

COMPUESTOS ÚTILES PARA INHIBIR ROR-GAMMA-T**DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION**

La presente invención se refiere a compuestos
5 útiles para inhibir el receptor huérfano gamma-t relacionado
con el receptor del ácido retinoico (ROR γ t), composiciones
farmacéuticas, y métodos para tratar enfermedades
relacionadas con la actividad de ROR γ .

Los receptores huérfanos relacionados con el
10 receptor del ácido retinoico (ROR) son miembros de la
superfamilia del receptor nuclear (NR) identificados como
reguladores patológicos importantes en muchas enfermedades.
La subfamilia de ROR consiste de ROR α , ROR β , y ROR γ . El gen
de ROR γ de ratón y humano genera dos isoformas, γ 1 y γ 2, la
15 última más comúnmente referida como γ t. La señalización de
ROR γ t, a menudo en respuesta a la señalización de IL-
23/receptor de IL-23, se requiere para la diferenciación de
células T CD4+ sin tratamiento en un subconjunto de células T
designadas Th17, las cuales son distintas de las células Th1
20 y Th2 clásicas, y apoya su mantenimiento. Las células Th17
producen interleucina-17A (IL-17) e IL-17F. Además, las
células Th17 producen un rango de otros factores conocidos
por impulsar respuestas inflamatorias, incluyendo factor de
necrosis de tumor alfa (TNF- α), interleucina-6 (IL-6), GM-
25 CSF, CXCL1 y CCL20. Las células NK y células linfoides

innatas tales como células tipo inductoras de tejido linfoide (LTi) expresan el receptor de IL-23 y RORyt y producen IL-17 en respuesta a la estimulación e IL-23. Hay evidencia sustancial que las células que expresan RORyt, e IL-17, 5 sensibles a IL-23 se asocian con enfermedades autoinmunes (AI), enfermedades inflamatorias, y cáncer. Por lo tanto, la inhibición dirigida de RORyt puede ser importante para reducir la patogénesis de las enfermedades.

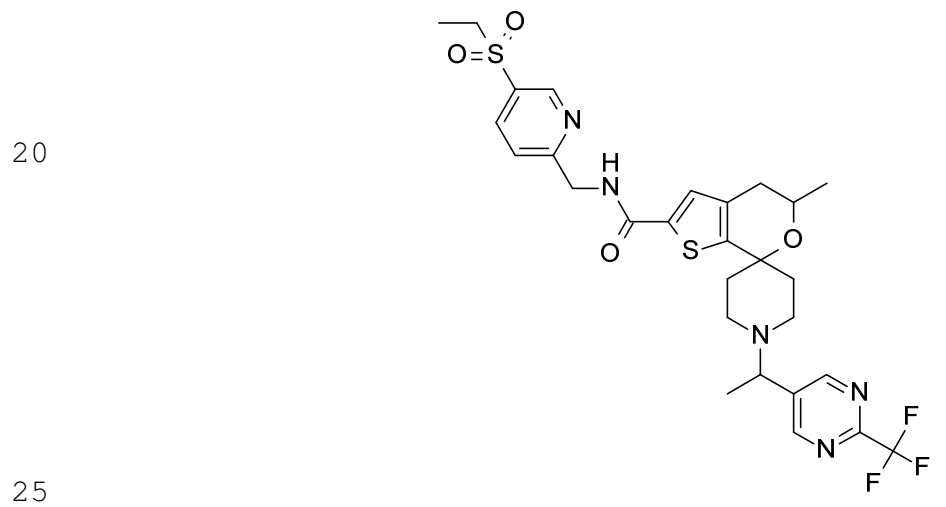
Las enfermedades AI son afecciones crónicas para 10 las cuales no existe cura actualmente. El tratamiento de enfermedades AI típicamente implica un intento de controlar el proceso de la enfermedad y disminución de los síntomas administrando medicamentos anti-inflamatorios, anti-dolor, o inmunosupresores. Desafortunadamente, el uso de medicamentos 15 anti-inflamatorios y anti-dolor algunas veces es ineficaz y el uso de inmunosupresores a menudo lleva a la devastación de efectos secundarios de largo plazo. Los efectos secundarios más significativos de fármacos inmunosupresores son un riesgo aumentado de infección y un riesgo mayor de cáncer.

20 Se han identificado ligandos naturales y sintéticos para RORyt. Los inhibidores de molécula pequeña contra RORyt se han reportado en la literatura para AI. Ver WO 2015/017335 y WO 2014/179564. Sin embargo, la prevalencia de enfermedades AI acopladas con los efectos secundarios ineficaces o 25 devastadores de tratamientos actuales necesita que más

elecciones de tratamiento estén disponibles para los
 pacientes. La dirección de RORyt puede presentar una ventaja
 sobre las terapias AI actuales maximizando el beneficio
 terapéutico dirigiendo las células inmunes patogénicas
 5 mientras se minimiza el riesgo de supresión de defensas de
 huésped.

La presente invención proporciona nuevos compuestos
 que son inhibidores de RORyt. Tales nuevos compuestos podrían
 abordar la necesidad de tratamiento potente y efectivo de
 10 uveítis, esclerosis múltiple, artritis reumatoide, enfermedad
 de injerto versus huésped, enfermedad de Crohn, otras
 enfermedades inflamatorias del intestino, cáncer, psoriasis,
 y espondilartropatías seronegativas, tales como
 espondiloartritis axial, espondilitis anquilosante, y
 15 artritis psoriásica.

La presente invención proporciona un compuesto de
 fórmula



o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un método para el tratamiento de psoriasis en un paciente que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo un compuesto
5 de la presente invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable. Además, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de espondilartropatías seronegativas en un paciente que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo un
10 compuesto de la presente invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable. En la modalidad, las espondilartropatías seronegativas son espondiloartritis axial, espondilitis anquilosante, o artritis psoriásica.

La presente invención proporciona una composición
15 farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una modalidad adicional, la composición comprende además uno o más agentes terapéuticos.
20 En una modalidad adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de psoriasis que comprende un compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente
25 aceptables. En todavía una modalidad adicional, la presente

invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de espondilartropatías seronegativas que comprende un compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables. En la modalidad, las espondilartropatías seronegativas son espondiloartritis axial, espondilitis anquilosante, o artritis psoriásica.

