-MS" significa cromatografía líquida/espectrometría de masas, "GCMS" significa cromatografía de gases/espectrometría de masas, "HPLC" significa cromatografía líquida de alto rendimiento, "RP" significa fase inversa, "UPLC" significa cromatografía líquida de ultra-rendimiento, "R_t" significa tiempo de retención (en minuto), "[M+H]⁺" significa la masa protonada de la base libre del compuesto, "DMTM" significa cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio, "Et₂O" significa dietil-éter, "DMSO" significa dimetilsulfóxido, "RMN" significa resonancia magnética nuclear, "LDA" significa diisopropilamida de litio, "NH₄Cl" significa cloruro de amonio, "MgSO₄" significa sulfato de magnesio, "NaHCO₃" significa bicarbonato de amonio, "HCl" significa ácido clorhídrico, "P₂S₅" significa pentasulfuro de fósforo, "Na₂SO₄" significa sulfato de sodio, "CO₂" significa dióxido de carbono, "iPrNH₂" significa isopropilamina, "NH₄HCO₃" significa hidrógeno-carbonato de amonio, "iPrOH" significa isopropanol, "EtOH" significa etanol y "p" significa peso.

Para compuestos intermedios claves, así como algunos compuestos finales, la configuración absoluta de los centros quirales (indicada como *R* y/o *S*) se establecieron a través de la comparación con muestras de configuración conocida, o el uso de técnicas analíticas adecuadas para la determinación de la configuración absoluta tales como VCD (dicroísmo circular vibracional) o cristalografía de rayos X.

A. Preparación de los compuestos intermedios

Ejemplo A1Preparación del compuesto intermedio 1.

Isopropóxido de titanio(IV) 65 g, 286 mmol) se añadió a una mezcla agitada de 3-bromoacetofenona [(CAS 2142-63-4), 30 g, 150 mmol] y (*R*)-2-metil-2-propanosulfinamida (21.9 g, 181 mmol) en THF (600 mL). La mezcla se agitó a 80 °C durante 16 horas. La mezcla se enfrió a t.a. y se añadió agua. La mezcla resultante se filtró sobre una almohadilla de tierra de diatomeas. El filtrado se extrajo con EtOAc (3 veces). Las capas orgánicas reunidas se secaron (MgSO₄), filtraron y concentraron *in vacuo*. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución instantánea (gel de sílice; eluyente: heptano/EtOAc 100/0 a 75/25). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 1** (38 g, rendimiento de 79%) en forma de un aceite amarillo.

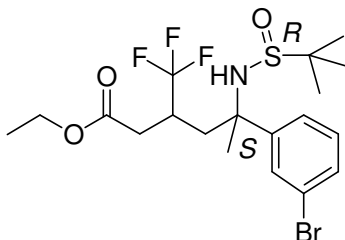
Ejemplo A2Preparación del compuesto intermedio 2.

Compuesto intermedio 1 (20.6 g, 68 mmol) y (2*E*)-4,4,4-trifluorobut-2-enoato de etilo (10.2 mL, 68 mmol) se disolvieron en THF (950 mL) y se enfriaron a -30 °C bajo nitrógeno. Se añadió terc.-butóxido de potasio (15.3 g, 136 mmol) al tiempo que la temperatura se mantenía a -30 °C. Después de una hora, la reacción se enfrió bruscamente utilizando disolución sat. de NH₄Cl ac. (110 mL) y la mezcla se dejó calentar hasta t.a. La mezcla se extrajo con DCM (3 veces) y se lavó con salmuera (2 veces). Las capas orgánicas reunidas se secaron (MgSO₄), filtraron y los disolventes se evaporaron *in vacuo*. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución instantánea (gel de

sílice; eluyente: heptano/EtOAc 100/0 a 80/20). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 2** (15.77 g, rendimiento de 46%).

Ejemplo A3

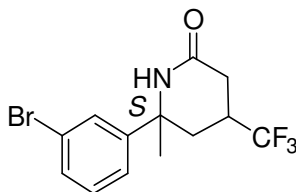
Preparación del compuesto intermedio 3.



- 5 Eterato de trifluoruro de boro (17.6 mL, 67 mmol) se añadió gota a gota a una disolución agitada de **compuesto intermedio 2** (15.8 g, 33.5 mmol) en THF (327 mL) a -78 °C bajo nitrógeno. Después de 5 min, se añadió bromuro de metilmagnesio (1.4 M, 120 mL, 167.6 mmol) y la mezcla se agitó aq -78 °C durante 30 min. La reacción se enfrió bruscamente con disolución sat. de NaHCO₃ ac. (120 mL) y la mezcla se extrajo con DCM (3 veces). Las capas orgánicas reunidas se secaron (MgSO₄), filtraron y los disolventes se evaporaron *in vacuo*. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución instantánea (gel de sílice; eluyente: heptano/EtOAc 90/10 a 60/40). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 3** (8.23 g, rendimiento de 50%).

Ejemplo A4

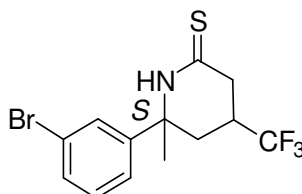
Preparación del compuesto intermedio 4.



- 15 HCl (disolución 4M en dioxano, 32 mL, 128 mmol) se añadió lentamente a **compuesto intermedio 3** (8.23 g, 14.2 mmol) y la mezcla se agitó a t.a. Durante 10 min. La m.r. se concentró *in vacuo* y el residuo se disolvió en DCM (100 mL). Se añadió disolución sat. de NaHCO₃ ac. hasta pH 8 y la m.r. se agitó durante 30 min. La mezcla se extrajo con DCM (3 veces) y las capas orgánicas reunidas se secaron (MgSO₄), filtraron y los disolventes se evaporaron *in vacuo*. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución instantánea (gel de sílice; eluyente: heptano/EtOAc 100/0 a 45/55). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 4** (5.26 g, rendimiento de 93%) en forma de una mezcla de diastereoisómeros.

Ejemplo A5

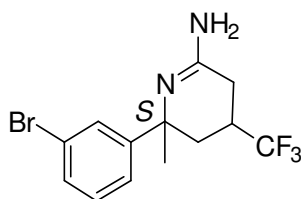
Preparación del compuesto intermedio 5.



- 25 P₂S₅ (2.92 g, 13.14 mmol) se añadió a una disolución de **compuesto intermedio 4** (5.26 g, 13.14 mmol) en THF (50 mL) a t.a. La mezcla se agitó a 60 °C durante 45 min, después se enfrió a t.a., se separó por filtración y el disolvente orgánico se evaporó *in vacuo*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de resolución instantánea (gel de sílice; eluyente: DCM). Las fracciones deseadas se recogieron y evaporaron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 5** (3.94 g, rendimiento de 85%) en forma de una mezcla de diastereoisómeros (3:1).

Ejemplo A6

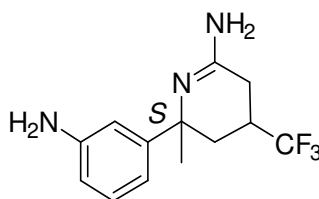
Preparación del compuesto intermedio 6.



Compuesto intermedio 5 (1.67 g, 4.74 mmol) se disolvió en amoníaco 7N en MeOH (153 mL) y la m.r. se agitó a 90 °C durante 16 horas. El disolvente se evaporó después y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: DCM/disolución 7M de amoníaco en MeOH 100/0 a 90/10). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 6** (1.46 g, rendimiento de 92%, mezcla de diastereoisómeros) en forma de un aceite parduzco.

Ejemplo A7

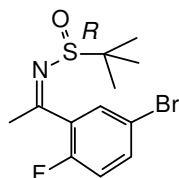
Preparación del compuesto intermedio 7.



Compuesto intermedio 6 (1 g, 2.98 mmol) se combinó con azida de sodio (0.485 g, 7.46 mmol), yoduro de cobre (0.71 g, 5.22 mmol) y carbonato de sodio (0.632 g, 5.97 mmol) en DMSO (43 mL) y la reacción se desgasificó. Después de ello, se añadió *N,N'*-dimetiletilen-diamina (0.56 mL, 5.22 mmol) y la mezcla se calentó a 110 °C hasta la compleción de la reacción. La m.r. se enfrió y se añadió DCM. La capa orgánica se lavó con disolución de amoníaco ac. La fase orgánica se separó, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró *in vacuo*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: DCM/disolución 7M de amoníaco en MeOH 100/0 a 80/20). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 7** (0.271 g, rendimiento de 31%, mezcla de diastereoisómeros).

Ejemplo A8

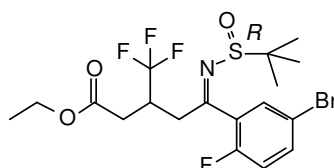
Preparación del compuesto intermedio 8.



Isopropóxido de titanio(IV) 126 g, 552.99 mmol) se añadió a una mezcla agitada de 5-bromo-2-fluoroacetofenona [(CAS 198477-89-3), 120 g, 552.99 mmol] y (*R*)-2-metil-2-propanosulfonamida (67 g, 552.99 mmol) en THF (600 mL). La mezcla se agitó a 80 °C durante 16 horas. La mezcla se enfrió a t.a. y se añadió agua. La mezcla resultante se filtró sobre una almohadilla de tierra de diatomeas. El filtrado se extrajo con EtOAc (3 veces). Las capas orgánicas reunidas se secaron (MgSO₄), filtraron y concentraron *in vacuo*. El residuo se purificó mediante cromatografía de resolución instantánea (gel de sílice; eluyente: éter de petróleo/EtOAc 51/0 a 50/1). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 8** (100 g, rendimiento de 57%).

Ejemplo A9

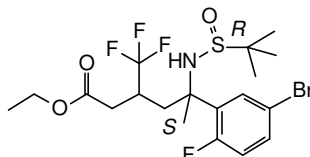
Preparación del compuesto intermedio 9.



- 5 **Compuesto intermedio 8** (100 g, 312.5 mmol) y (2E)-4,4,4-trifluorobut-2-enoato de etilo (53 g, 312.5 mmol) se disolvieron en THF (500 mL) y se enfriaron a -78 °C bajo nitrógeno. Se añadió disolución de LDA (625 mL, 312.5 mmol) al tiempo que la temperatura se mantenía a -78 °C. Después de la conversión completa, la reacción se enfrió bruscamente utilizando disolución sat. de NH₄Cl ac. (300 mL) y la mezcla se dejó calentar hasta t.a. La mezcla se extrajo con DCM (3 veces) y se lavó con salmuera (2 veces). Las capas orgánicas reunidas se secaron (MgSO₄), filtraron y los disolventes se evaporaron *in vacuo* para proporcionar **compuesto intermedio 9** (100 g, rendimiento de 81%), que se utilizó como tal en la siguiente reacción.

Ejemplo A10

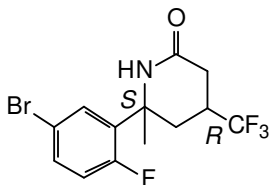
Preparación del compuesto intermedio 10.



- 10 **Compuesto intermedio 10** se preparó siguiendo un procedimiento de síntesis similar al reseñado para la síntesis del compuesto intermedio 3. Partiendo de **compuesto intermedio 9** (120 g, 245.9 mmol) se obtuvo **compuesto intermedio 10** y se utilizó como tal en la siguiente etapa (100 g, rendimiento del 80%).

Ejemplo A11

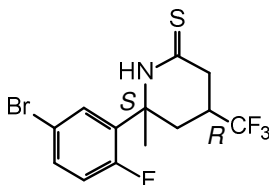
Preparación del compuesto intermedio 11.



- 15 **Compuesto intermedio 11** se preparó siguiendo un procedimiento de síntesis similar al reseñado para la síntesis del compuesto intermedio 4. Partiendo de **compuesto intermedio 10** (100 g, 198.4 mmol) se obtuvo **compuesto intermedio 11** (8.1 g, rendimiento del 12%).

Ejemplo A12

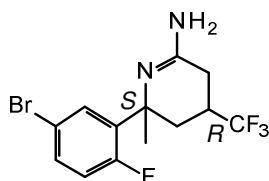
Preparación del compuesto intermedio 12.



- 20 **Compuesto intermedio 12** se preparó siguiendo un procedimiento de síntesis similar al reseñado para la síntesis del compuesto intermedio 5. Partiendo de **compuesto intermedio 11** (8 g, 18.98 mmol) se obtuvo **compuesto intermedio 12** en forma de un polvo blanco (5.53 g, rendimiento del 79%).

Ejemplo A13

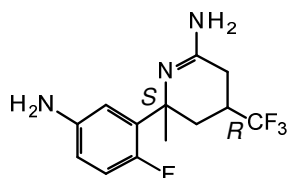
Preparación del compuesto intermedio 13.



Compuesto intermedio 12 (5.53 g, 14.94 mmol) se disolvió en amoníaco 7N en MeOH (482 mL) y la m.r. Se agitó a 90 °C durante 16 horas, después se evaporó el disolvente y el producto bruto se re-disolvió en amoníaco 7N en MeOH (482 mL) y la m.r. se agitó a 90 °C durante otras 24 horas hasta la conversión completa. El disolvente se evaporó y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: DCM/amoníaco 7M en MeOH 100/0 a 90/10). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 13** (5.073 g, rendimiento de 96%) en forma de un aceite parduzco.

