

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

CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención proporciona compuestos que son
5 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 y cognitivos.

TÉCNICA ANTERIOR

10 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
15 signos neurológicos focales. La demencia se clasifica además
según su etiología. La enfermedad de Alzheimer (EA) es la
causa más común de demencia, seguida de la demencia mixta por
combinación de EA, la demencia vascular, la demencia con
cuerpos de Lewy (DCL) y la demencia frontotemporal.

20 Se considera que los depósitos β -amiloides y los ovillos
neurofibrilares constituyen caracterizaciones patológicas
principales asociadas con la EA, que se caracteriza por la
pérdida de memoria, cognición, razonamiento, juicio y
orientación. También se ven afectadas, según avanza la
25 enfermedad, las capacidades motoras, sensoriales y
lingüísticas hasta que ocurre un deterioro global de
múltiples funciones cognitivas. Los depósitos de β -amiloide
son predominantemente un agregado del péptido A β 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 β -amiloidogénica. El péptido A β resulta de la escisión de APP en los extremos C por parte de una o más γ -secretasas y en el extremo N por parte de β -secretasa 1 (BACE1), también conocida como aspartil proteasa 2. La actividad de BACE1 se correlaciona directamente con la generación de péptido A β a partir de APP.

Los estudios indican que la inhibición de BACE1 impide la producción del péptido A β . Además, BACE1 se co-localiza con su sustrato APP en el aparato de Golgi y en compartimientos endocíticos (Willem M, et al. *Semin. Cell Dev. Biol.*, 2009, 20, 175-182). Estudios de inmunodeficiencia en ratones han demostrado la ausencia de la formación de péptido amiloide mientras que 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 sobre-expresan APP ha demostrado la ausencia de la formación de placas y la inversión de déficits cognitivos (Ohno M, et al. *Neuron*; 2004, 41, 27-33). Los niveles de BACE1 son elevados en los cerebros de pacientes de AD esporádicos (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 β .

AstraZeneca anunció el descubrimiento de AZD3839, un potente candidato clínico inhibidor de BACE1 para el tratamiento de AD (Jeppsson, F., et al. *J. Biol. Chem.*, 2012, 287, 41245-41257) en octubre de 2012. El esfuerzo que condujo

al descubrimiento de AZD3839 se describió adicionalmente 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
5 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
10 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
15 la tabla 4 se describe una serie de compuestos que contienen amidina que se consideraron interesantes desde una perspectiva 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.

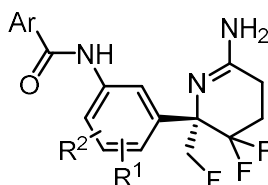
20 Investigadores de Hoffmann-La Roche y Siena Biotech también informaron sobre el descubrimiento de compuestos que contienen amidina (Woltering, T. J., et al. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2013, 23, 4239-4243). Se descubrió que estos compuestos (compuestos 17 y 18 en el documento) no tienen
25 ningún efecto *in vivo* (falta de reducción de A β 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 pueden penetrar 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.

5 SUMARIO DE LA INVENCION

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



Fórmula I

10 en donde Ar se selecciona del grupo consistente en fenilo, piridilo, pirimidilo, pirazinilo, imidazolilo, pirazolilo, tiazolilo, oxazolilo e isoxazolilo, y en que el Ar está opcionalmente sustituido con uno o más de halógeno, CN, alquilo C₁-C₆, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, fluoroalquilo C₁-C₆ o alcoxi C₁-C₆; y

15 R¹ y R², independientemente, son hidrógeno, halógeno, fluoroalquilo C₁-C₃ o alquilo C₁-C₃;

o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

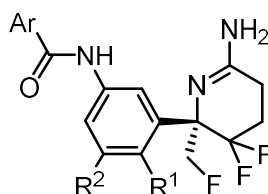
En realizaciones separadas de la invención, el compuesto se selecciona de uno de los compuestos ejemplificados divulgados en la Sección Experimental.

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

La presente invención proporciona un método de tratar a un sujeto que padece un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, la presente invención se dirige al uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo.

En una realización, el compuesto de la presente invención es de acuerdo con la Fórmula Ia



Fórmula Ia;

o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

En una realización, R^1 y R^2 , independientemente, son H o F, en particular R^1 es F y R^2 es H o tanto R^1 como R^2 son F.

En una realización, Ar está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados de F, Cl, CN, alquilo C_1-C_3 , fluoroalquilo C_1-C_3 o alcoxi C_1-C_3 .

En una realización, Ar es fenilo sustituido opcionalmente.

En una realización, Ar es piridilo sustituido opcionalmente.

En una realización, Ar es pirimidilo sustituido opcionalmente.

En una realización, Ar es pirazinilo sustituido opcionalmente.

En una realización, Ar es imidazolilo sustituido opcionalmente.

5 En una realización, Ar es pirazolilo sustituido opcionalmente.

En una realización, Ar es tiazolilo sustituido opcionalmente.

10 En una realización, Ar es oxazolilo sustituido opcionalmente.

En una realización, Ar es isoxazolilo sustituido opcionalmente.

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

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

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

20 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-metoxipirazina-2-carboxamida

(S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-1-(difluorometil)-1H-pirazol-3-carboxamida

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

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

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

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

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

10 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-2-metiloxazol-4-carboxamida

(S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-metoxipirazina-15 2-carboxamida

(S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-fluoropicolinamida

20 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-cloropicolinamida

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

25 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-metoxipicolinamida

(S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-(metoxi-d₃)picolinamida

5 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-ciano-3-metilpicolinamida

(S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-(metoxi-d₃)picolinamida

10

(S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-bromopicolinamida
o una sal farmacéuticamente aceptable de estos.

Una realización separada se dirige a una composición
15 farmacéutica que comprende un compuesto de la lista anterior
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un soporte
farmacéuticamente aceptable.

Otra realización de la invención está dirigida a un
método de tratar un trastorno neurodegenerativo o cognitivo,
20 que comprende administrar una cantidad terapéuticamente
eficaz de un compuesto de la lista anterior o una sal
farmacéuticamente aceptable del mismo a un paciente en
necesidad del mismo. En otra realización, la invención se
dirige al uso de un compuesto de la lista anterior o una sal
25 farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de
un medicamento para tratar un trastorno neurodegenerativo o
cognitivo.

En una realización, la invención se dirige a un
compuesto de la lista anterior o una sal farmacéuticamente

aceptable del mismo, para uso en un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo.

En una realización, la invención se dirige a un compuesto de la lista anterior o una sal farmacéuticamente
5 aceptable del mismo, para uso en terapia.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCIÓN

La presente invención se basa en el descubrimiento de que compuestos de Fórmula I son inhibidores de BACE1 y como tales son útiles para el tratamiento de trastornos
10 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
15 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
20 "alquilo C₁-C₆" 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 C₁-C₆ incluyen, sin carácter limitante, metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-butilo, 2-metil-2-propilo, 2-metil-1-propilo, n-
25 pentilo y n-hexilo. De manera similar, la expresión "alquilo C₁-C₃" 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 C₁-C₆" 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 C₁-C₆ incluyen, sin carácter limitante, metoxi, etoxi, n-butoxi, t-butoxi y n-hexiloxi. El "alcoxi C₁-C₆" está sustituido opcionalmente con uno o más átomos de flúor.

Tal como se utiliza en la presente, la expresión "fluoroalquilo C₁-C₆" 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 C₁-C₆ incluyen, sin carácter limitante, trifluorometilo, pentafluoroetilo, 1-fluoroetilo, monofluorometilo, difluorometilo, 1,2-difluoroetilo y 3,4 difluorohexilo. De manera similar, la expresión "fluoroalquilo C₁-C₃" 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 fluoro, cloro, bromo y yodo.

El término "alqueno C₂-C₆" se refiere a un grupo alqueno ramificado o no ramificado que tiene de uno a seis átomos de carbono y un doble enlace, que incluye, pero no se limita a etenilo, propenilo y butenilo.

El término "alquino C₂-C₆" se refiere a un grupo alquino ramificado o no ramificado que tiene de uno a seis átomos de carbono y un triple enlace, que incluye, pero no se limita a etinilo, propinilo y butinilo.

Se pretende que la expresión "cantidad eficaz", tal como se utiliza en la presente, cuando se aplica a un compuesto de la invención, denote una cantidad suficiente para provocar un efecto biológico deseado. Se pretende que la expresión

5 "cantidad terapéuticamente eficaz", cuando se aplica a un compuesto de la invención, denote una cantidad del compuesto que sea suficiente para mejorar, paliar, estabilizar, anular, ralentizar o retrasar el avance de un estado del trastorno o enfermedad o de un síntoma del trastorno o enfermedad. En una

10 realización, el método de la presente invención proporciona la administración de combinaciones de compuestos. En tales casos "cantidad eficaz" es la cantidad del compuesto de la presente invención en una combinación que sea suficiente para provocar el efecto biológico pretendido.

15 El término "tratamiento" o "tratando", tal como se utiliza en esta memoria, significa mejorar o revertir el progreso o la gravedad de una enfermedad o trastorno, o mejorar o revertir uno o más síntomas o efectos secundarios de dicha enfermedad o trastorno. "Tratamiento" o "tratando",

20 tal como se utiliza en esta memoria, significa también inhibir o bloquear tal como retardar, detener, restringir, impedir u obstruir el progreso de un sistema, afección o estado de una enfermedad o trastorno. A los efectos de esta invención, los términos "tratamiento" o "tratar" se refieren,

25 además, a una estrategia para obtener 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 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
5 total.

La presente invención proporciona también un método de
tratar un enfermedad o un trastorno, comprendiendo el método
administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de al menos
un compuesto de la presente invención o una sal
10 farmacéuticamente aceptable del mismo a un mamífero en
necesidad del mismo, en el que la enfermedad o el trastorno
es una enfermedad o trastorno neurodegenerativo o cognitivo.

Los compuestos de la presente invención, tal como se ha
discutido anteriormente, se espera que sean útiles en el
15 tratamiento de la enfermedad de Alzheimer debido a sus
efectos sobre los depósitos de β -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
20 péptido A β . Sin embargo, es importante señalar que agregados
de péptido A β no se limitan a la enfermedad de Alzheimer
familiar, sino que son de manera similar una importante
característica patofisiológica de la enfermedad de Alzheimer
esporádica más común [*MolCell Neurosci*, 66, 3-11, 2015].

25 También se cree que los compuestos de la presente
invención son útiles en el tratamiento de la etapa inicial 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 de Alzheimer podrá comenzar años antes de que se manifieste cualquier manifestación clínica de la enfermedad. La etapa

5 inicial de la enfermedad de Alzheimer incluye la enfermedad de Alzheimer prodrómica, la enfermedad de Alzheimer preclínica y deterioro cognitivo leve. Aunque el deterioro cognitivo leve podrá no estar relacionado con la enfermedad de Alzheimer, a menudo es una etapa de transición a la

10 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

15 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

20 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 β -amiloide y ovillos neurofibrilares. Aquí se incluye, p. ej., la

25 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 una sobre-expresión de APP, lo cual conduce a niveles incrementados de

péptido A β , que finalmente provoca el riesgo acusadamente incrementado de desarrollar la enfermedad de Alzheimer vista en pacientes del síndrome de Down [*Alzheimer's & Dementia*, 11, 700-709, 201]. La angiopatía amiloide cerebral se caracteriza también por depósitos β -amiloides y ovillos neurofibrilares en vasos sanguíneos del sistema nervioso central [*Pharmacol Reports*, 67, 195-203, 2015] y, como tal, se espera que sea tratable con compuestos de la presente invención.

10 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 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.

20 La presente invención proporciona además un método 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.

25 La presente invención también proporciona un método para inhibir la escisión mediada por la β -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 del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad seleccionada de la enfermedad de Alzheimer (familiar o esporádica), enfermedad de Alzheimer preclínica, enfermedad de Alzheimer prodrómica, deterioro cognitivo leve, síndrome de Down o angiopatía amiloide 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 del mismo, para la fabricación de un medicamento para la inhibición de la producción o acumulación de péptido A β .

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 del mismo para uso en un método para la inhibición de BACE1 o en un método para inhibir la producción o acumulación de péptido A β .

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.

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

Los compuestos de la presente invención, como se demuestra en los ejemplos, inhibidores potentes de BACE1, y son capaces de disminuir el nivel del péptido A β en el cerebro y plasma de rata y, por tanto, se cree que dichos
10 compuesto son útiles en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos y cognitivos cuyas características patológicas comprenden depósitos de A β y ovillos neurofibrilares, tales como, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer. Puede ser beneficioso combinar un compuesto de la
15 presente invención con otro tratamiento convencional útil en el tratamiento de dicha enfermedad, por ejemplo la enfermedad de Alzheimer.

