

**2-AMINO-6- (DIFLUOROMETIL) - 5,5-DIFLUORO-6-FENIL-  
3,4,5,6-TETRAHIDROPIRIDINAS COMO INHIBIDORES DE BACE1**

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona compuestos que actúan como inhibidores de BACE1. Algunos aspectos independientes de la invención se refieren a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y usos de los compuestos para tratar trastornos neurodegenerativos o cognitivos.

10 TÉCNICA ANTERIOR

La demencia es un síndrome clínico caracterizado por déficits en múltiples áreas de la cognición que no se pueden explicar por el envejecimiento normal, un deterioro notable de las funciones y una ausencia del síndrome confusional. Además, suelen observarse síntomas neuropsiquiátricos y signos neurológicos focales. La demencia se clasifica además según su etiología. La enfermedad de Alzheimer (AD, por sus siglas en inglés) es la causa más común de demencia, seguida por la demencia vascular y de AD mixta, demencia con cuerpos de Lewy (DLB, por sus siglas en inglés) y demencia frontotemporal. Los depósitos de  $\beta$ -amiloide y los ovillos neurofibrilares se consideran las características patológicas principales asociadas con la AD que se caracteriza por la pérdida de

memoria, capacidad intelectual, razonamiento, juicio y orientación. También se ven afectadas, según avanza la enfermedad, las capacidades motoras, sensoriales y lingüísticas hasta que ocurre un deterioro global de múltiples funciones cognitivas. Los depósitos de  $\beta$ -amiloide son predominantemente un agregado del péptido A $\beta$  el cual a su vez es un producto de la proteólisis de la proteína precursora del amiloide (APP, por sus siglas en inglés) como parte de la ruta  $\beta$ -amiloidogénica. El péptido A $\beta$  se produce a partir de la escisión C-terminal de APP por parte de una o más  $\gamma$ -secretasas y la escisión N-terminal por parte de la  $\beta$ -secretasa 1 (BACE1) también conocida como aspartil proteasa 2. La actividad de BACE1 se correlaciona directamente con la generación del péptido A $\beta$  a partir de APP.

Los estudios indican que la inhibición de BACE1 impide la producción del péptido A $\beta$ . Además, BACE1 se ubica conjuntamente con su sustrato APP en los compartimientos de Golgi y endocíticos (Willem M, et al. *Semin.Cell Dev. Biol*, 2009, 20, 175-182). Estudios de inactivación génica en ratones han demostrado la ausencia de formación del péptido amiloide mientras los animales están sanos y son fértiles (Ohno M, et al. *Neurobiol. Dis.*, 2007, 26, 134-145). La ablación genética de BACE1 en ratones que sobreexpresan APP

ha demostrado la ausencia de la formación de placas y la recuperación de los déficits cognitivos (Ohno M, et al. *Neuron*; 2004, 41, 27-33). Los niveles de BACE1 están elevados en los cerebros de pacientes con AD esporádica (Hampel y Shen, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2009, 69, 8-12).

Estos hallazgos convergentes indican que la inhibición de BACE1 puede ser una diana terapéutica para el tratamiento de la AD, así como también de trastornos para los cuales es beneficiosa una reducción de los depósitos de A $\beta$ .

AstraZeneca anunció el descubrimiento de AZD3839, un potente inhibidor de BACE1, candidato clínico para el tratamiento de la AD (Jeppsson, F., et al. *J. Biol. Chem.*, 2012, 287, 41245-41257) en octubre de 2012. Los esfuerzos que condujeron al descubrimiento de AZD3839 se describieron con más detalle en Ginman, T., et al. *J. Med. Chem.*, 2013, 56, 4181-4205. La publicación de Ginman describe los inconvenientes que hubo que superar con relación al descubrimiento e identificación de AZD3839. Estos inconvenientes se relacionaron con la deficiente penetración en la barrera hematoencefálica y la salida mediada por la glicoproteína P de los compuestos, lo que resultó en una falta de exposición del cerebro.

El manuscrito de Ginman planteó la hipótesis de que las diferencias en la exposición del cerebro se deberían en gran medida a las estructuras nucleares y se proporcionaron datos sobre la Relación Actividad Estructura en los que se indicaron las propiedades *in vitro* de los compuestos presentados en cuatro tablas según los subtipos nucleares. En la tabla 4 se describen una serie de compuestos que contienen amidina que se consideraron interesantes desde el punto de vista de la actividad. Sin embargo, los datos sugieren que el núcleo que contiene amidina no exhibió un perfil de permeabilidad de la barrera hematoencefálica favorable.

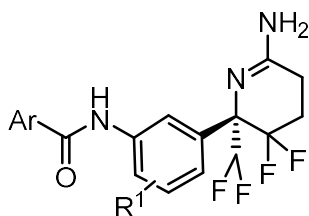
Los investigadores de Hoffmann-La Roche y Siena Biotech también publicaron el descubrimiento de compuestos que contienen amidina (Woltering, T. J., et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013, 23, 4239-4243). Se descubrió que estos compuestos (compuestos 17 y 18 en el documento) no tienen ningún efecto *in vivo* (falta de reducción de A $\beta$ 40 en el cerebro en ratones no modificados).

En contraste con los hallazgos de Ginman, et al. y Woltering, T. J., et al., los inventores han descubierto una serie de compuestos de amidina que penetran en el cerebro. Por lo tanto, la presente invención se refiere a compuestos novedosos que tienen actividad inhibidora de

BACE1, a su preparación, a su uso médico y a medicamentos que los comprenden.

#### COMPENDIO DE LA INVENCION

Un objetivo de la presente invención es proporcionar  
5 compuestos que inhiban BACE1. Por consiguiente, la presente invención se refiere a compuestos de Fórmula I.



Fórmula I

donde Ar se selecciona a partir del grupo constituido por fenilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo, imidazolilo, pirazolilo, tiazolilo, oxazolilo, isoxazolilo y donde el Ar  
15 está sustituido opcionalmente con uno o más sustituyentes seleccionados entre halógeno, CN, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, fluoroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>; y

R<sup>1</sup> es hidrógeno, halógeno, fluoroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> o alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>;

o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

En una realización, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de estos para su uso en terapia.

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un portador farmacéuticamente aceptable.

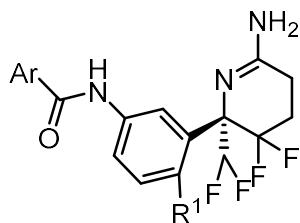
5           En una realización, la invención se refiere al uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo.

10           En una realización, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este para su uso en un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo.

15           En una realización, la presente invención proporciona un método para tratar un trastorno neurodegenerativo o cognitivo que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente que lo necesite.

20           A continuación se proporcionan realizaciones adicionales de la invención:

En una realización, el compuesto es de Fórmula Ia



5           Fórmula Ia;

o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

En una realización, R<sup>1</sup> es F o H, especialmente F.

En una realización, Ar está sustituido opcionalmente  
con uno o más F, Cl, BR, CN, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>, fluoroalquilo  
10 C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub> o alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>.

En una realización, Ar es fenilo sustituido  
opcionalmente.

En una realización, Ar es piridilo sustituido  
opcionalmente.

15           En una realización, Ar es pirimidilo sustituido  
opcionalmente.

En una realización, Ar es pirazinilo sustituido  
opcionalmente.

20           En una realización, Ar es imidazolilo sustituido  
opcionalmente.

En una realización, Ar es pirazolilo sustituido  
opcionalmente.

En una realización, Ar es tiazolilo sustituido  
opcionalmente.

En una realización, Ar es oxazolilo sustituido opcionalmente.

En una realización, Ar es isoxazolilo sustituido opcionalmente.

5 En una realización, el compuesto se selecciona a partir del grupo constituido por:

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-cloropicolinamida

10 (S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-fluoropicolinamida

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-  
15 metoxipirazino-2-carboxamida

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-2-metiloxazol-4-carboxamida

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-  
20 metoxipicolinamida

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-(difluorometil)pirazino-2-carboxamida

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-  
2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-  
cianopicolinamida

5 (S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-  
2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-4-  
metiltiazol-2-carboxamida

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-  
2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-  
metoxipirimidino-2-carboxamida

10 (S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-  
2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-metoksi-3-  
metilpirazino-2-carboxamida

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-  
2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-ciano-3-  
15 metilpicolinamida

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-  
2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-  
bromopicolinamida

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-  
20 2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-(metoksi-  
d3)picolinamida

(S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-  
2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-(metoksi-  
d3)pirazino-2-carboxamida

o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización independiente se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la lista anterior y un portador farmacéuticamente aceptable.

5 Otra realización se refiere a un método para tratar un trastorno neurodegenerativo o cognitivo que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la lista anterior.

10 Otra realización más, se refiere a un uso de un compuesto de la lista anterior en la elaboración de un medicamento para tratar un trastorno neurodegenerativo o cognitivo.

Una realización es un compuesto de la lista anterior para su uso en la terapia.

15 Otra realización más, se refiere a un compuesto de la lista anterior para su uso en el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo.

#### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

20 La presente invención se basa en el descubrimiento de que los compuestos de Fórmula I son inhibidores de BACE1 y, como tales, son útiles para el tratamiento de trastornos relacionados. Ciertos aspectos de la invención se explican con mayor detalle a continuación, pero no se pretende que esta descripción sea un catálogo detallado de todas las

formas diferentes en las que puede implementarse la invención, ni de todas las características que pueden añadirse a la presente invención. Así pues, la siguiente memoria descriptiva pretende ilustrar algunas realizaciones de la invención y no especificar exhaustivamente todos los cambios, combinaciones y variaciones de estas.

Tal como se utiliza en la presente, la expresión "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene de uno a seis átomos de carbono inclusive. Los ejemplos de alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> incluyen, sin carácter limitante, metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-butilo, 2-metil-2-propilo, 2-metil-1-propilo, *n*-pentilo y *n*-hexilo. De manera similar, la expresión "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>" se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene de uno a tres átomos de carbono, inclusive. Los ejemplos de tales sustituyentes incluyen, sin carácter limitante, metilo, etilo y *n*-propilo.

Del mismo modo, la expresión "alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" se refiere a un grupo alcoxi saturado de cadena lineal o ramificada que tiene de uno a seis átomos de carbono, inclusive, con la valencia abierta en el oxígeno. Los ejemplos de alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> incluyen, sin carácter limitante, metoxi, etoxi, *n*-

butoxi, *t*-butoxi y *n*-hexiloxi. El "alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" está sustituido opcionalmente con uno o más átomos de flúor.

Tal como se utiliza en la presente, la expresión "fluoroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene de uno a seis átomos de carbono, inclusive, sustituidos con uno o más átomos de flúor. Los ejemplos de fluoroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> incluyen, sin carácter limitante, trifluorometilo, pentafluoroetilo, 1-fluoroetilo, monofluorometilo, difluorometilo, 1,2-difluoroetilo y 3,4 difluorohexilo. De manera similar, la expresión "fluoroalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>3</sub>" se refiere a un hidrocarburo saturado de cadena lineal o ramificada que tiene de uno a tres átomos de carbono, inclusive, sustituidos con uno o más átomos de flúor por átomo de carbono.

El término "halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.

La expresión "alquenilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>" se refiere a un grupo alquenilo lineal o ramificado que tiene de dos a seis átomos de carbono y un doble enlace que incluye, sin carácter limitante, etenilo, propenilo y butenilo. La expresión "alquinilo C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>" se referirá a un grupo alquinilo lineal o ramificado que tiene de dos a seis átomos de

carbono y un triple enlace que incluye, sin carácter limitante, etinilo, propinilo y butinilo.

5 Tal como se utiliza en la presente, la frase "cantidad eficaz", cuando se aplica a un compuesto de la invención, pretende denotar una cantidad suficiente para provocar un efecto biológico pretendido. La frase "cantidad terapéuticamente efectiva", cuando se aplica a un compuesto de la invención, pretende denotar una cantidad del compuesto que es suficiente para mejorar, paliar,  
10 estabilizar, anular, ralentizar o retrasar el avance de un trastorno o estado patológico o de un síntoma del trastorno o enfermedad. En una realización, el método de la presente invención proporciona la administración de combinaciones de compuestos. En estos casos, la "cantidad eficaz" es la  
15 cantidad de un compuesto de la presente invención en la combinación que es suficiente para provocar el efecto biológico pretendido.

Los términos "tratamiento" o "tratar", tal como se utilizan en la presente, se refieren a mejorar o anular el  
20 avance o la gravedad de una enfermedad o trastorno, o mejorar o anular uno o más síntomas o efectos secundarios de dicha enfermedad o trastorno. Los términos "tratamiento" o "tratar", tal como se utilizan en la presente, también se refieren a inhibir o bloquear, como retardar, detener,

contener, impedir u obstaculizar, el avance de un sistema, afección o el estado de la enfermedad o trastorno. A los efectos de esta invención, los términos "tratamiento" o "tratar" se refieren, además, a una estrategia para obtener  
5 resultados clínicos beneficiosos o deseados, en donde los "resultados clínicos beneficiosos o deseados" incluyen, sin carácter limitante, el alivio de un síntoma, disminución del alcance de un trastorno o enfermedad, estado de la enfermedad o trastorno estabilizado (es decir, que no empeora), retraso o ralentización de un estado de la  
10 enfermedad o trastorno, mejoría o paliación de un estado de la enfermedad o trastorno y remisión de una enfermedad o trastorno, ya sea parcial o total.