Además, la presente invención proporciona un compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en terapia, en particular para el tratamiento de psoriasis. Incluso además, la presente invención proporciona un compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de psoriasis. En una modalidad adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de psoriasis.

Además, la presente invención proporciona un compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en terapia, en particular para el tratamiento de espondilartropatías seronegativas. Incluso además, la presente invención proporciona un compuesto de la invención, o una sal del mismo

farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de espondilartropatías seronegativas. En una modalidad adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención, o una sal del mismo
5 farmacéuticamente aceptable, para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de espondilartropatías seronegativas. En las modalidades, las espondilartropatías seronegativas son espondiloartritis axial, espondilitis anquilosante, o artritis psoriásica.

10 La presente invención también abarca intermediarios y procesos útiles para la síntesis de un compuesto de la presente invención.

El término "tratando" (o "tratar" o "tratamiento") como se usa en la presente se refiere a restringir,
15 ralentizar, detener, o invertir la progresión o gravedad de un síntoma, afección o trastorno existente.

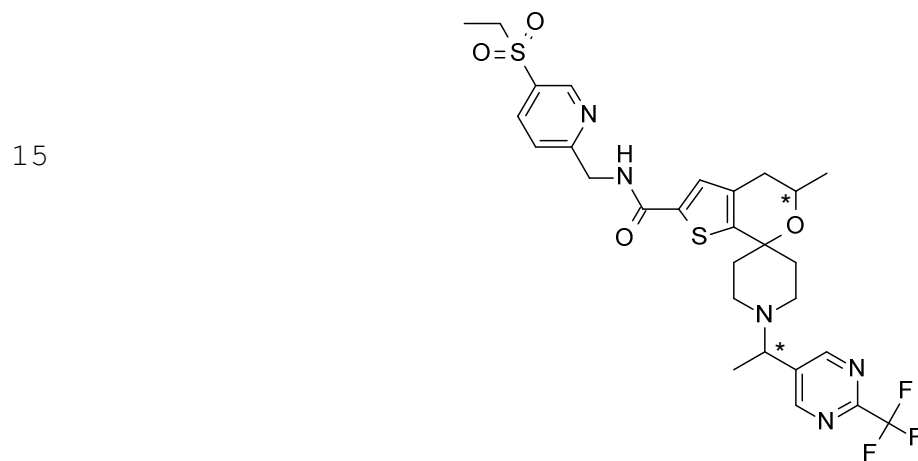
El término "espondilartropatías" se refiere a una serie de enfermedades crónicas de las articulaciones que generalmente implican la columna vertebral y las áreas donde
20 los ligamentos y tendones se unen al hueso. Las espondilartropatías algunas veces son llamadas espondiloartropatías o espondiloartritis.

El término "seronegativo" se refiere a una enfermedad la cual es negativa para el factor reumatoide.

25 Un compuesto de la presente invención puede

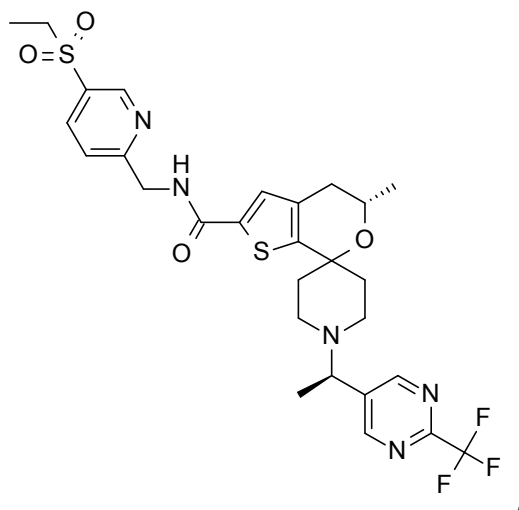
reaccionar para formar sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables y la metodología común para prepararlas son bien conocidas en la técnica. Ver, por ejemplo, P. Stahl, et al. *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, 2ª Edición Revisada (Wiley-VCH, 2011); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 66, No. 1, enero de 1977.

El artesano experto apreciará que un compuesto de la invención, como se muestra en (I), o sal del mismo farmacéuticamente aceptable, está comprendido de un núcleo que contiene al menos dos centros quirales, como se representa por * a continuación:



(I)

Aunque la presente invención contempla todos los enantiómeros individuales, así como mezclas de los enantiómeros de los compuestos incluyendo racematos, los compuestos preferidos de la invención se representan por (II) a continuación:



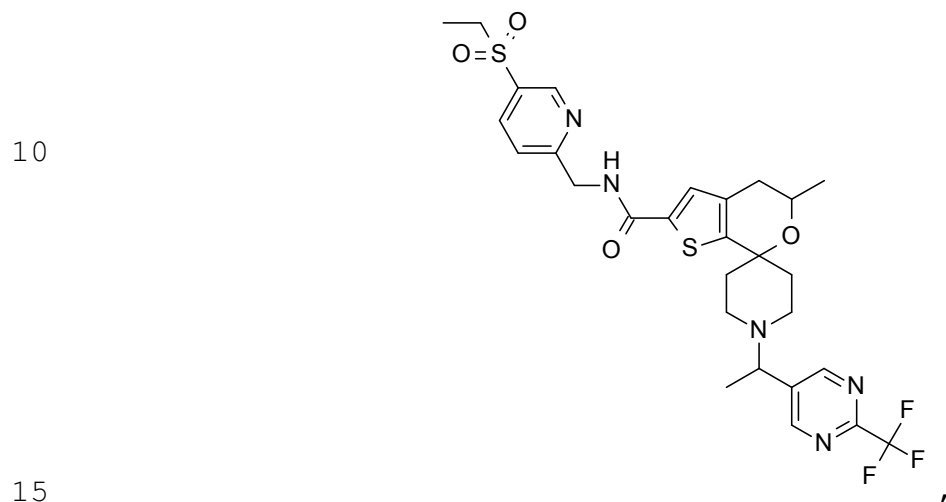
(II)

o sales de los mismos farmacéuticamente aceptables.