Las proteínas tau son abundantes en las neuronas. Las proteínas tau son solubles muy lábiles en la fosforilación y
20 se unen a tubulina, proporcionando la regulación y modulación del ensamblaje de tubulina, es decir, finalmente la estructura microtubular y la estabilidad. Las proteínas tau solamente se pueden asociar con la tubulina en el principal estado desfosforilado, y la fosforilación/defosforilación
25 actúa como un interruptor que controla la asociación de tubulina. La tau fosforilada constituye una parte importante de los ovillos neurofibrilares, que son uno de los principales rasgos característicos de la enfermedad de Alzheimer. La denominada hipótesis tau sugiere el

direccionamiento de estos ovillos patológicos, un componente principal de lo que es la proteína tau fosforilada, como paradigma de tratamiento para la enfermedad de Alzheimer. En particular, las inmunoterapias, tanto activas como pasivas, se han sugerido como formas de dirigirse a los ovillos neurofibrilares de tau. En la inmunoterapia activa, un antígeno patógeno dentro del paciente y el sistema inmunitario innato provoca una respuesta inmunitaria. Esta desencadena la maduración de los linfocitos B generando anticuerpos de alta afinidad contra el antígeno administrado. En una inmunoterapia pasiva, el desencadenamiento del sistema inmunitario innato se evita infundiendo un anticuerpo específico contra el antígeno. Se ha sugerido que el sistema inherente de eliminación elimina entonces el ligando unido a anticuerpo. Existe una evidencia sustancial de la eficacia de la proteína Tau fosforilada dirigida a la inmunoterapia tanto activa como pasiva como un tratamiento de la enfermedad de Alzheimer [Alzheimer's & Dementia, 7(4, supl) S480-481; J Neurosci 30, 16559-16556, 2010; J Neurosci, 27, 9115-9129, 2007].

En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, donde el método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de dos componentes (1) un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y (2) un compuesto útil en la inmunoterapia activa o pasiva contra tau, a un paciente que lo necesita. Dicho compuesto útil en la inmunoterapia activa o pasiva contra tau puede ser

un anticuerpo dirigido contra la proteína tau fosforilada. Dicho compuesto útil en la inmunoterapia contra tau activa puede ser un fragmento de la secuencia de aminoácidos de la proteína tau, el cual, tras la inyección en un paciente, provoca la generación de un anticuerpo contra la proteína tau anti-fosforilada en dicho paciente. La administración de acuerdo con esta realización de la invención puede ser simultánea, o puede existir un lapso de tiempo entra la administración de ambos componentes.

10 En una realización, la invención se refiere al uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto útil en la inmunoterapia activa o pasiva contra tau en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

15 En una realización, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto útil en la inmunoterapia activa o pasiva contra tau para su uso en un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

20 En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente de este y un compuesto útil en la inmunoterapia activa o pasiva contra tau y un portador farmacéuticamente aceptable.

25 Otro paradigma para tratar un trastorno neurodegenerativo y cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, es dirigirse a los péptidos A β . Se ha sugerido que

esto se puede conseguir mediante péptidos A β dirigidos a la inmunoterapia activa o pasiva [J Neurosci, 34, 11621-11630, 2014; J Neurosci 33, 4923-4934, 2013]. En combinación con los compuestos de la presente invención, estos intentaría
5 dirigirse al mismo mecanismo patológico mediante dos rutas diferentes. Los anticuerpos anti-A β (tanto inyectados directamente en el paciente como generados en el paciente como resultados de la inmunoterapia activa) eliminan los depósitos de A β del cerebro, mientras que la acumulación
10 adicional del péptido A β se bloquea o se reduce mediante los compuestos de la presente invención.

En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, donde el
15 método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de dos componentes (1) un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y (2) un compuesto útil en la inmunoterapia activa o pasiva contra el péptido A β , a un paciente que lo necesita. Dicho
20 compuesto útil en la inmunoterapia pasiva contra el péptido A β puede ser un anticuerpo contra el péptido A β , tal como gantenerumab, solanezumab, aducanumab o crenezumab. Dicho compuesto útil en la inmunoterapia activa contra el péptido A β puede ser un fragmento de la secuencia de aminoácidos del
25 péptido A β que, tras su inyección a un paciente, desencadena anticuerpos contra el péptido A β en dicho paciente. La administración de acuerdo con esta realización de la invención puede ser simultánea, o puede existir un lapso de tiempo entra la administración de ambos componentes.

En una realización, la invención se refiere al uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto útil en la inmunoterapia activa o pasiva contra el péptido A β en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

En una realización, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un compuesto útil en la inmunoterapia activa o pasiva contra el péptido A β para su uso en un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente de este y un compuesto útil en la inmunoterapia activa o pasiva contra el péptido A β y un portador farmacéuticamente aceptable.

El antagonista del receptor NMDA (N-Metil-D-Aspartato) memantina y los inhibidores de la acetilcolina esterasa donepezilo, rivastigmina y galantamina son fármacos autorizados para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, donde el método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de dos componentes (1) un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y

(2) un antagonista del receptor NMDA o un inhibidor de la acetilcolina esterasa, a un paciente que lo necesita. La administración de acuerdo con esta realización de la invención puede ser simultánea, o puede existir un lapso de
5 tiempo entra la administración de ambos componentes.

En una realización, la invención se refiere al uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un antagonista del receptor NMDA o un inhibidor de la acetilcolina esterasa en la elaboración de un medicamento
10 para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

En una realización, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un antagonista del receptor NMDA o un inhibidor de la acetilcolina esterasa para su uso en un método para el
15 tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de
20 Fórmula I o una sal farmacéuticamente de este y un antagonista del receptor NMDA o un inhibidor de la acetilcolina esterasa y un portador farmacéuticamente aceptable.

Convulsiones o una actividad epileptiforme están también
25 asociadas con la enfermedad de Alzheimer, incluyendo etapas iniciales de la enfermedad de Alzheimer, y el tratamiento de dicha actividad epiléptica que busca normalizar la hiperactividad del hipocampo, pueden formar parte de un paradigma del tratamiento de una enfermedad de Alzheimer

[JAMA Neurol, 70, 1158-1166, 2013; J Neurosci Res, 93, 454, 465, 2015; Neuron, 74, 647-474, 2012; Neurepsychopharm, 35, 1016-1025, 2010; CNS NeurosciTher, 19, 871-881, 2013]. Los antiepilépticos útiles incluyen inhibidores del receptor NMDA y moduladores de los canales de iones, tales como topiramato, levetiracetam y lamotrigine.

En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, donde el método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de dos componentes (1) un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y (2) un antiepiléptico, a un paciente que lo necesita. La administración de acuerdo con esta realización de la invención puede ser simultánea, o puede existir un lapso de tiempo entra la administración de ambos componentes.

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

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

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de

Fórmula I o una sal farmacéuticamente de este y un antiepiléptico y un portador farmacéuticamente aceptable.

Una evidencia emergente sugiere que la inflamación tiene un papel causal en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer y que la neuroinflamación no es un sistema pasivo activado al emerger depósitos β -amiloides y ovillos neurofibrilares, sino que contribuye en la propia patogénesis [Lancet Neurol, 14, 388-405, 2015; J Alz Dis, 44, 385-396, 2015; Neurol, 84, 2161-2168, 2015]. De ello se deduce que fármacos anti-inflamatorios tales como NSAID (fármacos anti-inflamatorios no esteroides), inhibidores de TNF α tales como etanercept e inhibidores de γ MAP quinasa p38 tales como VX-745 (5-(2,6-diclorofenil)-2-((2,4-difluorofenil)tio)-6H-pirimido[1,6-b]piridazin-6-ona) pueden ser útiles en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, donde el método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de dos componentes (1) un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y (2) un fármaco anti-inflamatorio, a un paciente que lo necesita. La administración de acuerdo con esta realización de la invención puede ser simultánea, o puede existir un lapso de tiempo entra la administración de ambos componentes.

En una realización, la invención se refiere al uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un fármaco anti-inflamatorio en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un trastorno

neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

En una realización, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable
5 de este y un fármaco anti-inflamatorio para su uso en un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de
10 Fórmula I o una sal farmacéuticamente de este y un fármaco anti-inflamatorio y un portador farmacéuticamente aceptable.

Además, se ha demostrado la eficacia en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer de inhibidores de la agregación de proteína Tau, tal como TRX-0237, también conocido como
15 Azul Metileno, y SSRIs (Inhibidor Selectivo de la Recaptación de Serotonina), tal como citalopram [BehavPharmacol, 26, 353-368, 2015; SciTransl Med, 6(236re4), 2014].

En una realización, la invención proporciona un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o
20 cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer, donde el método comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de dos componentes (1) un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y
(2) un inhibidor de la agregación de la proteína tau o SSRI,
25 a un paciente que lo necesita. La administración de acuerdo con esta realización de la invención puede ser simultánea, o puede existir un lapso de tiempo entra la administración de ambos componentes.

En una realización, la invención se refiere al uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un inhibidor de la agregación de la proteína tau o SSRI en la elaboración de un medicamento para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

En una realización, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de este y un inhibidor de la agregación de la proteína tau o SSRI para su uso en un método para el tratamiento de un trastorno neurodegenerativo o cognitivo, por ejemplo, la enfermedad de Alzheimer.

En una realización, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente de este y un inhibidor de la agregación de la proteína tau o SSRI y un portador farmacéuticamente aceptable.

Sales farmacéuticamente aceptables

La presente invención también comprende sales de los presentes compuestos, normalmente, sales farmacéuticamente aceptables. Dichas sales incluyen las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptable. 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, yodhídrico, fosfórico, sulfúrico, sulfámico, nítrico y similares. Ejemplos representativos de ácidos orgánicos adecuados incluyen ácidos 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, bismetilensalicílico, etanodisulfónico, glucónico, citracónico, aspártico, esteárico, palmítico, EDTA, glicólico, p-aminobenzoico, glutámico, bencenesulfónico, p-toluenosulfónico, ácidos teofilin-acéticos, así como las 8-haloteofilinas (por ejemplo, 8-bromoteofilina y similares). Ejemplos adicionales sales por adición de ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables incluyen las sales farmacéuticamente aceptables enumeradas en S. M. Berge, et al., J. Pharm. Sci., 1977, 66, 2.

Además, los compuestos de esta invención pueden existir en formas solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares.

Los compuestos de la presente invención podrán 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 entiende que cuando se especifica la forma enantiomérica, entonces el compuesto está en exceso enantiomérico, p. ej., esencialmente una forma pura. Por consiguiente, una realización de la invención se refiere a un compuesto de la invención que tiene un exceso enantiomérico

de al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 85%, al menos 90%, al menos 96%, preferiblemente al menos 98%,

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 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 pueden incluir, pero no se limitan a ácidos d- o l- tartárico, mandélico o canfosulfónico. Otro método para la resolución de racematos en los antípodas ópticos se basa en cromatografía en 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. Compuestos ópticamente activos también se pueden preparar a partir de materiales de partida ópticamente activos.

Composiciones farmacéuticas

5 La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de éste y un portador farmacéuticamente aceptable. La presente invención proporciona también una composición farmacéutica que
10 comprende un compuesto específico descrito en la Sección Experimental o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un soporte farmacéuticamente aceptable.

Los compuestos de la invención se podrán administrar solos o combinados con portadores o excipientes
15 farmacéuticamente aceptables, ya sea en dosis individuales o múltiples. Las composiciones farmacéuticas según la invención pueden formularse con portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables así como también con cualquier otro adyuvante y excipiente conocido según técnicas
20 convencionales tales como las dadas a conocer en Remington: *The Science and Practice of Pharmacy*, 22.^a edición, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 2013.

Composiciones farmacéuticas para la administración oral incluyen formas de dosificación sólidas tales como cápsulas,
25 comprimidos, grageas, píldoras, pastillas, polvos y gránulos. En caso apropiado, las composiciones se pueden preparar con revestimientos tales como revestimientos entéricos, o se pueden formular con el fin de proporcionar una liberación controlada del ingrediente activo tal como una liberación

sostenida o prolongada de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica. Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral incluyen soluciones, emulsiones, suspensiones, jarabes y elixires. Composiciones farmacéuticas para administración parenteral incluyen soluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones inyectables, acuosas y no acuosas, estériles, así como polvos estériles a ser reconstituidos en soluciones o dispersiones inyectables estériles antes del uso. 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. Sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto de Fórmula I se preparan, p. ej., de una manera convencional tratando una disolución o suspensión de una base libre de Fórmula I con un equivalente molar de un ácido farmacéuticamente aceptable. Ejemplos representativos de ácidos orgánicos e inorgánicos adecuados se describen arriba.

Portadores farmacéuticamente adecuados incluyen diluyentes o cargas sólidos inertes, soluciones acuosas estériles y diversos disolventes orgánicos. Ejemplos de portadores sólidos incluyen lactosa, terra alba, sacarosa, ciclodextrina, talco, gelatina, agar, pectina, acacia, estearato de magnesio, ácido esteárico y alquil inferior-

ésteres de 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 manera similar, el portador o diluyente puede incluir cualquier material de liberación sostenida conocido en la técnica tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo, solo o mezclado con una cera. Las composiciones farmacéuticas, formadas al combinar los compuestos de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos y un soporte farmacéuticamente aceptable se administran fácilmente en una diversidad de formas de dosificación adecuadas para las vías de administración descritas. Las formulaciones se pueden presentar convenientemente en forma de dosificación unitaria por métodos conocidos en la técnica de farmacia.