Ejemplo A14

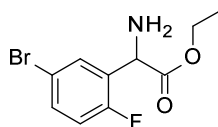
Preparación del **compuesto intermedio 14**.



Compuesto intermedio 14 se preparó siguiendo un procedimiento de síntesis similar al reseñado para la síntesis del compuesto intermedio 7. Partiendo de **compuesto intermedio 13** (5.073 g, 14.37 mmol) se obtuvo **compuesto intermedio 14** en forma de un aceite pardo claro.

Ejemplo A15

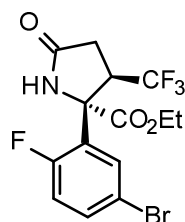
Preparación del **compuesto intermedio 15**.



Cloruro de tionilo (19.9 mL, 274.14 mmol) se añadió a una mezcla de ácido 2-amino-2-(5-bromo-2-fluorofenil)acético (CAS: 318269-93-1, 20 g, 80.63 mmol) en EtOH (264 mL) a 0 °C. La mezcla se sometió a reflujo durante 16 h, después los componentes volátiles se separaron *in vacuo* y el producto bruto se diluyó con disolución sat. de NaHCO₃ ac. El producto se extrajo con DCM. La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró *in vacuo* para proporcionar un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: heptano/EtOAc 100/0 a 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 15** (14.22 g, 64%) en forma de un aceite amarillo.

Ejemplo A16

Preparación del **compuesto intermedio 16**.

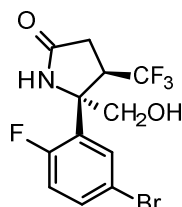


NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, (6.08 g, 152.06 mmol) se añadió a una disolución de **compuesto intermedio 15** (13 g, 47.08 mmol) en THF (310 mL) enfriada a 0 °C. Después de agitar durante 20 minutos, se añadió gota a gota 4,4,4-trifluorocrotonato de etilo (24.7 mL, 164.79 mmol) y la mezcla se agitó durante 2 horas. La mezcla se diluyó después con agua y la capa ac. se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y los disolventes se separaron *in vacuo* para proporcionar un sólido amarillo que se purificó

ulteriormente mediante cromatografía en columna (gel de sílice; heptano/EtOAc 100/0 a 60/40). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 16** (13.4 g, 71%, mezcla racémica) en forma de un aceite amarillo.

Ejemplo A17

5 **Preparación del compuesto intermedio 17.**

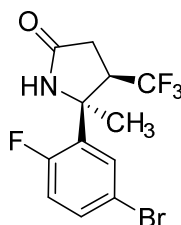


10 Borohidruro de sodio (7.127 g, 188.37 mmol) se añadió en varias porciones a una disolución de **compuesto intermedio 16** (15 g, 37.674 mmol) en una mezcla de THF (344 mL) y agua (26 mL) enfriada a 0 °C. La mezcla se agitó durante 5 horas, después se diluyó con disolución sat. de NH₄Cl ac. y la capa ac. se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; hexano/EtOAc 100/100 a 30/70). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 17** (11.66 g, 87%, mezcla racémica) en forma de un sólido blanco.

15 Al utilizar las condiciones de reacción similares a las reseñadas para la síntesis del **compuesto intermedio 16** y el **compuesto intermedio 17**, el **compuesto intermedio 17** se puede obtener también en dos etapas, partiendo de 2-amino-2-(5-bromo-2-fluorofenil)acetato de metilo comercialmente disponible (CAS:1218158-22-5).

Ejemplo A18

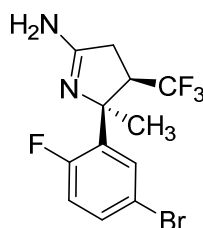
Preparación del compuesto intermedio 18.



20 Cloruro de metanosulfonilo (0.26 mL, 3.37 mmol) y trietilamina (0.47 mL, 3.37 mmol) se añadieron a una disolución de **compuesto intermedio 17** (400 mg, 1.12 mmol) en DCM (10 mL) enfriada a 0 °C y la mezcla se agitó durante 2 horas. La mezcla se diluyó con agitó durante 5 horas, después se diluyó con disolución sat. de NH₄Cl ac. y la capa ac. se extrajo con EtOAc (3 veces). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto bruto se disolvió en DMF (10 mL) y se añadió borohidruro de sodio (128 mg, 3.37 mmol). La mezcla se calentó a 70 °C durante 4 horas. La mezcla se diluyó con agua y la capa ac. se extrajo con EtOAc (3 veces). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: heptano/EtOAc 50/50 a 0/100) para proporcionar **compuesto intermedio 18** (220 mg, rendimiento de 58%, mezcla racémica) en forma de un sólido (p.f. 166-168 °C).

Ejemplo A19

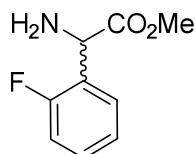
30 **Preparación del compuesto intermedio 19.**



P₂S₅ (89 mg, 0.40 mmol) se añadió a una disolución de **compuesto intermedio 18** (170 mg, 0.50 mmol) en THF (5 mL) y la mezcla se calentó a 50 °C durante 2 horas. La suspensión resultante se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El producto bruto se disolvió en disolución de amoníaco 7M en MeOH (1 mL) y se añadió disolución de amoníaco ac. Al 32% (2.5 mL). La mezcla se calentó durante 1 hora a 120 °C bajo irradiación de microondas y luego se diluyó con agua y se extrajo con DCM (3 veces). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: EtOAc/Hexano/disolución de amoníaco 7M en MeOH 30/90/10) para proporcionar el **compuesto intermedio 19** (105 mg, rendimiento de 62%, mezcla racémica) en forma de un sólido (p.f. 110-112 °C).

Ejemplo A20

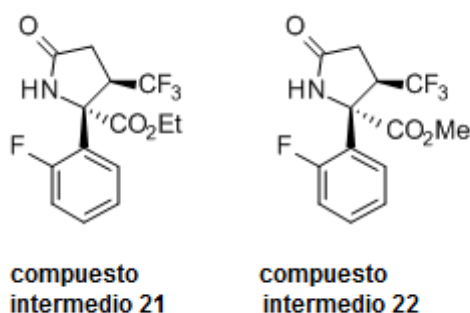
Preparación del **compuesto intermedio 20**.



Cloruro de tionilo (1.27 mL, 17.4 mmol) se añadió gota a gota a una suspensión de ácido 2-amino-2-(2-fluorofenil)acético [(CAS 84145-28-8), 2.26 g, 13.37 mmol] en MeOH (45 mL) y la mezcla se so metió a reflujo durante 18 horas. La mezcla se concentró después *in vacuo*, el producto bruto se suspendió en DCM (45 mL) y se añadió trietilamina (3.72 mL, 26.7 mmol). La mezcla se agitó a t.a. durante 10 min y luego se concentró *in vacuo*. El producto bruto se suspendió en Et₂O, el precipitado se separó mediante filtración y el filtrado se concentró *in vacuo* para proporcionar **compuesto intermedio 20** (2.35 g, rendimiento de 96%, mezcla racémica).

Ejemplo A21

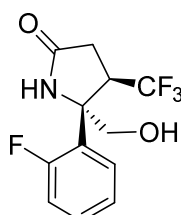
Preparación del **compuesto intermedio 21** y **compuesto intermedio 22**.



Hidruro de sodio (al 60% en aceite mineral, 1.31 g, 32.75 mmol) se añadió a una disolución de **compuesto intermedio 20** (2 g, 10.92 mmol) en THF (109 mL) enfriada a 0 °C. Después de agitar durante 20 min, se añadió gota a gota (2E)-4,4,4-trifluorobut-2-enoato de etilo (5.71 mL, 38.22 mmol) y la mezcla se agitó durante 6 horas. La mezcla se diluyó con agua y la capa ac. se extrajo con EtOAc (3 veces). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: heptano/EtOAc 50/50). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar **compuesto intermedio 21** (1.36 g, rendimiento de 39%, mezcla racémica) y **compuesto intermedio 22** (765 mg, rendimiento de 23%, mezcla racémica) ambos en forma de sólidos blancos (**compuesto intermedio 21**, p.f. 161-163 °C; **compuesto intermedio 22**, p.f. 182-184 °C).

Ejemplo A22

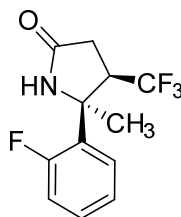
Preparación del **compuesto intermedio 23**.



5 Borohidruro de sodio (340 mg, 9.0 mmol) se añadió en varias porciones a una disolución de **compuesto intermedio 22** (550 mg, 1.80 mmol) en una mezcla de THF:agua (18:1,5 mL) enfriada a 0 °C y la mezcla se agitó durante 2 horas. La mezcla se diluyó con disolución sat. de NH₄Cl ac. y la capa ac. se extrajo con EtOAc (3 veces). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: heptano/EtOAc 70/30). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar el **compuesto intermedio 23** (490 mg, rendimiento de 98%, mezcla racémica) en forma de un sólido (p.f. 170-172 °C).

Ejemplo A23

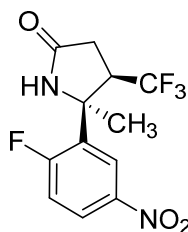
Preparación del compuesto intermedio 24.



10 Cloruro de metanosulfonilo (0.39 mL, 5.1 mmol) y trietilamina (0.71 mL, 5.1 mmol) se añadieron a una disolución de **compuesto intermedio 23** (470 mg, 1.69 mmol) en DCM (17 mL) enfriada a 0 °C y la mezcla se agitó durante 2 horas. La mezcla se diluyó con disolución sat. de NH₄Cl ac. y la capa ac. se extrajo con EtOAc (3 veces). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto bruto se disolvió en DMF (17 mL), se añadió borohidruro de sodio (192 mg, 5.07 mmol) y la mezcla se calentó a 70 °C durante 4 horas. La mezcla se diluyó con agua y la capa ac. se extrajo con EtOAc (3 veces). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: heptano/EtOAc 50/50 a 100/0) para proporcionar **compuesto intermedio 24** (322 mg, rendimiento de 73%, mezcla racémica) en forma de un sólido (p.f. 179-181 °C).

Ejemplo A24

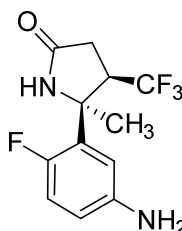
Preparación del compuesto intermedio 25.



25 Ácido nítrico (fumante al 90%, 0.2 mL) se añadió a una disolución de **compuesto intermedio 24** (500 mg, 1.91 mmol) en ácido sulfúrico (3.8 mL) y la mezcla se agitó durante 2 horas. La mezcla se enfrió a 0 °C, se diluyó con agua y la capa ac. se extrajo con EtOAc (3 veces). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: heptano/EtOAc 50/50 a 100/0) para proporcionar **compuesto intermedio 25** (520 mg, rendimiento de 89%, mezcla racémica) en forma de un sólido (p.f. 230-232 °C).

Ejemplo A25

Preparación del compuesto intermedio 26.

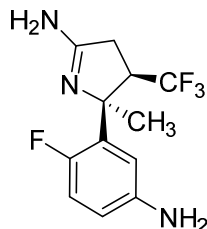


30 Paladio sobre carbono (al 10% p/p, 90 mg, 50% en moles) se añadió a una disolución de **compuesto intermedio 25** (520 mg, 1.70 mmol) en MeOH (34 mL). La mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno (1 at) durante la noche y luego se filtró a través de tierra de diatomeas y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto bruto se

purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: MeOH/EtOAc para proporcionar el **compuesto intermedio 26** (450 mg, rendimiento de 96%, mezcla racémica) en forma de un sólido (p.f. 134-136 °C).

Ejemplo A26

Preparación del compuesto intermedio 27.



5

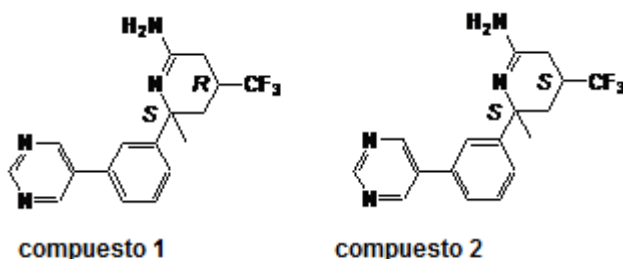
P_2S_5 (290 mg, 1.3 mmol) se añadió a una disolución de **compuesto intermedio 26** (450 mg, 1.63 mmol) en THF (16 mL) y la mezcla se calentó a 50 °C durante 2 horas. La suspensión resultante se filtró y el filtrado se concentró *in vacuo*. El producto bruto se disolvió en disolución de amoníaco 7M en MeOH (3.2 mL) y se añadió disolución de amoníaco ac. al 32% (8 mL) y la mezcla se calentó durante 1 hora a 120 °C bajo irradiación de microondas. La mezcla se diluyó después con agua y se extrajo con DCM (33 veces). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: EtOAc/disolución de amoníaco 7M en MeOH 90/10) para proporcionar el **compuesto intermedio 27** (188 mg, rendimiento de 42%, mezcla racémica) en forma de un sólido (p.f. 130-132 °C).

15 Alternativamente, **compuesto intermedio 27** también se puede obtener partiendo de **compuesto intermedio 24**, siguiendo una secuencia de síntesis similar a la utilizada para la síntesis de (en el orden) **compuesto intermedio 27**, **compuesto intermedio 25** y **compuesto intermedio 26**.

B. Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B1

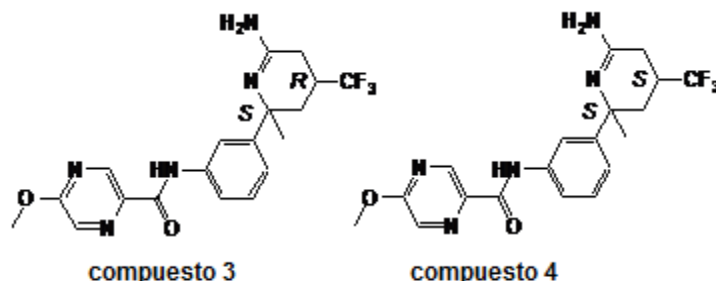
20 Preparación de **compuesto 1**: (4*R*,6*S*)-6-metil-6-(3-pirimidin-5-ilfenil)-4-(trifluorometil)-3,4,5,6-tetrahidropiridin-2-amina y **compuesto 2**: (4*S*,6*S*)-6-metil-6-(3-pirimidin-5-ilfenil)-4-(trifluorometil)-3,4,5,6-tetrahidropiridin-2-amina.



25 **Compuesto intermedio 6** (0.284 g, 0.847 mmol), ácido 5-pirimidinilborónico (0.157 g, 1.271 mmol) y tetrakis(trifenilfosfina) paladio(0) (0.147 g, 0.127 mmol) se disolvieron en una mezcla de 1,4-dioxano (12 mL) y $NaHCO_3$ ac. (disolución sat., 1.5 mL). La mezcla resultante se barrió con nitrógeno y luego se calentó a 80 °C durante 2 horas. La m.r. se diluyó después con agua y se extrajo con DCM. La capa orgánica se separó, se secó (Na_2SO_4), se filtró y los disolventes se evaporaron *in vacuo*. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna flash (gel de sílice; eluyente: DCM/disolución 7M de amoníaco en MeOH 100/0 a 90/10). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo*. Este residuo se purificó después mediante SFC preparativa sobre Chiralpak® AD Daicel (20 x 250 mm; fase móvil: CO_2 , MeOH con $iPrNH_2$ al 0.2%), proporcionando **compuesto 1** (0.082 g, rendimiento de 29%) y otra fracción que se purificó adicionalmente mediante HPLC preparativa (RP Vydac Denali C18-10 μM 200 g, 5 cm; fase móvil: disolución de NH_4HCO_3 al 0.25% en agua, MeCN), proporcionando **compuesto 2** (5 mg, rendimiento de 2%).

Ejemplo B2

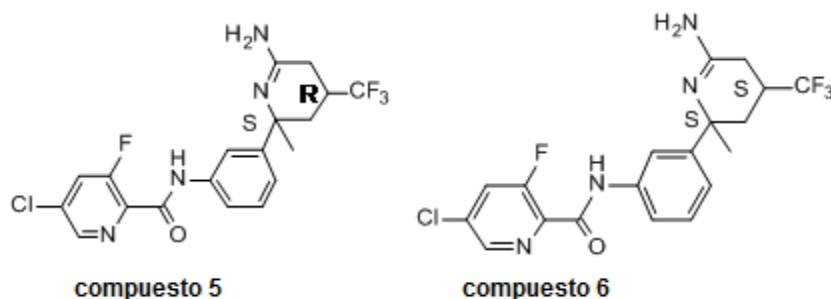
Preparación de **compuesto 3**: *N*-[3-[(2*S*,4*R*)-6-amino-2-metil-4-(trifluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il]fenil]-5-metoxipirazina-2-carboxamida y **compuesto 4**: *N*-[3-[(2*S*,4*S*)-6-amino-2-metil-4-(trifluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il]fenil]-5-metoxipirazina-2-carboxamida



- 5 Se disolvió el ácido 5-metoxipirazin-2-carboxílico (0.064 g, 0.417 mmol) en MeOH (15 mL) y se añadió DMTMM (0.147 g, 0.5 mmol). Después de agitar la mezcla durante 5 min, se añadió una disolución de **compuesto intermedio 7** (0.113 g, 0.417 mmol) en MeOH (5 mL) a 0 °C, y la mezcla se agitó durante 4 horas adicionales. El disolvente se evaporó *in vacuo*. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna flash (gel de sílice; eluyente: DCM/disolución 7M de amoníaco en MeOH 100/0 a 90/10). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo*. Este residuo se purificó después mediante SFC preparativa sobre Chiralpak® AD Daicel (20 x 250 mm; fase móvil: CO₂, MeOH con iPrNH₂ al 0.2%), proporcionando **compuesto 3** (38 mg, rendimiento de 22%) y **compuesto 4** (14 mg, rendimiento de 8%).

Ejemplo B3

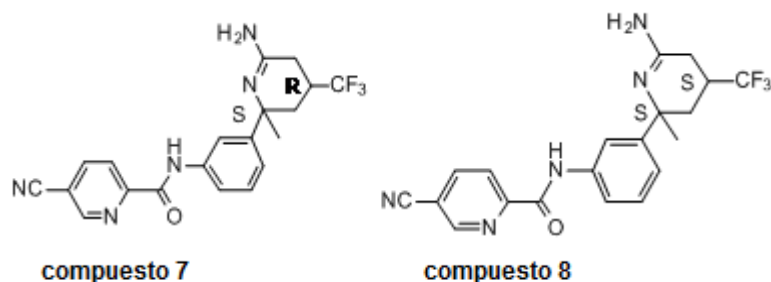
- 15 Preparación de **compuesto 5**: *N*-[3-[(2*S*,4*R*)-6-amino-2-metil-4-(trifluorometil)-4,5-dihidro-3H-piridin-2-il]fenil]-5-cloro-3-fluoropiridina-2-carboxamida y **compuesto 6**: *N*-[3-[(2*S*,4*S*)-6-amino-2-metil-4-(trifluorometil)-4,5-dihidro-3H-piridin-2-il]fenil]-5-cloro-3-fluoropiridina-2-carboxamida



- 20 Siguiendo un procedimiento de síntesis similar al utilizado para la síntesis de **compuesto 2** y **compuesto 3**, partiendo de ácido 5-cloro-3-fluoropiridina-2-carboxílico, se obtuvo una mezcla bruta, purificada adicionalmente mediante SFC preparativa sobre Chiralcel® OD Daicel (20 x 250 mm; fase móvil: CO₂, MeOH con iPrNH₂ al 0.2%), para proporcionar compuesto 5 (30 mg, rendimiento de 19%) y compuesto 6 (10 mg, rendimiento de 6%).

Ejemplo B4

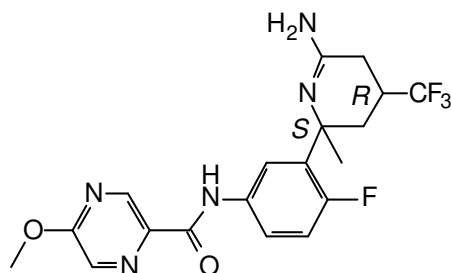
Preparación de **compuesto 7**: *N*-[3-[(2*S*,4*R*)-6-amino-2-metil-4-(trifluorometil)-4,5-dihidro-3H-piridin-2-il]fenil]-5-ciano-piridina-2-carboxamida y **compuesto 8**: *N*-[3-[(2*S*,4*S*)-6-amino-2-metil-4-(trifluorometil)-4,5-dihidro-3H-piridin-2-il]fenil]-5-ciano-piridina-2-carboxamida



Siguiendo un procedimiento de síntesis similar al utilizado para la síntesis de **compuesto 2** y **compuesto 3**, partiendo de ácido 5-ciano-2-carboxílico, se obtuvo una mezcla bruta, purificada adicionalmente mediante SFC preparativa sobre RP Vydac Denali C18 (10 μ M 200 g, 5 cm; fase móvil: disolución de NH_4HCO_3 al 0.25% en agua, MeCN) y luego mediante SFC preparativa sobre Chiralcel® OD Daicel (20 x 250 mm; fase móvil: CO_2 , MeOH con $i\text{PrNH}_2$ al 0.2%), para proporcionar compuesto 5 (30 mg, rendimiento de 19%) y compuesto 6 (10 mg, rendimiento de 6%).

Ejemplo B5

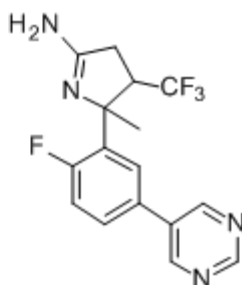
Preparación de **compuesto 9**: N-{3-[(2S,4R)-6-amino-2-metil-4-(trifluorometil)-4,5-dihidro-3H-piridin-2-il]-4-fluorofenil}-5-metoxipirazina-2-carboxamida



Se disolvió el ácido 5-metoxipirazin-2-carboxílico (0.157 g, 1.02 mmol) en MeOH (30 mL) y se añadió DMTMM (0.299 g, 1.02 mmol). Después de agitar la mezcla durante 5 min, se añadió una disolución de **compuesto intermedio 14** (0.28 g, 0.968 mmol) en MeOH (10 mL) a 0 °C, y la mezcla se agitó durante la noche. El disolvente se evaporó *in vacuo*. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna flash (gel de sílice; eluyente: DCM/amoniaco 7M en MeOH 100/0 a 92/8). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo*. El tratamiento con heptano proporcionó un precipitado blanco que se secó durante la noche (estufa de vacío, 50 °C), proporcionando **compuesto 9** (0.248 g, rendimiento de 60%).

Ejemplo B6

Preparación de **compuesto 14**: ($\pm$)-(2S*,3R*)-2-(4-fluoro-[1,1'-bifenil]-3-il)-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidro-2H-pirrol-5-amina.



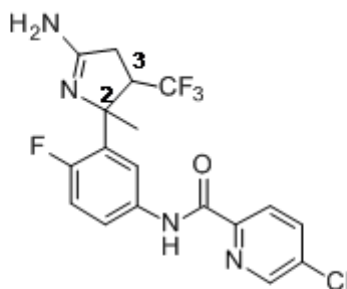
compuesto 14: C₂(RS); C₃(RS), estereoisómero simple (cis)

Tetrakis(trifenilfosfina)paladio (16 mg, 0.014 mmol) y ácido 5-pirimidinilborónico (35 mg, 0.28 mmol) se añadieron a una disolución de **compuesto intermedio 14** (48 mg, 0.14 mmol) en una mezcla de NaHCO_3 sat. ac. y dioxano (2.8:2.4 mL) y la mezcla se calentó a 80 °C durante 2 horas. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con DCM (3 veces). La capa orgánica se separó, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y los disolventes se concentraron *in vacuo*. El

producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: DCM/amoniaco 7M en MeOH 100/0 a 85/15) para proporcionar **compuesto 14** (33 mg, rendimiento de 69%, mezcla racémica, cis).

Ejemplo B7

- 5 Preparación de **compuesto 15**: ($\pm$)-N-[3-((2*S**,3*R**)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidro-2H-pirrol-2-il)-4-fluorofenil]-5-cloropiridina-2-carboxamida, **compuesto 19**: N-[3-[(2*S*,3*R*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-cloro-piridina-2-carboxamida y **compuesto 20**: N-[3-[(2*R*,3*S*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-cloro-piridina-2-carboxamida



compuesto 15: C₂(RS); C₃(RS), diastereoisómero simple (cis)

compuesto 19: C₂(S); C₃(R), diastereoisómero simple, enantiómero puro

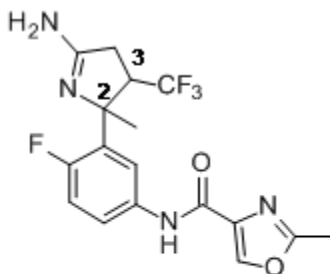
compuesto 20: C₂(R); C₃(S), diastereoisómero simple, enantiómero puro

- 10 Ácido 5-cloropicolínico (29 mg, 0.18 mmol) se añadió a una disolución de cloruro de 4-(4,6-dimetoxi-1,3,5-triazin-2-il)-4-metilmorfolinio (64 mg, 0.22 mmol) en MeOH (3.2 mL) a t.a. Después de agitar durante 5 min, se añadió una disolución de **compuesto intermedio 27**rac en MeOH (3.2 mL) a 0 °C y la mezcla se agitó durante 16 h. El disolvente se evaporó *in vacuo* y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: DCM/amoniaco 7M en MeOH 100/10 a 95/5). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar **compuesto 15** (28 mg, rendimiento de 37%, mezcla racémica) en forma de un sólido blanco purificadas adicionalmente mediante SFC quiral sobre Chiralcel® OD-H (20 x 250 mm; fase móvil: 60% de CO₂, 40% de EtOH con iPrNH₂ al 0.3%), para proporcionar **compuesto 19** (13 mg, rendimiento de 9%) y **compuesto 20** (14 mg, rendimiento de 9%).