El artesano experto también apreciará que las designaciones de (R) o (S) de Cahn-Ingold-Prelog para todos los centros quirales variarán dependiendo de los patrones de sustitución del compuesto particular. Los enantiómeros o diastereómeros únicos se pueden preparar iniciando con reactivos quirales o por técnicas sintéticas estereoselectivas o estereoespecíficas. Alternativamente, los enantiómeros o diastereómeros únicos se pueden aislar de mezclas por técnicas de cristalización o cromatográficas quirales estándar en cualquier punto conveniente en la síntesis de compuestos de la invención. Los enantiómeros únicos de compuestos de la invención son una modalidad preferida de la invención.

Un compuesto de la presente invención se formula preferiblemente como composiciones farmacéuticas

administradas por una variedad de rutas. Tales composiciones farmacéuticas y procesos para preparar las mismas son bien conocidos en la técnica. Ver, por ejemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (A. Gennaro, et al., eds., 21st ed., Mack Publishing Co., 2005). Más particularmente preferida, es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula,

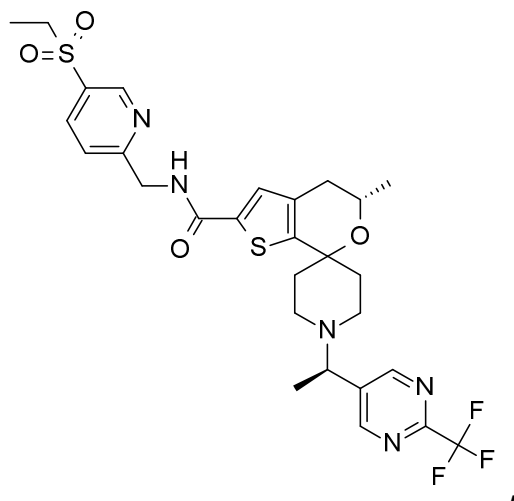


o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable y uno o más portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

Una modalidad especialmente preferida de la presente invención se refiere al compuesto, (5'S)-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-[(1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil]-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3,c]piran]-2'-carboxamida:

25

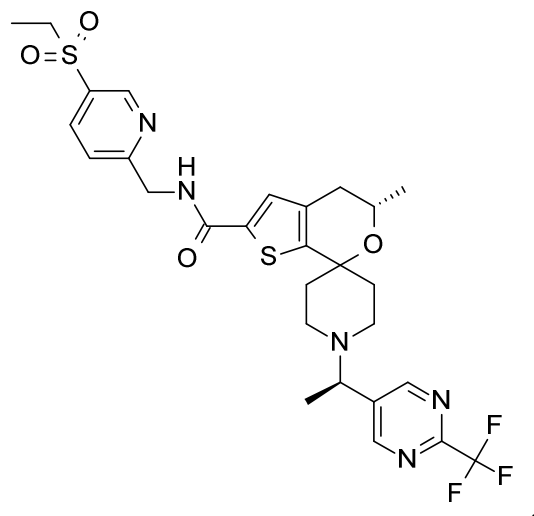
5



o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

10 Otra modalidad especialmente preferida de la presente invención se refiere al compuesto,

15



20 Los compuestos de la presente invención son generalmente efectivos sobre un amplio rango de dosificación. Por ejemplo, las dosificaciones por día caen dentro del rango de aproximadamente 1 mg a 1 g. En algunos casos, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del rango
25 antedicho pueden ser más que adecuados, mientras que en otros

casos aún dosis mayores se pueden emplear mientras se mantiene un perfil de beneficio/riesgo favorable, y por lo tanto el rango de dosificación anterior no se pretende que limite el alcance de la invención en alguna manera. Se
5 entenderá que la cantidad del compuesto actualmente administrado se determinará por un médico, a la luz de las circunstancias relevantes, incluyendo la afección a ser tratada, la ruta de administración elegida, el compuesto o compuestos actuales administrados, la edad, peso, y respuesta
10 del paciente individual, y la gravedad de los síntomas del paciente.

Los isómeros, enantiómeros, y diastereómeros individuales se pueden separar o resolver por cualquiera de experiencia ordinaria en la técnica en cualquier punto
15 conveniente en la síntesis de compuestos de Fórmula I, por métodos tales como técnicas de cristalización selectiva o cromatografía quiral (Ver por ejemplo, J. Jacques, et al., *"Enantiomers, Racemates, and Resolutions"*, John Wiley and Sons, Inc., 1981, y E.L. Eliel and S.H. Wilen",
20 *Stereochemistry of Organic Compuestos*", Wiley-Interscience, 1994). Las designaciones "isómero 1" e "isómero 2" se refieren a los compuestos que se eluyen de cromatografía quiral primero y segundo, respectivamente, y si la cromatografía quiral se inicia temprano en la síntesis, la
25 misma designación se aplica a los intermediarios y ejemplos

subsecuentes.

Adicionalmente, ciertos intermediarios descritos en la presente pueden contener uno o más grupos protectores. El grupo protector variable puede ser el mismo o diferente en
5 cada ocurrencia dependiendo de las condiciones de reacción particulares y las transformaciones particulares a ser realizadas. Las condiciones de protección y desprotección son bien conocidas por el artesano experto y se describen en la literatura (Ver por ejemplo "*Greene's Protective Groups in*
10 *Organic Synthesis*", Cuarta Edición, de Peter G.M. Wuts and Theodora W. Greene, John Wiley and Sons, Inc. 2007).