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 puede estar en forma de un jarabe, emulsión, cápsula de gelatina blanda o líquido inyectable estéril tal como una suspensión o solución acuosa o no acuosa.

SECCIÓN EXPERIMENTAL

Los compuestos de fórmula I, en donde R^1 , R^2 y Ar son como se definen arriba, se pueden preparar por los métodos

esbozados en los siguientes esquemas de reacción 1-7 y en los ejemplos. En los métodos descritos, es posible hacer uso de variantes o modificaciones que por sí mismas son conocidas para los químicos expertos en la técnica o que podrían ser evidentes para la persona de experiencia ordinaria 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.

10 Por ejemplo, el Esquema 5 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 particular. Además de ello, puede ser necesario incorporar
15 estrategias de protección y desprotección para sustituyentes tales como grupos amino, amido, ceto e hidroxilo en los métodos de síntesis descritos más adelante para sintetizar los compuestos de Fórmula I. Métodos para la protección y desprotección de cada uno de los grupos son bien conocidos en
20 la técnica y se pueden encontrar en T. Green, et al., Protective Groups in Organic Synthesis, 1991, 2^a Edición, John Wiley & Sons, Nueva York.

Para los compuestos que pueden existir como una mezcla o equilibrio entre dos o más tautómeros, solamente se
25 representa un tautómero en los esquemas, aunque puede que no sea el tautómero más estable. Para los compuestos 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 utilizando los siguientes métodos.

5 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
10 a 254 nm), detector ELS y SQ-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; 2.1x150mm que funcionaba a 60 °C con 0.6 ml/min de un gradiente binario constituido por agua + 0.05% de ácido
15 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:

20 LC-MS se realizaron en Waters Acquity UPLC-MS que consiste en Waters Acquity que incluye administrador de la columna, administrador de disolventes binario, organizador de muestras, detector de PDA (que funciona a 254 nm), detector de ELS y TQ-MS equipado con fuente APPI que funciona en modo
25 de ion positivo.

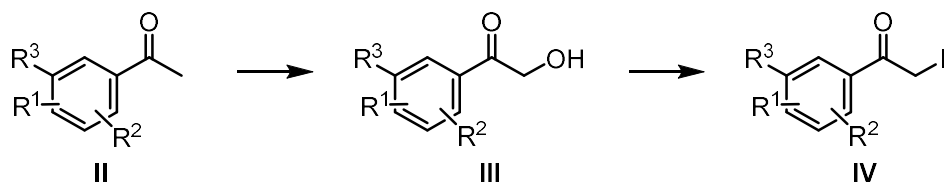
Condiciones de LC: la columna fue Acquity UPLC BEH C18 1.7µm; 2.1x50mm que funcionaba a 60 °C con 1.2 ml/min de un gradiente binario constituido por agua + 0.05% de ácido trifluoroacético (A) y acetonitrilo + 5% de agua + 0.05% de

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 ^1H RMN se registraron a 600 MHz en un
5 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 =
10 singlete, d = doblete, t = triplete, c = cuádruplete, dd =
doble doblete, ddd = doble doblete doble, dt = doble
triplete, a = ancho y m = multiplete.

Compuestos de la fórmula general IV se pueden preparar
tal como se muestra en el Esquema 1.

15 Esquema 1

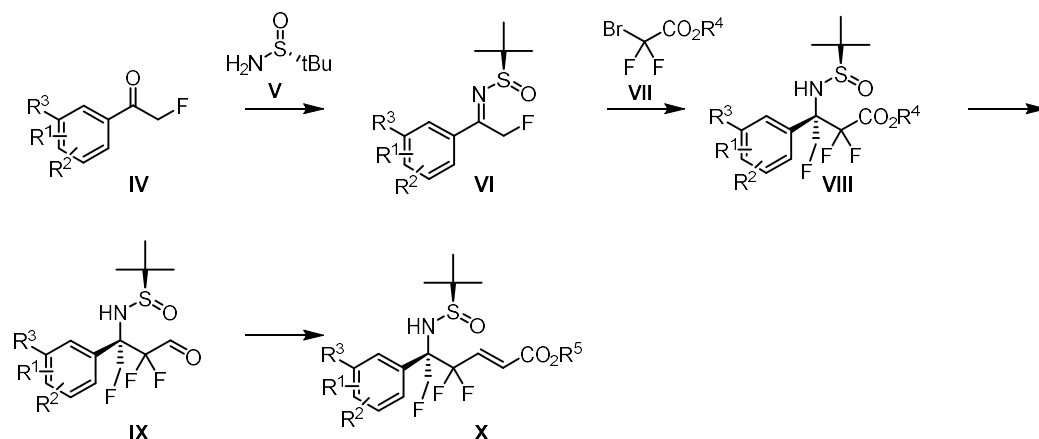


en que R¹ es como se define bajo la fórmula I y R³ es un
hidrógeno o un grupo nitro.

Compuestos de la fórmula general III (Esquema 1) se
20 pueden preparar haciendo reaccionar compuestos de la fórmula
general II con un oxidante tal como bis(acetoxi)yodobenceno
en una disolución de una base tal como hidróxido potásico en
metanol, seguido de desprotección del dimetil-cetal formado.
Compuestos de la fórmula general IV se pueden entonces
25 obtener mediante sustitución del resto hidroxilo de compuesto
III con flúor, utilizando procedimientos estándares.

Compuestos de la fórmula general X se pueden preparar tal como se muestra en el Esquema 2.

Esquema 2



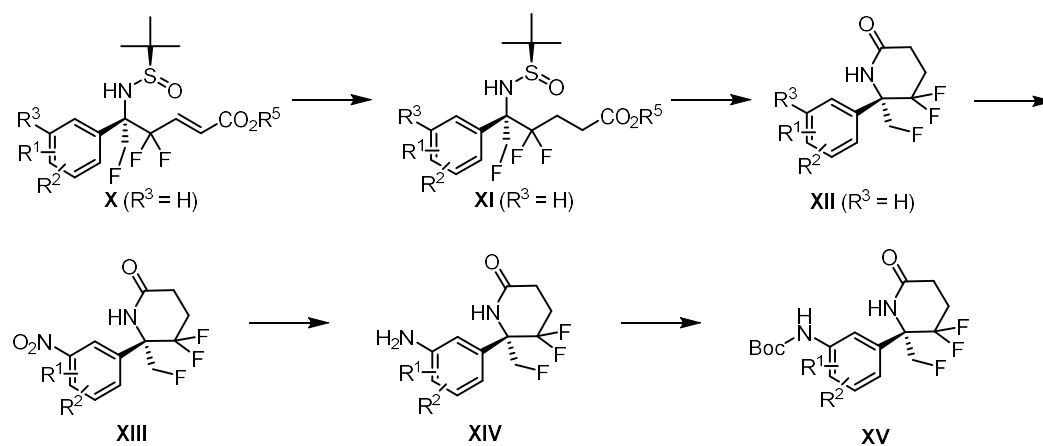
5 en que R^1 y R^2 son como se definen bajo la fórmula I, R^3 es hidrógeno o un grupo nitro y R^4 y R^5 son un grupo alquilo tal como metilo o etilo.

Compuestos de la fórmula general VI (Esquema 2) se pueden preparar haciendo reaccionar compuestos de la fórmula general IV con una sulfonamida tal como V en presencia de un ácido de Lewis/agente deshidratante tal como tetraetóxido de titanio. El tratamiento de compuestos de la fórmula general VI con compuestos de la fórmula general VII tales como bromodifluoroacetato de etilo en presencia de polvo de Zn o en presencia de dietil-zinc y cloruro de tris(trifenilfosfina)rodio(I) da compuestos de la fórmula general VIII. Compuestos de la fórmula general IX se obtienen a partir de compuestos de la fórmula general VIII mediante tratamiento con un agente reductor tal como hidruro de diisobutilaluminio. En algunos casos, el compuesto IX puede estar en equilibrio con la forma hidrato. El tratamiento de

compuestos de la fórmula general IX con condiciones tales como 2-(dimetoxifosforil)-acetato de metilo en presencia de cloruro de litio y una base tal como N,N-diisopropiletilamina da compuestos de la fórmula general X.

- 5 Compuestos de la fórmula general XV se pueden preparar tal como se muestra en el Esquema 3.

Esquema 3



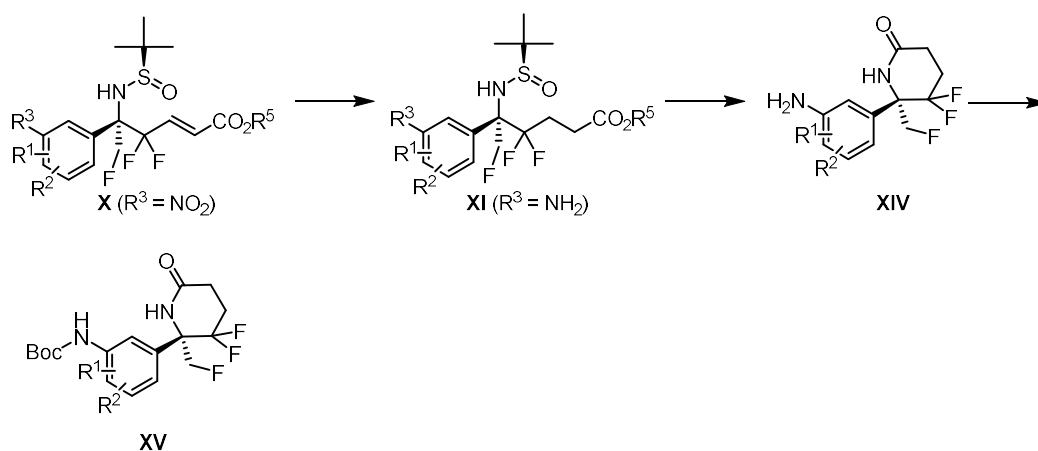
- 10 en que R^1 y R^2 son como se definen bajo la fórmula I, R^5 es un grupo alquilo, tal como metilo o etilo.

- 15 Compuestos de la fórmula general XI se obtienen mediante hidrogenación de compuestos de la fórmula general X en presencia de un catalizador tal como paladio sobre carbono. Compuestos de la fórmula general XII se obtienen mediante tratamiento de compuestos de la fórmula general XI con un ácido tal como ácido clorhídrico en metanol, seguido de tratamiento con una base tal como trietilamina o carbonato de potasio en metanol. Compuestos de la fórmula general XII (cuando R^3 es hidrógeno) se pueden nitrar utilizando ácido
- 20 nitríco para dar compuestos de la fórmula general XIII. La reducción del grupo nitro de compuestos de la fórmula general

XIII, seguido de protección del resto anilina (XIV) formado da compuestos de la fórmula general XV.

Compuestos de la fórmula general XV se pueden preparar tal como se muestra en el Esquema 4.

5 Esquema 4

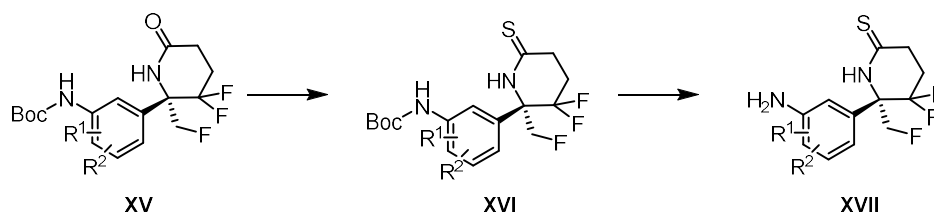


en que R^1 y R^2 son como se definen bajo la fórmula I, R^5 es un grupo alquilo, tal como metilo o etilo.

Compuestos de la fórmula general XI (cuando R^3 es un
 10 grupo amino) se obtienen mediante hidrogenación de compuestos de la fórmula general X (cuando R^3 es nitro) en presencia de un catalizador tal como paladio sobre carbono. Compuestos de la fórmula general XIV se obtienen mediante tratamiento de compuestos de la fórmula general XI (cuando R^3 es un grupo
 15 amino) con un ácido tal como ácido clorhídrico en metanol, seguido de tratamiento con una base tal como trietilamina o carbonato de potasio en metanol, seguido de protección del resto anilina (XIV) da compuestos de la fórmula general XV.

Compuestos de la fórmula general XVII se pueden preparar
 20 tal como se muestra en el Esquema 5.

Esquema 5

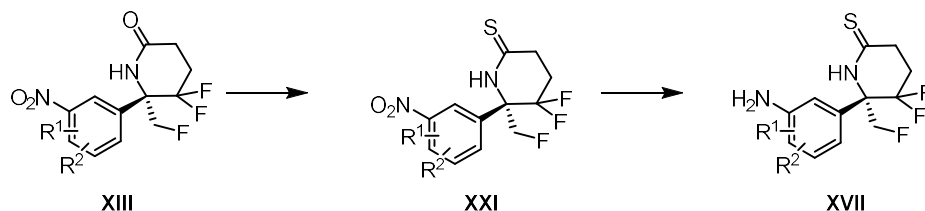


en que R^1 y R^2 son como se define bajo la fórmula I

El tratamiento de compuestos de la fórmula general XV con un reactivo tal como reactivo de Lawesson (2,4-disulfuro de 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano), seguido de desprotección, da compuestos de la fórmula general XVII.