Ejemplo B8

Preparación de **compuesto 16**:

- 20 ($\pm$)-N-[3-[(2*S**,3*R**)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-2-metil-oxazol-4-carboxamida, **compuesto 35**: N-[3-[(2*R*,3*S*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-2-metil-oxazol-4-carboxamida y **compuesto 36**: N-[3-[(2*S*,3*R*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-2-metil-oxazol-4-carboxamida



compuesto 16: C₂(RS); C₃(RS), diastereoisómero simple (cis)

compuesto 35: C₂(R); C₃(S), diastereoisómero simple, enantiómero puro

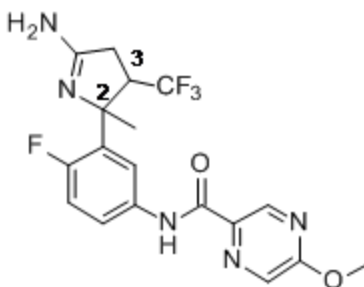
compuesto 36: C₂(S); C₃(R), diastereoisómero simple, enantiómero puro

- 25 Siguiendo un proceso de síntesis similar al utilizado para la síntesis de **compuesto 15**, partiendo de ácido 2-metiloxazol-4-carboxílico **compuesto 16** (70 mg, rendimiento del 28%) se obtuvo, después de purificación mediante HPLC preparativa sobre C18 Xbridge (30 x 100 mm, 5 µm; fase móvil: gradiente de 74% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 26% de MeCN a 58% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 42% de MeCN). La

subsiguiente separación mediante SFC quiral sobre Chiralpak® AD-H Daicel (20 x 250 mm, 5 µm; fase móvil: 80% de CO₂, 20% de EtOH con iPrNH₂ al 0.3%), proporcionó **compuesto 35** (24 mg, rendimiento de 10%) y **compuesto 36** (29 mg, rendimiento de 12%).

Ejemplo B9

- 5 Preparación de **compuesto 17**: (±)-N-[3-[(2*S**,3*R**)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxipirazina-2-carboxamida, **compuesto 27**: N-[3-[(2*R*,3*S*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxipirazina-2-carboxamida y **compuesto 34**: N-[3-[(2*S*,3*R*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-metoxipirazina-2-carboxamida



compuesto 17: C₂(RS); C₃(RS), diastereoisómero simple (cis)

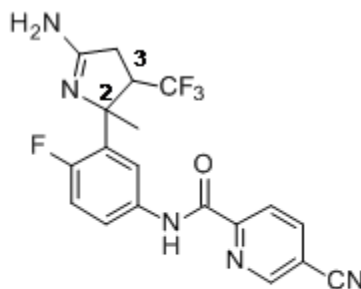
compuesto 27: C₂(R); C₃(S), diastereoisómero simple, enantiómero puro

compuesto 34: C₂(S); C₃(R), diastereoisómero simple, enantiómero puro

- 10 Siguiendo un procedimiento de síntesis similar al utilizado para la síntesis de **compuesto 15**, partiendo de ácido 5-metoxipirazina-2-carboxílico se obtuvo **compuesto 17** (96 mg, rendimiento de 36%), purificado adicionalmente mediante SFC quiral sobre Chiralcel® OD-H Daicel (20 x 250 mm, 5 µm; fase móvil: 60% de CO₂, 40% de EtOH con iPrNH₂ al 0.3%), para proporcionar **compuesto 27** (30 mg, rendimiento de 11%) y **compuesto 34** (34 mg, rendimiento de 13%).

15 Ejemplo B10

Preparación de **compuesto 18**: (±)-N-[3-[(2*S**,3*R**)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridina-2-carboxamida, **compuesto 25**: N-[3-[(2*R*,3*S*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridina-2-carboxamida y **compuesto 26**: N-[3-[(2*S*,3*R*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-ciano-piridina-2-carboxamida



compuesto 18: C₂(RS); C₃(RS), diastereoisómero simple (cis)

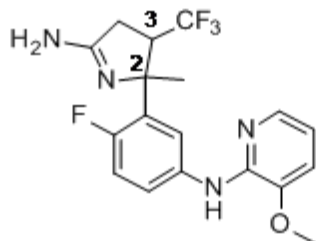
compuesto 25: C₂(R); C₃(S), diastereoisómero simple, enantiómero puro

compuesto 26: C₂(S); C₃(R), diastereoisómero simple, enantiómero puro

- 20 Siguiendo un proceso de síntesis similar al utilizado para la síntesis de **compuesto 15**, partiendo de ácido 5-ciano-2-carboxílico **compuesto 18** (80 mg, rendimiento del 30%) se obtuvo, después de purificación mediante HPLC preparativa sobre C18 Xbridge (30 x 100 mm, 5 µm; fase móvil; gradiente de 74% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 26% de MeCN a 58% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 42% de MeCN). La
- 25 subsiguiente separación mediante SFC quiral sobre Chiralpak® OD-H (20 x 250 mm, 5 µm; fase móvil: 60% de CO₂, 40% de EtOH con iPrNH₂ al 0.3%), proporcionó **compuesto 25** (30 mg, rendimiento de 11%) y **compuesto 26** (28 mg, rendimiento de 11%).

Ejemplo B11

Preparación de **compuesto 21**: ($\pm$)-N-[3-[(2*S**,3*R**)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluorofenil]-3-metoxipiridin-2-amina, **compuesto 37**: N-[3-[(2*S*,3*R*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluorofenil]-3-metoxipiridin-2-amina y **compuesto 28**: N-[3-[(2*R*,3*S*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluorofenil]-3-metoxipiridin-2-amina



compuesto 21: C₂(RS); C₃(RS), diastereoisómero simple (cis)

compuesto 37: C₂(S); C₃(R), diastereoisómero simple, enantiómero puro

compuesto 42: C₂(R); C₃(S), diastereoisómero simple, enantiómero puro

5

Compuesto intermedio 27 (200 mg, 0.727 mmol) se disolvió en iPrOH (8.8 mL). Luego se añadió 2-bromo-3-metoxipiridina (273 mg, 1.45 mmol), seguido de H₂SO₄ (0.19 mL, 3.6 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 80 °C durante 7 días, después se enfrió a t.a. y se añadieron DCM y disolución sat. de NaHCO₃. El producto se extrajo y la capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró *in vacuo* para proporcionar un aceite amarillo que se purificó mediante cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente: DCM/disolución 7M de amoníaco en MeOH 100/0 a 92/8). Las fracciones deseadas se recogieron y concentraron *in vacuo* para proporcionar un sólido amarillo, se purificaron adicionalmente mediante HPLC RP sobre C18 XBridge (30 x 100 mm 5 µm; fase móvil: gradiente de 67% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 33% de MeCN a 50% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 50% de MeCN), proporcionando **compuesto 21** (135 mg, 49%) en forma de un sólido blanco. La subsiguiente separación mediante SFC quiral sobre Chiralpak® AD-H (5 µm 250 x 20mm; fase móvil: 80% de CO₂, 20% de EtOH con iPrNH₂ al 0.3%), proporcionó **compuesto 37** (49 mg, rendimiento de 18%) y **compuesto 28** (51 mg, 18%).

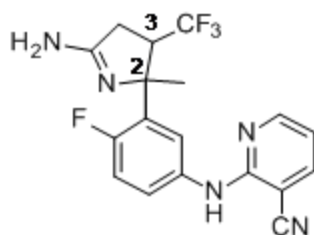
10

15

Ejemplo B12

Preparación de **compuesto 22**: ($\pm$)-2-[3-[(2*S**,3*R**)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoroanilino]piridina-3-carbonitrilo, **compuesto 38**: 2-[3-[(2*S*,3*R*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoroanilino]piridina-3-carbonitrilo y **compuesto 39**: 2-[3-[(2*R*,3*S*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoroanilino]piridina-3-carbonitrilo

20



compuesto 22: C₂(RS); C₃(RS), diastereoisómero simple (cis)

compuesto 38: C₂(S); C₃(R), diastereoisómero simple, enantiómero puro

compuesto 39: C₂(R); C₃(S), diastereoisómero simple, enantiómero puro

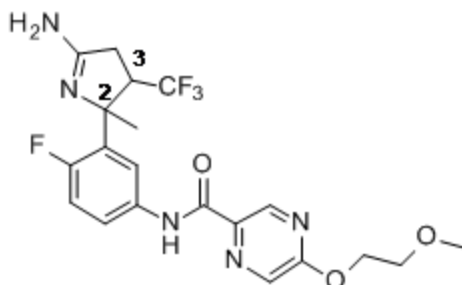
Siguiendo un proceso de síntesis similar al utilizado para la síntesis de **compuesto 21**, partiendo de 2-cloronicotinonitrilo **compuesto 22** (27 mg, rendimiento del 10%) se obtuvo, después de purificación mediante HPLC RP sobre C18 Xbridge (30 x 100 mm, 5 µm; fase móvil: gradiente de 67% de disolución de NH₄CO₃H 10mM pH 9 en agua, 33% de MeCN a 50% de disolución de NH₄CO₃H 10mM pH 9 en agua, 50% de MeCN). La separación ulterior mediante SFC quiral sobre Chiralpak® OD-H (5 µm 250 x 20mm; fase móvil: 70% de CO₂, 30% de EtOH con iPrNH₂ al 0.3%) proporcionó dos fracciones, cada una de ellas se purificó adicionalmente mediante RP HPLC sobre C18 XBridge (30 x 150 mm; fase móvil: gradiente de 90% de disolución de NH₄CO₃H al 0.5% en agua, 10% de MeCN a 0% de disolución de NH₄CO₃H al 0.5% en agua, 100% de MeCN). Se obtuvieron **compuesto 38** (7 mg, rendimiento del 3%) y **compuesto 39** (8 mg, rendimiento del 3%).

25

30

Ejemplo B13

Preparación de **compuesto 23**: ($\pm$)-N-[3-[(2*S**,3*R**)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2-metoxietoxi)pirazina-2-carboxamida, **compuesto 29**: N-[3-[(2*R*,3*S*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2-metoxietoxi)pirazina-2-carboxamida y **compuesto 30**: N-[3-[(2*S*,3*R*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2-metoxietoxi)pirazina-2-carboxamida



compuesto 23: C₂(RS); C₃(RS), diastereoisómero simple (cis)

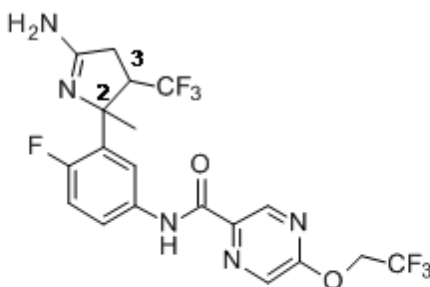
compuesto 29: C₂(R); C₃(S), diastereoisómero simple, enantiómero puro

compuesto 30: C₂(S); C₃(R), diastereoisómero simple, enantiómero puro

Seguendo un procedimiento de síntesis similar al utilizado para la síntesis de **compuesto 15**, partiendo de ácido 5-(2-metoxietoxi)-2-pirazinacarboxílico se obtuvo **compuesto 23** (150 mg, rendimiento de 18%) después de purificación mediante RP HPLC sobre C18 XBridge (30 x 100 mm 5 μ m; fase móvil: gradiente de 74% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 26% de MeCN a 58% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 42% de MeCN). La separación ulterior, primero mediante SFC aquiral sobre CYANO (6 μ m 150 x 21.2 mm; fase móvil: 80% de CO₂, 20% de iPrOH con iPrNH₂ al 0.3%) y luego mediante SFC quiral sobre Chiralcel® OD-H (5 μ m 250 x 20 mm; fase móvil: 70% de CO₂, 30% de EtOH con iPrNH₂ al 0.3%), proporcionó **compuesto 29** (27 mg, rendimiento de 3%) y **compuesto 30** (29 mg, rendimiento de 4%).

Ejemplo B14

Preparación de **compuesto 24**: ($\pm$)-N-[3-[(2*S**,3*R**)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)pirazina-2-carboxamida, **compuesto 31**: N-[3-[(2*R*,3*S*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)pirazina-2-carboxamida y **compuesto 32**: N-[3-[(2*S*,3*R*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-(2,2,2-trifluoroetoxi)pirazina-2-carboxamida



compuesto 24: C₂(RS); C₃(RS), diastereoisómero simple (cis)

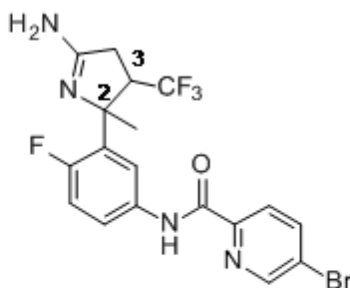
compuesto 31: C₂(R); C₃(S), diastereoisómero simple, enantiómero puro

compuesto 32: C₂(S); C₃(R), diastereoisómero simple, enantiómero puro

Seguendo un procedimiento de síntesis similar al utilizado para la síntesis de **compuesto 15**, partiendo de ácido 5-(2,2,2-trifluoroetoxi)-2-pirazinacarboxílico se obtuvo **compuesto 24** (27 mg, rendimiento de 18%) después de purificación mediante RP HPLC sobre C18 XBridge (30 x 100 mm 5 μ m; fase móvil: gradiente de 67% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 33% de MeCN a 50% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 50% de MeCN). La separación ulterior mediante SFC quiral sobre Chiralpak® OD-H (5 μ m 250 x 20 mm; fase móvil: 70% de CO₂, 30% de EtOH con iPrNH₂ al 0.3%), proporcionó **compuesto 31** (9 mg, rendimiento de 6%) y **compuesto 32** (10 mg, rendimiento de 6%).