Ciertas abreviaturas se definen como sigue: "AUC" se refiere al área bajo la curva; "BSA" se refiere a Albúmina de Suero Bovino; "CFA" se refiere a adyuvante de Freund
15 completo; "DBA" se refiere a diluido marrón no Agouti; "DCM" se refiere a diclorometano; "DPBS" se refiere a solución salina amortiguada con fosfato de Dulbecco; "DMEM" se refiere a Medio de Eagle Modificado con Dulbecco; "DMSO" se refiere a dimetil sulfóxido; "EC₅₀" se refiere a la concentración
20 efectiva a la mitad de la respuesta máxima; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo; "Et₂O" se refiere a éter etílico; "EtOH" se refiere a alcohol etílico o etanol; "ee" se refiere a exceso enantiomérico; "Ex" se refiere a ejemplo; "FBS" se refiere a Suero Bovino Fetal; "G" se refiere a fuerza
25 gravitacional; "GAL" se refiere al dominio de unión de ADN de

beta-galactosidasa; "GPI" se refiere a glucosa-6-fosfato isomerasa; "HEC" se refiere a hidroxietil celulosa; "HEK" se refiere a riñón embrionario humano; "HEPES" se refiere a ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetansulfónico; "IC₅₀" se refiere a la concentración de un agente que produce 50% de la respuesta inhibidora máxima para este agente; "IL" se refiere a interleucina; "IPA" se refiere a alcohol isopropílico o isopropanol; "Kd" se refiere a la constante de disociación; "Ki" se refiere a la constante de inhibición; "MeOH" se refiere a alcohol metílico o metanol; "MEM" se refiere a Medio Esencial Mínimo; "PBMC" se refiere a células mononucleares de sangre periférica; "PBS" se refiere a solución salina amortiguada con fosfato; "Prep" se refiere a preparación; "RAR" se refiere al receptor del ácido retinoico; y "RPMI" se refiere a Roswell Park Memorial Institute. "R_t" se refiere a tiempo de retención; "SCX" se refiere a intercambio catiónico fuerte; "SFC" se refiere a cromatografía de fluido supercrítico; y "THF" se refiere a tetrahidrofurano.

Los compuestos de la presente invención, o sales de los mismos, se pueden preparar por una variedad de procedimientos conocidos en la técnica, algunos de los cuales se ilustran en las Preparaciones y Ejemplos a continuación. Las etapas de síntesis específicas para cada una de las rutas descritas se pueden combinar en diferentes maneras para preparar los compuestos de la invención, o sales de los

mismos. Los productos de cada etapa a continuación se pueden recuperar por métodos convencionales bien conocidos en la técnica, incluyendo extracción, evaporación, precipitación, cromatografía, filtración, trituración, y cristalización. Los reactivos y materiales de partida son fácilmente disponibles para uno de experiencia ordinaria en la técnica.

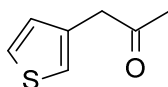
Las siguientes preparaciones y ejemplos ilustran adicionalmente la invención y representan la síntesis típica de los compuestos de la presente invención.

10

Preparaciones y Ejemplos

Preparación 1

1-(3-Tienil)propan-2-ona



15

Suspenda ácido 2-(3-tienil)acético (26.5 g, 146.5 mmol) en anhídrido acético (87.9 mL, 913 mmol,) y añada 1-metilimidazol (7.57 g, 91.3 mmol). Agite la mezcla de reacción durante 4 horas a temperatura ambiente bajo nitrógeno. Enfríe la mezcla de reacción a 0 °C, añada agua (150 mL), y agite durante 1 hora. Diluya la solución con EtOAc (300 mL) y lave sucesivamente con NaOH 2 M (2×200 ml), agua (200 mL) y salmuera (200 mL). Separe la fase de extractos orgánicos, seque sobre sulfato de sodio, filtre, y concentre hasta sequedad para obtener el compuesto del título

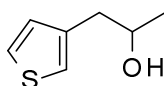
25

(28.16 g, 77%) como un aceite amarillo. ^1H NMR (400.13 MHz, CDCl_3) δ 2.14 (s, 3H), 3.7 (s, 2H), 6.94 (d, J = 5.1 Hz, 1H), 7.08 (bs, 1H), 7.29–7.26 (m, 1H).

5

Preparación 2

1-(3-Tienil)propan-2-ol



Añada MeOH seco (63 mL) a borohidruro de sodio (1.61 g, 41.67 mmol) y enfríe la mezcla de reacción a $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$ mientras añade el MeOH. Enfríe adicionalmente a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ y añada una solución de 1-(3-tienil)propan-2-ona (4.92 g, 33.34 mmol) en MeOH seco (26.7 mL) por goteo durante 40 minutos y agite durante 1.5 horas a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ luego a temperatura ambiente durante 17 horas. Enfríe la solución a $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ (temperatura interna) y enfríe con una solución saturada de cloruro de amonio (15 mL) luego con HCl 1 N (15 mL). Añada agua (30 mL) y EtOAc (100 mL). Concentre la mezcla bajo presión reducida a 1/3 del volumen total. Extraiga la mezcla con EtOAc (2×100 mL). Combine los extractos orgánicos y seque sobre sulfato de magnesio, filtre, y concentre hasta sequedad para producir el compuesto del título (4.74 g, 100%). Espectro de masas (m/z): 125 ($\text{M}-\text{OH}+\text{H}$), 164.8 ($\text{M}+\text{Na}$).

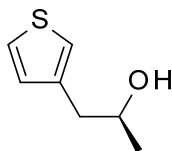
Preparación Alterna 2a

Añada borohidruro de sodio (7.06 g, 182.8 mmol) en porciones durante 30 minutos a 0 °C a una solución de 1-(3-tienil)propan-2-ona (28.16 g, 140.6 mmol) en MeOH (282 mL) y
 5 agite a temperatura ambiente durante la noche. Concentre hasta sequedad, diluya con EtOAc (200 mL) y lave con una solución saturada de cloruro de amonio (150 mL). Extraiga la capa acuosa con EtOAc (2×200 mL). Combine los extractos orgánicos, seque sobre sulfato de sodio, filtre, y concentre
 10 bajo presión reducida. Purifique el residuo por cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con MeOH: DCM (0:100 a 5:95) para producir el compuesto del título (12.85 g, 64%) como un aceite rojo pálido. Espectro de masas (m/z): 125 (M-OH+H).