Compuestos de la fórmula general XVII se pueden preparar tal como se muestra en el Esquema 6.

10 Esquema 6

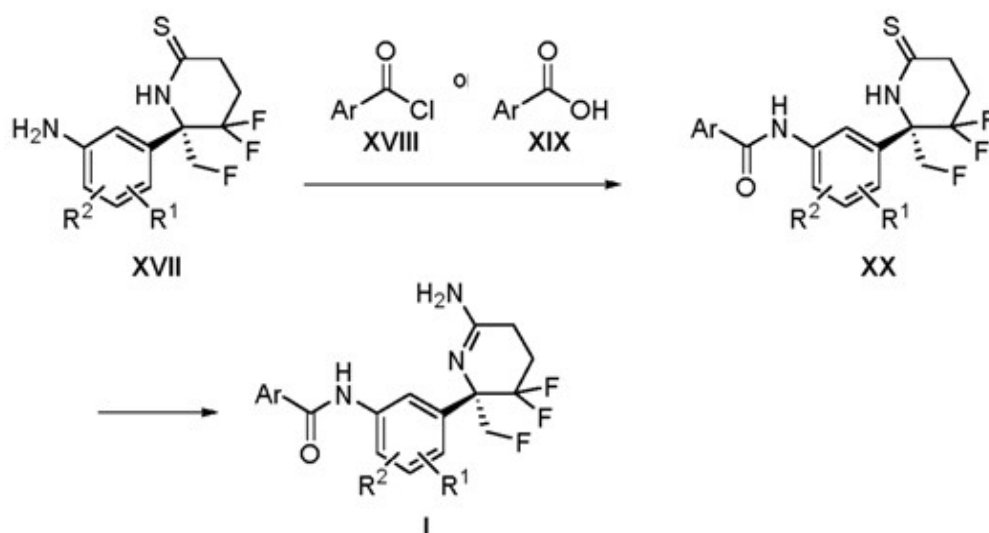


en que R^1 y R^2 son como se define bajo la fórmula I

El tratamiento de compuestos de la fórmula general XIII con un reactivo tal como reactivo de Lawesson (2,4-disulfuro de 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano) da compuestos de la fórmula general XXI. Compuestos de la fórmula general XVII se pueden obtener mediante reducción de compuestos de la fórmula general XXI con un reductor tal como ditionito de sodio o con hidrógeno en presencia de un catalizador tal como paladio sobre carbono.

Los compuestos de fórmula general I podrán prepararse tal como se muestra en el Esquema 7.

Esquema 7

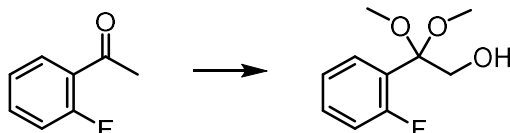


en que R¹, R² y Ar son como se definen bajo la fórmula I.

Compuestos de la fórmula general XX se pueden preparar
5 haciendo reaccionar compuestos de la fórmula general XVII con
un cloruro de ácido carboxílico de fórmula general XVIII o
mediante reacción con un ácido carboxílico de fórmula general
XIX, utilizando procedimientos conocidos por los químicos
expertos en la técnica. El tratamiento de compuestos de la
10 fórmula general XX con amoníaco da compuestos de la fórmula
general I. En algunos casos, podría ser necesaria la adición
de un reactivo oxidante tal como hidroperóxido de terc.-
butilo para facilitar la reacción.

PREPARACIÓN DE COMPUESTOS INTERMEDIOS

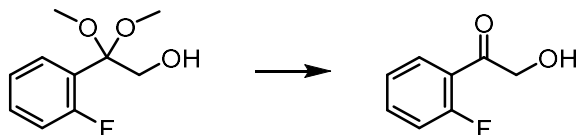
COMPUESTO INTERMEDIO: 2-(2-fluorofenil)-2,2-dimetoxietan-1-ol



5 A una mezcla de hidróxido de potasio (91.4 g, 1.63 mol) en metanol (1 l) se añadió una solución de 1-(2-fluorofenil)etan-1-ona (50 g, 362 mmol) en metanol (300 ml) gota a gota a 0°C. A continuación se añadió en porciones bis(acetoxi)yodobenceno (175 g, 543 mmol). Tras agitar a 0°C
10 durante 4 horas, la reacción se inactivó mediante la adición de agua (500 ml). La mezcla se concentró para eliminar el metanol, y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (700 ml, tres veces), las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (300 ml), se secaron con Na₂SO₄ y se
15 concentraron. El producto bruto se utilizó en la siguiente etapa directamente sin purificación adicional.

2-(2,3-difluorofenil)-2,2-dimetoxietan-1-ol se preparó de una manera similar, a partir de 1-(2,3-difluorofenil)etan-1-ona.

20 COMPUESTO INTERMEDIO: 1-(2-Fluorofenil)-2-hidroxietan-1-ona

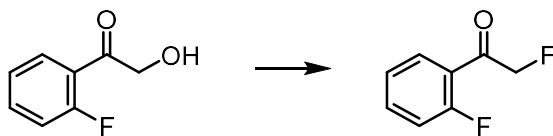


2-(2-Fluorofenil)-2,2-dimetoxietan-1-ol (bruto, 362 mmol) se disolvió en THF (450 ml) y agua (150 ml). A
25 continuación se añadió ácido p-toluenosulfónico (125 g, 726

mmol) en porciones a temperatura ambiente. Tras la adición, la mezcla se agitó a temperatura de reflujo durante 5 horas. Se añadieron agua (150 mL) y NaHCO_3 sat. para enfriar bruscamente la reacción, la mezcla se extrajo con acetato de etilo (500 mL, tres veces). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron con Na_2SO_4 . Tras eliminación de los disolventes a presión reducida, el residuo se purificó mediante cromatografía en columna con éter de petróleo: acetato de etilo = 20: 1 para obtener 1-(2-fluorofenil)-2-hidroxietan-1-ona (42 g, 76% de rendimiento, dos etapas).

1-(2,3-difluorofenil)-2-hidroxietan-1-ona se preparó de una manera similar, a partir de 2-(2,3-difluorofenil)-2,2-dimetoxietan-1-ol.

COMPUESTO INTERMEDIO: 2-fluoro-1-(2-fluorofenil)etan-1-ona

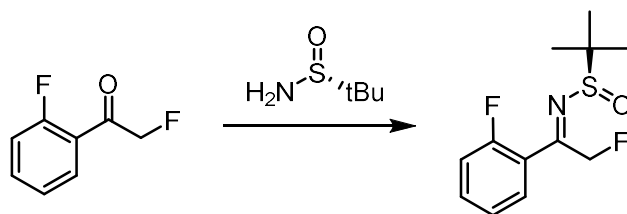


A una solución de 1-(2-fluorofenil)-2-hidroxietan-1-ona (10 g, 64.88 mmol) en diclorometano (200 ml) se añadió $\text{Et}_3\text{N}(\text{HF})_3$ (10.46 g, 227.8 mmol) y $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_3\text{SO}_2\text{F}$ (29.4 g, 97.32 mmol) gota a gota a 0°C , la solución se agitó a temperatura ambiente durante 12 horas. La TLC (éter de petróleo: acetato de etilo = 10:1) no mostró material de partida. La mezcla se vertió sobre una solución saturada de NaHCO_3 y hielo, se extrajo con diclorometano (200 ml, tres veces), las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, a continuación se secaron con Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. La mezcla se purificó mediante cromatografía en columna en gel

de sílice (eluida con éter de petróleo: acetato de etilo = 1:0-10:1) para obtener 2-fluoro-1-(2-fluorofenil)etan-1-ona (6 g, rendimiento: 59%).

1- (2,3-difluorofenil)-2-fluoroetan-1-ona se preparó de una manera similar a partir de 1-(2,3-difluorofenil)-2-hidroxietan-1-ona.

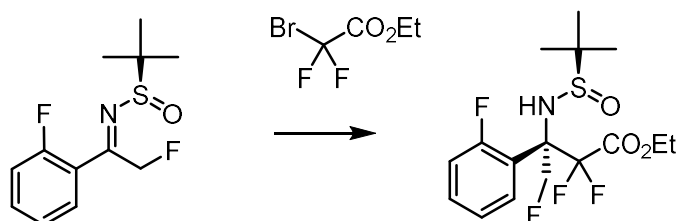
COMPUESTO INTERMEDIO: (R)-N-(2-fluoro-1-(2-fluorofenil)etiliden)-2-metilpropano-2-sulfinamida



10 A una disolución de 2-fluoro-1-(2-fluorofenil)etan-1-ona (6 g, 38.43 mmol) y Ti(OEt)₄ (17.53 g, 76.86 mmol) en THF (100 mL) se añadió (R)-2-metilpropano-2-sulfinamida (5.59 g, 46.12 mmol) y la disolución se agitó a 70°C durante 12 h. La TLC (éter de petróleo: acetato de etilo = 10:1) no mostró material de partida. La mezcla se enfrió bruscamente con agua (200 mL), después se filtró y se extrajo con acetato de etilo (200 mL, cuatro veces) y las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, después se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. La mezcla se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluida con éter de petróleo: acetato de etilo = 1:0 - -10:1) para proporcionar (R)-N-(2-fluoro-1-(2-fluorofenil)etiliden)-2-metilpropano-2-sulfinamida (6.9 g, rendimiento: 69%).

(R)-N-(1-(2,3-difluorofenil)-2-fluoroetiliden)-2-metilpropano-2-sulfinamida se preparó de una manera similar a partir de 1-(2,3-difluorofenil)-2-fluoroetan-1-ona.

COMPUESTO INTERMEDIO: (S)-3-(((R)-terc.-butilsulfinil)amino)-2,2,4-trifluoro-3-(2-fluorofenil)butanoato de etilo

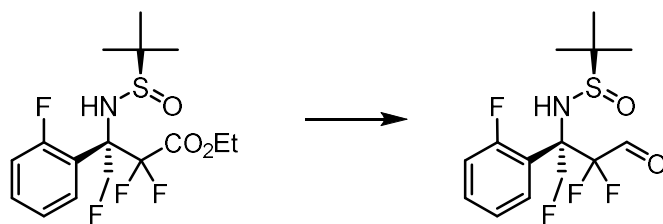


5 A una disolución de (R)-N-(2-fluoro-1-(2-fluorofenil)etilideno)-2-metilpropano-2-sulfinamida (10 g, 38.6 mmol), cloruro de tris(trifenilfosfina)rodio (I) (1.01 g, 1.2 mmol) y 2-bromo-2,2-difluoroacetato de etilo (15.7 g, 77.1 mmol) en THF anhidro (200 mL) se añadió gota a gota
 10 Et₂Zn (77.1 mL, 1M en hexano, 77.1 mmol) a -78°C y la disolución se agitó a 0°C durante 1 hora bajo N₂. La TLC (éter de petróleo: acetato de etilo = 10:1) no mostró (R)-N-(2-fluoro-1-(2-fluorofenil)etilideno)-2-metilpropano-2-sulfinamida. La mezcla se enfrió bruscamente con agua (100
 15 mL), se filtró y se extrajo con acetato de etilo (200 mL, tres veces) y las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, después se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. La mezcla se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluida con éter
 20 de petróleo: acetato de etilo = 20:1 - 5:1) para proporcionar (S)-3-(((R)-terc.-butilsulfinil)amino)-2,2,4-trifluoro-3-(2-fluorofenil)butanoato de etilo (13 g, rendimiento: 88%) en forma de un aceite amarillo. ¹H RMN (CDCl₃, 400MHz): δ 7.59-7.57 (m, 1H), 7.44-7.42 (m, 1H), 7.21 (t, J = 7.6 Hz, 1H),

7.14-7.10 (m, 1H), 5.52-5.37 (m, 1H), 5.24-5.10 (m, 2H), 4.35 (c, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.36-1.23 (m, 12H).

(S)-3-(((R)-terc.-butilsulfinil)amino)-3-(2,3-difluorofenil)-2,2,4-trifluorobutanoato de etilo se preparó de una manera similar a partir de (R)-N-(1-(2,3-difluorofenil)-2-fluoroetiliden)-2-metilpropano-2-sulfinamida.