La presente invención se basa en el descubrimiento de  
15 que los compuestos de Fórmula I son inhibidores de BACE1 y, como tales, son útiles para el tratamiento de trastornos en los cuales las características patológicas comprenden depósitos de  $\beta$ -amiloide y ovillos neurofibrilares, tales como los trastornos neurodegenerativos o cognitivos.

20 Los compuestos de la presente invención, tal como se ha discutido anteriormente, se espera que sean útiles en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer debido a sus efectos sobre los depósitos de  $\beta$ -amiloide y ovillos neurofibrilares. Esto incluye la enfermedad de Alzheimer

familiar donde los pacientes portan mutaciones en genes  
específicos íntimamente relacionados con la producción del  
péptido A $\beta$ . Sin embargo, es importante destacar que los  
agregados del péptido A $\beta$  no se limitan a la enfermedad de  
5 Alzheimer familiar sino que es una característica  
patofisiológica importante de la enfermedad de Alzheimer  
esporádica más común [*Mol Cell Neurosci*, 66, 3-11, 2015].

También se cree que los compuestos de la presente  
invención son útiles en el tratamiento de la etapa inicial  
10 de la enfermedad de Alzheimer, es decir, etapas patológicas  
donde los cambios biológicos y estructurales han comenzado  
pero las manifestaciones clínicas de la enfermedad aún no  
se han vuelto evidentes o todavía no se han desarrollado  
completamente. De hecho, la etapa inicial de la enfermedad  
15 de Alzheimer podrá comenzar años antes de que se manifieste  
cualquier manifestación clínica de la enfermedad. La etapa  
inicial de la enfermedad de Alzheimer incluye la enfermedad  
de Alzheimer prodrómica, la enfermedad de Alzheimer  
preclínica y el deterioro cognitivo leve. Aunque el  
20 deterioro cognitivo leve podrá no estar relacionado con la  
enfermedad de Alzheimer, a menudo es una etapa de  
transición a la enfermedad de Alzheimer o está debida a la  
enfermedad de Alzheimer. La enfermedad de Alzheimer  
preclínica y la prodrómica son etapas asintomáticas y,

normalmente, se diagnostican por la presencia de biomarcadores relacionados con la enfermedad de Alzheimer. En este contexto, se cree que los compuestos de la presente invención son útiles para ralentizar el avance de la etapa inicial de la enfermedad de Alzheimer, tal como del deterioro cognitivo leve a la enfermedad de Alzheimer. También se cree que los compuestos de la presente invención son útiles en el tratamiento de la pérdida de memoria, déficits de atención y demencia asociados con la enfermedad de Alzheimer.

Otras enfermedades, además del progreso de la enfermedad de Alzheimer, se caracterizan por los depósitos de  $\beta$ -amiloide y ovillos neurofibrilares. Aquí se incluye, p. ej., la trisomía 21 también conocida como síndrome de Down. Los pacientes que padecen síndrome de Down tienen un cromosoma 21 extra el cual contiene el gen para la proteína precursora del amiloide (APP). El cromosoma 21 extra conduce a la sobreexpresión de APP, la cual conduce a un aumento de los niveles del péptido  $A\beta$  el cual, en última instancia, provoca el notable incremento del riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer que se ha observado en los pacientes con síndrome de Down [*Alzheimer's & Dementia*, 11, 700-709, 201]. La angiopatía amiloidea cerebral también se caracteriza por depósitos de  $\beta$ -amiloide

y ovillos neurofibrilares en los vasos sanguíneos del sistema nervioso central [*Pharmacol Reports*, 67, 195-203, 2015] y como tal se espera que se pueda tratar con los compuestos de la presente invención.

5           En una realización, la presente invención proporciona un método para tratar una enfermedad seleccionada entre enfermedad de Alzheimer (familiar o esporádica), enfermedad de Alzheimer preclínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica, deterioro cognitivo leve, síndrome de Down y  
10           angiopatía amiloidea cerebral, comprendiendo el método la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este a un paciente que lo necesite.

          La presente invención proporciona además un método  
15           para inhibir BACE1 en un paciente que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

          La presente invención también proporciona un método  
20           para inhibir la escisión mediada por la  $\beta$ -secretasa de la proteína precursora del amiloide que comprende administrar a un paciente que necesite tal tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este.

En realizaciones adicionales, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre la enfermedad de Alzheimer (familiar o esporádica), enfermedad de Alzheimer preclínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica, deterioro cognitivo leve, síndrome de Down o angiopatía amiloidea cerebral.

La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este para la elaboración de un medicamento para la inhibición de BACE1. La presente invención proporciona además el uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este para la elaboración de un medicamento para la inhibición de la producción o acumulación del péptido A $\beta$ .

En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este para su uso en un método para el tratamiento de una enfermedad seleccionada entre la enfermedad de Alzheimer (familiar o esporádica), enfermedad de Alzheimer preclínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica, deterioro cognitivo leve, síndrome de Down o angiopatía amiloidea cerebral.

En una realización, la presente invención se refiere a un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este para su uso en un método para inhibir BACE1 o en un método para inhibir la producción o  
5 acumulación del péptido A $\beta$ .

En una realización adicional, la invención proporciona una formulación farmacéutica adaptada para cualquiera de los tratamientos y usos anteriores.

En una realización, el mamífero es un ser humano.

10 En una realización, el paciente es un paciente humano.

La presente invención también comprende sales de los presentes compuestos, normalmente, sales farmacéuticamente aceptables. Tales sales incluyen las sales de adición de  
15 ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácido incluyen sales de ácidos inorgánicos así como también de ácidos orgánicos.

Los ejemplos representativos de ácidos inorgánicos adecuados incluyen el ácido clorhídrico, bromhídrico,  
20 yodhídrico, fosfórico, sulfúrico, sulfámico, nítrico y similares. Los ejemplos representativos de ácidos orgánicos adecuados incluyen el ácido fórmico, acético, tricloroacético, trifluoroacético, propiónico, benzoico, cinámico, cítrico, fumárico, glicólico, itacónico, láctico,

metanosulfónico, maleico, málico, malónico, mandélico, oxálico, pícrico, pirúvico, salicílico, succínico, metanosulfónico, etanosulfónico, tartárico, ascórbico, pamoico, bismetilenosalicílico, etanodisulfónico, 5 glucónico, citracónico, aspártico, esteárico, palmítico, EDTA, glicólico, *p*-aminobenzoico, glutámico, bencenosulfónico, ácidos *p*-toluenosulfónicos, ácidos teofilinacéticos, así como también las 8-haloteofilinas (por ejemplo, la 8-bromoteofilina y similares). Otros 10 ejemplos de sales de adición de ácido orgánico o inorgánico farmacéuticamente aceptables incluyen las sales farmacéuticamente aceptables enumeradas en S. M. Berge, *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66, 2.

Es más, los compuestos de esta invención podrán 15 existir en formas tanto no solvatadas como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares.

Los compuestos de la presente invención podrán 20 contener uno o más centros asimétricos y se pretende que cualesquiera isómeros ópticos (es decir, enantiómeros o diastereómeros), ya sean isómeros ópticos separados, puros o parcialmente purificados y cualesquiera mezclas de estos, incluidas las mezclas racémicas, es decir, una mezcla de estereoisómeros, se incluyan en el alcance de la invención.

En este contexto, se sobreentenderá que, cuando se especifique la forma enantiomérica, entonces el compuesto estará presente en exceso enantiomérico, p. ej., esencialmente en una forma pura. Por consiguiente, una  
5 realización de la invención se refiere a un compuesto de la invención que tiene un exceso enantiomérico de al menos un 60%, al menos un 70%, al menos un 80%, al menos un 85%, al menos un 90%, al menos un 96%, preferentemente al menos un 98%.

10 Las formas racémicas se podrán resolver para obtener los enantiómeros ópticos utilizando métodos conocidos, por ejemplo, mediante la separación de las sales diastereoméricas de estos con un ácido ópticamente activo y liberando el compuesto amínico ópticamente activo por  
15 tratamiento con una base. La separación de tales sales diastereoméricas puede lograrse, p. ej., mediante cristalización fraccional. Los ácidos ópticamente activos adecuados para este fin podrán incluir, sin carácter limitante, ácido d- o l- tartárico, mandélico o  
20 canforsulfónico. Otro método para resolver racematos y obtener los enantiómeros ópticos se basa en la cromatografía sobre una matriz ópticamente activa. Los compuestos de la presente invención también podrán resolverse mediante la formación y separación

cromatográfica de derivados diastereoméricos a partir de reactivos derivatizantes quirales, tales como reactivos de alquilación o acilación quirales, con una escisión del auxiliar quiral. Cualquiera de los métodos anteriores podrá aplicarse para resolver los enantiómeros ópticos de los compuestos de la invención *per se* o para resolver los enantiómeros ópticos de intermedios sintéticos, los cuales pueden convertirse después mediante métodos descritos en la presente en productos finales resueltos ópticamente que son los compuestos de la invención.

Se podrán utilizar otros métodos para la resolución de isómeros ópticos, conocidos por los expertos en la técnica. Tales métodos incluyen los descritos por J. Jaques, A. Collet y S. Wilen en "Enantiomers, Racemates, and Resolutions", John Wiley and Sons, Nueva York, 1981. Los compuestos ópticamente activos también se pueden preparar a partir de materiales de partida ópticamente activos.

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un portador farmacéuticamente aceptable. La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende una

cantidad terapéuticamente eficaz de uno de los compuestos específicos divulgados en la Sección experimental y un portador farmacéuticamente aceptable.

5 Los compuestos de la invención se podrán administrar solos o combinados con portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables, ya sea en dosis individuales o múltiples. Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se podrán formular con portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables así como también con otros  
10 adyuvantes y excipientes conocidos cualesquiera de acuerdo con técnicas convencionales tales como las que se describen en *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 22.<sup>a</sup> edición, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 2013.

15 Las composiciones farmacéuticas para la administración oral incluyen formas farmacéuticas sólidas tales como cápsulas, comprimidos, grageas, píldoras, pastillas, polvos y gránulos. Cuando proceda, las composiciones se podrán preparar con recubrimientos, tales  
20 como recubrimientos entéricos, o se podrán formular de modo que proporcionen una liberación controlada del principio activo, tal como una liberación sostenida o prolongada, de acuerdo con métodos muy conocidos en la técnica. Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral incluyen

soluciones, emulsiones, suspensiones, jarabes y elixires. Las composiciones farmacéuticas para la administración parenteral incluyen soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones inyectables acuosas y no acuosas estériles, así como también polvos estériles que se han de reconstituir en soluciones o dispersiones inyectables estériles antes de usarlos. Otras formas de administración adecuadas incluyen, sin carácter limitante, supositorios, aerosoles, pomadas, cremas, geles, inhaladores, parches dérmicos e implantes.

Las dosis orales típicas varían entre aproximadamente 0.01 y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal al día.

Los compuestos de esta invención se utilizan generalmente como la base libre o como una sal farmacéuticamente aceptable de estos. Una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula I se prepara, p. ej., de una forma convencional tratando una solución o suspensión de una base libre de Fórmula I con un equivalente molar de un ácido farmacéuticamente aceptable. Anteriormente se han descrito ejemplos representativos de los ácidos orgánicos e inorgánicos adecuados.

Los portadores farmacéuticos adecuados incluyen diluyentes o rellenos sólidos inertes, soluciones acuosas estériles y diversos disolventes orgánicos. Los ejemplos de

portadores sólidos incluyen lactosa, alabastro, sacarosa, ciclodextrina, talco, gelatina, agar, pectina, goma arábica, estearato de magnesio, ácido esteárico y éteres de alquilos inferiores de la celulosa. Los ejemplos de portadores líquidos incluyen, sin carácter limitante, almíbar, aceite de maní, aceite de oliva, fosfolípidos, ácidos grasos, aminas de ácidos grasos, polioxietileno y agua. De forma análoga, el portador o diluyente podrá incluir cualquier material de liberación sostenida conocido en la técnica, tal como el monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o mezclado con una cera. Las composiciones farmacéuticas formadas combinando los compuestos de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de estos y un portador farmacéuticamente aceptable se administran fácilmente en diversas formas farmacéuticas adecuadas para las vías de administración divulgadas. Las formulaciones se podrán presentar convenientemente en una forma farmacéutica unitaria mediante métodos conocidos en la técnica farmacéutica.

Si se utiliza un portador sólido para la administración oral, el preparado se podrá comprimir, introducir en una cápsula de gelatina dura en forma de polvo o pellet, o podrá estar en forma de una pastilla o gragea. La cantidad de portador sólido variará

considerablemente pero estará comprendida entre aproximadamente 25 mg y aproximadamente 1 g por unidad de dosificación. Si se utiliza un portador líquido, el preparado podrá estar en forma de un jarabe, una emulsión, una cápsula de gelatina blanda o un líquido inyectable estéril tal como una suspensión o solución líquida acuosa o no acuosa.