15

Preparación 3

(2S)-1-(3-Tienil)propan-2-ol



20

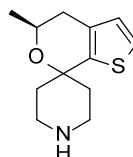
Disuelva 3-bromotiofeno (6.88 g, 42.2 mmol) en THF anhidro (10 mL) y tolueno (100 mL). Enfríe a -78 °C. A esto añada vía jeringa sec-butil litio (1.3 mol/L en ciclohexano, 34 mL, 44 mmol) durante 15 minutos. Mantenga la temperatura a
 25 < -60 °C, agite 10 minutos, luego añada (2S)-2-metiloxirano

(4.9 g, 84.4 mmol) por goteo. Después de 5 minutos, añada dietil eterato de trifluoruro de boro (5.3 mL, 42 mmol) durante 15 minutos vía embudo de goteo. Mantenga la temperatura a < -55 °C. Después que se completa la adición, agite a -78 °C durante 2 horas. Enfríe a -78 °C con bicarbonato de sodio saturado, añada Et₂O, y caliente a temperatura ambiente. Lave con bicarbonato de sodio saturado (2×) seguido por salmuera saturada. Seque la capa orgánica sobre sulfato de sodio, filtre, y concentre bajo presión reducida. Purifique por cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con 15% EtOAc/hexanos para producir el compuesto del título (3.85 g, 64.2%). Vuelva a purificar las fracciones mezcladas para producir una cantidad total del compuesto del título (4.29 g, 71.5%) como un líquido incoloro. ¹H NMR (400.13 MHz, CDCl₃) δ 7.28–7.26 (dd, $J=2.9$, 5.0, 1H), 7.03–7.01 (m, 1H), 6.96 (dd, $J=1.2$, 4.9, 1H), 4.04–3.95 (m, 1H), 2.83–2.68 (m, 2H), 1.63 (s, 1H), 1.22 (d, $J=6.2$, 3H), o $[\alpha]^{20}_D +25.50$ (c 1.00, CHCl₃).

20

Preparación 4

(5'S)-5'-Metil-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-c]piran]



25

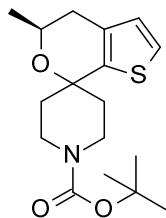
Disuelva 4-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (6.50 g, 32.6 mmol) y (2*S*)-1-(3-tienil)propan-2-ol (4.64g, 32.6 mmol) en DCM (100 mL). Añada ácido trifluoroacético (20 mL, 264.5 mmol). Agite la mezcla a temperatura ambiente 18 horas. Concentre la mezcla bajo presión reducida, y luego añada agua y Et₂O. Lave la capa orgánica con agua, combine los lavados acuosos, y luego ajuste el pH a básico con carbonato de sodio sólido. Sature la capa acuosa con cloruro de sodio sólido, luego lave la capa acuosa con EtOAc (5×). Combine las capas de EtOAc, lave con salmuera, seque con sulfato de sodio, filtre, y concentre bajo presión reducida para producir el compuesto del título (4.61g, 63%) como un aceite amarillo pálido. Espectro de masas (*m/z*): 224.2 (*M*+*H*).

15

Preparación 5

(5'*S*)-5'-Metil-4',5'-dihidro-1*H*-espiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-*c*]piran]-1-carboxilato de *terc*-butilo

20



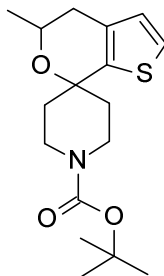
Disuelva (5'*S*)-5'-metil-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-*c*]piran] (10.39 g, 46.53 mmol) en DCM (100 mL). Añada dicarbonato de di-

25

terc-butilo (11.52 mL, 51.18 mmol) por goteo y agite la
 mezcla a temperatura ambiente durante 1.5 horas. Añada
 dicarbonato de di-terc-butilo adicional (2.00 mL, 9.17
 mmol) y agite 30 minutos, luego concentre bajo presión
 5 reducida. Añada imidazol (2.21 g, 32.5 mmol) para
 destruir el exceso de dicarbonato de di-terc-butilo
 (Synthesis, 2001, No. 4, 550). Añada Et₂O y lave con
 salmuera. Seque la capa orgánica sobre sulfato de sodio,
 filtre, y concentre bajo presión reducida. Purifique por
 10 cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con
 10% EtOAc/hexanos. Vuelva a purificar por cromatografía
 instantánea en gel de sílice eluyendo con 15%
 EtOAc/hexanos para producir el compuesto del título
 (12.92 g, 86%) como un aceite incoloro. ¹H NMR (400.13
 15 MHz, d₆-DMSO) δ 7.33 (d, J=5.1 , 1H), 6.77 (d, J=5.1 ,
 1H), 3.92-3.72 (m, 3H), 3.15-2.91 (s, 2H), 2.62 (dd,
 J=15.8, 3.0, 1H), 2.30 (dd, J=15.8, 10.6, 1H), 2.1 (m,
 1H), 1.76-1.63 (m, 2H), 1.51-1.40 (m, 1H), 1.38 (s, 9H),
 1.24 (d, J=6.2, 3H), 100% ee con base en la cromatografía
 20 de SFC, Lux Amilosa-2, 5 mL/min, 225 nm, R_t = 1.75 min, o
 [α]²⁰_D +82.1 (c 1.00, CHCl₃).

Preparación 6

25 *terc*-Butil-5'-metil-4',5'-dihidro-1H-espiro[piperidin-
 4,7'-tieno[2,3-c]piran]-1-carboxilato



5

Añada ácido trifluoroacético (34.16 mL, 451.8 mmol) por goteo a 0 °C a una solución de 1-(3-tienil)propan-2-ol (12.85 g, 90.35 mmol) y 4-oxopiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (23.40 g, 117.5 mmol) en DCM seco (135 mL) y mantenga la agitación a temperatura ambiente durante 17 horas. Concentre la mezcla hasta sequedad, diluya el residuo con MeOH, y luego remueva el solvente bajo presión reducida. Recoja el residuo en MeOH y purifique por cromatografía de intercambio iónico. Combine las capas que contienen el producto deseado y concentre bajo presión reducida co-
 15 evaporando con tolueno (3×) para producir un sólido anaranjado pálido de 5-metilespiro[4,5-dihidrotieno[2,3-c]piran-7,4'-piperidina] cruda. Añada 4-dimetilaminopiridina (2.23 g, 18.07 mmol) y trietilamina (37.8 mL, 271.1 mmol) por goteo a una solución de 5-metilespiro[4,5-dihidrotieno[2,3-c]piran-7,4'-piperidina] (20.18 g, 90.35 mmol) en DCM seco (90.35 mL) enfriado a 0 °C. A esto añada por goteo una solución de dicarbonato de di-*terc*-butilo (30.49 g, 135.5 mmol,) en DCM seco (27.1 mL). Agite a temperatura ambiente
 20 durante la noche. Añada agua (100 mL), extraiga la capa

acuosa con DCM (3×100 mL), lave con salmuera (100 mL), y concentre bajo presión reducida. Purifique por cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con EtOAc: *iso*-hexano (0:100 a 20:80). Co-evapore el residuo con DCM (3×) para
5 producir el compuesto del título (27.64 g, 92.7%) como un sólido blanco. Espectro de masas (*m/z*): 346 (*M*+Na)