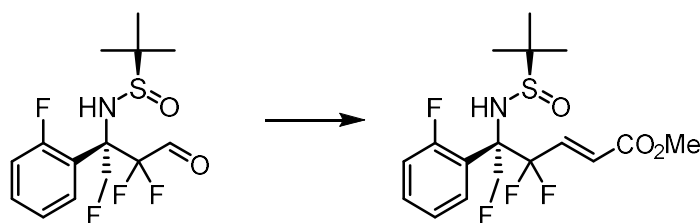
COMPUESTO INTERMEDIO: (R)-2-metil-N-((S)-1,3,3-trifluoro-2-(2-fluorofenil)-4-oxobutan-2-il)propano-2-sulfinamida



A una disolución de (S)-3-(((R)-terc.-butilsulfinil)amino)-2,2,4-trifluoro-3-(2-fluorofenil)butanoato de etilo (12 g, 31.30 mmol) en THF anhidro (200 mL) se añadió gota a gota DIBAL-H (hidruro de diisobutilaluminio) (62.6 mL, 1 M en THF, 62.6 mmol) a -78°C . La disolución se agitó a -78°C durante 2 horas bajo N_2 . La mezcla se enfrió bruscamente con agua (100 mL), se filtró y se extrajo con acetato de etilo (200 mL, cuatro veces), las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, después se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida para proporcionar (R)-2-metil-N-((S)-1,3,3-trifluoro-2-(2-fluorofenil)-4-oxobutan-2-il)propano-2-sulfinamida bruta (10.6 g), la cual se utilizó en la siguiente etapa sin purificación ulterior.

(*R*)-*N*-((*S*)-2-(2,3-difluorofenil)-1,3,3-trifluoro-4-oxobutan-2-il)-2-metilpropano-2-sulfinamida se preparó de una manera similar a partir de (*S*)-3-((*R*)-terc.-butilsulfinil)amino)-3-(2,3-difluorofenil)-2,2,4-trifluorobutanoato de etilo.

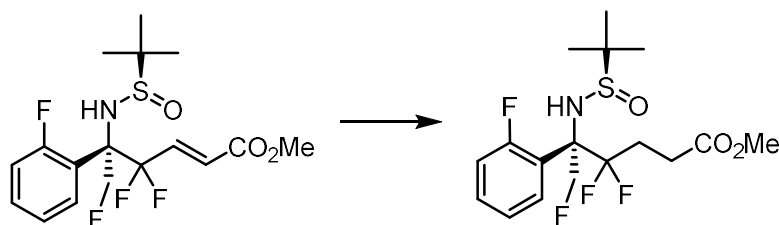
COMPUESTO INTERMEDIO: (*S*)-5-((*R*)-terc.-butilsulfinil)amino)-4,4,6-trifluoro-5-(2-fluorofenil)hex-2-enoato de metilo



A una mezcla de *N,N*-diisopropiletilamina (4.8 g, 37.49 mmol) y LiCl (1.6 g, 37.49 mmol) en acetonitrilo (200 mL) se añadió 2-(dimetoxifosforil)-acetato de metilo (7.9 g, 37.49 mmol) y después se añadió (*R*)-2-metil-*N*-((*S*)-1,3,3-trifluoro-2-(2-fluorofenil)-4-oxobutan-2-il)propano-2-sulfinamida (10.6 g, 31.24 mmol) a la mezcla a 0°C. Se dejó que la mezcla se calentara a 25°C y se agitó durante 12 horas. La TLC (éter de petróleo: acetato de etilo = 3:1) no mostró material de partida. El disolvente se separó bajo presión reducida, el residuo se extrajo con acetato de etilo (500 mL, tres veces) y las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, después se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo: acetato de etilo = 5:1 - 1:1) para proporcionar (*S*)-5-((*R*)-terc.-butilsulfinil)amino)-4,4,6-trifluoro-5-(2-fluorofenil)hex-2-enoato de metilo (8 g, rendimiento: 75%, dos etapas).

Methyl (S)-5-(((R)-tert-butylsulfinyl)amino)-5-(2,3-difluorophenyl)-4,4,6-trifluorohex-2-enoatesulfinamide was prepared in a similar way from (R)-N-((S)-2-(2,3-difluorophenyl)-1,3,3-trifluoro-4-oxobutan-2-yl)-2-methylpropane-2-sulfinamide.

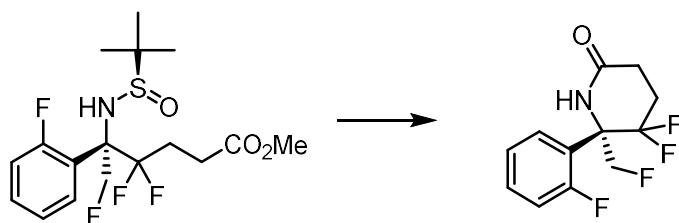
COMPUESTO INTERMEDIO: (S)-5-(((R)-terc.-butilsulfinil)amino)-4,4,6-trifluoro-5-(2-fluorofenil)hexanoato de metilo



A una disolución de (S)-5-(((R)-terc.-butilsulfinil)amino)-4,4,6-trifluoro-5-(2-fluorofenil)hex-2-enoato de metilo (8 g, 20.23 mmol) en acetato de etilo (1000 mL) se añadió Pd/C (5 g, 10%). La mezcla se agitó a 30°C bajo 50 psi de H₂ durante 12 h. La LCMS no mostró material de partida. La mezcla se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar (S)-5-(((R)-terc.-butilsulfinil)amino)-4,4,6-trifluoro-5-(2-fluorofenil)hexanoato de metilo bruto (8.04 g), el cual se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

(S)-5-(((R)-terc.-butilsulfinil)amino)-5-(2,3-difluorofenil)-4,4,6-trifluorohexanoato de metilo se preparó de una manera similar a partir de (S)-5-(((R)-terc.-butilsulfinil)amino)-5-(2,3-difluorofenil)-4,4,6-trifluorohex-2-enoato de metilo sulfinamida.

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

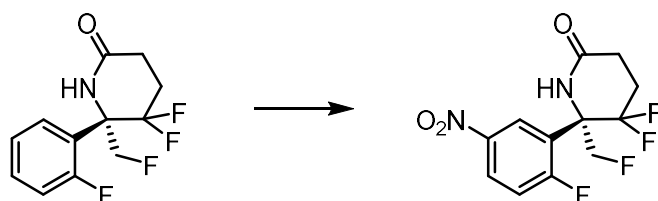


A una disolución de (S)-5-((R)-terc.-

5 butilsulfinil)amino)-4,4,6-trifluoro-5-(2-fluorofenil)hexanoato de metilo (8.0 g, 20.13 mol) en metanol (200 mL) se añadió HCl/metanol (100 mL) y la disolución se agitó a 20°C durante 2 h. La TLC (éter de petróleo: acetato de etilo = 3:1) no mostró material de partida. El disolvente se separó a presión reducida, el residuo se disolvió en xileno (200 mL) y después se añadió a la disolución Et₃N (5 mL). La disolución se agitó a 110°C durante 12 h bajo N₂. El disolvente se separó a presión reducida. La mezcla se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluida con éter de petróleo: acetato de etilo = 3:1 - 15 -0:1) para proporcionar (S)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)-6-(2-fluorofenil)piperidin-2-ona (4.1 g, 77% de rendimiento a lo largo de dos etapas). ¹H RMN (CDCl₃, 400MHz): δ 7.55-7.53 (m,1H), 7.48-7.46 (m,1H), 7.31-7.29 (m,1H), 7.20-7.17 (m,1H), 6.49 (s,1H), 5.25-5.22 (m,1H), 5.13-5.11 (m,1H), 2.75-2.71 (m,2H), 2.36-2.28 (m,2H).

(S)-6-(2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidin-2-ona se preparó de una manera similar a partir de (S)-5-((R)-terc.-butilsulfinil)amino)-5-(2,3-difluorofenil)-4,4,6-trifluorohexanoato de metilo.

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

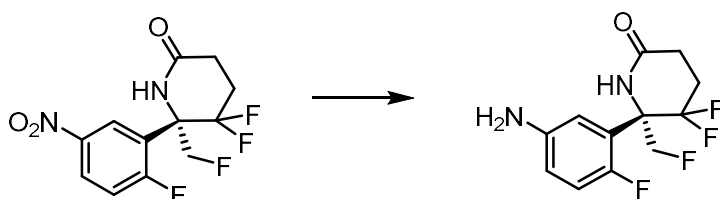


(S)-5,5-difluoro-6-(2-fluoro-5-nitrofenil)-6-(fluorometil)piperidin-2-ona

5 (S)-5,5-difluoro-6-(2-fluoro-5-nitrofenil)piperidin-2-ona (3.5 g, 13.4 mmol) se disolvió en TFA (23 mL). La disolución se enfrió a 0°C y se añadió H₂SO₄ concentrado (5.5 mL). Finalmente, HNO₃ al 65% (1.0 mL, 14.7 mmol) se añadió gota a gota a lo largo de 5 min. La disolución se agitó a 0°C durante 10 min. La LCMS no mostró material de partida. La disolución se vertió sobre 50 g de hielo y se basificó hasta pH >11 utilizando NaOH 5N. La suspensión se extrajo con acetato de etilo (200 mL), las capas orgánicas reunidas se lavaron con disolución de NH₄Cl acuoso saturado (50 mL) y agua (100 mL), después se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida para proporcionar: (S)-5,5-difluoro-6-(2-fluoro-5-nitrofenil)-6-(fluorometil)piperidin-2-ona (4 g, 98% de rendimiento). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400MHz): δ 8.73 (s, 1H), 8.41-8.34 (m, 2H), 7.64-7.59 (m, 1H), 5.35-5.20 (m, 1H), 4.92-4.78 (m, 1H), 2.57-2.50 (m, 2H), 2.34-2.30 (m, 2H).

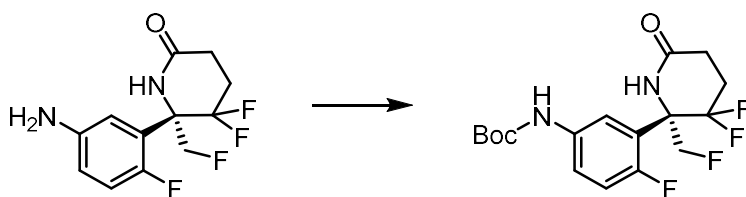
(S)-6-(2,3-difluoro-5-nitrofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidin-2-ona se preparó de una manera similar a partir de (S)-6-(2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidin-2-ona.

COMPUESTO INTERMEDIO: (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidin-2-ona



A una disolución de (S)-5,5-difluoro-6-(2-fluoro-5-nitrofenil)-6-(fluorometil)piperidin-2-ona (4 g, 13.06 mmol) en acetato de etilo (200 mL) se añadió Pd/C (2 g, 10%) y la mezcla se agitó a 30°C for 12 h bajo 50 psi de H₂. La LCMS no mostró material de partida. La mezcla se filtró y se concentró a presión reducida para proporcionar (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidin-2-ona bruta (3.6 g), la cual se utilizó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

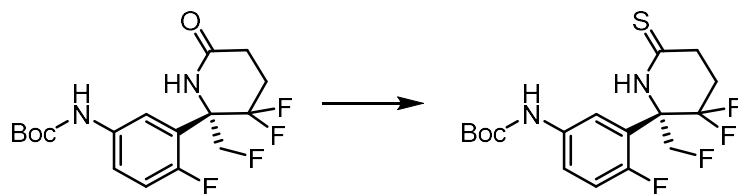
COMPUESTO INTERMEDIO: (S)-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-oxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)carbamato de terc.-butilo



A una disolución de (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidin-2-ona (3.6 g, 13.03 mmol) en diclorometano anhidro (100 mL) y NaHCO₃ acuoso saturado (72 mL) se añadió Boc₂O (8.53 g, 39.09 mmol) y la disolución se agitó a 20°C durante 12 horas. La mezcla se enfrió bruscamente con agua (50 mL) y se extrajo con diclorometano (100 mL, tres veces) y las capas orgánicas reunidas se

lavaron con salmuera, después se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. La mezcla se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo: acetato de etilo = 20:1 - 10:1) para proporcionar (S)-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-oxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)carbamato de *terc.*-butilo (4.9 g, 94% de rendimiento a lo largo de dos etapas). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400MHz): δ 9.51 (s, 1H), 8.37 (s, 1H), 7.66-7.65 (m, 1H), 7.53 (s, 1H), 7.16-7.11 (m, 1H), 5.22 (dd, $J = 48.0$, 9.2 Hz, 1H), 4.69 (dd, $J = 48.0$, 9.2 Hz, 1H), 2.50-2.16 (m, 4H), 1.46 (s, 9H).

COMPUESTO INTERMEDIO: (S)-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)carbamato de *terc.*-butilo



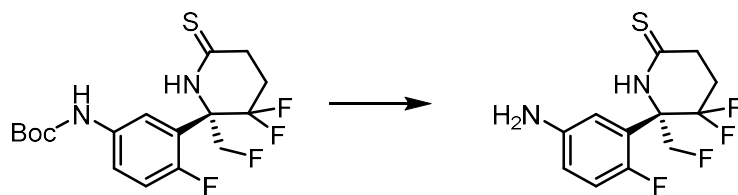
15

A una disolución de (S)-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-oxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)carbamato de *terc.*-butilo (2.3 g, 6.11 mmol) en tolueno anhidro (50 mL) se añadió reactivo de Lawesson (2,4-disulfuro de 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano-2,4-disulfuro) (1.36 g, 3.36 mmol) y la disolución se agitó a 90°C durante 12 h bajo N_2 . La TLC (éter de petróleo: acetato de etilo 3:1) no mostró materiales de partida. La disolución se extrajo con acetato de etilo (50 mL, tres veces) y las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, después se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó

25

mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo: acetato de etilo = 10:1 - 3:1) para proporcionar (S)-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)carbamato de terc.-butilo (2.15 g, rendimiento: 90%).