#### SECCIÓN EXPERIMENTAL

Los compuestos de la presente invención de fórmula general I, donde  $R^1$  y Ar son tal como se han definido anteriormente, pueden prepararse mediante los métodos esbozados en los siguientes esquemas de reacción 1-4 y ejemplos. En los métodos descritos, es posible utilizar variantes o modificaciones, las cuales son conocidas en sí por los químicos expertos en la técnica o podrían ser evidentes para un experto en esta técnica. Además, será obvio para el experto en la técnica que existen otros métodos para preparar los compuestos de la invención teniendo en cuenta los siguientes esquemas de reacción y ejemplos.

Por ejemplo, el Esquema 2 describe el uso de grupos protectores selectivos durante la síntesis de los compuestos de la invención. Un experto en la técnica sería capaz de seleccionar el grupo protector apropiado para una

reacción en particular. Más aun, podrá ser necesario incorporar estrategias de protección y desprotección para sustituyentes tales como grupos amino, amido, ceto e hidroxilo en los métodos sintéticos descritos a  
5 continuación para sintetizar los compuestos de Fórmula I. Los métodos para la protección y desprotección de tales grupos son muy conocidos en la técnica y podrán encontrarse en T. Green, et al., Protective Groups in Organic Synthesis, 1991, 2.<sup>a</sup> Edición, John Wiley & Sons, Nueva  
10 York.

Para los compuestos que pueden existir como una mezcla o equilibrio entre dos o más tautómeros, solamente se representa un tautómero en los esquemas, aunque puede que no sea el tautómero más estable. Para los compuestos  
15 que pueden existir en formas isoméricas enantioméricas, estereoisoméricas o geométricas, se especifica su configuración geométrica; en caso contrario, la estructura representa una mezcla de estereoisómeros.

Los datos analíticos de LC-MS se obtuvieron  
20 utilizando los siguientes métodos.

Método A:

El LC-MS se llevó a cabo en un UPLC-MS Waters Acquity constituido por un Waters Acquity que incluye un administrador de columnas, administrador de disolventes

binario, organizador de muestras, detector PDA (que funciona a 254 nm), detector ELS y SQ-MS equipado con una fuente APPI que funciona en modo de ión positivo.

5 Condiciones de LC: la columna fue Acquity UPLC BEH C18 1.7µm; 2.1x50mm que funcionaba a 60 °C con 0.6 mL/min de un gradiente binario constituido por agua + 0.05% de ácido trifluoroacético (A) y acetonitrilo + 5% de agua + 0.03% de ácido trifluoroacético (B). Gradiente: 0.00 min: 10% de B; 3.00 min: 99.9% de B; 3.01 min: 10% de B; 3.60 min: 10% de B. Tiempo total de ejecución: 3.60 min.

#### Método B:

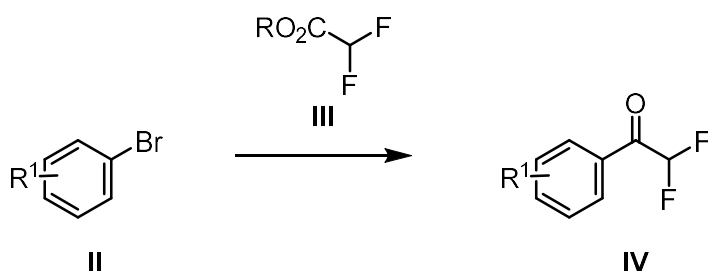
El LC-MS se llevó a cabo en un UPLC-MS Waters Acquity constituido por un Waters Acquity que incluye un administrador de columnas, administrador de disolventes  
15 binario, organizador de muestras, detector PDA (que funciona a 254 nm), detector ELS y TQ-MS equipado con una fuente APPI que funciona en modo de ión positivo.

Condiciones de LC: la columna fue Acquity UPLC BEH C18 1.7µm; 2.1x50mm que funcionaba a 60 °C con 1.2 mL/min  
20 de un gradiente binario constituido por agua + 0.05% de ácido trifluoroacético (A) y acetonitrilo + 5% de agua + 0.05% de ácido trifluoroacético (B). Gradiente: 0.00 min: 10% de B; 1.00 min: 100% de B; 1.01 min: 10% de B; 1.15 min: 10% de B. Tiempo total de ejecución: 1.15 min.

Los espectros de  $^1\text{H}$  RMN se registraron a 600 MHz en un instrumento Bruker Avance AV-III-600 o a 400 MHz en un instrumento Bruker Avance AV-III-400 o un instrumento Varian 400. Los valores de los desplazamientos químicos se expresan en valores de ppm relativos. Se utilizan las siguientes abreviaturas para la multiplicidad de las señales de RMN: s = singlete, d = doblete, t = triplete, c = cuádruplete, dd = doble doblete, ddd = doble doblete doble, dt = doble triplete, a = ancho y m = multiplete.

Como un ejemplo y donde  $\text{R}^1$  es flúor en la posición orto del anillo de fenilo, los compuestos de fórmula general IV podrán prepararse tal como se muestra en el Esquema 1.

Esquema 1



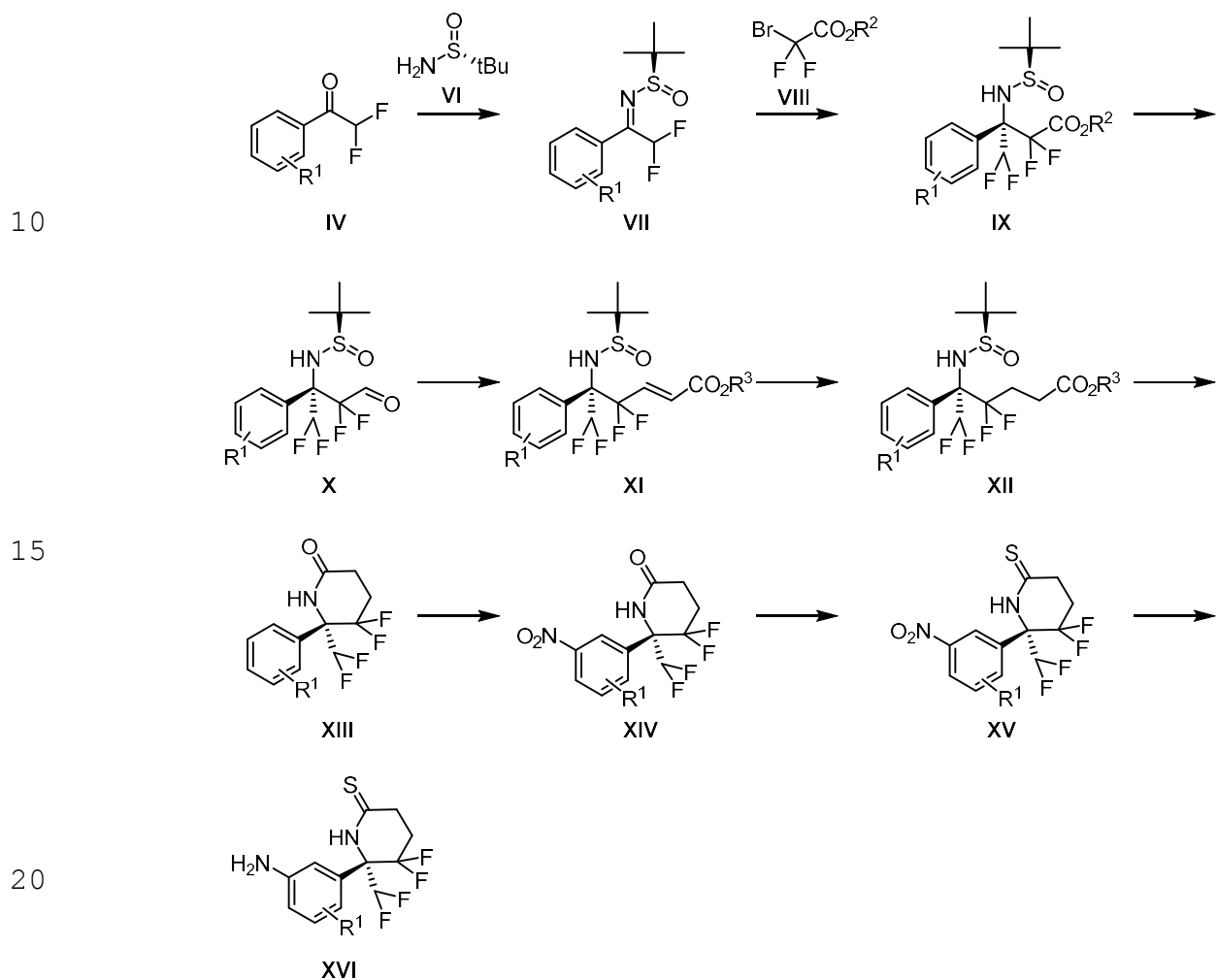
donde  $\text{R}^1$  es tal como se define en la fórmula I y R es un grupo alquilo tal como metilo o etilo.

Los compuestos de fórmula general IV (Esquema 1) se podrán preparar haciendo reaccionar compuestos de fórmula general II con un reactivo de intercambio halógeno-metal

tal como butillitio con la adición posterior a un éster de fórmula general III.

Como un ejemplo y donde  $R^1$  es flúor en la posición orto del anillo de fenilo, un compuesto de fórmula general XVI podrá prepararse tal como se muestra en el Esquema 2.

Esquema 2



donde  $R^2$  y  $R^3$  son un grupo alquilo tal como metilo o etilo.

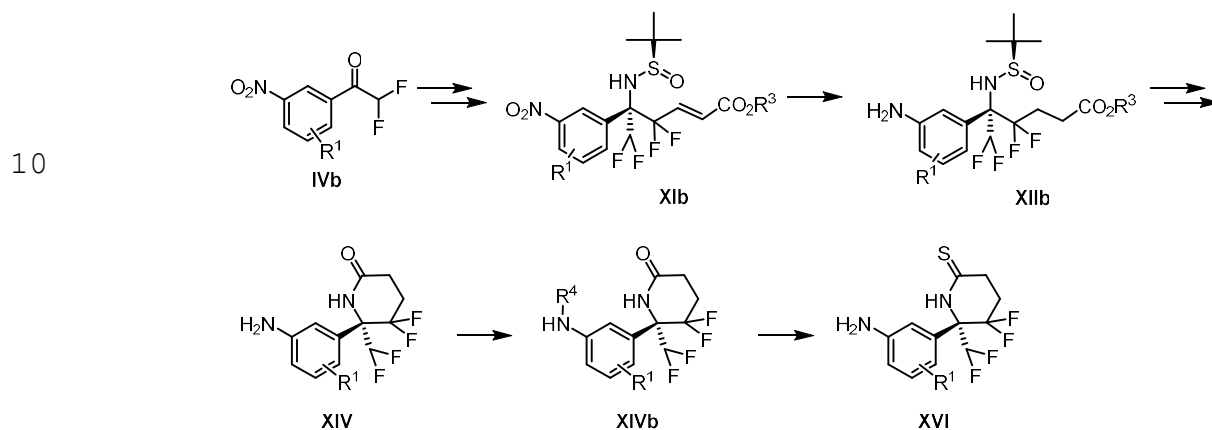
Los compuestos de la fórmula general VII (Esquema 2) podrán prepararse haciendo reaccionar compuestos de fórmula general IV con una sulfinamida tal como VI en presencia de un ácido de Lewis/agente de secado tal como tetraetóxido de titanio. El tratamiento de compuestos de fórmula general VII con compuestos de fórmula general VIII tal como bromodifluoroacetato de etilo en presencia de polvo de Zn o en presencia de dietil zinc y cloruro de tris(trifenilfosfina)rodio(I) proporciona compuestos de fórmula general IX. Los compuestos de fórmula general X se obtienen a partir de compuestos de fórmula general IX mediante tratamiento con un agente reductor tal como hidruro de diisobutilaluminio. En algunos casos, el compuesto X podrá estar en equilibrio con la forma hidratada. El tratamiento de compuestos de fórmula general X con condiciones tales como 2-(dimetoxifosforil)acetato de metilo en presencia de cloruro de litio y una base tal como *N,N*-diisopropiletilamina proporciona compuestos de fórmula general XI. Los compuestos de la fórmula general XII se obtienen mediante hidrogenación de compuestos de fórmula general XI en presencia de un catalizador tal como paladio sobre carbono. Los compuestos de fórmula general XIII se obtienen mediante el tratamiento de compuestos de fórmula general XII con un ácido tal como ácido clorhídrico en

metanol con tratamiento posterior con carbonato de potasio en metanol o calentando en un disolvente tal como tolueno. Los compuestos de fórmula general XIII pueden nitrarse utilizando ácido nítrico para proporcionar compuestos de la  
5      fórmula general XIV. El tratamiento de compuestos de fórmula general XIV con un reactivo tal como el reactivo de Lawesson (2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano-2,4-disulfuro) proporciona compuestos de fórmula general XV. La reducción del grupo nitro de los compuestos de  
10      fórmula general XV proporciona compuestos de fórmula general XVI.