Preparación Alternativa 6a

tert-Butil-5'-metil-4',5'-dihidro-1H-espiro[piperidin-4,7'-
10 tieno[2,3-*c*]piran]-1-carboxilato

Añada ácido trifluoroacético (20.17 mL, 266.72 mmol) por goteo a 0 °C a una solución de 1-(3-tienil)propan-2-ol (4.74 g, 33.34 mmol) y 4-oxopiperidin-1-carboxilato de *tert*-butilo (7.80 g, 38.34 mmol) en DCM seco (100 mL) y agite
15 a temperatura ambiente durante la noche. Concentre la mezcla hasta sequedad y diluya el residuo con MeOH. Purifique el material crudo por cromatografía de intercambio iónico. Combine las capas que contienen el producto deseado y concentre bajo presión reducida co-evaporando con DCM (3×)
20 para producir la 5-metilespiro[4,5-dihidrotieno[2,3-*c*]piran-7,4'-piperidina] cruda (8.17 g). Añada 4-dimetilaminopiridina (0.831 g, 6.67 mmol) y trietilamina (9.29 mL, 66.68 mmol) a una solución de 5-metilespiro[4,5-dihidrotieno[2,3-*c*]piran-7,4'-piperidina] (8.17 g) en DCM seco (66.7 mL) enfriado a 0
25 °C. A esto añada por goteo una solución de dicarbonato de di-

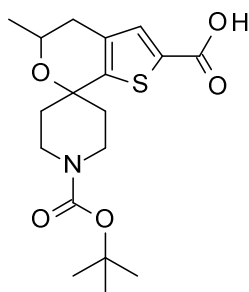
terc-butilo (18.19 g, 83.35 mmol,) en DCM seco (16.7 mL).
 Agite a temperatura ambiente durante 3 días. Añada agua (60
 mL), extraiga la capa acuosa con DCM (3× 50 mL), lave con
 salmuera (20 mL), filtre a través de un separador de fases, y
 5 concentre bajo presión reducida. Purifique el residuo por
 cromatografía instantánea en gel de sílice eluyendo con
 EtOAc: iso-hexano (0:100 a 20:80). Co-evapore el residuo con
 DCM (2×) para producir el compuesto del título (9.41 g, 80%).
 Espectro de masas (m/z): 346 (M+Na)

10

Preparación 7

Ácido 1-(*terc*-butoxicarbonil)-5'-metil-4',5'-
 dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-c]piran]-2'-
 carboxílico

15



20

Disuelva *terc*-butil-5'-metil-4',5'-dihidro-1H-
 espiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-c]piran]-1-carboxilato (7.16
 g, 21.71 mmol) en THF (108.5 mL) y enfríe a -78 °C. A esto
 añada butil litio (2.5 M en hexanos, 13 mL, 32.56 mmol) por
 goteo durante 20 minutos y agite la mezcla unos 30 minutos
 25 adicionales después que se completa la adición. Burbujee en

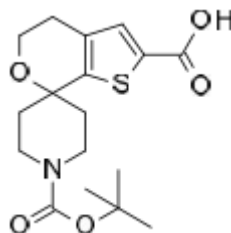
CO₂ vía cánula y mantenga la agitación a esta temperatura durante 1 hora con adición continua de CO₂. Permita que la reacción se caliente a 0 °C durante 2 horas con adición continua de CO₂ y enfríe cuidadosamente con agua (80 mL).

5 Vierta la mezcla de reacción en agua y extraiga la capa acuosa con Et₂O (100 mL). Lave la fase orgánica con NaOH 2 N (3× 15 mL) y agua (50 mL). Acidifique la capa acuosa con HCl 2 N (3×) a pH= 6, y extraiga con EtOAc. Combine los extractos orgánicos y lave con salmuera (50 mL), seque sobre sulfato de

10 magnesio, filtre, y concentre bajo presión reducida para obtener el compuesto del título (7.89 g, 97%) como un sólido blanquecino. Espectro de masas (m/z): 390 (M+Na).

Preparación 8

15 Ácido 1-(*terc*-butoxicarbonil)-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-c]piran]-2'-carboxílico



20

Disuelva

terc-butil-4',5'-dihidro-1H-

espiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-c]piran]-1-carboxilato

(preparado como se describe en J. Med. Chem., 2011, 54, (8), pp 2687-2700 y WO2011060035) (10 g, 32.32 mmol) en THF (100

25 mL) y enfríe a -78 °C. A esto añada butil litio (22.22 mL,

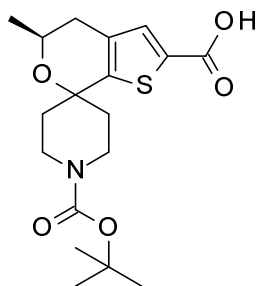
35.55 mmol) por goteo durante 15 minutos y agite la mezcla
unos 15 minutos adicionales después que se completa la
adición. Burbujee en CO₂ vía cánula y deje que la mezcla se
caliente a temperatura ambiente con adición continua de CO₂.
5 Después de 2 horas, enfríe la mezcla a 0 °C, y añada agua
seguido por Et₂O. Basifique la capa acuosa con NaOH 1 N y lave
la capa orgánica con NaOH 1 N (3 ×). Combine los lavados de
base y acidifique a pH 2 con HCl 5 N. Lave la capa acuosa con
EtOAc (3×), combine los extractos orgánicos, y lave con
10 salmuera. Seque sobre sulfato de sodio, filtre, y concentre
bajo presión reducida para producir el compuesto del título
(11.11 g, 97.27%) como un sólido blanco. Espectro de masas
(m/z): 352.2 (M-H).