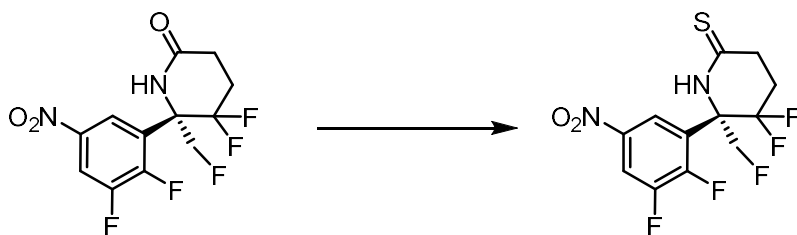
COMPUESTO INTERMEDIO: (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona



A una disolución de (S)-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)carbamato de terc.-butilo (5.5 g, 14.02 mmol) en diclorometano (100 mL) se añadió HCl/metanol (50 mL) y la disolución se agitó a 20°C durante 2 horas. La TLC (éter de petróleo: acetato de etilo = 2:1) no mostró material de partida. El disolvente se separó a presión reducida, el residuo se disolvió en diclorometano (50 mL), la disolución se basificó hasta pH=7-8 utilizando NaHCO₃ acuoso saturado, la disolución se extrajo con diclorometano (100 mL, tres veces) y las capas orgánicas reunidas se lavaron con salmuera, después se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El residuo se dispersó en diclorometano (20 mL), después se filtró y el filtrado se secó a presión reducida para dar (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona (1.74 g) en forma de un sólido blanco, ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz): δ 10.69 (s,1H), 6.92-6.87 (m,1H), 6.60-6.58 (m, 1H), 6.51-6.49 (m,1H), 5.35-5.33 (m,1H), 5.23-5.18 (m,2H), 4.72

(dd, $J = 48.0, 10.0$ Hz, 1H), 3.29-2.92 (m, 2H), 2.24-2.19 (m, 2H), $[\alpha]^{20}_D = -192$ ($c = 0.1$ g/100 mL, EtOH).

COMPUESTO INTERMEDIO: (S)-6-(2,3-difluoro-5-nitrofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona



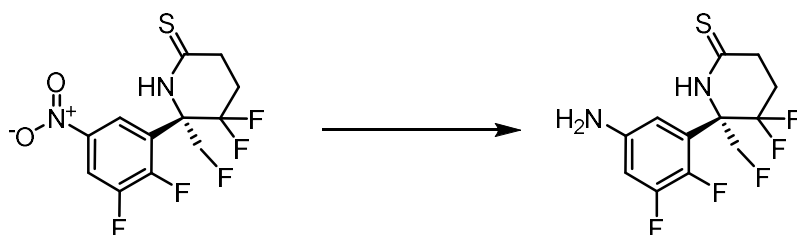
Reactivo de Lawesson (0.81 g, 2.0 mmol) se añadió a (S)-6-(2,3-difluoro-5-nitrofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidin-2-ona (0.59 g, 1.82 mmol) en tolueno (25 ml). La mezcla de reacción se agitó a 110°C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en NaHCO_3 (ac) sat. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 y se concentró en vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía de resolución instantánea sobre gel de sílice (acetato de etilo/heptano) para dar (S)-6-(2,3-difluoro-5-nitrofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona (0.58 g 65% de pureza, 61% de rendimiento).

10

15

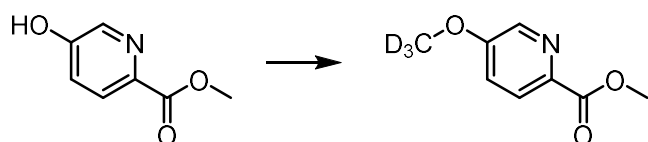
COMPUESTO INTERMEDIO: (S)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona

20



Ditionito de sodio (1.16 g, 6.65 mmol) y carbonato de potasio (0.459 g, 3.32 mmol) se disolvieron en agua (5.00 g, 5 ml, 278 mmol). La mezcla de reacción se enfrió hasta 0°C. Se añadió gota a gota (S)-6-(2,3-difluoro-5-nitrofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona (0.58 g, 1.11mmol, 65% de pureza) en etanol (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió agua. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró en vacío. La reacción se disolvió en acetato de etilo y se filtró a través de un taco de gel de sílice y se concentró en vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía de resolución instantánea sobre gel de sílice (acetato de etilo/heptano) para dar (S)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona (105 mg, 35%)

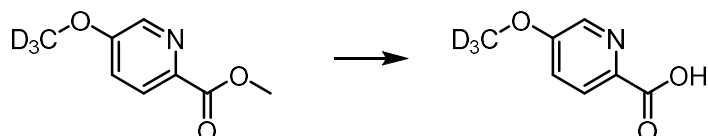
COMPUESTO INTERMEDIO: 5-(metoxi-*d*₃)picolinato de metilo



Se disolvió 5-hidroxipicolinato de metilo (2.88 g, 18.8 mmol) en dimetilformamida (108 mL) bajo 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 sobre MgSO₄ y se concentró *in vacuo* y se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de

sílice (heptano: acetato de etilo) para dar 5-(metoxi- d_3)picolinato de metilo.

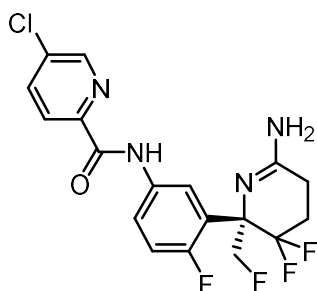
COMPUESTO INTERMEDIO: Ácido 5-(metoxi- d_3)picolínico



5 Se disolvió 5-(metoxi- d_3)picolinato de metilo (200 mg, 1.175 mmol) en agua (1.5 ml) y 1,4-dioxano (3 ml). Se añadió hidróxido de litio (70.4 mg, 2.94 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. La mezcla de reacción se evaporó hasta aproximadamente 2 ml y se extrajo con dietil
10 éter. La fase orgánica se extrajo con NaOH 1 M y las fases acuosas combinadas se acidificaron hasta pH 2 con HCl 6 N (ac). La mezcla se enfrió en un baño de hielo y se formó un precipitado. El precipitado se recogió para obtener el ácido 5-(metoxi- d_3)picolínico.

15 PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS DE LA INVENCION

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

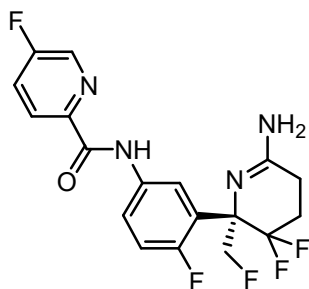


20 A una disolución de ácido 5-cloropicolínico (0.243 g, 1.540 mmol) en DMF (12 mL) se añadió HATU (hexafluorofosfato de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-

b]piridinio 3-óxido) (0.86 g, 2.3 mmol) y la disolución se agitó durante 5 minutos. Después se añadieron (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-fluorometil)piperidina-2-tiona (0.3 g, 1.026 mmol) y DIPEA (N,N-diisopropiletilamina) (0.90 mL, 5.1 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió cloruro de amonio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida. La mezcla se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (heptano:acetato de etilo) para proporcionar (S)-5-cloro-N-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida, la cual se disolvió en amoníaco 7M en metanol (12 mL). La mezcla se agitó a 50°C durante la noche, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (heptano:acetato de etilo) para proporcionar (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-cloropicolinamida (0.23 g, 55% de rendimiento). ¹H RMN (600 MHz, DMSO-d₆) δ 10.75 (s, 1H), 8.80 (dd, J = 2.4, 0.6 Hz, 1H), 8.21 (dd, J = 8.4, 2.4 Hz, 1H), 8.16 (dd, J = 8.4, 0.6 Hz, 1H), 7.89 (ddd, J = 11.7, 6.6, 3.8 Hz, 1H), 7.86 (dd, J = 6.6, 2.4 Hz, 1H), 7.16 (dd, J = 11.7, 8.8 Hz, 1H), 6.10 (s, 2H), 5.02 - 4.88 (m, 1H), 4.79 (dd, J = 45.9, 8.8 Hz, 1H), 2.53 - 2.50 (m, 2H), 2.18 - 1.97 (m, 2H). LC-MS (m/z) 415 (MH⁺); t_R = 0.52 minutos (Método A)

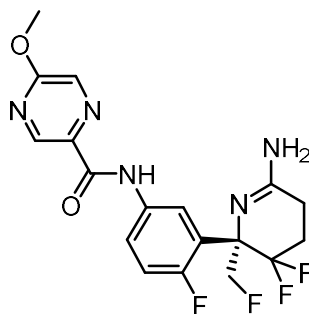
Los siguientes compuestos se prepararon de una manera similar al ejemplo 1:

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



Preparada a partir de (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-fluoropicolínico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.85 (s, 1H), 8.76 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 8.26 (dd, J = 8.6, 4.4 Hz, 1H), 8.15 (m, 1H), 8.00 (td, J = 8.7, 2.8 Hz, 2H), 7.33 (dd, J = 11.8, 9.1 Hz, 1H), 5.15 (ddd, J = 54.9, 46.5, 9.2 Hz, 2H), 2.58 - 2.46 (m, 2H), 2.46 - 2.23 (m, 2H). LC-MS (m/z) 399.2 (MH^+); t_R = 0.49 minutos (Método B)

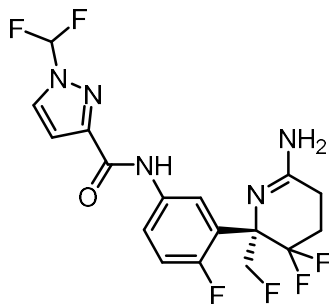
Ejemplo 3 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-metoxipirazina-2-carboxamida (compuesto 3)



Preparada a partir de (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-metoxipirazina-2-carboxílico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.71

(s, 1H), 8.91 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.43 (d, $J = 1.3$ Hz, 1H), 8.06 (m, 1H), 7.98 (m, 1H), 7.29 (dd, $J = 11.6, 9.1$ Hz, 1H), 5.11 (ddd, $J = 94.4, 46.2, 8.7$ Hz, 2H), 4.03 (s, 3H), 2.55-2.48 (m, 2H), 2.42 - 2.19 (m, 2H). LC-MS (m/z) 412 (MH^+); $t_R =$
5 0.47 minutos (Método A)

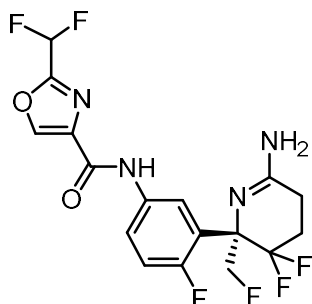
Ejemplo 4 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-1-(difluorometil)-1H-pirazol-3-carboxamida (compuesto 4)



10 Preparada a partir de (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 1-(difluorometil)-1H-pirazol-3-carboxílico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.46 (s, 1H), 8.42 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 8.04 - 7.76 (m, 3H), 7.15 (dd, $J = 11.7, 8.6$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 2.7$
15 Hz, 1H), 6.16 (s, 2H), 5.06 - 4.72 (m, 2H), 2.54 - 2.49 (m, 2H), 2.20 - 1.98 (m, 2H). LC-MS (m/z) 420 (MH^+); $t_R = 0.46$ minutos (Método A)

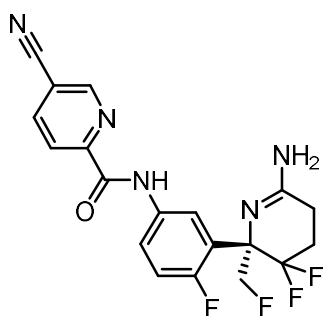
Ejemplo 5 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-2-(difluorometil)oxazol-4-carboxamida (compuesto 5)

20



Preparada a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 2-(difluorometil)oxazol-4-carboxílico.¹H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.54 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), 7.93 (s, 1H), 7.86 (d, J = 4.8 Hz, 1H), 7.47 - 7.21 (m, 2H), 5.04 (dd, J = 94.5, 46.0 Hz, 2H), 2.55 - 2.49 (m, 2H), 2.24 (dd, J = 68.4, 4.9 Hz, 2H). LC-MS (m/z) 421 (MH^+); t_R = 0.46 minutos (Método A)