Ejemplo B15

Preparación de **compuesto 40**: ($\pm$)-N-[3-[(2*S**,3*R**)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-bromo-piridina-2-carboxamida, **compuesto 33**: N-[3-[(2*R*,3*S*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-bromo-piridina-2-carboxamida y **compuesto 41**: N-[3-[(2*S*,3*R*)-5-amino-2-metil-3-(trifluorometil)-3,4-dihidropirrol-2-il]-4-fluoro-fenil]-5-bromo-piridina-2-carboxamida



compuesto 40: C₂(*RS*); C₃(*RS*), diastereoisómero simple (*cis*)

compuesto 33: C₂(*R*); C₃(*S*), diastereoisómero simple, enantiómero puro

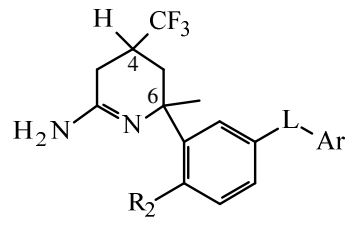
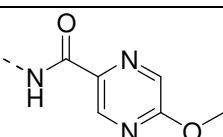
compuesto 41: C₂(*S*); C₃(*R*), diastereoisómero simple, enantiómero puro

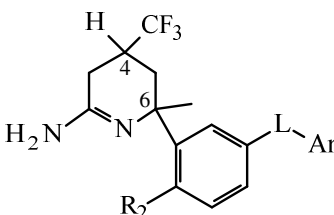
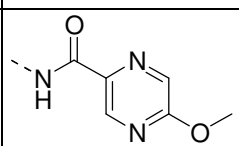
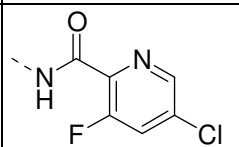
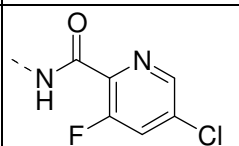
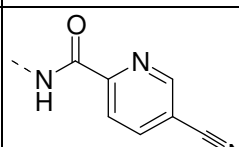
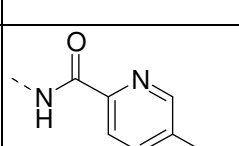
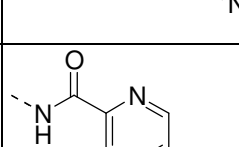
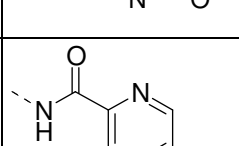
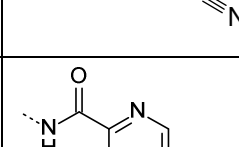
5

10 Siguiendo un procedimiento de síntesis similar al utilizado para la síntesis de **compuesto 15**, partiendo de ácido 5-(2,2,2-trifluoroetoxi)pirazina-2-carboxílico se obtuvo compuesto 40 (140 mg, rendimiento de 21%) después de purificación mediante RP HPLC sobre C18 XBridge (30 x 100 mm 5 μ m; fase móvil: gradiente de 67% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 33% de MeCN a 50% de disolución de NH₄CO₃H 10 mM pH 9 en agua, 50% de MeCN). La separación ulterior mediante SFC quiral sobre Chiralpak® OD-H (5 μ m 250 x 20 mm; fase móvil: 60% de CO₂, 40% de EtOH con iPrNH₂ al 0.3%), proporcionó **compuesto 33** (54 mg, rendimiento de 8%) y **compuesto 41** (57 mg, rendimiento de 8%).

15 Los compuestos 1 a 13 en la tabla 1 y los compuestos 14 a 41 en la tabla 2 enumeran los compuestos que se prepararon por analogía a uno de los Ejemplos anteriores. En los casos en los que no se indique forma salina alguna, el compuesto se obtuvo como una base libre. 'Ej. N°' se refiere al número de Ejemplo de acuerdo con cuyo protocolo se sintetizó el compuesto. 'Comp. N°' designa el número de compuesto.

Tabla 1

				
Co. N°	Ej. n.º	R ²	---L-Ar	estereoquímica
1	B1	H		C ₄ (<i>R</i>);C ₆ (<i>S</i>) Diastereoisómero Enantiómero puro único
2	B1	H		C ₄ (<i>S</i>);C ₆ (<i>S</i>) Diastereoisómero Enantiómero puro único
3	B2	H		C ₂ (<i>S</i>);C ₄ (<i>R</i>) Diastereoisómero Enantiómero puro único

				
Co. N°	Ej. n.º	R ²	---L-Ar	estereoquímica
4	B2	H		C ₂ (S);C ₄ (S) Diastereoisómero Enantiómero puro único
5	B3	H		C ₂ (S);C ₄ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
6	B3	H		C ₂ (S);C ₄ (S); Diastereoisómero Enantiómero puro único
7	B4	H		C ₂ (S);C ₄ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
8	B4	H		C ₂ (S);C ₄ (S) Diastereoisómero Enantiómero puro único
9	B5	F		C ₂ (S);C ₄ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
10	B5	F		C ₂ (S);C ₄ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
11	B5	F		C ₂ (S);C ₄ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único

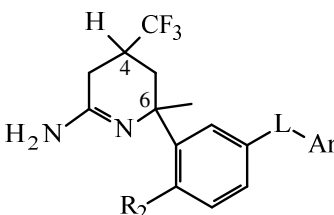
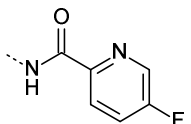
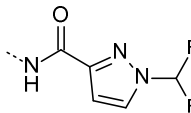
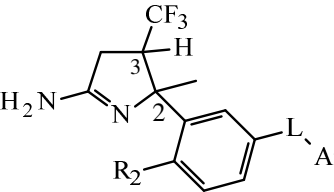
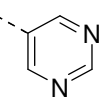
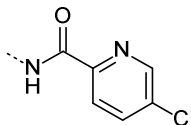
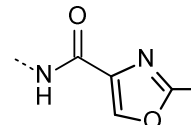
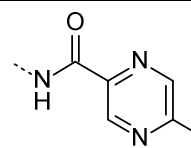
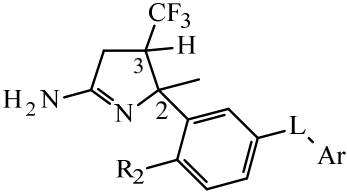
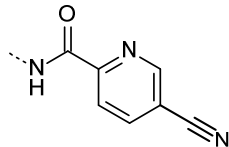
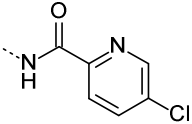
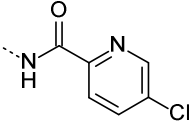
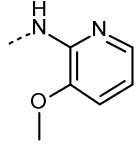
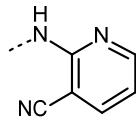
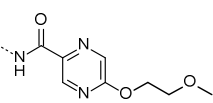
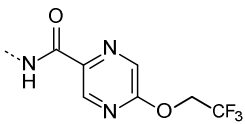
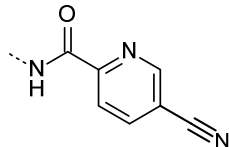
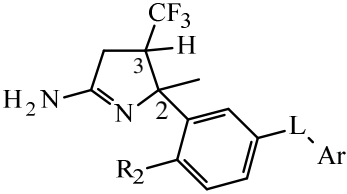
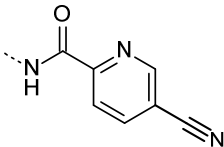
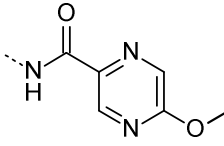
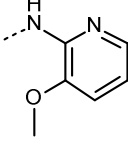
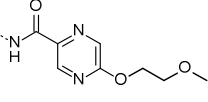
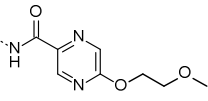
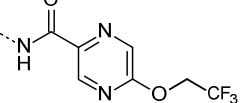
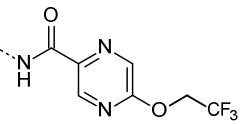
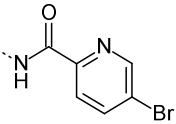
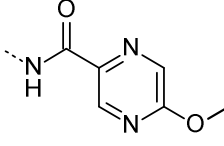
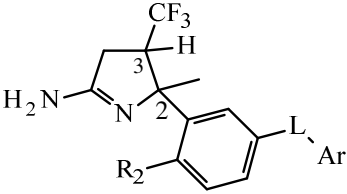
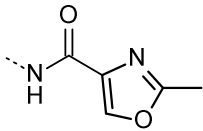
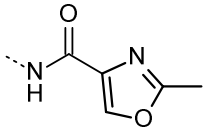
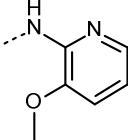
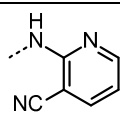
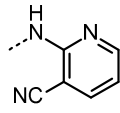
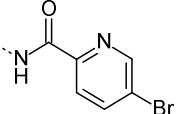
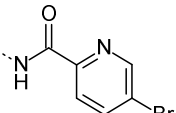
				
Co. N°	Ej. n.º	R ²	---L-Ar	estereoquímica
12	B5	F		C ₂ (S);C ₄ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
13	B5	F		C ₂ (S);C ₄ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único

Tabla 2

				
Co. N°	Ej. n.º	R ²	---L-Ar	estereoquímica
14	B6	F		C ₂ (RS);C ₃ (RS) Diastereoisómero único (cis)
15	B7	F		C ₂ (RS);C ₃ (RS) Diastereoisómero único (cis)
16	B8	F		C ₂ (RS);C ₃ (RS) Diastereoisómero único (cis)
17	B9	F		C ₂ (RS);C ₃ (RS) Diastereoisómero único (cis)

				
Co. N°	Ej. n.º	R ²	---L-Ar	estereoquímica
18	B10	F		C ₂ (RS);C ₃ (RS) Diastereoisómero único (cis)
19	B7	F		C ₂ (S);C ₃ (R) Diastereoisómero único (cis)
20	B7	F		C ₂ (R);C ₃ (S) Diastereoisómero Enantiómero puro único
21	B11	F		C ₂ (RS);C ₃ (RS) Diastereoisómero único (cis)
22	B12	F		C ₂ (RS);C ₃ (RS) Diastereoisómero único (cis)
23	B13	F		C ₂ (RS);C ₃ (RS) Diastereoisómero único (cis/trans : 92/8)
24	B14	F		C ₂ (S);C ₃ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
25	B10	F		C ₂ (R);C ₃ (S) Diastereoisómero Enantiómero puro único

				
Co. N°	Ej. n.º	R ²	---L-Ar	estereoquímica
26	B10	F		C ₂ (S);C ₃ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
27	B9	F		C ₂ (R);C ₃ (S) Diastereoisómero Enantiómero puro único
28	B11	F		C ₂ (R);C ₃ (S) Diastereoisómero Enantiómero puro único
29	B13	F		C ₂ (R);C ₃ (S) Diastereoisómero Enantiómero puro único
30	B13	F		C ₂ (S);C ₃ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
31	B14	F		C ₂ (R);C ₃ (S) Diastereoisómero Enantiómero puro único
32	B14	F		C ₂ (S);C ₃ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
33	B15	F		C ₂ (R);C ₃ (S) Diastereoisómero único Enantiómero puro
34	B9	F		C ₂ (S);C ₃ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único

				
Co. N°	Ej. n.º	R ²	---L-Ar	estereoquímica
35	B8	F		C ₂ (R);C ₃ (S) Diastereoisómero único Enantiómero puro
36	B8	F		C ₂ (S);C ₃ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
37	B11	F		C ₂ (S);C ₃ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
38	B12	F		C ₂ (S);C ₃ (R) Diastereoisómero Enantiómero puro único
39	B12	F		C ₂ (R);C ₃ (S) Diastereoisómero Enantiómero puro único
40	B15	F		C ₂ (RS);C ₃ (RS) Diastereoisómero único (cis)
41	B11	F		C ₂ (S);C ₃ (R) Diastereoisómero único Enantiómero puro

C. Parte analítica

LCMS (Cromatografía Líquida/Espectrometría de masas)

LCMS Procedimiento general

- 5 La medición de cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se realizó utilizando una bomba de LC, una matriz de diodos (DAD) o un detector de UV y una columna, según se especifica en los métodos respectivos. Cuando fue necesario, se incluyeron detectores adicionales (véase la tabla de métodos más adelante).

El flujo procedente de la columna se introdujo en un espectrómetro de masas (MS), el cual se configuró con una fuente de iones a presión atmosférica. Un experto en la técnica será capaz de fijar los parámetros ajustados (por

ejemplo, intervalo de barrido, tiempo de permanencia) para obtener iones que permitan la identificación del peso molecular monoisotópico nominal del compuesto (MW) y/o el peso molecular monoisotópico de masa exacto. La adquisición de datos se realizó con el software adecuado.

- 5 Los compuestos se describen según sus tiempos de retención (T_r) experimentales e iones. Si no se especifica de otro modo en la tabla de datos, el ion molecular indicado corresponde a la $[M+H]^+$ (molécula protonada) y/o $[M-H]^-$ (molécula desprotonada). En caso de que el compuesto no se pudiera ionizar directamente, se especifica el tipo de aducto (es decir, $[M+NH_4]^+$, $[M+HCOO]^-$, $[M+CH_3COO]^-$, etc...). Para moléculas con patrones isotópicos múltiples (por ejemplo, Br, Cl), el valor indicado es el obtenido para la masa isotópica más baja. Todos los resultados se obtuvieron con incertidumbres experimentales que están habitualmente asociadas con el método utilizado.
- 10 En lo que sigue en esta memoria, "UPLC" Cromatografía Líquida de Ultra-Rendimiento, "DAD" Detector de la Matriz de Diodos, "SQD" Detector de Cuadrupolo Simple, "QTOF" Cuadrupolo-Tiempo de Vuelo, "TA" temperatura ambiente, "BEH" híbrido de etilsiloxano/sílice puenteado, "CSH" híbrido de superficie cargada.