15

Preparación 9

Ácido (5'S)-1-*terc*-butoxicarbonil)-5'-metil-
4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-c]piran]-2'-
carboxílico

20



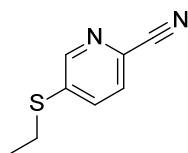
Disuelva (5'S)-5'-metil-4',5'-dihidro-1H-
25 espiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-c]piran]-1-carboxilato de

terc-butilo (11.19 g, 34.60 mmol) en THF anhidro (200 mL) y
 enfríe a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$. Añada n-butil litio (21 mL, 34.64 mmol) por
 goteo durante 20 minutos. Después que se completa la adición,
 agite a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 20 minutos, luego burbujee en gas de
 5 CO_2 vía cánula durante 60 minutos. Caliente la mezcla a
 temperatura ambiente con adición continua de CO_2 . Después de
 la agitación 1 hora a temperatura ambiente, enfríe con agua
 (3 mL) y concentre bajo presión reducida a 25% en volumen.
 Añada Et_2O y agua. Lave con agua (2×) y combine los lavados
 10 acuosos. Ajuste el pH a ácido con HCl 1 N. Sature la capa
 acuosa con cloruro de sodio y extraiga con EtOAc (2×).
 Combine los extractos de EtOAc, lave con salmuera, seque
 sobre sulfato de sodio, filtre, y concentre bajo presión
 reducida para producir el compuesto del título (13.40 g,
 15 100%) como una espuma blanca. Espectro de masas (m/z): 366
 (M-H).

Preparación 10

5-(Etilsulfanil)piridin-2-carbonitrilo

20



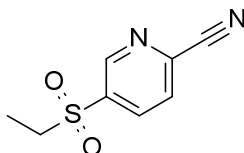
Disuelva 5-bromopiridin-2-carbonitrilo (49.42 g,
 270.1 mmol) y carbonato de potasio (113.5 g, 821.2 mmol) en
 25 1-metil-2-pirrolidinona (280 mL) y añada etanotiol (26.4 mL,

356 mmol) en porciones durante 30 minutos de modo que la temperatura permanece por debajo de 50 °C. Enfríe la reacción a temperatura ambiente y agite durante la noche. Diluya con EtOAc (1200 mL) y agua (2200 mL). Recolecte la capa orgánica y lave con salmuera (3×300 mL), seque la capa orgánica sobre sulfato de sodio, filtre, y concentre bajo presión reducida para producir el compuesto del título (44.87 g, 100%) como un sólido blanquecino. ¹H NMR (400.13 MHz, d₆-DMSO) δ 8.63 (s, 1H), 7.93 (s, 2H), 3.17 (q, J=7.3, 2H), 1.29 (t, J=7.3, 3H).

10

Preparación 11

5-(Etilsulfonil)piridin-2-carbonitrilo



15

Disuelva 5-(etilsulfanil)piridin-2-carbonitrilo

(44.36 g, 270.1 mmol) en DCM anhidro (540 mL) y enfríe a -20 °C. Añada ácido 3-cloroperoxibenzoico (130 g, 565.0 mmol) en porciones de 10-12 gramos durante 1 hora manteniendo una temperatura interna entre 0 °C y -10 °C. Agite la mezcla de reacción en un baño frío permitiendo calentar a temperatura ambiente durante la noche. Lave con NaOH 1 N (1 L), agua, NaOH 1 N (2×500 mL), y salmuera. Seque la capa orgánica sobre sulfato de sodio, filtre, y concentre bajo presión reducida para producir el compuesto del título (49.52 g, 93%) como un

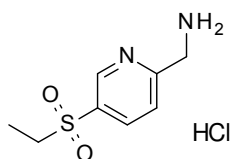
25

sólido blanco. ^1H NMR (400.13 MHz, d_6 -DMSO) δ 9.20 (d, $J=1.9$, 1H), 8.56 (dd, $J=2.0$, 8.1, 1H), 8.36 (d, $J=8.1$, 1H), 3.52 (q, $J=7.3$, 2H), 1.16 (t, $J=7.5$, 3H).

5

Preparación 12

Clorhidrato de 1-[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metanamina



10

Divida 5-(etilsulfonil)piridin-2-carbonitrilo

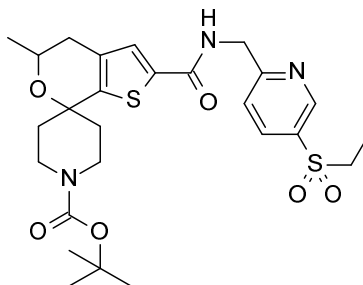
(49.52 g, 252.4 mmol) en tres porciones de 16.5 g. Bajo N_2 en una botella Parr de 2250 ml, añada 10% Pd/C (1.65 g, 15.5 mmol) al recipiente y humecte con MeOH (750 mL). Añada a esto 5-(etilsulfonil)piridin-2-carbonitrilo (16.5 g, 84.09 mmol) disuelto en MeOH (750 mL). Añada a esto HCl (6N acuoso, 17.1 ml, 102.6 mmol). Cierre la botella, purgue con N_2 , purgue con H_2 , y presurice a 68.9 kPa a temperatura ambiente durante 3 horas. Purgue con N_2 , y luego filtre la mezcla. Repita en las porciones restantes de 5-(etilsulfonil)piridin-2-carbonitrilo. Combine todos los filtrados y concentre bajo presión reducida para producir el compuesto del título (59.61 g, 99%) como un sólido beige. Espectro de masas (m/z): 201 ($\text{M}+\text{H}-\text{HCl}$).

25

Preparación 13

2'-([5-(Etilsulfonil)piridin-2-il]metil}carbamoil)-5'-metil-4',5'-dihidro-1H-espiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3,c]piran]-1-carboxilato de *terc*-butilo

5



10 Disuelva clorhidrato de 1-[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metanamina (3.1 g, 13 mmol), ácido 1-(*terc*-butoxicarbonil)-5'-metil-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-c]piran]-2'-carboxílico (3.9 g, 10 mmol) en DCM anhidro (52 mL). Enfríe a 0 °C y añada trimetilamina (10 mL,

15 73 mmol) por goteo seguido por una solución 1.67 M de 2,4,6-tripropil-1,3,4,2,4,6-trioxatрифосфоринано-2,4,6-trióxido (8.6 g, 14 mmol) en EtOAc. Deje que la mezcla se caliente a temperatura ambiente y agite durante la noche. Cuidadosamente añada agua (50 mL) y agite 10 minutos a temperatura ambiente.