Los compuestos de la fórmula general XIV también podrán prepararse tal como se muestra en el Esquema 3. A partir de acetofenonas sustituidas con nitro de fórmula  
15      general IVb, los compuestos de fórmula general XIb se podrán preparar tal como se describe en el Esquema 2. Los compuestos de fórmula general XIIb se obtienen mediante hidrogenación de los compuestos de fórmula general XIb en presencia de un catalizador tal como paladio sobre carbono.  
20      Los compuestos de fórmula general XIV se podrán preparar tal como se describe en el Esquema 2 para la preparación de compuestos de fórmula general XIII a partir de compuestos de fórmula general XII. La protección del resto anilina de los compuestos de fórmula general XIV proporciona

compuestos de fórmula general XIVb. El tratamiento de compuestos de fórmula general XIVb con un reactivo tal como el reactivo de Lawesson (2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano-2,4-disulfuro) con la desprotección posterior del resto anilina proporciona compuestos de fórmula general XVI.

Esquema 3

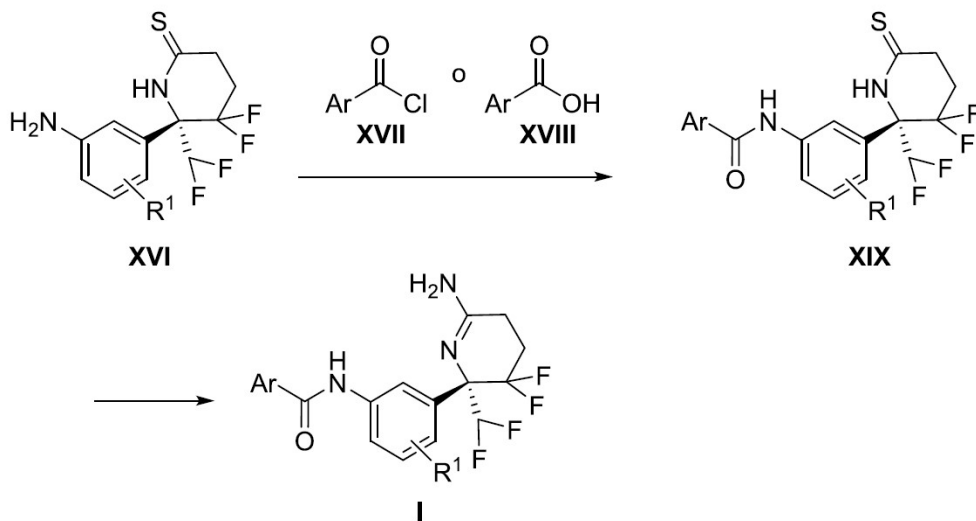


donde  $R^1$  es tal como se define en la fórmula I y  $R^3$  es un grupo alquilo tal como metilo o etilo.

Los compuestos de fórmula general I podrán prepararse tal como se muestra en el Esquema 4.

Esquema 4

20

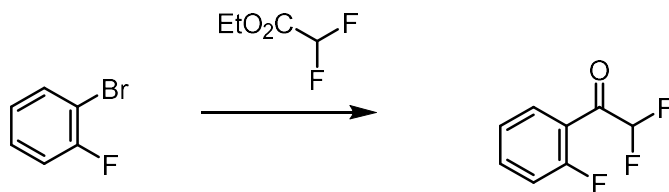


donde  $R^1$  y Ar son tal como se definen en la fórmula I.

Los compuestos de fórmula general XIX podrán prepararse haciendo reaccionar compuestos de fórmula general XVI con un cloruro de ácido carboxílico de fórmula general XVII o mediante la reacción con un ácido carboxílico de fórmula general XVIII utilizando procedimientos conocidos por los químicos expertos en la técnica. El tratamiento de compuestos de fórmula general XIX con amoníaco proporciona compuestos de fórmula general I. En algunos casos, la adición de un reactivo oxidante tal como hidroperóxido *tert*-butílico podrá ser necesaria para facilitar la reacción.

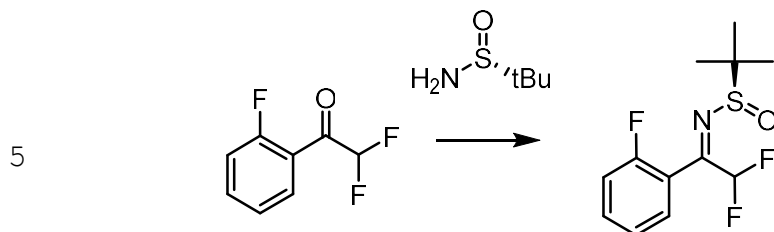
#### PREPARACIÓN DE INTERMEDIARIOS

INTERMEDIO: 2,2-difluoro-1-(2-fluorofenil)etan-1-ona



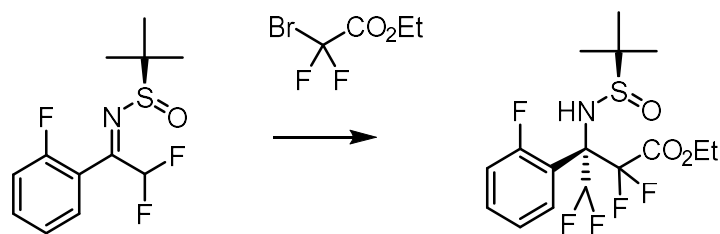
5 A una solución de 1-bromo-2-fluorobenceno (10.00 g, 57.14 mmol) en THF (200 mL) se añadió *n*-butillitio (2.5 M, 24.00 mL) gota a gota a -78 °C a lo largo de un periodo de 15 minutos en N<sub>2</sub>. La mezcla se agitó a -78 °C durante 30 min. Se añadió 2,2-difluoroacetato de etilo (10.64 g, 85.71 mmol) gota a gota a -78 °C y se agitó durante 2 horas a -78  
10 °C. La TLC mostró que no quedaba material de partida. Se añadió NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado (15 mL) gota a gota a -78 °C. Se calentó la mezcla de reacción a 25 °C, se extrajo con acetato de etilo (100 mL, tres veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (30 mL), se secaron con  
15 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se concentraron al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (éter de petróleo: acetato de etilo = 95:5) para obtener 2,2-difluoro-1-(2-fluorofenil)etan-1-ona (5.60 g, 47.8% de rendimiento, 85% de pureza). <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>,  
20 400MHz): δ 7.99-7.95 (m, 1H), 7.70 - 7.64 (m, 1H), 7.33 (t, *J*=7.6 Hz 2H), 7.24 (dd, *J*=10.8, 8.4 Hz, 1H), 6.59-6.32 (m, 1H).

INTERMEDIO: (R)-N-(2,2-difluoro-1-(2-fluorofenil)etilideno)-2-metilpropano-2-sulfinamida



A una solución de 2,2-difluoro-1-(2-fluorofenil)etan-  
1-ona (5.60 g, 32.16 mmol) y (R)-2-metilpropano-2-  
sulfinamida (5.07 g, 41.81 mmol) en THF (110 mL) se añadió  
10 tetraetoxititanio (14.67 g, 64.32 mmol) en una porción a 26  
°C. La solución amarilla se agitó a 80 °C durante 2.5 h. La  
TLC (éter de petróleo: acetato de etilo = 3:1) mostró que  
no quedaba material de partida. La mezcla se enfrió hasta  
26 °C. Se añadió agua (10 mL) a la mezcla y se filtró y  
15 extrajo con acetato de etilo (60 mL, tres veces). La fase  
orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se  
filtró, se concentró y posteriormente se purificó mediante  
cromatografía en columna en gel de sílice (éter de  
petróleo: acetato de etilo = 91:9) para obtener (R)-N-2,2-  
20 difluoro-1-(2-fluorofenil)etilideno)-2-metilpropano-2-  
sulfinamida (5.60 g, 61.6% de rendimiento, 98.1% de  
pureza).

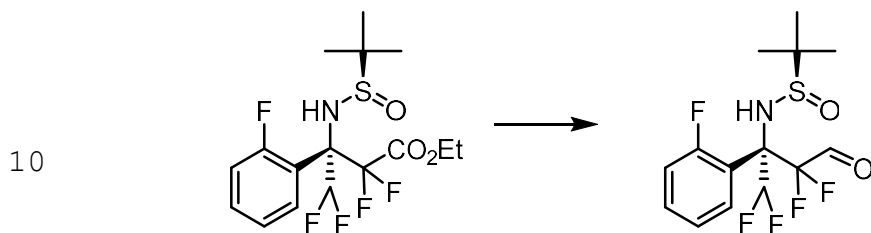
INTERMEDIO: (S)-3-(((R)-tert-butilsulfinil)amino)-  
2,2,4,4-tetrafluoro-3-(2-fluorofenil)butanoato de etilo



5            A        una        solución        de        (R)-N-(2,2-difluoro-1-(2-  
                  fluorofenil)etilideno)-2-metilpropano-2-sulfinamida        (4.60  
                  g, 16.6 mmol), 2-bromo-2,2-difluoroacetato de etilo (6.73  
                  g, 33.18 mmol) y Rh(PPh<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Cl (469 mg, 498 μmol) en THF (90  
 10            mL) se añadió una solución de dietil zinc (1 M en THF, 33  
                  mL) gota a gota a -78 °C a lo largo de un periodo de 20  
                  minutos en Ar, durante el cual la temperatura se mantuvo  
                  por debajo de -65 °C. La mezcla de reacción se calentó a 0  
                  °C a lo largo de un periodo de 10 minutos y se agitó a 0 °C  
                  durante 2 horas. La TLC (éter de petróleo/acetato de etilo  
 15            = 3:1) mostró que el material de partida se había consumido  
                  por completo. Se desactivó la solución rojo oscuro con agua  
                  (40 mL) y a continuación se filtró. El filtrado se extrajo  
                  con acetato de etilo (100 mL, dos veces). Las fases  
                  orgánicas combinadas se lavaron con salmuera saturada (30  
 20            mL), se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro, se filtraron y se  
                  concentraron al vacío. El producto crudo se purificó  
                  mediante cromatografía en columna en gel de sílice (éter de  
                  petróleo/acetato de etilo = 4:1) para obtener (S)-3-(((R)-  
                  tert-butilsulfinil)amino)-2,2,4,4-tetrafluoro-3-(2-

fluorofenil)butanoato de etilo (4.26 g, 62.1% de  
rendimiento).  $^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 400MHz):  $\delta$  7.65 - 7.31 (m,  
1H), 7.49 - 7.44 (m, 1H), 7.23 - 7.12 (m, 2H), 6.93 - 6.66  
(m, 1H), 5.00 (s, 1H), 4.39 - 4.29 (m, 2H), 1.39 (s, 9H),  
1.32 (t,  $J=8.0$  Hz, 3H).

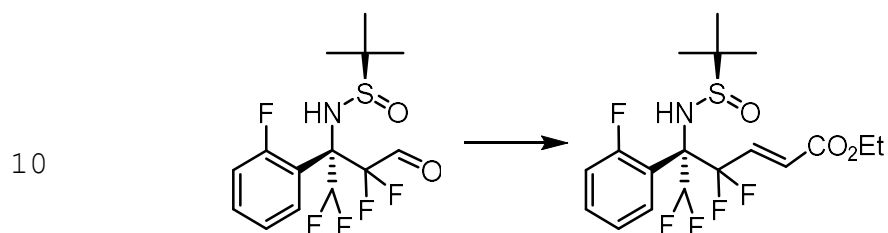
INTERMEDIO: (R)-2-metil-N-((S)-1,1,3,3-tetrafluoro-2-(2-fluorofenil)-4-oxobutan-2-il)propano-2-sulfinamida



A una solución de (S)-3-(((R)-tert-butylsulfinil)amino)-2,2,4,4-tetrafluoro-3-(2-fluorofenil)butanoato de etilo (3.20 g, 7.97 mmol) en THF seco (35 mL) se añadió gota a gota una solución de DIBAL-H (hidruro de diisobutilaluminio) en tolueno (1.0 M, 16 mL, 16 mmol) a  $-78^\circ\text{C}$  en  $\text{N}_2$ . La mezcla se agitó a  $-78^\circ\text{C}$  durante 2 horas. La reacción se desactivó cuidadosamente con metanol (3 mL) a  $-78^\circ\text{C}$ . A continuación se añadieron agua (20 mL) y acetato de etilo (200 mL) y la mezcla se calentó hasta  $25^\circ\text{C}$ . Se permitió que transcurrieran 30 minutos antes de someter a la mezcla al siguiente paso. La mezcla resultante se filtró a través de un lecho de Celite. La fase orgánica se lavó con salmuera y se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . La

fase orgánica se concentró para obtener el producto crudo (R)-2-metil-N-((S)-1,1,3,3-tetrafluoro-2-(2-fluorofenil)-4-oxobutan-2-il)propano-2-sulfinamida, el cual se utilizó inmediatamente en el siguiente paso sin una purificación adicional.