Tabla 3: LCMS Códigos del método (Caudal expresado en mL/min; temperatura de la columna (T) en °C; Tiempo de ejecución en minutos)

Código del método	Instrumento	Columna	Fase móvil	Gradiente	Caudal T col	Tiempo de ejecución
1	Waters: Acquity® UPLC® -DAD/SQD	Waters: BEH C18 (1.7 µm, 2.1x50 mm)	A: 10mM CH ₃ COONH ₄ en 95% H ₂ O + 5% MeCN B: MeCN	De 95% de A a 5% de A en 1.3 min, mantener durante 7 min.	0.8 ----- 55	2
2	Waters: Acquity® UPLC® -DAD/SQD	Agilent: Eclipse Plus C18 RRHD (1.8 µm, 2.1x50 mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 6.5mM + 5% MeCN, B: MeCN	De 95% de A a 5% de A en 4.6 min, mantener durante 0.4 min	1 ----- 50	5
3	Waters: Acquity® IClass UPLC® -DAD/ Xevo G2-S QTOF	Waters: CSH™ C18 (1.7 µm, 2.1x50 mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 6.5mM + 5% MeCN B: MeCN	De 95% de A a 5% de A en 4.6 min, mantener durante 0.4 min	1 ----- 50	5
4	Waters: Acquity UPLC® - DAD/ Quattro Micro™	Waters: BEH C18 (1.7 µm, 2.1x100 mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 7mM + 5% MeCN B: MeCN	del 84.2% de A durante 0.49 min, al 10.5% de A en 2.18 min, mantenido durante 1.94 min, de nuevo al 84.2% A en 0.73 min, mantenido durante 0.73 min.	0.343 ----- 40	6.2
5	Waters: Acquity® IClass UPLC® -DAD/ SQD	Waters: CSH™ C18 (1.7 µm, 2.1x50 mm)	A: 95% CH ₃ COONH ₄ 6.5mM + 5% MeCN B: MeCN	De 95% de A a 5% de A en 4.6 min, mantener durante 0.4 min	1 ----- 50	5

15 **Puntos de fusión**

Los **valores son valores máximos** o intervalos de fusión, y se obtienen con las incertidumbres experimentales que se asocian comúnmente con este método analítico.

Tabla 4: Datos analíticos – punto de fusión (p.f.) y LC/MS: T_r significa tiempo de retención (en minutos), $[M+H]^+$ significa la masa protonada del compuesto, $[M-H]^-$ significa la masa desprotonada del compuesto, método se refiere al método usado para la (LC)MS. Para algunos compuestos, se determinó la masa exacta.

Co. n.º	TR	$[M+H]^+$	$[M-H]^-$	Método	p.f. (°C)
1	0.61	335		1	r.a.
2	0.66	335		1	n.d.
3	0.8	408		1	171.93
4	0.82	408		1	138.66
5	0.85	429		1	r.a.
6	0.87	429		1	r.a.
7	0.76	402		1	n.d.
8	0.81	402		1	n.d.
9	0.88	426		1	r.a.
10	0.86	420		1	205.8
11	0.95	429		1	n.d.
12	0.89	413		1	199.22
13	0.85	434		1	139.83
14	1.04	339		2	n.d.
15	1.78	415.0946 (-0.3mDa)		3	240.62
16	1.26	385.1284 (-0.3mDa)		3	207.05
17	1.58	412.1394 (-0.2mDa)		3	n.d.
18	1.51	406.1288 (-0.3mDa)		3	253.81
19	2.49	415	413	4	n.d.
20	2.50	415	413	4	n.d.
21	1.80	383.1498 (+0.3mDa)		3	184.20
22	1.54	---	376.1187 (+0.1mDa)	3	n.d.
23	1.51	456	454	5	165.48
24	2.05	480.1270 (+0.0mDa)		3	213.21
25	2.25	406	404	4	n.d.
26	2.25	406	404	4	n.d.
27	2.27	412	410	4	n.d.
28	2.40	383	381	4	n.d.
29	2.28	456	454	4	n.d.

Co. n.º	TR	[M+H] ⁺	[M-H] ⁻	Método	p.f. (°C)
30	2.27	456	454	4	n.d.
31	2.60	480	478	4	n.d.
32	2.62	480	478	4	n.d.
33	2.48	459	457	4	n.d.
34	2.27	412	410	4	n.d.
35	2.07	385	383	4	n.d.
36	2.06	385	383	4	n.d.
37	2.40	383	381	4	n.d.
38	2.29	378	376	4	n.d.
39	2.29	378	376	4	n.d.
40	1.90	459.0467 (+2.4mDa)		3	243.40
41	2.48	459	457	4	n.d.
NE significa no evaluado, r.a. significa rango amplio					

Rotaciones ópticas:

Las rotaciones ópticas se midieron en un polarímetro Perkin-Elmer 341 con una lámpara de sodio y se expresaron tal como se indica a continuación: $[\alpha]_D^T$ (λ , c g/100ml, disolvente, T°C).

- 5 $[\alpha]_D^T = (100\alpha) / (l \times c)$: donde l es la longitud de recorrido en dm y c es la concentración en g/100 ml para una muestra a una temperatura T (°C) y una longitud de onda λ (en nm). Si la longitud de onda de la luz utilizada es de 589 nm (la línea D del sodio), entonces podría utilizarse el símbolo D en su lugar. El signo de la rotación (+ o -) debería proporcionarse siempre. Cuando se utiliza esta ecuación, la concentración y el disolvente siempre se proporcionan entre paréntesis después de la rotación. La rotación se indica utilizando grados y no se proporcionan unidades de concentración (se asume que son g/100 mL).
- 10

Tabla 5: Datos analíticos – Valores de rotación óptica para compuestos puros en cuanto a los enantiómeros

Co. N°	α_D (°)	Longitud de onda (nm)	Concentración % p/v	Disolvente	Temp. (°C)
1	-35.82	589	0.268	DMF	20
3	-24.77	589	0.222	DMF	20
9	+99.2	589	0.375	DMF	20
10	+121	589	0.3	DMF	20
11	+70	589	0.25	DMF	20
12	+103.6	589	0.25	DMF	20
13	+80.8	589	0.25	DMF	20
19	+29.9	589	0.5	DMF	20
20	-30.4	589	0.5	DMF	20

Co. Nº	α_D (°)	Longitud de onda (nm)	Concentración % p/v	Disolvente	Temp. (°C)
25	+36.1	589	0.5	DMF	20
26	-44.7	589	0.5	DMF	20
27	+40.9	589	0.5	DMF	20
28	+35.6	589	0.5	DMF	20
29	+39.8	589	0.5	DMF	20
30	-35.0	589	0.8	DMF	20
31	+20.2	589	0.5	DMF	20
32	-17.0	589	0.5	DMF	20
33	+38.7	589	0.5	DMF	20
34	-34.7	589	0.5	DMF	20
35	-23.5	589	0.5	DMF	20
36	+18.5	589	0.5	DMF	20
37	-46.3	589	0.5	DMF	20
38	+1.5	589	0.7	MeOH	20
39	-1.0	589	0.7	MeOH	20
40	n.d.	589	0.5	DMF	20
41	-30.0	589	0.5	DMF	20

Métodos SFCMS:

Procedimiento general A para los métodos SFC-MS

La medición SFC se realizó utilizando el sistema de cromatografía Analítica de fluidos Supercríticos (SFC) compuesto por una bomba binaria para el suministro de dióxido de carbono (CO₂) y modificador, un automuestreador, una estufa para la columna con válvula de conmutación para el calentamiento de la columna desde la temperatura ambiente a 80°C, un detector de matriz de diodos equipado con una celda de flujo a alta presión que resiste hasta 400 bares. El flujo procedente de la columna se introdujo en un espectrómetro de masas (MS), el cual se configuró con una fuente de iones a presión atmosférica. Es parte del conocimiento de un experto en la materia ajustar los parámetros ajustables (por ejemplo, intervalo de barrido, tiempo de permanencia, etc.) con el fin de obtener iones que permitan la identificación del peso molecular (PM) monoisotópico nominal del compuesto. La adquisición de datos se realizó con el software adecuado.

Método 1:

Además del procedimiento general A: La separación quiral en SFC se llevó a cabo en una columna CHIRALCEL OD-H (4.6 x 250 mm) a 030 °C con un caudal de 3.0 ml/min. La fase móvil es CO₂, 25% de MeOH (que contiene iPrNH₂ al 0.2%) mantener 18 min, 15-50% de MeOH (que contiene iPrNH₂ al 0.2%) mantener durante 4.10 min.

Método 2:

Además del procedimiento general A: La separación quiral en SFC se llevó a cabo en una columna CHIRALCEL OD-H (4.6 x 250 mm) a 030 °C con un caudal de 3.0 ml/min. La fase móvil es CO₂, 35% de MeOH (que contiene iPrNH₂ al 0.2%) mantener 15 min.

Tabla 6.: Métodos SFC-MS analíticos (Caudal expresado en mL/min; temperatura de la columna (T) en °C; Presión en bares).

Método	Columna	Fase móvil	Flujo	T	Presión
3	Chiralcel OD-H 150x4.6mm 5µm Daicel	CO ₂ /EtOH(0.3% IPrNH ₂) 70/30	3	35	100
4	Chiralcel OD-H 150x4.6mm 5µm Daicel	CO ₂ /EtOH(0.3% IPrNH ₂) 60/40	3	35	100
5	Chiralcel AD-H 150x4.6mm 5µm Daicel	CO ₂ /EtOH(0.3% IPrNH ₂) 80/20	3	35	100
6	Chiralcel AD-H 150x4.6mm 5µm Daicel	CO ₂ /iPrOH(0.3% IPrNH ₂) 80/20	3	35	100

Tabla 7: Datos analíticos de SFC – R_t significa tiempo de retención (en minutos), [M+H]⁺ significa la masa protonada del compuesto, método se refiere al método utilizado para el análisis (SFC)MS de compuestos puros en cuanto a los enantiómeros.

Co. N°	TR	[M+H] ⁺	% de área UV	Método	Orden de Elución de Isómeros
3	5.74	408	100	1	A
4	10.47	408	100	1	B
7	4.58	402	100	2	A
8	8.55	402	100	2	B
19	2.30	415	100	3	A
20	3.54	415	100	3	B
25	1.97	406.	100	4	A
26	4.09	406	100	4	B
27	2.52	412	100	3	A
28	2.36	383	100	5	B
29	1.62	456	100	3	A
30	2.36	456	100	3	B
31	2.13	480	100	3	A
32	4.29	480	100	3	B
33	2.79	459	100	3	A
34	4.56	412	98.8	3	B
35	2.14	385	100	6	A
36	3.02	385	100	6	B
37	1.62	383	100	5	A
38	2.73	378	100	5	A
39	5.19	378	100	5	B
41	4.37	459	99.7	3	B

Co. N°	TR	[M+H] ⁺	% de área UV	Método	Orden de Elución de Isómeros
Orden de Elución de Isómeros: A significa primer isómero que eluye; B significa segundo isómero que eluye.					

RMN

5 Para un cierto número de compuestos, los espectros de ¹H RMN se registraron en un Bruker Avance III con un imán Ultrashield de 300 MHz, en un espectrómetro Bruker DPX-400 que funciona a 400 MHz, en un Bruker Avance I que funciona a 500 MHz, en un Bruker DPX-360 que funciona a 360 MHz o en un espectrómetro Bruker Avance 600 que funciona a 600 MHz, utilizando CLOROFORMO-*d* (cloroformo deuterado, CDCl₃) o DMSO-*d*₆ (DMSO deuterado, dimetil-*d*₆ sulfóxido) como disolvente. Los desplazamientos químicos (δ) se indican como partes por millón (ppm) respecto al tetrametilsilano (TMS) que se utilizó como patrón interno.