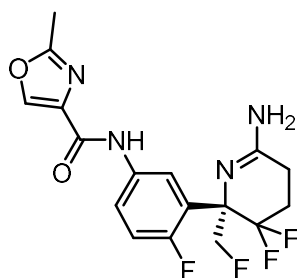
Ejemplo 6 (*S*)-*N*-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-cianopicolinamida (compuesto 6)



Preparada a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-cianopicolínico.¹H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.95 (s, 1H), 9.21 (dd, J = 2.0, 0.8 Hz, 1H), 8.59 (dd, J = 8.2, 2.0 Hz, 1H), 8.29 (dd, J = 8.2, 0.8 Hz, 1H), 8.03 - 7.90 (m, 2H), 7.23 (s, 1H), 4.97 (dd, J = 94.5, 45.1 Hz, 2H), 2.54 - 2.48 (m, 2H),

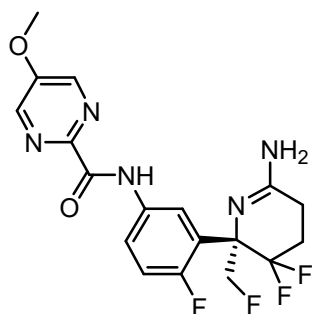
2.29 - 2.03 (m, 2H). LC-MS (m/z) 406 (MH^+); t_R = 0.47 minutos (Método A)

Ejemplo 7 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-2-metiloxazol-4-carboxamida (compuesto 7)



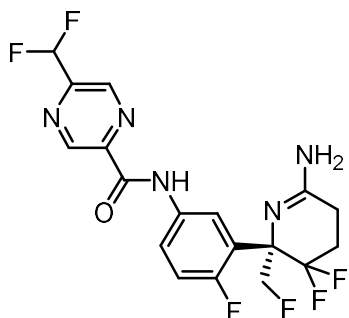
Preparada a partir de (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 2-metiloxazol-4-carboxílico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) de la sal del ácido trifluoroacético δ 10.97 (s, 1H), 10.38 (s, 1H), 9.71 (s, 1H), 9.16 (s, 1H), 8.68 (s, 1H), 8.09 (m, 1H), 7.94 (dd, J = 7.0, 2.5 Hz, 1H), 7.32 (dt, J = 12.1, 9.0 Hz, 1H), 5.37 - 4.99 (m, 2H), 3.10 - 2.96 (m, 2H), 2.53 (s, 3H), 2.49 - 2.31 (m, 2H). LC-MS (m/z) 385 (MH^+); t_R = 0.43 minutos (Método A)

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



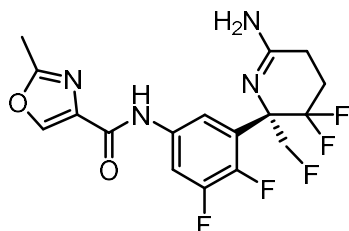
Preparada a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-metoxipirimidina-2-carboxílico. ¹H RMN (600 MHz, DMSO) de la sal del ácido trifluoroacético δ 10.89 (s, 1H), 10.81 (s, 1H), 9.67 (s, 1H), 8.91 (s, 1H), 8.74 (s, 2H), 8.16 (ddd, *J* = 8.9, 4.0, 2.7 Hz, 1H), 7.99 (dd, *J* = 7.0, 2.5 Hz, 1H), 7.36 (dd, *J* = 12.1, 9.0 Hz, 1H), 5.21 (ddd, *J* = 55.4, 45.9, 10.0 Hz, 2H), 4.04 (s, 3H), 3.11 - 2.97 (m, 2H), 2.50 - 2.31 (m, 2H). LC-MS (*m/z*) 412 (MH⁺); *t_R* = 0.42 minutos (Método A)

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



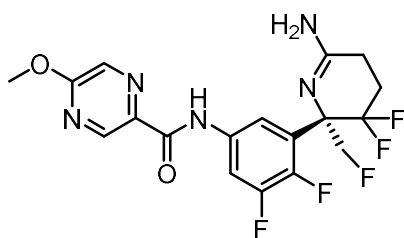
15 Preparada a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-(difluorometil)pirazina-2-carboxílico. ¹H RMN (600 MHz, DMSO) de la sal del ácido trifluoroacético δ 11.14 (s, 1H), 11.00 (s, 1H), 9.72 (s, 1H), 9.42 (d, *J* = 1.2 Hz, 1H), 9.18 (s, 1H), 9.11 (s, 1H), 8.19 (ddd, *J* = 8.9, 3.9, 2.7 Hz, 1H), 8.06 (dd, *J* = 7.0, 2.5 Hz, 1H), 7.40 (dd, *J* = 12.0, 9.0 Hz, 1H), 7.28 (t, *J* = 53.9 Hz, 1H), 5.21 (ddd, *J* = 55.5, 46.0, 10.0 Hz, 2H), 3.12 - 2.97 (m, 2H), 2.51 - 2.32 (m, 2H). LC-MS (*m/z*) 432 (MH⁺); *t_R* = 0.48 minutos (Método A)

Ejemplo 10 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-2-metiloxazol-4-carboxamida (compuesto 10)



5 Preparada a partir de (S)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 2-metiloxazol-4-carboxílico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.44 (s, 1H), 8.67 (s, 1H), 7.96 (ddd, J = 12.2, 6.6, 2.6 Hz, 1H), 7.69 - 7.65 (m, 1H), 6.17 (s, 2H), 4.87 (td, J = 46.0, 8.9
10 Hz, 2H), 2.55 - 2.49 (m, 2H), 2.52 (s, 3H), 2.19 - 1.96 (m, 2H). LC-MS (m/z) 403 (MH^+); t_R = 0.46 minutos (Método A)

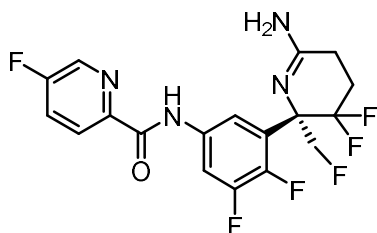
Ejemplo 11 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-metoxipirazina-2-carboxamida (compuesto 11)



15 Preparada a partir de (S)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-metoxipirazina-2-carboxílico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.77 (s, 1H), 8.89 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.42 (d, J = 1.2 Hz, 1H), 8.03 (ddd, J = 12.0, 6.6, 2.4 Hz, 1H), 7.79 - 7.71 (m, 1H),
20 6.18 (s, 2H), 5.03 - 4.70 (m, 2H), 4.02 (s, 3H), 2.55 - 2.49

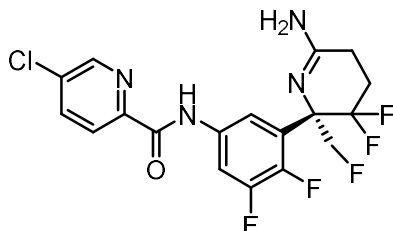
(m, 2H), 2.23 - 1.95 (m, 2H). LC-MS (m/z) 430 (MH⁺); t_R = 0.52 minutos (Método A)

Ejemplo 12 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-fluoropicolinamida (compuesto 12)



Preparada a partir de (S)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-fluoropicolínico. ¹H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.89 (s, 1H), 8.74 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 8.24 (dd, J = 8.7, 4.6 Hz, 1H), 8.06 (m, 1H), 7.99 (td, J = 8.7, 2.8 Hz, 1H), 7.76 - 7.72 (m, 1H), 6.23 (s, 2H), 4.98 - 4.81 (m, 2H), 2.52 - 2.50 (m, 2H), 2.22 - 1.97 (m, 2H). LC-MS (m/z) 417 (MH⁺); t_R = 0.52 minutos (Método A)

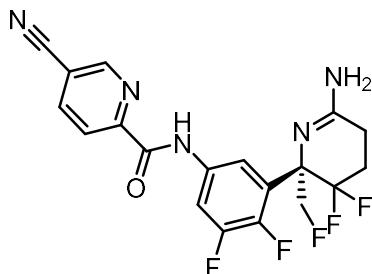
Ejemplo 13 (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-cloropicolinamida (compuesto 13)



Preparada a partir de (S)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-cloropicolínico. ¹H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.96 (s, 1H), 8.79

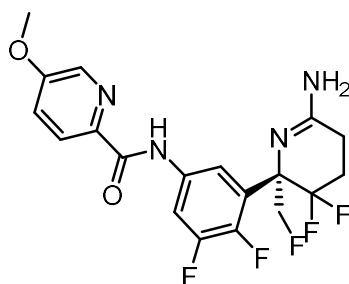
(d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 8.22 - 8.14 (m, 2H), 8.12 - 8.04 (m, 1H), 7.75 (s, 1H), 6.38 (s, 2H), 5.04 - 4.80 (m, 2H), 2.56 - 2.49 (m, 2H), 2.11 (m, 2H). LC-MS (m/z) 433 (MH^+); $t_R = 0.55$ minutos (Método A)

5 **Ejemplo 14** (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-cianopicolinamida (compuesto 14)



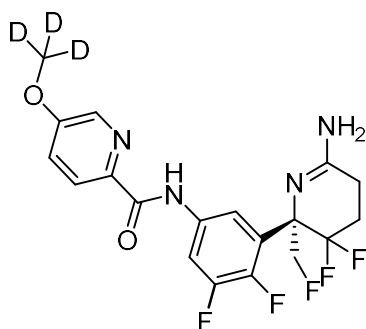
Preparada a partir de (S)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-cianopicolínico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 11.10 (s, 1H), 9.22 (d, $J = 1.9$ Hz, 1H), 8.60 (dd, $J = 8.2, 2.0$ Hz, 1H), 8.30 (dd, $J = 13.0, 4.9$ Hz, 1H), 8.06 (ddd, $J = 12.0, 6.6, 2.5$ Hz, 1H), 7.80 - 7.76 (m, 1H), 6.18 (s, 2H), 5.00 - 4.77 (m, 2H), 2.51 (dd, $J = 3.5, 1.7$ Hz, 2H), 2.20 - 1.99 (m, 2H). LC-MS (m/z) 424 (MH^+); $t_R = 0.49$ minutos (Método B)

15 **Ejemplo 15** (S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-metoxipicolinamida (compuesto 15)



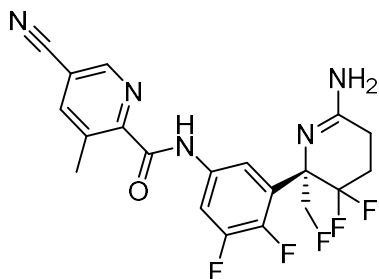
Preparada a partir de (*S*)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-metoxipicolínico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.72 (s, 1H), 8.40 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 8.13 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.05 (ddd, J = 12.2, 6.6, 2.4 Hz, 1H), 7.73 - 7.68 (m, 1H), 7.63 (dd, J = 8.7, 2.9 Hz, 1H), 6.15 (s, 2H), 4.99 - 4.77 (m, 2H), 3.94 (s, 3H), 2.55 - 2.47 (m, 2H), 2.20 - 1.98 (m, 2H). LC-MS (m/z) 429 (MH^+); t_R = 0.51 minutos (Método B)

Ejemplo 16 (*S*)-*N*-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-(metoxi- d_3)picolinamida (compuesto 16)



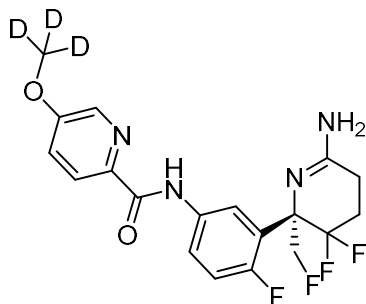
Preparada a partir de (*S*)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-(metoxi- d_3)picolínico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.72 (s, 1H), 8.40 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 8.13 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 8.05 (ddd, J = 12.2, 6.6, 2.6 Hz, 1H), 7.73 - 7.69 (m, 1H), 7.62 (dd, J = 8.7, 2.9 Hz, 1H), 6.17 (s, 2H), 5.00 - 4.75 (m, 2H), 2.20 - 2.00 (m, 2H). LC-MS (m/z) 432.1 (MH^+); t_R = 0.54 (Método B)

Ejemplo 17 (*S*)-*N*-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4,5-difluorofenil)-5-ciano-3-metilpicolinamida (compuesto 17)



Preparada a partir de (*S*)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-ciano-3-metilpicolínico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.98 (s, 1H), 9.00 (dd, $J = 1.9, 0.6$ Hz, 1H), 8.42 (dd, $J = 1.9, 0.7$ Hz, 1H), 8.12 - 7.99 (m, 1H), 7.57 (s, 1H), 6.19 (s, 2H), 4.88 (ddd, $J = 54.2, 46.8, 8.0$ Hz, 2H), 2.55 (s, 3H), 2.24 - 1.99 (m, 2H). LC-MS (m/z) 438.1 (MH^+); $t_R = 0.55$ (Método B)

Ejemplo 18 (*S*)-*N*-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-(metoxi- d_3)picolinamida (compuesto 18)