INTERMEDIO: (S)-5-(((R)-tert-butilsulfinil)amino)-4,4,6,6-tetrafluoro-5-(2-fluorofenil)hex-2-enoato de etilo



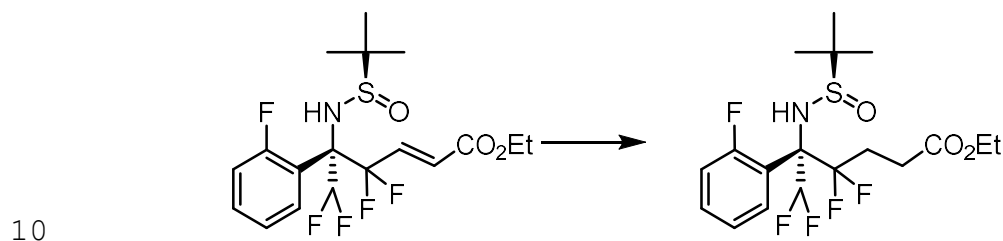
A una suspensión agitada de LiCl (405 mg, 9.56 mmol) en acetonitrilo (30 mL) en N<sub>2</sub> se añadieron 2-dietoxifosforilacetato de etilo (2.14 g, 9.56 mmol) y DIPEA (N,N-diisopropiletilamina) (2.06 g, 15.94 mmol) a 0°C. Después de 20 min, se añadió (R)-2-metil-N-((S)-1,1,3,3-tetrafluoro-2-(2-fluorofenil)-4-oxobutan-2-il)propano-2-sulfinamida (2.85 g, 7.97 mmol) en acetonitrilo (10 mL) gota a gota a la mezcla a 0 °C y se agitó la mezcla a 25 °C durante 17.5 horas. La mezcla de reacción se concentró para eliminar el acetonitrilo, se añadió agua (50 mL) y se extrajo con acetato de etilo (200 mL). La fase orgánica se secó y se evaporó. El producto crudo se purificó mediante cromatografía en columna (éter de petróleo:acetato de etilo

15

20

= de 5:1 a 4:1) para obtener (S)-5-(((R)-tert-butilsulfinil)amino)-4,4,6,6-tetrafluoro-5-(2-fluorofenil)hex-2-enoato de etilo (1.77 g, 46.8% de rendimiento).

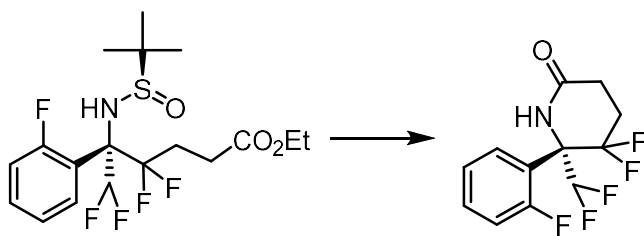
5 INTERMEDIO: (S)-5-(((R)-tert-butilsulfinil)amino)-4,4,6,6-tetrafluoro-5-(2-fluorofenil)hexanoato de etilo



A una solución de (S)-5-(((R)-tert-butilsulfinil)amino)-4,4,6,6-tetrafluoro-5-(2-fluorofenil)hex-2-enoato de etilo (1.77 g, 4.28 mmol) en acetato de etilo (100 mL) se añadió Pd/C (400 mg, 10%). La suspensión negra se agitó a 25 °C durante 18 horas bajo 45-50 psi de H<sub>2</sub>. Se filtró y se concentró para obtener (S)-5-(((R)-tert-butilsulfinil)amino)-4,4,6,6-tetrafluoro-5-(2-fluorofenil)hexanoato de etilo (1.70 g, 95.5% de rendimiento) que se utilizó inmediatamente en el siguiente paso sin una purificación adicional.

20

INTERMEDIO: (S)-6-(difluorometil)-5,5-difluoro-6-(2-fluorofenil)piperidin-2-ona



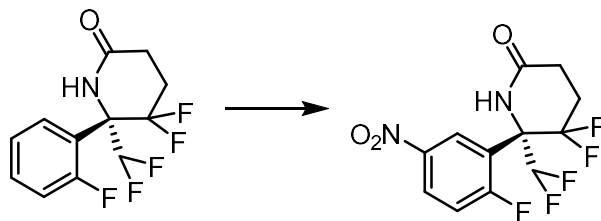
5                    A                    una                    solución                    de                    (S)-5-(((R)-tert-butylsulfinil)amino)-4,4,6,6-tetrafluoro-5-(2-fluorofenil)hexanoato de etilo (1.70 g, 4.09 mmol) en diclorometano (15 mL) se añadió HCl/MeOH (4 M, 17 mL). La solución incolora se agitó a 25 °C durante 1 hora. El análisis por TLC mostró que no quedaba material de partida. La mezcla se concentró y el residuo se disolvió en tolueno. La mezcla resultante se concentró de nuevo para obtener 1.5 g de un aceite incoloro. Este aceite se disolvió en tolueno (30 mL) y se agitó a 100 °C durante 18 horas. Después de enfriar la mezcla a 25 °C, se concentró para obtener el producto crudo que se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 2:1) para obtener (S)-6-(difluorometil)-5,5-difluoro-6-(2-fluorofenil)piperidin-2-ona (880 mg, 3.15 mmol, 73% de rendimiento).

10

15

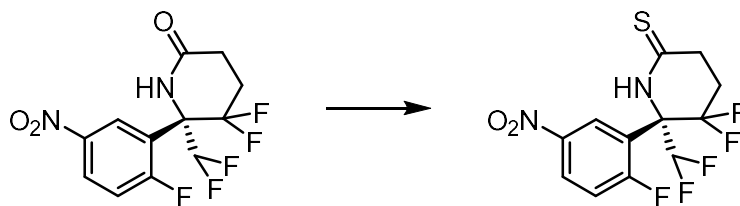
20

INTERMEDIO: (S)-6-(difluorometil)-5,5-difluoro-6-(2-fluoro-5-nitrofenil)piperidin-2-ona



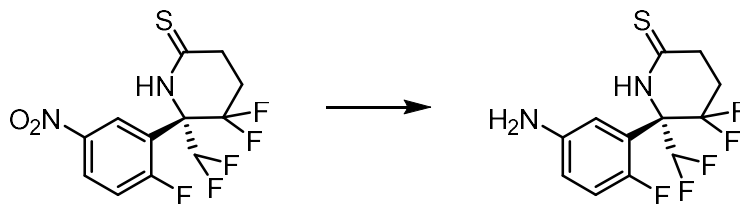
5           Se suspendió (S)-6-(difluorometil)-5,5-difluoro-6-(2-fluorofenil)piperidin-2-ona (880 mg, 3.15 mmol) en ácido trifluoroacético (2.55 mL). La mezcla se enfrió hasta 0 °C y se añadió H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (2.46 mL, 24.3 mmol). A continuación, se añadió HNO<sub>3</sub> (661.61 mg, 6.30 mmol) gota a gota. Después de agitar 2 horas a 25 °C, se vertió la mezcla de reacción sobre 100 g de hielo y se basificó hasta pH > 11 utilizando NaOH (ac) 5 M. La suspensión se extrajo con acetato de etilo (150 mL). Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 70 mL).  
10 Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución de NH<sub>4</sub>Cl acuosa saturada (30 mL) y agua (30 mL), se secó con MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener (S)-6-(difluorometil)-5,5-difluoro-6-(2-fluoro-5-nitrofenil)piperidin-2-ona (1.00 g, cruda).

20           INTERMEDIO: (S)-6-(difluorometil)-5,5-difluoro-6-(2-fluoro-5-nitrofenil)piperidin-2-ona



5 A una solución de (S)-6-(difluorometil)-5,5-difluoro-  
6-(2-fluoro-5-nitrofenil)piperidin-2-ona (1.00 g, 3.08  
mmol) en tolueno (5 mL) se añadió el reactivo de Lawesson  
(2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano-2,4-  
disulfuro) (686 mg, 1.70 mmol). La mezcla se agitó a 100 °C  
durante 2 horas. El análisis por TLC mostró que no quedaba  
10 material de partida. La mezcla se concentró y el producto  
crudo se purificó mediante cromatografía flash en gel de  
sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 5:1) para  
obtener (S)-6-(difluorometil)-5,5-difluoro-6-(2-fluoro-5-  
nitrofenil)piperidin-2-tiona (1.00 mg, 2.94 mmol, 95.4% de  
15 rendimiento).

INTERMEDIO: (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-  
(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona

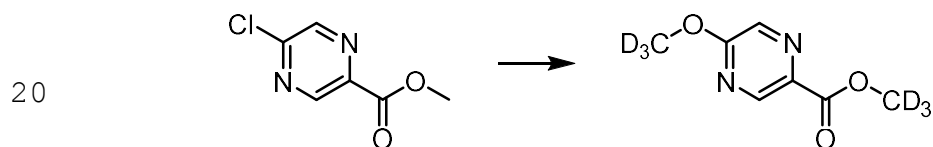


20

A una suspensión de (S)-6-(difluorometil)-5,5-  
difluoro-6-(2-fluoro-5-nitrofenil)piperidin-2-tiona (1.00  
g, 2.94 mmol) en etanol (15 mL) y agua (4 mL) se añadió

polvo de hierro (821 mg, 145 mmol) y  $\text{NH}_4\text{Cl}$  (786 mg, 14.7 mmol, 5.0 eq). La mezcla negra se agitó a 60 °C durante 18 horas. Después de enfriar la mezcla de reacción hasta 25 °C, el producto crudo se filtró y el residuo se lavó con etanol (100 mL). Los filtrados combinados se concentraron y el sólido resultante se dispersó en acetato de etilo (100 mL). La mezcla se filtró y el filtrado se lavó con agua (30 mL), salmuera (20 mL) y se concentró. El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash en sílice (éter de petróleo:acetato de etilo = 3:1~2:1) para obtener (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona (819 mg, 2.51 mmol, 85.3% de rendimiento).  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{DMSO}-d_6$ , 400MHz):  $\delta$  10.97 (s, 1H), 7.03 - 6.90 (m, 2H), 6.64 - 6.55 (m, 2H), 5.19 (s, 2H), 3.19 - 3.15 (m, 1H), 3.03 - 2.94 (m, 1H), 2.35 - 2.24 (m, 2H).

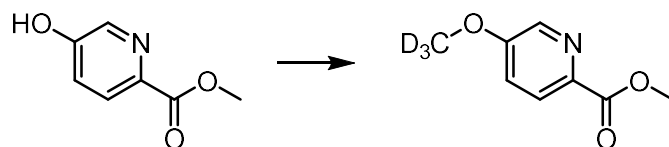
INTERMEDIO: 5-(metoxi- $d_3$ )pirazin-2-carboxilato de metilo- $d_3$



Se añadió sodio (0.094 g, 4.10 mmol) en pequeñas porciones a metanol- $d_4$  (2.94 mL) y se agitó la mezcla de reacción hasta que todo el sodio hubo reaccionado. A

continuación se añadió la solución a otra solución de 5-cloropirazin-2-carboxilato de metilo (0.6 g, 3.48 mmol) en metanol- $d_4$  (0.98 mL). Se agitó la mezcla de reacción durante 1.5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se concentró al vacío. Se añadieron 2 mL de agua. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con  $MgSO_4$  y se concentró al vacío para obtener 5-(metoxi- $d_3$ )pirazin-2-carboxilato de metilo- $d_3$ .

10 INTERMEDIO: 5-(metoxi- $d_3$ )picolinato de metilo

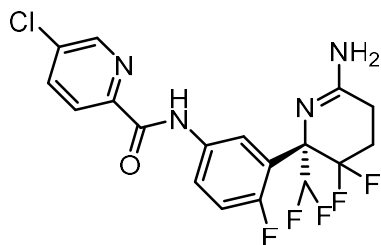


Se disolvió 5-hidroxipicolinato de metilo (2.88 g, 18.8 mmol) en dimetilformamida (108 mL) en argón. Se añadió carbonato de potasio (7.20 g, 52.1 mmol) y la suspensión naranja se agitó durante 45 minutos a temperatura ambiente. Se añadió yodometano- $d_3$  (1.41 mL, 22.6 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 2 horas. Se añadió agua. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con  $MgSO_4$ , se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía en columna en gel de sílice (heptano: acetato de etilo) para obtener 5-(metoxi- $d_3$ )picolinato de metilo.

PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION

**Ejemplo 1** (S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-cloropicolinamida (compuesto 1)

5



Se disolvieron ácido 5-cloropicolínico (19 mg, 0.12 mmol) y HATU (hexafluorofosfato del 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio) (67.4 mg, 0.177 mmol) en DMF (1 mL). La mezcla de reacción se agitó durante 5 minutos. A continuación se añadieron (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona (25mg, 0.081 mmol) y DIPEA (N,N-diisopropiletilamina) (52 mg, 0.07 ml, 0.4 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se añadió NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron con MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida. Se añadió amoníaco en metanol (7 M, 2 mL) y la mezcla de reacción se agitó a 55 °C en un vial sellado durante toda

10

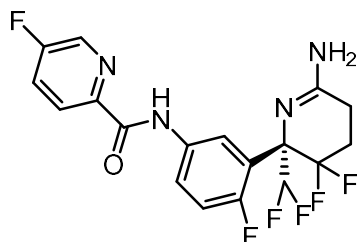
15

20

la noche. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El producto crudo se purificó mediante cromatografía flash en sílice (heptano:acetato de etilo). El producto se disolvió en acetato de etilo y se lavó 5 veces con NaHCO<sub>3</sub>/agua saturado acuoso para eliminar los subproductos de tipo tiourea. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron con MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron a presión reducida para obtener (S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-cloropicolinamida. <sup>1</sup>H RMN (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 600MHz): δ 10.78 (s, 1H), 8.79 (dt, J = 2.4, 1.1 Hz, 1H), 8.20 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 8.16 (dd, J = 8.4, 0.7 Hz, 1H), 7.96 - 7.90 (m, 1H), 7.88 (dd, J = 6.8, 2.7 Hz, 1H), 7.20 (dd, J = 11.6, 8.8 Hz, 1H), 6.74 (t, J = 55.2 Hz, 1H), 6.38 (s, 2H), 2.51 (dt, J = 3.7, 1.8 Hz, 2H), 2.19 - 1.98 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 433 (MH<sup>+</sup>); t<sub>R</sub> = 0.53 minutos (Método A)

**Ejemplo 2** (S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-fluoropicolinamida (compuesto 2)

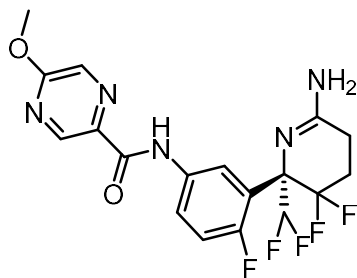


5           Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (S)-  
6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-  
difluoropiperidin-2-tiona y ácido 5-fluoropicolínico.