Tabla 7: Resultados de ¹H RMN

Co. n.º	Resultado de ¹ H NMR
1	(600 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.48 (t, <i>J</i> = 12.8 Hz, 1 H), 1.50 (s, 3 H), 1.99 - 2.05 (m, 1 H), 2.06 - 2.12 (m, 1 H), 2.25 - 2.33 (m, 1 H), 2.41 (d, <i>J</i> = 12.3 Hz, 1 H), 5.79 (s a, 2 H), 7.44 - 7.51 (m, 2 H), 7.58 - 7.65 (m, 1 H), 7.70 - 7.75 (m, 1 H), 9.11 (s, 2 H), 9.18 (s, 1 H).
2	(400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i>) δ ppm 1.50 (t, <i>J</i> = 13.1 Hz, 1 H), 1.53 - 1.57 (m, 3 H), 2.11 - 2.32 (m, 2 H), 2.42 (ddd, <i>J</i> = 16.8, 5.8, 1.5 Hz, 1 H), 2.77 (s a, 1 H), 7.43 (dt, <i>J</i> = 7.5, 1.5 Hz, 1 H), 7.49 (t, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1 H), 7.55 (dt, <i>J</i> = 7.8, 1.5 Hz, 1 H), 7.72 (t, <i>J</i> = 1.6 Hz, 1 H), 8.96 (s, 2 H), 9.20 (s, 1 H).
3	(360 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.41 - 1.50 (m, 1 H), 1.46 (s, 3 H), 2.01 - 2.14 (m, 2 H), 2.21 (d a, <i>J</i> = 12.7 Hz, 1 H), 2.29 (d, <i>J</i> = 11.5 Hz, 1 H), 4.02 (s, 3 H), 5.79 (s a, 2 H), 7.10 (d a, <i>J</i> = 7.8 Hz, 1 H), 7.29 (t, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1 H), 7.73 (t, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1 H), 7.76 (d a, <i>J</i> = 8.0 Hz, 1 H), 8.42 (d, <i>J</i> = 1.3 Hz, 1 H), 8.90 (d, <i>J</i> = 1.3 Hz, 1 H), 10.39 (s a, 1 H).
4	(360 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i>) δ ppm 1.49 (t, <i>J</i> = 13.3 Hz, 1 H), 1.53 (s, 3 H), 2.15 - 2.29 (m, 2 H), 2.41 (dd, <i>J</i> = 16.5, 5.7 Hz, 1 H), 2.64 - 2.84 (m, 1 H), 3.30 (s a, 2 H), 4.07 (s, 3 H), 7.24 (d, <i>J</i> = 7.7 Hz, 1 H), 7.36 (t, <i>J</i> = 7.9 Hz, 1 H), 7.71 (ddd, <i>J</i> = 8.0, 2.1, 1.00 Hz, 1 H), 7.78 (t, <i>J</i> = 1.9 Hz, 1 H), 8.15 (d, <i>J</i> = 1.3 Hz, 1 H), 9.03 (d, <i>J</i> = 1.3 Hz, 1 H), 9.54 (s a, 1 H).
9	(360 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.37 - 1.46 (m, 1 H), 1.50 - 1.56 (m, 3 H), 1.98 - 2.12 (m, 2 H), 2.31 (d a, <i>J</i> = 11.0 Hz, 1 H), 2.44 (d a, <i>J</i> = 12.8 Hz, 1 H), 4.02 (s, 3 H), 5.85 (s a, 2 H), 7.14 (dd, <i>J</i> = 12.0, 8.8 Hz, 1 H), 7.59 (dd, <i>J</i> = 7.6, 2.8 Hz, 1 H), 7.76 (ddd, <i>J</i> = 8.8, 4.2, 2.8 Hz, 1 H), 8.42 (d, <i>J</i> = 1.3 Hz, 1 H), 8.88 (d, <i>J</i> = 1.3 Hz, 1 H), 10.44 (s a, 1 H).
14	(500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.49 (s, 3H), 2.64 (dd, <i>J</i> = 17.0, 2.2 Hz, 1H), 3.11 - 3.21 (m, 2H), 6.26 (a, 2H), 7.30 (dd, <i>J</i> = 11.7, 8.4 Hz, 1H), 7.73 (ddd, <i>J</i> = 8.4, 4.5, 2.5 Hz, 1H), 8.06 (dd, <i>J</i> = 7.3, 2.4 Hz, 1H), 9.01 (s, 2H), 9.18 (s, 1H).
15	(400 MHz, CLOROFORMO- <i>d</i>) δ ppm 1.60 (s, 3H), 2.87 (dd, <i>J</i> = 16.6, 2.6 Hz, 1H), 3.07 - 3.16 (m, 1H), 3.21 - 3.33 (m, 1H), 4.66 (a, 2H), 7.04 (dd, <i>J</i> = 11.2, 8.9 Hz, 1H), 7.75 (dd, <i>J</i> = 6.7, 2.8 Hz, 1H), 7.86 (dd, <i>J</i> = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 8.05 (ddd, <i>J</i> = 8.8, 4.2, 3.0 Hz, 1H), 8.23 (dd, <i>J</i> = 8.4, 0.6 Hz, 1H), 8.54 (dd, <i>J</i> = 2.3, 0.5 Hz, 1H), 9.85 (a, 1H).
16	(500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆)δ ppm 1.44 (s, 3 H), 2.50 (s, 3 H), 2.61 (dd, <i>J</i> =16.9, 2.5 Hz, 1 H), 3.09 (dd, <i>J</i> =16.8, 8.7 Hz, 1 H), 3.21 - 3.34 (m, 1 H), 6.11 (s, 2 H), 7.04 (dd, <i>J</i> =11.4, 8.8 Hz, 1 H), 7.64 (ddd, <i>J</i> =9.0, 4.3, 2.9 Hz, 1 H), 8.07 (dd, <i>J</i> =6.9, 2.9 Hz, 1 H), 8.59 (s, 1 H), 10.02 (s, 1 H)
17	(500 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.63 (s a, 3 H), 2.80 (d, <i>J</i> =16.8 Hz, 1 H), 3.22 (dd, <i>J</i> =17.1, 9.0 Hz, 1 H), 3.50 (s a, 1 H), 4.02 (s, 3 H), 7.14 (dd, <i>J</i> =11.6, 9.0 Hz, 1 H), 7.33 (s a, 2 H), 7.80 (s a, 1 H), 8.14 (dd, <i>J</i> =7.2, 2.6 Hz, 1 H), 8.40 (d, <i>J</i> =1.4 Hz, 1 H), 8.88 (d, <i>J</i> =1.4 Hz, 1 H), 10.52 (s a, 1 H)
18	(400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ ppm 1.45 (s, 3 H), 2.62 (dd, <i>J</i> =16.9, 2.3 Hz, 1 H), 3.11 (dd, <i>J</i> =16.8, 8.7 Hz, 1 H), 3.23 - 3.36 (m, 1 H), 6.16 (s a, 2 H), 7.10 (dd, <i>J</i> =11.3, 8.8 Hz, 1 H), 7.72 (ddd, <i>J</i> =8.8, 4.4, 3.0 Hz, 1 H), 8.23 (dd, <i>J</i> =6.9, 2.8 Hz, 1 H), 8.26 (dd, <i>J</i> =8.1, 0.9 Hz, 1 H), 8.57 (dd, <i>J</i> =8.2, 2.0 Hz, 1 H), 9.18 (dd, <i>J</i> =2.1, 0.9 Hz, 1 H), 10.75 (s a, 1 H)

Co. n.º	Resultado de ¹ H NMR
21	1.45 (s, 3 H), 2.62 (dd, J=16.9, 3.0 Hz, 1 H), 3.06 (dd, J=16.8, 8.7 Hz, 1 H), 3.18 - 3.32 (m, 1 H), 3.86 (s, 3 H), 6.07 (s a, 2 H), 6.72 (dd, J=7.9, 5.1 Hz, 1 H), 6.96 (dd, J=11.6, 8.8 Hz, 1 H), 7.17 (dd, J=7.9, 1.4 Hz, 1 H), 7.68 (dd, J=4.9, 1.4 Hz, 1 H), 7.82 (dd, J=6.9, 2.8 Hz, 1 H), 7.83 - 7.89 (m, 1 H), 8.01 (s a, 1 H).
22	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ ppm 1.61 (d, J=0.9 Hz, 3 H), 2.81 (dd, J=16.6, 2.6 Hz, 1 H), 3.10 (dd, J=16.6, 8.6 Hz, 1 H), 3.20 - 3.33 (m, 1 H), 4.29 (s a, 2 H), 6.76 (dd, J=7.6, 5.1 Hz, 1 H), 7.04 (s a, 1 H), 7.02 (dd, J=11.3, 8.8 Hz, 1 H), 7.61 (dd, J=6.5, 2.8 Hz, 1 H), 7.76 (dd, J=7.6, 2.1 Hz, 1 H), 7.83 (ddd, J=8.8, 4.3, 2.9 Hz, 1 H), 8.36 (dd, J=4.9, 2.1 Hz, 1 H)
23	(500 MHz, DMSO- d ₆) δ ppm 1.45 (s, 3 H), 2.62 (dd, J=16.8, 2.4 Hz, 1 H), 3.09 (dd, J=17.2, 9.1 Hz, 1 H), 3.22 - 3.35 (m, 1 H), 3.31 (s, 3 H), 3.69 - 3.73 (m, 2 H), 4.49 - 4.54 (m, 2 H), 6.14 (s a, 2 H), 7.07 (dd, J=11.4, 8.7 Hz, 1 H), 7.68 (ddd, J=8.6, 4.2, 2.9 Hz, 1 H), 8.16 (dd, J=6.9, 2.8 Hz, 1 H), 8.40 (d, J=1.2 Hz, 1 H), 8.84 (d, J=1.4 Hz, 1 H), 10.41 (s a, 1 H)
24	(400 MHz, DMSO- d ₆) δ ppm 1.45 (s, 3 H), 2.62 (dd, J=16.9, 2.3 Hz, 1 H), 3.10 (dd, J=16.8, 8.7 Hz, 1 H), 3.22 - 3.36 (m, 1 H), 5.16 (c, J=8.8 Hz, 2 H), 6.14 (s a, 2 H), 7.08 (dd, J=11.6, 8.8 Hz, 1 H), 7.69 (ddd, J=9.0, 4.4, 2.8 Hz, 1 H), 8.20 (dd, J=7.1, 2.7 Hz, 1 H), 8.60 (d, J=1.4 Hz, 1 H), 8.90 (d, J=1.4 Hz, 1 H), 10.52 (s a, 1 H)
30	(500 MHz, DMSO- d ₆) δ ppm 1.46 (s, 3 H), 2.63 (dd, J=16.8, 2.3 Hz, 1 H), 3.10 (dd, J=16.8, 8.7 Hz, 1 H), 3.31 (s, 3 H), 3.24 - 3.37 (m, 1 H), 3.69 - 3.75 (m, 2 H), 4.50 - 4.56 (m, 2 H), 6.23 (s a, 2 H), 7.08 (dd, J=11.6, 8.7 Hz, 1 H), 7.66 - 7.72 (m, 1 H), 8.19 (dd, J=7.1, 2.7 Hz, 1 H), 8.42 (d, J=1.4 Hz, 1 H), 8.85 (d, J=1.2 Hz, 1 H), 10.42 (s a, 1 H)
33	(500 MHz, DMSO- d ₆) δ ppm 1.45 (s, 3H), 2.62 (dd, J=16.8, 2.3 Hz, 1H), 3.10 (dd a, J=16.9, 8.5 Hz, 1H), 3.19-3.31 (m, 1H), 6.15 (s a, 2H), 7.08 (dd, J=11.4, 8.8 Hz, 1H), 7.67-7.75 (m, 1H), 8.06 (d, J=8.1 Hz, 1H), 8.18 (dd, J=6.9, 2.6 Hz, 1H), 8.32 (dd, J=8.4, 2.3 Hz, 1H), 8.84 (d, J=1.7 Hz, 1H), 10.56 (s, 1H)
38	¹ H RMN (400MHz, DMSO-d ₆) δ = 9.16 (s, 1H), 8.31 (dd, J=1.8, 4.9 Hz, 1H), 8.05 (dd, J=2.1, 7.6 Hz, 1H), 7.75 (dd, J=3.0, 6.9 Hz, 1H), 7.49 (td, J=4.3, 7.3 Hz, 1H), 7.01 (dd, J=8.8, 11.3 Hz, 1H), 6.87 (dd, J=4.9, 7.6 Hz, 1H), 6.09 (s, 2H), 3.33 - 3.21 (m, 1H), 3.10 (dd, J=8.7, 16.8 Hz, 1H), 2.60 (dd a, J=2.5, 16.9 Hz, 1H), 1.44 (s, 3H).
40	¹ H RMN (500MHz, DMSO-d ₆) δ = 10.56 (s, 1H), 8.84 (d, J=1.7 Hz, 1H), 8.32 (dd, J=2.3, 8.4 Hz, 1H), 8.18 (dd, J=2.6, 6.9 Hz, 1H), 8.06 (d, J=8.1 Hz, 1H), 7.75 - 7.67 (m, 1H), 7.08 (dd, J=8.8, 11.4 Hz, 1H), 6.15 (s a, 2H), 3.31 - 3.19 (m, 1H), 3.10 (dd a, J=8.5, 16.9 Hz, 1H), 2.62 (dd, J=2.3, 16.8 Hz, 1H), 1.45 (s, 3H)

D. Ejemplos farmacológicos

Los compuestos que se proporcionan en la presente invención son inhibidores de la enzima 1 que escinde APP por el sitio beta (BACE1). Se piensa que la inhibición de BACE1, una proteasa aspártica, es relevante para el tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer (EA). Se cree que la producción y la acumulación de péptidos beta-amiloides (Abeta) a partir de la proteína precursora de beta-amiloides (APP, por sus siglas en inglés) son un factor clave para la aparición y el avance de la EA. El Abeta se produce a partir de la proteína precursora de amiloide (APP) mediante la escisión secuencial en el extremo N- y C-terminal del dominio Abeta por acción de la beta-secretasa y la gamma-secretasa, respectivamente.

Cabe esperar que los compuestos de fórmula (I) ejerzan su efecto sustancialmente sobre BACE1 en virtud de su capacidad para inhibir la actividad enzimática. En la Tabla 8 y en la Tabla 9 se muestra el comportamiento de este tipo de inhibidores evaluados en un ensayo bioquímico basado en la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) y un ensayo αLisa celular en células SKNBE2, los cuales se describen más adelante y son adecuados para identificar este tipo de compuestos y, más particularmente, los compuestos de acuerdo con la fórmula (I).