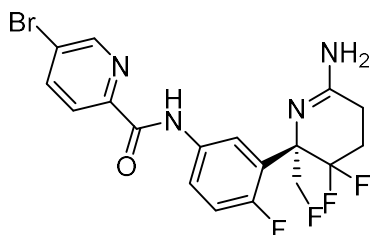


Preparada a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-(metoxi- d_3)picolínico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.52 (s, 1H), 8.39 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 8.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H), 7.92 - 7.88 (m, 1H), 7.84 (dd, $J = 6.9, 2.7$ Hz, 1H), 7.61 (dd, $J = 8.7, 2.9$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $J = 11.8, 8.8$ Hz, 1H), 6.11 (s, 2H),

5.02 - 4.88 (m, 1H), 4.79 (dd, $J = 46.0, 8.9$ Hz, 1H), 2.18 - 1.96 (m, 2H). LC-MS (m/z) 414.1 (MH^+); $t_R = 0.49$ (Método B)

Ejemplo**19**

(S)-N-(3-(6-amino-3,3-difluoro-2-(fluorometil)-2,3,4,5-tetrahidropiridin-2-il)-4-fluorofenil)-5-bromopicolinamida (compuesto 19)



Preparada a partir de (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-bromopicolínico. ^1H RMN (600 MHz, DMSO) δ 10.74 (s, 1H), 8.87 (dd, $J = 2.3, 0.7$ Hz, 1H), 8.33 (dd, $J = 8.4, 2.3$ Hz, 1H), 8.08 (dd, $J = 8.4, 0.6$ Hz, 1H), 7.90 (ddd, $J = 8.7, 4.0, 2.9$ Hz, 1H), 7.86 (dd, $J = 6.9, 2.7$ Hz, 1H), 7.15 (dd, $J = 11.8, 8.8$ Hz, 1H), 6.10 (s, 2H), 4.95 (ddd, $J = 48.4, 8.8, 2.5$ Hz, 1H), 4.79 (dd, $J = 46.0, 8.9$ Hz, 1H), 2.52 - 2.48 (m, 2H), 2.18 - 1.95 (m, 2H). LC-MS (m/z) 459.1 (MH^+); $t_R = 0.53$ (Método B)

Estereoquímica

Cristales se obtuvieron mediante recristalización de (S)-5-bromo-N-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida a partir de una mezcla de heptano y acetato de etilo. La estructura de (S)-5-bromo-N-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida se dilucidó mediante cristalografía de rayos X de dichos cristales. La estructura muestra la configuración absoluta de (S)-5-bromo-

N-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida. (*S*)-5-Bromo-*N*-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida se preparó tal como se describe en el ejemplo 1, partiendo de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y ácido 5-bromopicolínico.

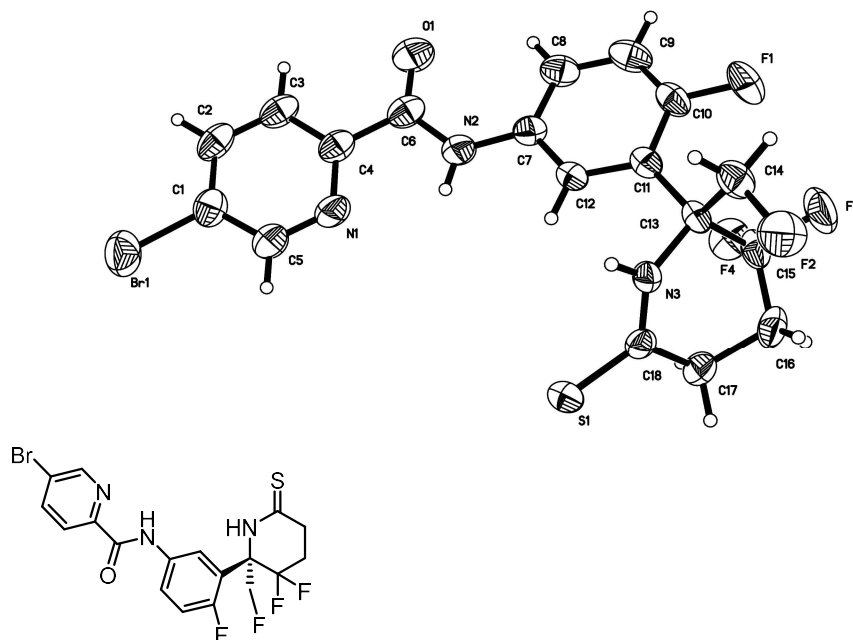


Figura 1: Estructura de rayos X de (*S*)-5-bromo-*N*-(3-(2-(difluorometil)-3,3-difluoro-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida.

Las configuraciones absolutas de los compuestos ejemplificados de la presente invención se pueden así racionalizar. (*S*)-5-Bromo-*N*-(3-(3,3-difluoro-2-(fluorometil)-6-tioxopiperidin-2-il)-4-fluorofenil)picolinamida se preparó a partir de (*S*)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona, que es el material de partida para los compuestos 1-9 ejemplificados y el compuesto

18 ejemplificado de la presente invención. Los restantes compuestos ejemplificados de la presente invención se prepararon a partir de (S)-6-(5-amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona. (S)-6-(5-Amino-2,3-difluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona se preparó por el mismo método que (S)-6-(5-amino-2-fluorofenil)-5,5-difluoro-6-(fluorometil)piperidina-2-tiona y debe tener la misma estereoquímica absoluta y relativa.

Ensayo Farmacológico

Ensayo de unión a 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). 10 nM (concentración final) de radioligando ($[^3\text{H}]\text{-N-}((1\text{S},2\text{R})\text{-1-bencil-3-ciclopropilamino-2-hidroxipropil})\text{-5-(metanosulfonil-metil-amino)-N-}((\text{R})\text{-1-fenil-etil})\text{-isofalamida}$) (TRQ11569 adquirida de GE Healthcare) se mezclaron con compuesto de ensayo a una concentración dada, 6 nM (concentración final) de BACE1 humana y 25 μg de perlas de SPA con núcleo de PVT revestidas con 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 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 μ M (concentración final) del inhibidor de BACE1 con una afinidad elevada de referencia (S)-6-[3-cloro-5-(5-prop-1-inilpiridin-3-il)tiofen-2-il]-2-imino-3,6-

5 dimetiltetrahidropirimidin-4-ona, respectivamente. Para cada uno de los compuestos de ensayo se determinó el valor de CI_{50} (la concentración que media en el 50% de la inhibición de la unión específica del radioligando) a partir de la curva concentración-respuesta y se utilizó para calcular la K_i a
10 partir de la ecuación $K_i = CI_{50} / (1 + L / K_d)$, en que 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 por saturación.

Tabla 1: afinidad de unión de compuestos seleccionados

Compuesto N°	BACE1 Ki (nM)
1	5.7
2	22
3	13
4	25
5	15
6	20
7	32
8	29
9	30
10	55
11	14
12	84
13	22
14	23
15	9
16	21
17	16
18	25
19	11

Ensayo de eficacia de BACE1

El ensayo de eficacia se llevó a cabo como un ensayo
5 basado en FRET usando un kit de BACE1 comercializado (Life Technologies, P2985). Se preincubaron 2 µL de compuesto de prueba con una concentración 10 µM (concentración final) y 15 µL de enzima de BACE1 del kit (concentración final 3 nM)

durante 15 minutos a temperatura ambiente antes de la adición de 15 µL 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 µM (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 µM (concentración final) y se definió como la inhibición porcentual de la actividad enzimática usando la ecuación $\% \text{inhibición} = 100\% - \text{actividad enzimática normalizada en porcentaje}$.

Tabla 2: Actividad BACE1 de compuestos seleccionados

Compuesto N°	Inhibición de BACE1 con 10µM (%)
1	104
2	104
3	104
4	104
5	102
6	103
7	96
9	103

10	102
11	103
12	101
13	103
14	103
15	106
16	106
17	111
18	109

Evaluación de los niveles de péptido A β en cerebro de rata y plasma tras la inhibición por BACE1

Animales.

5 Todos los procedimientos para el cuidado de las ratas y experimentales fueron aprobados por el Equipo de Veterinarios de Lundbeck, de acuerdo con la legislación danesa. Las ratas se mantuvieron en una instalación con barrera con un ciclo de luz/oscuridad de 12/12-h y acceso ad libitum a la comida y el
10 agua.

Tratamiento de Ratas naif.

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 +
15 1M MeSO₄, 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 los animales fueron aturridos y decapitados con una guillotina. Se tomó sangre del tronco en tubos revestidos 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 β 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 β 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 corteza se descongelaron levemente sobre hielo húmedo antes de homogenizarse con un instrumento de dispersión de pequeño volumen (T10 básico ULTRA-TURRAX®) que se fijó a una velocidad de 5 durante aproximadamente 5 7 seg. El tejido se procesó en un volumen de 10 veces el peso, por

ejemplo, se homogenizaron 100 mg de tejido en 1000µL de solución amortiguadora de homogenización. Tampón de homogeneización: 50 mL de agua Milli Q + NaCl 50 mM + 0.2% de Dietilamina (DEA) + 1 comprimido de cóctel inhibidor de
5 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
10 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
15 (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
20 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
25 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 µL sobre hielo húmedo. A esto se añaden 30 µL de Urea 8 M (AppliChem A1049, 9025) para diluir a la mitad. Tanto el plasma como 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 µL de Urea 8M + 800 µL de diluyente estándar) y urea 0.8M (400µL de Urea 8M + 3600µL de diluyente estándar). Se preparó una dilución doble en serie de Aβ40 de 100 pmol/ml a 0 pmol/L para el ensayo.

Después de la incubación con urea, todas las muestras se diluyeron adicionalmente mediante la adición de 5 veces el diluyente estándar del Kit. Esto se realizó añadiendo 240 µL de Diluyente Estándar a 60 µL de mezcla de muestra/urea que después se mezcló bien. Se pipetearon 100 µL de cada muestra diluida en los pocillos designados de la placa de ELISA por duplicado. A continuación se cubrió la 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 µL 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. 100 µL de solución de 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB) se aplicaron a cada uno de los pocillos y la placa se cubrió e incubó en la oscuridad a la temperatura ambiente durante 30 minutos. A continuación, se añadieron 100 µL 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 min posteriores a la adición de la solución de PARADA a los pocillos.

La concentración de péptido A β en las muestras se determinó en base a una curva patrón generada a partir de patrones que contienen concentraciones conocidas de A β 40 sintético. Los expertos en la técnica apreciarán que las
5 extracciones de dietilamina (DEA) y urea liberarán A β soluble y A β 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 condiciones de ensayo sean las mismas para cada compuesto estudiado,
10 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 β 40 en las
15 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 β 40 en comparación con
20 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[®] (UPLC[®]) y a continuación la detección por MS tándem (MS/MS).

25 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

5 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
10 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)
15 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
20 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
25 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 homogeneizado de plasma blanco/cerebro blanco antes del análisis.

Sistema cromatográfico

Columnas analíticas:

Waters Acquity UPLC HSS C18 SB (pH 2-8) 1.8 μ m, 2.1 x 30 mm.

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)	% de A	% de B
0	98	2
0.01	98	2
1.5	5	95
2	5	95
2.2	98	2
3	98	2

Los compuestos 11 y 15 se administraron a dosis de 10 mg/kg p.o. Y muestras de cerebro y plasma se recogieron a las 3 horas post-dosis y se midieron las siguientes exposiciones tal como se describe arriba.

5 Tabla 3: Resultados para el compuesto 11

	Dosis (mg/kg)	Exp (ng/g)	Relación Cerebro/Plasma	Reducción de A β 4
Cerebro Rata	10	1758	1.8	43
Plasma Rata		1118		31
Cerebro Rata	30	4210	1.3	50
Plasma Rata		3290		37

Tabla 4: Resultados para el compuesto 15

	Dosis (mg/kg)	Exp (ng/g)	Relación Cerebro/Plasma	Reducción de A β 4
Cerebro Rata	10			33
Plasma Rata				34
Cerebro Rata	30			43
Plasma Rata				34

10 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

15 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

μM 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_2 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 P_{app} (cm/s) utilizando la ecuación:

$$P_{\text{app}} = (dC_r/dt) \times V_r / (A \times C_0)$$

Donde dC_r/dt es la concentración acumulada del compuesto en la cámara receptora en función del tiempo ($\mu\text{M/s}$); V_r 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^2 para el área de la monocapa; C_0 es la concentración inicial en la cámara donante (μM).

Los compuestos se clasifican como sustratos P_{g} cuando la relación de salida ($P_{\text{app BA}} / P_{\text{app AB}}$) es ≥ 2 .

Tabla 5: Actividad BACE1 de compuestos seleccionados

Compuesto	Relación de salida MDCK-MDR1
1	1.75
2	2.6
3	2.84
4	13.81

5	7.31
6	2.07
7	4.59
8	23.42
9	1.76
10	3.57
11	0.77
12	1.11
13	1.11
14	1.81
15	1.09
16	1.1
17	2.21
19	1.59

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).

Se hace constar que con relación a esta fecha, el mejor método conocido por la solicitante para llevar a la práctica la citada invención, es el que resulta claro de la presente descripción de la invención.