<sup>1</sup>H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.72 (s, 1H), 8.74 (d, J =  
2.8 Hz, 1H), 8.24 (dd, J = 8.7, 4.6 Hz, 1H), 7.99 (td, J =  
10   8.7, 2.8 Hz, 1H), 7.95 - 7.91 (m, 1H), 7.88 (dd, J = 6.8,  
2.7 Hz, 1H), 7.20 (dd, J = 11.6, 8.8 Hz, 1H), 6.74 (t, J =  
55.2 Hz, 1H), 6.38 (s, 2H), 2.56 - 2.50 (m, 2H), 2.22 -  
1.98 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 417.1 (MH<sup>+</sup>); t<sub>R</sub> = 0.49 minutos (Método A)

15           **Ejemplo 3**   (S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-  
difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-  
metoxipirazin-2-carboxamida (compuesto 3)



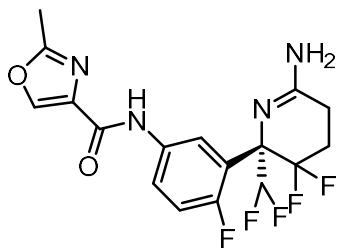
20           Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (S)-  
6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-

difluoropiperidin-2-tiona y ácido 5-metoxipirazin-2-carboxílico.

$^1\text{H}$  RMN (600 MHz, DMSO)  $\delta$  10.61 (s, 1H), 8.89 (d,  $J$  = 1.3 Hz, 1H), 8.42 (d,  $J$  = 1.3 Hz, 1H), 7.90 (m, 2H), 7.20 (dd,  $J$  = 11.6, 8.9 Hz, 1H), 6.86 - 6.62 (m, 1H), 6.37 (s, 2H), 4.02 (s, 3H), 2.56 - 2.50 (m, 2H), 2.19 - 1.96 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 430.1 ( $\text{MH}^+$ );  $t_R$  = 0.48 minutos (Método A)

**Ejemplo 4** (*S*)-*N*-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-2-metiloxazol-4-carboxamida (compuesto 4)



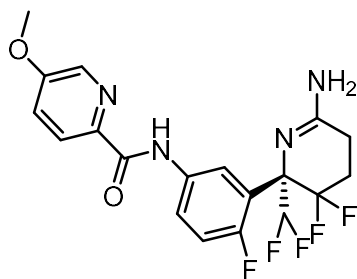
Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona y ácido 2-metiloxazol-4-carboxílico.

$^1\text{H}$  RMN (600 MHz, DMSO)  $\delta$  10.25 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 7.82 (m, 2H), 7.16 (dd,  $J$  = 11.6, 8.7 Hz, 1H), 6.73 (t,  $J$  = 55.2 Hz, 1H), 6.36 (s, 2H), 3.01 (s, 1H), 2.59 - 2.41 (m, 5H), 2.19 - 1.96 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 403 (MH<sup>+</sup>); t<sub>R</sub> = 0.42 minutos (Método A)

**Ejemplo 5** (S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-metoxipicolinamida (compuesto 5)

5



10

Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona y ácido 5-metoxipicolínico.

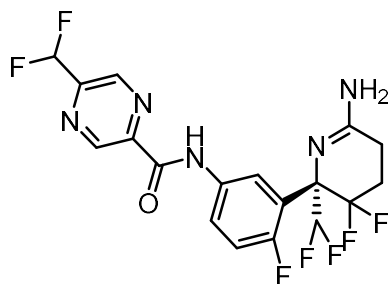
15

<sup>1</sup>H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.55 (s, 1H), 8.40 (d, J = 2.9 Hz, 1H), 8.13 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.94 - 7.90 (m, 1H), 7.84 (dd, J = 6.7, 2.7 Hz, 1H), 7.62 (dd, J = 8.7, 2.9 Hz, 1H), 7.18 (dd, J = 11.6, 8.8 Hz, 1H), 6.85 - 6.61 (m, 1H), 6.36 (s, 2H), 3.93 (s, 3H), 2.55 - 2.47 (m, 2H), 2.17 - 2.00 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 429.1 (MH<sup>+</sup>); t<sub>R</sub> = 0.5 minutos (Método A)

20

**Ejemplo 6** (S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-(difluorometil)pirazin-2-carboxamida (compuesto 6)



5

Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona y ácido 5-difluorometilpirazin-2-carboxílico.

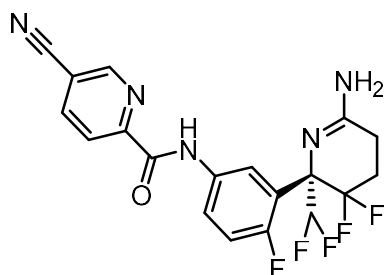
10

$^1\text{H}$  RMN (600 MHz, DMSO)  $\delta$  11.02 (s, 1H), 9.40 (d,  $J$  = 1.3 Hz, 1H), 9.10 (s, 1H), 7.96 - 7.91 (m, 2H), 7.38 - 7.17 (m, 2H), 6.75 (t,  $J$  = 55.1 Hz, 1H), 6.38 (s, 2H), 2.56 - 2.50 (m, 2H), 2.20 - 1.98 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 450.1 ( $\text{MH}^+$ );  $t_R$  = 0.48 minutos (Método A)

15

**Ejemplo 7** (*S*)-*N*-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-cianopicolinamida (compuesto 7)



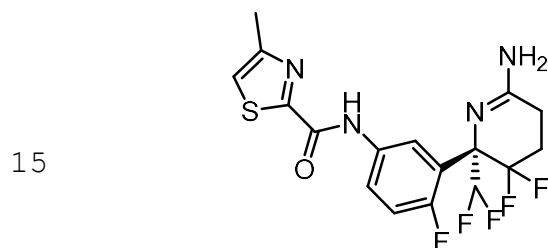
20

Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona y ácido 5-cianopicolínico.

<sup>1</sup>H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.94 (s, 1H), 9.21 (d, *J* = 1.3 Hz, 1H), 8.59 (dd, *J* = 8.2, 1.9 Hz, 1H), 8.29 (d, *J* = 8.1 Hz, 1H), 7.96 - 7.88 (m, 2H), 7.22 (dd, *J* = 11.5, 8.8 Hz, 1H), 6.74 (t, *J* = 55.0 Hz, 1H), 6.37 (s, 2H), 2.57 - 2.48 (m, 2H), 2.07 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 424.5 (MH<sup>+</sup>); t<sub>R</sub> = 0.45 minutos (Método B)

**Ejemplo 8** (*S*)-*N*-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-4-metiltiazol-2-carboxamida (compuesto 8)



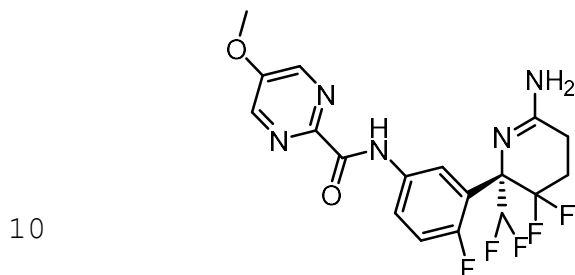
Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona y ácido 4-metiltiazol-2-carboxílico.

<sup>1</sup>H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.84 (s, 1H), 7.90 (dd, *J* = 6.7, 2.5 Hz, 1H), 7.88 - 7.83 (m, 1H), 7.70 (s, 1H), 7.19

(dd,  $J = 11.5, 8.9$  Hz, 1H), 6.74 (t,  $J = 55.1$  Hz, 1H), 6.38 (s, 2H), 2.59 - 2.46 (m, 5H), 2.18 - 1.95 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 419.4 ( $MH^+$ );  $t_R = 0.47$  minutos (Método B)

**Ejemplo 9** (*S*)-*N*-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-metoxipirimidin-2-carboxamida (compuesto 9)

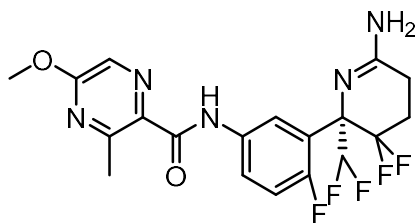


Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona y ácido 5-metoxipirimidin-2-carboxílico.

15  $^1H$  RMN (600 MHz, DMSO)  $\delta$  10.73 (s, 1H), 8.73 (s, 2H), 7.95 - 7.91 (m, 1H), 7.82 (dd,  $J = 6.7, 2.5$  Hz, 1H), 7.22 - 7.18 (m, 1H), 6.74 (t,  $J = 55.2$  Hz, 1H), 6.37 (s, 2H), 4.03 (s, 3H), 2.58 - 2.50 (m, 2H), 2.18 - 1.99 (m, 2H).

20 LC-MS (m/z) 430.5 ( $MH^+$ );  $t_R = 0.39$  minutos (Método B)

**Ejemplo 10** (*S*)-*N*-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-metoxi-3-metilpirazin-2-carboxamida (compuesto 10)

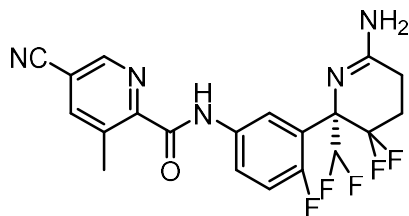


5           Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (*S*)-  
6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-  
difluoropiperidin-2-tiona y ácido 5-metoxi-3-metilpirazin-  
2-carboxílico.

10           <sup>1</sup>H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.52 (s, 1H), 8.24 (d, *J* =  
0.6 Hz, 1H), 7.91 (ddd, *J* = 8.8, 4.1, 2.8 Hz, 1H), 7.74  
(dd, *J* = 6.8, 2.7 Hz, 1H), 7.18 (dd, *J* = 11.7, 8.8 Hz, 1H),  
6.85 - 6.62 (m, 1H), 6.38 (s, 2H), 3.99 (s, 3H), 2.76 (d, *J*  
= 0.5 Hz, 3H), 2.55 - 2.49 (m, 2H), 2.18 - 1.99 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 444.5 (MH<sup>+</sup>); t<sub>R</sub> = 0.52 minutos (Método B)

15           **Ejemplo 11** (*S*)-*N*-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-  
difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-  
ciano-3-metilpicolinamida (compuesto 11)



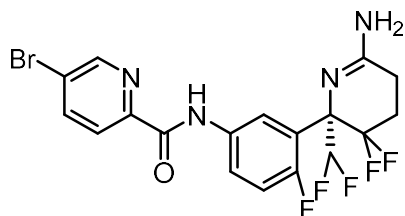
20           Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (*S*)-  
6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-

difluoropiperidin-2-tiona y ácido 5-ciano-3-metilpicolínico.

$^1\text{H}$  RMN (600 MHz, DMSO)  $\delta$  10.80 (s,  $J$  = 27.6 Hz, 1H), 8.99 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 1H), 8.40 (s, 1H), 7.99 - 7.87 (m, 1H), 7.82 - 7.69 (m, 1H), 7.36 - 7.13 (m, 1H), 6.73 (t,  $J$  = 55.0 Hz, 1H), 6.36 (s, 2H), 2.56 - 2.47 (m, 2H), 2.21 - 1.97 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 438.1 ( $\text{MH}^+$ );  $t_R$  = 0.49 minutos (Método B)

**Ejemplo 12** (*S*)-*N*-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-bromopicolinamida (compuesto 12)



15

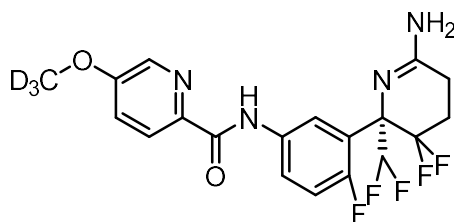
Se preparó tal como en el ejemplo 1 a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona y ácido 5-bromopicolínico.

$^1\text{H}$  RMN (600 MHz, DMSO)  $\delta$  10.78 (s, 1H), 8.87 (dd,  $J$  = 2.3, 0.7 Hz, 1H), 8.33 (dd,  $J$  = 8.4, 2.3 Hz, 1H), 8.09 (dd,  $J$  = 8.4, 0.6 Hz, 1H), 7.94 (ddd,  $J$  = 8.8, 4.1, 2.8 Hz, 1H), 7.89 (dd,  $J$  = 6.8, 2.7 Hz, 1H), 7.21 (dd,  $J$  = 11.6, 8.8 Hz, 1H), 6.88 - 6.62 (m, 1H), 6.39 (s, 2H), 2.60 - 2.49 (m, 2H), 2.19 - 1.96 (m, 2H).