Ensayo bioquímico basado en FRET de BACE1

Este ensayo es un ensayo basado en el ensayo de la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET). El sustrato para este ensayo es un APP derivado de un péptido de 13 aminoácidos que contiene la mutación Lys-Met/Asn-Leu 'seca' del sitio de escisión de beta secretasa de la proteína precursora amiloide (APP). Este sustrato también contiene dos fluoróforos: el ácido (7-metoxicoumarin-4-il)acético (Mca) es un donante fluorescente con longitud de onda de excitación a 320 nm y de emisión a 405 nm, y el 2,4-dinitrofenilo (Dnp) es un

aceptor extintor de la fluorescencia patentado. La distancia entre estos dos grupos se ha seleccionado de modo que al someterlos a excitación con luz, la energía fluorescente del donante sea extinguida de forma significativa por el aceptador, mediante la transferencia de energía por resonancia. Tras la escisión por acción de BACE1, el fluoróforo Mca se separa del grupo extintor de la fluorescencia Dnp, lo cual restaura la producción de fluorescencia total del donante. El incremento de la fluorescencia está relacionado de forma lineal con la tasa de proteólisis.

Método 1

Resumiendo, en un formato de 384 pocillos se incubaba la proteína BACE1 recombinante a una concentración final de 1 µg/ml durante 120 min a temperatura ambiente con 10 µM de sustrato en tampón de incubación (tampón citrato 40 mM, pH 5.0, 0.04% de PEG, 4% de DMSO) en ausencia o presencia de compuesto. A continuación, la cantidad de proteólisis se mide directamente midiendo la fluorescencia a T=0 y T=120 (excitación a 320 nm y emisión a 405 nm). Los resultados se expresan en RFU (unidades de fluorescencia relativa), como diferencia entre T120 y T0.

Se ajusta una curva de ajuste óptimo mediante un método de mínimos cuadrados a la representación del % de controlmín respecto a la concentración de compuesto. A partir de esta, se puede obtener un valor de CI₅₀ (concentración inhibitoria que provoca un 50% de inhibición de la actividad).

LC = mediana de los valores del control bajo

= control bajo: reacción sin enzima

HC = mediana de los valores del control alto

= control alto: reacción con enzima

% de efecto = $100 - [(muestra - LC) / (HC - LC) * 100]$

% de control = $(muestra / HC) * 100$

% de controlmín = $(muestra - LC) / (HC - LC) * 100$

Método 2

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

Una curva de ajuste óptimo se ajusta mediante un método de mínimos cuadrados a la representación del % de controlmín respecto a la concentración de compuesto. A partir de esta, se puede obtener un valor de CI₅₀ (concentración inhibitoria que provoca un 50% de inhibición de la actividad).

LC = mediana de los valores del control bajo

= control bajo: reacción sin enzima

HC = mediana de los valores del control alto

= control alto: reacción con enzima

% de efecto = $100 - [(muestra - LC) / (HC - LC) * 100]$

% de control = $(muestra / HC) * 100$

% de controlmín = $(muestra - LC) / (HC - LC) * 100$

Los siguientes compuestos ilustrativos se evaluaron esencialmente tal como se ha descrito anteriormente y exhibieron la siguiente actividad:

Tabla 8:

Co. Nº	Ensayo basado en FRET Bioquímico – Método 1 pCl₅₀	Ensayo basado en FRET Bioquímico – Método 2 pCl₅₀
1	5.83	5.99
2	4.74	<5
3	7.5	7.6
4	<4.52	<5
5	7.58	7.74
6	5.31	5.79
7	7.49	7.69
8	5.01	5.17
9	7.41	8.12
10	7.44	8.44
11	7.51	8.58
12	7.29	7.81
13	7.41	8.21
14	n.e.	<5
15	n.e.	6.31
16	n.e.	5.94
17	n.e.	6.06
18	n.e.	6.42
19	n.e.	6.52
20	n.e.	<5
21	n.e.	5.62
22	n.e.	5.43
23	n.e.	6.11
24	n.e.	6.10
25	n.e.	6.74
26	n.e.	<5
27	n.e.	6.41
28	n.e.	5.92
29	n.e.	6.35
30	n.e.	<5

Co. Nº	Ensayo basado en FRET Bioquímico – Método 1 pCl ₅₀	Ensayo basado en FRET Bioquímico – Método 2 pCl ₅₀
31	n.e.	6.34
32	n.e.	<5
33	n.e.	6.64
34	n.e.	<5
35	n.e.	<5
36	n.e.	5.99
37	n.e.	<5
38	n.e.	<5
39	n.e.	5.53
40	n.e.	6.49
41	n.e.	<5
n.t. significa no sometido a prueba		

Ensayo αLisa celular en células SKNBE2

En dos ensayos αLisa, se cuantifican los niveles de Abeta total y Abeta 1-42 producidos y secretados al medio de células SKNBE2 de neuroblastoma humano. El ensayo se basó en las SKNBE2 de neuroblastoma humano que expresan la proteína precursora de amiloide natural (hAPP695). Los compuestos se diluyeron y añadieron a estas células, se incubaron durante 18 horas y a continuación se realizaron mediciones de Abeta 1-42 y Abeta total. Abeta total y Abeta 1-42 se miden mediante αlisa de tipo sándwich. αlisa es un ensayo de tipo sándwich que emplea un anticuerpo AbN/25 biotinilado adherido a microesferas recubiertas de estreptavidina y microesferas aceptoras conjugadas con el anticuerpo Ab4G8 o cAb42/26 para detectar Abeta total y Abeta 1-42 respectivamente. En presencia de Abeta total o Abeta 1-42, las microesferas llegan a estar muy próximas. La excitación de las microesferas donantes provoca la liberación de moléculas de oxígeno singlete que desencadenan una cascada de transferencia de energía en las microesferas aceptoras, lo cual provoca la emisión de luz. La emisión de luz se mide después de incubar durante 1 hora (excitación a 650 nm y emisión a 615 nm).

Una curva de ajuste óptimo se ajusta mediante un método de mínimos cuadrados a la representación del % de controlmín respecto a la concentración de compuesto. A partir de esta, se puede obtener un valor de Cl₅₀ (concentración inhibitoria que provoca un 50% de inhibición de la actividad).

LC = mediana de los valores del control bajo

= Bajo control: células pre-incubadas sin compuesto, sin anticuerpo (Ab) biotinilado en el αLisa

HC = mediana de los valores del control alto

= control alto: células preincubadas sin compuesto

% de efecto = $100 - [(muestra - LC) / (HC - LC) * 100]$

% de control = $(muestra / HC) * 100$

% de controlmín = $(muestra - LC) / (HC - LC) * 100$

Los siguientes compuestos ilustrativos se evaluaron esencialmente tal como se ha descrito anteriormente y exhibieron la siguiente actividad:

Tabla 9:

Co. N°	Ensayo αLisa celular en células SKNBE2	Ensayo αLisa celular en células SKNBE2
	Abeta 42 pCl₅₀	Abeta total pCl₅₀
1	6.53	6.58
2	5.37	5.4
3	8.02	8.06
4	5.63	5.71
5	7.62	7.68
6	5.7	5.73
7	7.62	7.62
8	5.64	5.6
9	8.28	8.23
10	8.37	8.42
11	8.63	8.7
12	8.12	8.11
13	7.65	7.62
14	5.05	5.08
15	7	6.89
16	6.60	6.62
17	6.77	6.75
18	7.17	7.19
19	7.21	7.09
20	5.05	5.08
21	6.41	n.e.
22	6.11	n.e.
23	6.46	n.e.
24	6.38	n.e.
25	7.22	n.e.
26	<5.05	n.e.
27	7.00	n.e.
28	6.46	n.e.
29	6.82	n.e.
30	<5.05	n.e.

Co. Nº	Ensayo αLisa celular en células SKNBE2 Abeta 42 pCI ₅₀	Ensayo αLisa celular en células SKNBE2 Abeta total pCI ₅₀
31	6.59	n.e.
32	<5.05	n.e.
33	7.44	n.e.
n.t. significa no sometido a prueba		

Ensayo bioquímico basado en FRET de BACE2

Este ensayo es un ensayo basado en el ensayo de la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET). El sustrato para este ensayo contiene la mutación Lys-Met/Asn-Leu 'sueca' del sitio de escisión de beta secretasa de la proteína precursora amiloide (APP). Este sustrato también contiene dos fluoróforos: el ácido (7-metoxicoumarin-4-il)acético (Mca) es un donante fluorescente con longitud de onda de excitación a 320 nm y de emisión a 405 nm, y el 2,4-dinitrofenilo (Dnp) es un aceptor extintor de la fluorescencia patentado. La distancia entre estos dos grupos se ha seleccionado de modo que al someterlos a excitación con luz, la energía fluorescente del donante sea extinguida de forma significativa por el aceptor, mediante la transferencia de energía por resonancia. Tras la escisión por la acción de la beta secretasa, el fluoróforo Mca se separa del grupo extintor de la fluorescencia Dnp, lo cual restaura la producción de fluorescencia total del donante. El incremento de la fluorescencia está relacionado de forma lineal con la tasa de proteólisis.

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

Una curva de ajuste óptimo se ajusta mediante un método de mínimos cuadrados a la representación del % de controlmín respecto a la concentración de compuesto. A partir de esta, se puede obtener un valor de CI₅₀ (concentración inhibitoria que provoca un 50% de inhibición de la actividad).

LC = mediana de los valores del control bajo

= control bajo: reacción sin enzima

HC = mediana de los valores del control alto

= control alto: reacción con enzima

% de efecto = $100 - [(muestra - LC) / (HC - LC) * 100]$

% de control = $(muestra / HC) * 100$

% de controlmín = $(muestra - LC) / (HC - LC) * 100$

Los siguientes compuestos ilustrativos se evaluaron esencialmente tal como se ha descrito anteriormente y exhibieron la siguiente actividad:

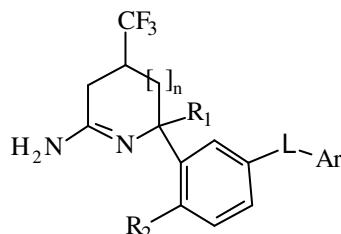
Tabla 10

Co. n.º	Ensayo bioquímico basado en FRET pCI ₅₀
1	4.
2	<5
3	6.47

Co. n.º	Ensayo bioquímico basado en FRET
	pCl ₅₀
4	<5
5	7.68
6	5.94
7	6.88
8	<5
9	7.17
10	7.59
11	8.39
12	7.97
13	8.51
14	<5
15	6.04
16	6.27
17	<5
18	5.66
19	6.16
20	<5
21	6.03
22	,5
23	<5
24	<5
25	5.97
26	<5
27	5.23
28	6.21
29	<4.7
30	<4.7
31	<4.7
32	<4.7
33	6.29
n.t. significa no sometido a prueba	

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (I)



o un tautómero o una forma estereoisomérica del mismo, en donde

5 n es 0 o 1;

R¹ es hidrógeno, alquilo C₁₋₃, ciclopropilo, mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃);

R² es hidrógeno o flúor;

L es un enlace o -NHCO-;

Ar es homoarilo o heteroarilo;

10 donde homoarilo es fenilo o fenilo sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados del grupo constituido por halo, ciano, alquilo C₁₋₃, alquilo C₁₋₃, mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃), mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃); y

15 en donde heteroarilo se selecciona del grupo que consiste en piridilo, pirimidilo, pirazilo, piridazilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, pirazolilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo y oxadiazolilo, cada uno opcionalmente sustituido con uno, dos o tres sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, ciano, alquilo C₁₋₃, alquilo C₁₋₃, alquilo C₁₋₃, mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃), mono- y polihalo(alquilo C₁₋₃) y (alquilo C₁₋₃)-(alquilo C₁₋₃);

o una de sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R¹ es metilo.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R² es hidrógeno.

20 4. El compuesto de la reivindicación 1, en donde L es -NH-C(=O)-.

5. El compuesto de la reivindicación 1, en donde Ar es piridinilo o pirazinilo sustituido con uno o dos átomos de halógeno o alquilo C₁₋₃.

6. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R¹ es metilo, R² es hidrógeno,

L es -NH-C(=O)- y Ar es piridinilo o pirazinilo sustituido con uno o dos átomos de halógeno o alquilo C₁₋₃.

25 7. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R¹ es metilo, R² es hidrógeno,

L es -NH-C(=O)- y Ar es 5-metoxipirazin-2-ilo, 5-bromo-piridin-2-ilo, 5-cloro-3-fluoro-piridin-2-ilo o 5-ciano-piridin-2-ilo.

8. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R² es fluoro.

9. El compuesto de la reivindicación 1, en donde n es 1.

10. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R¹ es metilo, R² es fluoro, n es 1,

30 L es -NH-C(=O)- y Ar es 5-metoxipirazin-2-ilo, 5-cloro-piridin-2-ilo, 5-Fluoro-piridin-2-ilo, 5-ciano-piridin-2-ilo, 5-cloro-3-fluoro-piridin-2-ilo o 1-difluorometil-pirazol-3-ilo.

11. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable.

35 12. Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica, que comprende mezclar un portador farmacéuticamente aceptable con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1.

- 5 **13.** Un compuesto según se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 para uso en el tratamiento, prevención o profilaxis de la enfermedad de Alzheimer (EA), defecto cognitivo leve, senilidad, demencia, demencia con cuerpos de Lewy, síndrome de Down, demencia asociada a apoplejía, demencia asociada con la enfermedad de Parkinson, demencia asociada con beta-amiloide, degeneración macular relacionada con la edad, diabetes tipo 2 o trastornos metabólicos.