20

LC-MS (m/z) 479.1 (MH<sup>+</sup>); t<sub>R</sub> = 0.53 minutos (Método B)

**Ejemplo 13** (S)-N-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-(metoxi-d3)picolinamida (compuesto 13)



5

10

15

20

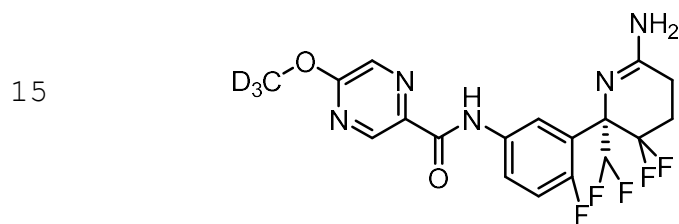
Se disolvió (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona (25 mg, 0.081 mmol) en diclorometano (1 mL) en una atmósfera de argón. Se añadió lentamente trimetilaluminio (52 µl, 0.105 mmol, 2 molar, tolueno) y a continuación se añadió (metoxi-d3)picolinato de metilo (18 mg, 0.11 mmol) en 0.5 mL de diclorometano. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se vertió sobre HCl (ac) 4 N enfriado. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato de magnesio y se concentró al vacío. Se añadió amoníaco en metanol 7 M (4 mL) y la mezcla de reacción se agitó a 50 °C en un vial sellado durante toda la noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío y se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (heptano/acetato de etilo) con una purificación posterior

mediante HPLC preparativo para obtener el compuesto del título como la sal del ácido trifluoroacético.

$^1\text{H}$  RMN (600 MHz, DMSO)  $\delta$  11.13 (s, 1H), 10.75 (s, 1H), 9.98 (s, 1H), 9.10 (s, 1H), 8.40 (dd,  $J$  = 2.9, 0.5 Hz, 1H), 8.21 (ddd,  $J$  = 8.9, 4.1, 2.6 Hz, 1H), 8.15 (dd,  $J$  = 8.7, 0.5 Hz, 1H), 8.09 (dd,  $J$  = 6.8, 2.6 Hz, 1H), 7.64 (dd,  $J$  = 8.7, 2.9 Hz, 1H), 7.40 (dd,  $J$  = 11.9, 9.0 Hz, 1H), 7.20 (t,  $J$  = 53.0 Hz, 1H), 3.17 - 3.01 (m, 2H), 2.48 - 2.38 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 432 ( $\text{MH}^+$ );  $t_R$  = 0.49 minutos (Método A)

**Ejemplo 14** (*S*)-*N*-(3-(6-amino-2-(difluorometil)-3,3-difluoro-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-(metoxi- $d_3$ )pirazin-2-carboxamida (compuesto 14)



Se preparó tal como en el ejemplo 13 a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona y 5-(metoxi- $d_3$ )picolinato de metilo.

$^1\text{H}$  RMN (600 MHz, DMSO)  $\delta$  10.61 (s, 1H), 8.89 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 1H), 8.42 (d,  $J$  = 1.2 Hz, 1H), 7.91 - 7.86 (m, 2H),

7.19 (dd,  $J = 11.5, 8.9$  Hz, 1H), 6.84 - 6.61 (m, 1H), 6.36 (s, 2H), 2.53 - 2.49 (m, 2H), 2.16 - 1.96 (m, 2H).

LC-MS (m/z) 433.1 ( $MH^+$ );  $t_R = 0.49$  minutos (Método A)

### **Estereoquímica**

5 Los cristales se obtuvieron mediante recristalización de (S)-5-bromo-N-(3-(2-(difluorometil)-3,3-difluoro-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida a partir de una mezcla de heptano y acetato de etilo. Se elucidó la estructura de (S)-5-bromo-N-(3-(2-(difluorometil)-3,3-  
10 difluoro-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida mediante cristalografía de rayos X de dichos cristales. La estructura muestra la configuración absoluta y relativa de (S)-5-bromo-N-(3-(2-(difluorometil)-3,3-difluoro-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida. Se preparó  
15 (S)-5-bromo-N-(3-(2-(difluorometil)-3,3-difluoro-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida tal como se describe en el ejemplo 1 a partir de (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona y ácido 5-bromopicolínico.

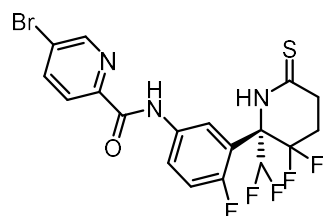
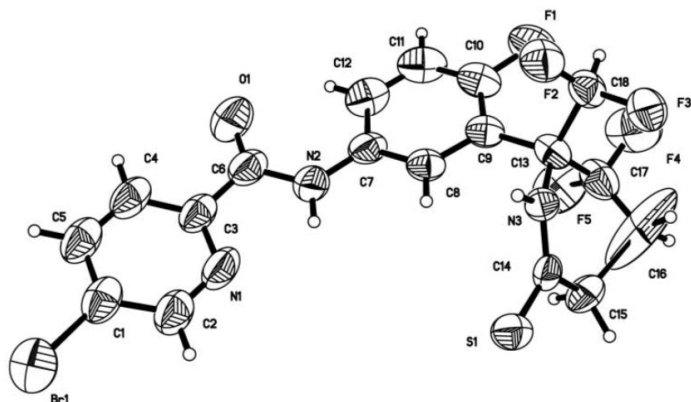


Figura 1: Estructura de rayos X de (*S*)-5-bromo-*N*-(3-(2-(difluorometil)-3,3-difluoro-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida.

Las configuraciones absolutas de los compuestos ejemplificados de la presente invención pueden racionalizarse de este modo. Se preparó (*S*)-5-bromo-*N*-(3-(2-(difluorometil)-3,3-difluoro-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-6-(difluorometil)-5,5-difluoropiperidin-2-tiona, que es el material de partida para todos los compuestos ejemplificados de la presente invención.

### **Pruebas farmacológicas**

### **Ensayo de unión de BACE1**

El ensayo de unión se llevó a cabo como un ensayo basado en SPA utilizando una forma biotinilada de BACE1 humana expresada de manera recombinante y purificada posteriormente a partir de células HEK293 Freestyle. El ensayo de unión se llevó a cabo en un tampón de acetato de sodio 50 mM, pH 4.5, que contenía NaCl 50 mM y 0.03% de Tween-20 en placas blancas de 384 pocillos de fondo transparente (Corning N.º 3653). Se mezcló con radioligando ( $[^3\text{H}]$ -*N*-((1*S*,2*R*)-1-bencil-3-ciclopropilamino-2-hidroxi-  
propil)-5-(metanosulfonilmetilamino)-*N*-((*R*)-1-feniletil)isofetalamida) (TRQ11569 adquirida de GE Healthcare) 10 nM (concentración final) con compuesto de prueba con una concentración concreta, BACE1 humana 6 nM (concentración final) y 25 µg de perlas de SPA con núcleo de PVT recubiertas de estreptavidina (RPNQ0007, GE Healthcare Life Sciences) en un volumen total de 40 µL. Se estudiaron varias concentraciones de cada compuesto de prueba en el ensayo para la determinación de la  $\text{CI}_{50}$ . Las placas se incubaron durante una hora a temperatura ambiente y se contaron en un contador Wallac Trilux. La unión total y la no específica se determinaron usando tampón y una concentración 1 µM (concentración final) del inhibidor de BACE1 con una afinidad elevada de referencia (*S*)-6-[3-cloro-5-(5-prop-1-ynilpiridin-3-yl)tiofen-2-yl]-2-imino-

3,6-dimetiltetrahidropirimidin-4-ona, respectivamente. Para cada compuesto de prueba, se determinó un valor de  $CI_{50}$  (la concentración que media el 50% de inhibición de la unión específica del radioligando) a partir de la curva de concentración-respuesta y se utilizó para calcular la  $K_i$  a partir de la ecuación  $K_i = CI_{50} / (1 + L/K_d)$ , donde L y  $K_d$  son la concentración final del radioligando utilizado en el ensayo y la constante de disociación del radioligando, respectivamente. La  $K_d$  del radioligando se determinó a partir de experimentos de unión de saturación.

Tabla 1: afinidad de unión de compuestos seleccionados

| <u>Compuesto</u> | BACE1                  |
|------------------|------------------------|
| N.º              | K <sub>i</sub><br>(nM) |
| 1                | 18                     |
| 2                | 23                     |
| 3                | 8.5                    |
| 4                | 20                     |
| 5                | 6.7                    |
| 6                | 20                     |
| 7                | 7.4                    |
| 8                | 71                     |

|    |     |
|----|-----|
| 9  | 6.9 |
| 10 | 16  |
| 11 | 7.8 |
| 12 | 6.1 |
| 13 | 14  |
| 14 | 18  |

**Ensayo de eficacia de BACE1**

El ensayo de eficacia se llevó a cabo como un ensayo basado en FRET usando un kit de BACE1 comercializado (Life Technologies, P2985). Se preincubaron 2  $\mu$ L de compuesto de prueba con una concentración 10  $\mu$ M (concentración final) y 15  $\mu$ L de enzima de BACE1 del kit (concentración final 3 nM) durante 15 minutos a temperatura ambiente antes de la adición de 15  $\mu$ L de sustrato del kit (concentración final 250 nM) y se incubó durante 90 minutos más a temperatura ambiente. La placa del ensayo se leyó posteriormente en un Pherastar (Ex540/Em590). La actividad enzimática observada en presencia del compuesto de prueba se normalizó respecto a la actividad enzimática observada en presencia del tampón y una concentración 10  $\mu$ M (concentración final) del inhibidor de referencia de BACE1 con afinidad elevada (S)-6-[3-cloro-5-(5-prop-1-inilpiridin-3-il)tiofen-2-il]-2-imino-3,6-dimetiltetrahidropirimidin-4-ona,

respectivamente. La eficacia de los compuestos de prueba se evaluó con una concentración 10  $\mu$ M (concentración final) y se definió como la inhibición porcentual de la actividad enzimática usando la ecuación  $\% \text{inhibición} = 100\% -$   
5 actividad enzimática normalizada en porcentaje.

Tabla 2: Actividad BACE1 de compuestos seleccionados

|    |                  |                                              |
|----|------------------|----------------------------------------------|
|    | Compuesto<br>N.º | Inhibición de<br>BACE1 con 10 $\mu$ M<br>(%) |
| 10 | 1                | 106                                          |
|    | 2                | 100                                          |
|    | 3                | 103                                          |
|    | 4                | 104                                          |
|    | 5                | 101                                          |
| 15 | 6                | 103                                          |
|    | 8                | 102                                          |
|    | 9                | 103                                          |
|    | 10               | 106                                          |
|    | 13               | 103                                          |
| 20 | 14               | 108                                          |

Evaluación de los niveles de A $\beta$  en cerebro y plasma  
de rata tras la inhibición de BACE1.

Animales.

Todos los procedimientos de cuidado de las ratas y experimentales fueron aprobados por el Personal Veterinario de Lundbeck de acuerdo con la legislación danesa. Las ratas se mantuvieron en instalaciones de barrera con un ciclo de 12/12-h de luz/oscuridad y acceso a comida y agua *ad libitum*.

Tratamiento de ratas no sometidas a tratamiento previo.

Se adquirieron ratas Sprague Dawley macho adultas jóvenes de aproximadamente 250g de peso de Charles River, las cuales recibieron 0-30 mg/kg de vehículo (10% de HP betaCD + 1M MeSO<sub>4</sub>, pH 2.5) o compuestos de prueba (disueltos en el vehículo) únicamente mediante sonda oral (vía oral). Los compuestos se dosificaron con un volumen de 5 mL/kg. Se establecieron cohortes de 5-10 animales para cada tratamiento de la afección.

Los animales que se sometieron a tratamiento fueron monitorizados de cerca por el personal veterinario en busca de cualquier signo de toxicidad. La monitorización de parámetros incluyó el peso corporal, apariencia física, cambios en la apariencia del pelo, casos de comportamiento no provocado y respuestas lentas o exageradas a estímulos externos.

Recogida del tejido.

A T = 180 minutos después de la dosificación inicial, se dejó inconsciente a los animales y se decapitaron con una guillotina. Se tomaron muestras de sangre del tronco en tubos recubiertos con EDTA después de la decapitación del animal. La sangre se centrifugó a 2200G a 4°C durante 15 minutos y el plasma se recogió y congeló a -80°C. La sangre se dividió en alícuotas para el análisis de A $\beta$  por ELISA y de DMPK. Inmediatamente después de sacrificarlos, se extrajo el cerebro y se cortó en 2 mitades. Los hemisferios cerebrales derechos se enfriaron rápidamente en hielo seco y se almacenaron a -80°C. Se disecó la mitad izquierda; el prosencéfalo frontal se tomó para el análisis por ELISA de A $\beta$  y el resto se utilizó para análisis de DMPK. Estas muestras también se enfriaron rápidamente en hielo seco y se almacenaron a -80°C hasta su uso para análisis.

#### Procesamiento del tejido.

Las muestras de la corteza se descongelaron ligeramente en hielo húmedo antes de homogeneizarlas con un instrumento de dispersión con un volumen pequeño (ULTRA-TURRAX® básico T10) el cual se fijó a una velocidad 5 durante aproximadamente 5-7 s. El tejido se procesó en un volumen que fue 10 veces el del peso, por ejemplo, 100 mg de tejido se homogeneizaron en 1000  $\mu$ L de tampón de

homogeneización. Tampón de homogeneización: 50 mL de agua Milli Q + NaCl 50 mM + 0.2% de Dietilamina (DEA) + 1 comprimido de cóctel inhibidor de Proteasa Completa + inhibidor de la serín proteasa irreversible clorhidrato de fluoruro de 4-(2-aminoetil)bencenosulfonilo 1 mM (AEBSF).

Después de la homogeneización, se recogieron alícuotas de 450 µL de las muestras en un tubo Eppendorf de 1.5 mL y se colocaron en hielo húmedo, se añadió NP-40 al 0.5% (50 µL) a todas las muestras y a continuación se incubaron en hielo durante 30 min. Después de ese tiempo se sonicaron todas las muestras utilizando un homogeneizador Ultrasonic con un conjunto de 10 pulsos de un sonido homogéneo de 20 kHz (SONOPLUS HD2070, Bandelin Electronic) a una potencia de un 12-13% para extraer todas las especies de Aβ. A continuación se centrifugaron las muestras (Microcentrífuga Ole Dich 157 MPRF) a 20 000G durante 20 minutos a 4 °C. Después de la centrifugación, se pipetearon 285 µL del sobrenadante a microtubos de 600 µL y se neutralizaron con 15 µL de tampón Tris-HCl 1 M.

#### Protocolo de ELISA.

Se utilizó el kit de Abeta amiloide (40) de humano/rata WAKO 294-62501 para todos los análisis por ELISA. Se colocaron 30 µL de muestras de plasma o 30 µL de

los sobrenadantes de corteza generados tal como se ha descrito anteriormente en microtubos de 600  $\mu$ L sobre hielo húmedo. A esto se añaden 30  $\mu$ L de Urea 8 M (AppliChem A1049, 9025) para diluir a la mitad. Tanto el plasma como  
5 los sobrenadantes de la corteza se incubaron en hielo durante 30 min. Se prepararon filas estándar a partir de la solución madre de péptido estándar que se proporciona en el kit y diluyente estándar que contiene urea 1.6 M (200  $\mu$ L de Urea 8M + 800  $\mu$ L de diluyente estándar) y urea 0.8M (400 $\mu$ L  
10 de Urea 8M + 3600 $\mu$ L de diluyente estándar). Se preparó para el ensayo una dilución a la mitad en serie de A $\beta$ 40 de 100 pmol/mL a 0 pmol/L.

Después de la incubación con urea, todas las muestras se diluyeron adicionalmente mediante la adición de 5 veces  
15 el diluyente estándar del Kit. Esto se realizó añadiendo 240  $\mu$ L de Diluyente Estándar a 60  $\mu$ L de mezcla de muestra/urea que después se mezcló bien. Se pipetearon 100  $\mu$ L de cada muestra diluida en los pocillos designados de la placa de ELISA por duplicado. A continuación se cubrió la  
20 placa y se incubó durante toda la noche a 4 °C. Al día siguiente, el kit ELISA se atemperó a temperatura ambiente antes de su uso. La placa incubada se lavó 5 veces con la solución de lavado 20x diluida en agua MiliQ. Se añadieron

100  $\mu$ L de HRP-conjugado en cada pocillo, se cubrió la placa y se incubó a 4 °C durante 1 h. El lavado se repitió de nuevo 5 veces. Se añadieron 100  $\mu$ L de solución de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) a cada pocillo, la  
5 placa se cubrió y se incubó en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 minutos. A continuación, se añadieron 100  $\mu$ L de solución de PARADA a cada pocillo y la placa se leyó a una longitud de onda de 450 nm en un espectrofotómetro (Labsystems Multiscan Ascent) en los 30  
10 min posteriores a la adición de la solución de PARADA a los pocillos.

La concentración de A $\beta$  en las muestras se determinó en función de una curva estándar generada a partir de patrones que contienen concentraciones conocidas de A $\beta$ 40  
15 sintético. Los expertos en la técnica apreciarán que las extracciones de dietilamina (DEA) y urea liberarán A $\beta$  soluble y A $\beta$  insoluble, respectivamente. Dado que el kit de ELISA está validado y se utiliza ampliamente, se acepta que siempre que las condiciones de tratamiento y las  
20 condiciones de ensayo sean las mismas para cada compuesto estudiado, entonces el ensayo debería producir datos sólidos y coherentes para los compuestos estudiados y producir discrepancias mínimas.

### Análisis de los datos

Para determinar la concentración de A $\beta$ 40 en las muestras, los valores interpolados de las muestras que se añaden en las placas se multiplican por 20 para dar cuenta de las diluciones realizadas cuando se sumaron los volúmenes de DEA, urea y solución de neutralización. Los valores se calculan como un cambio porcentual en A $\beta$ 40 en comparación con los animales tratados con vehículo.

### Bioanálisis de muestra de cerebro y plasma

Se determinó TC en homogeneizados de cerebro y plasma utilizando la cromatografía líquida de ultrarresolución<sup>®</sup> (UPLC<sup>®</sup>) y a continuación la detección por MS tándem (MS/MS).

#### Aparatos:

Tecan Genesis RSP 200; Biomek NXP, Beckman Coulter; centrífuga Sigma 4K15; Acquity UPLC, Waters; Sciex API4000 TQ, Applied Biosystems; MS software: Analyst versión 1.4.1

### Reactivos químicos

Acetonitrilo, calidad HPLC, Fluka, N.º 34967N; Metanol, calidad HPLC, Sigma-Aldrich, Lot 9003S; Ácido fórmico, calidad HPLC, Riedel-de Haën, Lot 51660; Agua purificada, Millipore Synergy UV

### Preparación de la muestra

Se preparó un homogeneizado de cerebro homogeneizando el cerebro 1:4 (v/v) con agua:2-propanol:DMSO (50:30:20 v/v/v), seguido de la centrifugación y recogida del sobrenadante. Se prepararon los patrones de calibración y muestras QC utilizando un robot Hamilton. Se añadieron 150 µL de ISTD en acetonitrilo (1 ng/mL de ISTD) a 25 µL de los patrones de calibración, las muestras QC y las muestras de prueba (homogeneizado de cerebro y plasma) utilizando un robot Biomek. Después de la centrifugación (6200 g, 4 °C, 20 min) se transfirieron 100 µL de sobrenadante de cada muestra a una placa nueva y se mezclaron con 100 µL de agua con un 0.1% de ácido fórmico utilizando un robot Biomek (archivo del método transferencia *in vivo*). Tras una centrifugación rápida (6200 g, 4 °C, 5 min) se colocaron las muestras en el automuestreador.

#### Análisis de UPLC-MS/MS

Se realizó la detección MS/MS con un instrumento Applied Biosystems Sciex API 4000 en modo de ionización por electronebulización de iones positivos. Se detectaron TC e ISTD con una relación de masa respecto a carga (m/z) del compuesto original > derivado. Se utilizó nitrógeno para los gases nebulizadores y de colisión. El área del pico presentó una correlación lineal con la concentración en plasma y cerebro de los analitos en el intervalo de 1.00 -

1000 ng/mL de plasma y 5.00 - 5000 ng/g de cerebro (corregida respecto a la dilución). Si la concentración del fármaco en la muestra de plasma/cerebro fue superior a 1000 ng/mL o 5000 ng/g, la muestra se diluyó de manera apropiada en el homogenizado de plasma blanco/cerebro blanco antes del análisis.

Sistema cromatográfico

Columnas analíticas:

Waters Acquity UPLC HSS C18 SB (pH 2-8) 1.8 µm,  
2.1x30mm.

Fase móvil A: 0.1% de ácido fórmico ac. o 0.1% de hidróxido de amonio ac.

Fase móvil B: Acetonitrilo con un 0.1% de ácido fórmico ac. o un 0.1% de hidróxido de amonio ac.

Lavado suave: Metanol

Lavado fuerte: Acetonitrilo/Isopropanol/Ácido fórmico (50/50/2 v/v/v)

Flujo: 0.6 mL/min

Tiempo de ejecución: 3 min.

A residuos: 0-0.5 min

Temperatura: 40 °C

Gradiente:

| Tiempo (min) | % A | % B |
|--------------|-----|-----|
| 0            | 98  | 2   |

|   |      |    |    |
|---|------|----|----|
|   | 0.01 | 98 | 2  |
|   | 1.5  | 5  | 95 |
|   | 2    | 5  | 95 |
|   | 2.2  | 98 | 2  |
| 5 | 3    | 98 | 2  |

Los compuestos 3 y 5 se administraron con dosis de 10 mg/kg por vía oral y se recogieron muestras de cerebro y plasma a 3 horas después de la dosis y las siguientes exposiciones se midieron tal como se ha descrito anteriormente.

Tabla 3: Resultados para el compuesto 3

|    |                    |                  |               |                            |                                     |
|----|--------------------|------------------|---------------|----------------------------|-------------------------------------|
|    |                    | Dosis<br>(mg/kg) | Exp<br>(ng/g) | Relación<br>cerebro/plasma | Reducción<br>de A $\beta$ 40<br>(%) |
| 15 | Cerebro de<br>rata | 10               | 511           | 0.30                       | 24                                  |
|    | Plasma de<br>rata  |                  | 1682          |                            | 39                                  |
| 20 | Cerebro de<br>rata | 30               | 2284          | 0.32                       | 38                                  |
|    | Plasma de<br>rata  |                  | 7056          |                            | 42                                  |

Tabla 4: Resultados para el compuesto 5

|  |       |     |          |           |
|--|-------|-----|----------|-----------|
|  | Dosis | Exp | Relación | Reducción |
|--|-------|-----|----------|-----------|

|                    | (mg/kg) | (ng/g) | cerebro/plasma | de A $\beta$ 40<br>(%) |
|--------------------|---------|--------|----------------|------------------------|
| Cerebro de<br>rata | 10      | 187    | 0.28           | 5                      |
| Plasma de<br>rata  |         | 660    |                | 40                     |
| Cerebro de<br>rata | 30      | 959    | 0.29           | 36                     |
| Plasma de<br>rata  |         | 3348   |                | 49                     |

Como se muestra en las tablas 3 y 4, los compuestos de la presente invención son capaces de penetrar la barrera hematoencefálica y muestran ser eficaces en el SNC.

#### Ensayo MDCK-MDR1

Se evaluó la permeabilidad de los compuestos de prueba en células MDCK-MDR1 que se cultivaron hasta alcanzar la confluencia (4-6 días) en una placa de 96 pocillos transwell. Los compuestos de prueba se diluyeron con el tampón de transporte (HBSS + 1% de BSA) hasta una concentración de 0.5  $\mu$ M y se añadieron a la parte apical o basolateral de la monocapa de células. Se determinó la permeación de los compuestos de prueba en dirección de A a B o en dirección de B a A por triplicado a lo largo de un tiempo de incubación de 60 minutos a 37 °C y con un 5% de

CO<sub>2</sub> con una humedad relativa de un 95%. Se cuantificaron los compuestos de prueba mediante un análisis de LC-MS/MS en función de las relaciones de área de los picos de analito/IS tanto en los pocillos receptores como donantes de la placa transwell.

Se calculó el coeficiente de permeabilidad aparente Pap (cm/s) utilizando la ecuación:

$$\text{Pap} = (\text{dCr}/\text{dt}) \times \text{Vr} / (\text{A} \times \text{C0})$$

Donde dCr/dt es la concentración acumulada del compuesto en la cámara receptora en función del tiempo (µM/s); Vr es el volumen de la solución en la cámara receptora (0.05 mL en la parte apical; 0.25 mL en la parte basolateral); A es el área de superficie para el transporte, es decir 0.0804 cm<sup>2</sup> para el área de la monocapa; C0 es la concentración inicial en la cámara donante (µM).

Los compuestos se clasifican como sustratos Pgp cuando la relación de salida (Pap BA / Pap AB) es ≥ 2.

Tabla 5: Actividad BACE1 de compuestos seleccionados

| Compuesto | Relación de salida MDCK-MDR1 |
|-----------|------------------------------|
| 1         | 1.16                         |

5

10

|    |       |
|----|-------|
| 2  | 1.75  |
| 3  | 1.22  |
| 4  | 4.01  |
| 5  | 0.99  |
| 6  | 1.36  |
| 7  | 2.43  |
| 8  | 0.92  |
| 9  | 10.99 |
| 10 | 0.98  |
| 11 | 2.68  |
| 12 | 1.31  |
| 13 | 0.83  |

15

20

Tal y como se muestra en la tabla 5, la mayoría de los compuestos ejemplificados de la presente invención tienen relaciones de salida MDCK-MDR1 inferiores a 2 y de esta manera es probable que sean capaces de cruzar la barrera hematoencefálica (E Kerns, L Di, Drug-like Properties: Concepts, Structure Design and Methods (2008) Elsevier).