20 Extraiga la capa acuosa con DCM (2×), luego combine los extractos orgánicos. Lave los extractos orgánicos con salmuera, seque sobre sulfato de sodio, filtre, y concentre bajo presión reducida. Purifique el material crudo con cromatografía en gel de sílice eluyendo con un gradiente de

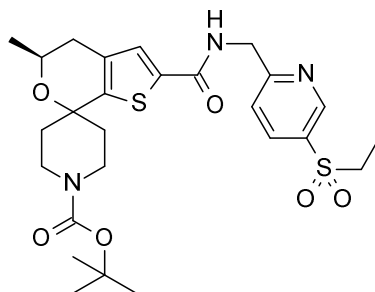
25 50% a 100% de EtOAc/hexanos para producir el compuesto del

título (4.89 g, 83%) como una espuma amarilla. Espectro de masas (m/z): 550 ($M+H$).

Preparación 14

5 (5'S)-2'-([5-(Etilsulfonil)piridin-2-il]metil}carbamoil)-5'-metil-4',5'-dihidro-1H-espiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3,c]piran]-1-carboxilato de *terc*-butilo

10



15

20

25

Disuelva clorhidrato de 1-[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metanamina (2.86 g, 10.5 mmol), ácido (5'S)-1-*terc*-butoxicarbonil)-5'-metil-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-c]piran]-2'-carboxílico (3.50 g, 9.52 mmol), y 1-hidroxibenzotriazol (1.44 g, 10.5 mmol) en THF anhidro (100 mL) y dimetilformamida (50 mL). Añada *N,N*-diisopropiletilamina (4.98 mL, 28.6 mmol) seguido por clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida y permita agitar a temperatura ambiente durante la noche. Concentrate bajo presión reducida a ~40% en volumen, luego añada EtOAc. Lave con bicarbonato de sodio saturado (2×), agua (2×), salmuera (2×), seque la capa orgánica sobre sulfato de sodio, filtre, y concentre bajo presión reducida.

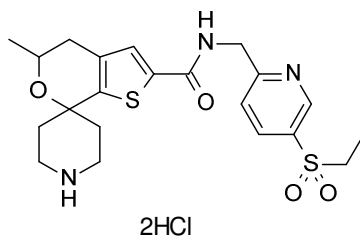
Someta a cromatografía en gel de sílice con 80% EtOAc/hexanos para producir el compuesto del título (4.51 g, 86%) como una espuma gris. Espectro de masas (m/z): 550 ($M+H$).

5

Preparación 15

Diclorhidrato de N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-4',5',dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3,c]piran]-2'-carboxamida

10



Disuelva

2'-([5-(etilsulfonil)piridin-2-

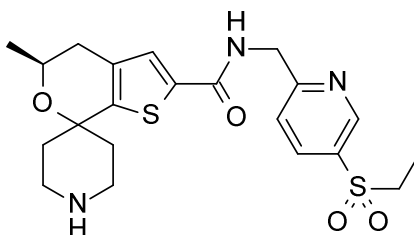
il]metil}carbamoil)-5'-metil-4',5'-dihidro-1H-

15 espiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3,c]piran]-1-carboxilato de
terc-butilo (0.95 g, 1.68 mmol) en MeOH (10 mL) y añada HCl 4
 M en dioxano (4.5 mL, 18 mmol). Agite a temperatura ambiente
 durante 1 hora, luego concentre bajo presión reducida para
 producir el compuesto del título (0.86 g, 100%) como un
 20 sólido blanco. Espectro de masas (m/z): 450 ($M+H-2HCl$).

Preparación 16

Diclorhidrato de (5'S)-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-4',5',dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3,c]piran]-2'-carboxamida

25



2 HCl

5

Disuelva (5'S)-2'-((5-(ethylsulfonyl)piridin-2-il]metil}carbamoil)-5'-metil-4',5'-dihidro-1H-espiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3,c]piran]-1-carboxilato de terc-butilo (1.14 g, 2.0 mmol) en 1,4-dioxano (10 mL) y MeOH (5 mL). Añada HCl 4 M en dioxano (5.0 mL, 20 mmol) y agite a temperatura ambiente durante 2 horas. Concentre a aproximadamente 10 mL, luego añada Et₂O y agite vigorosamente durante la noche. Añada hexanos, filtre, y enjuague con hexanos para producir el compuesto del título (0.99 g, 91%) como un sólido amarillo claro. Espectro de masas (m/z): 450 (M+H-2HCl).

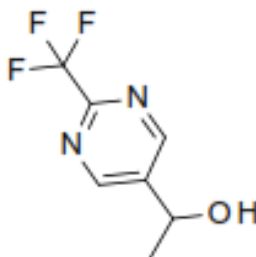
10

15

Preparación 17

1-[2-(Trifluorometil)pirimidin-5-il]etanol

20



25

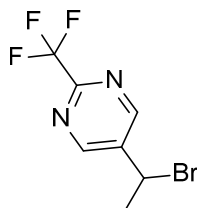
Disuelva 2-(trifluorometil)pirimidin-5-carbaldehído

(11.31 mmol, 1.992 g) en THF (56.56 mL), enfríe a 0°C, y añada lentamente bromuro de metilmagnesio (3 M en Et₂O) (33.94 mmol, 11.31 mL). Permita que la reacción se caliente a temperatura ambiente y agite durante 2.5 horas. Enfríe la
 5 reacción con HCl 1 N. Añada EtOAc y lave con HCl 1 N. Seque los orgánicos sobre sulfato de sodio, filtre, y concentre bajo presión reducida para producir el compuesto del título (1.663g, 76.5%). Espectro de masas (m/z): 193.0 (M+H).

10

Preparación 18

5-(1-Bromoetil)-2-(trifluorometil)pirimidina



15

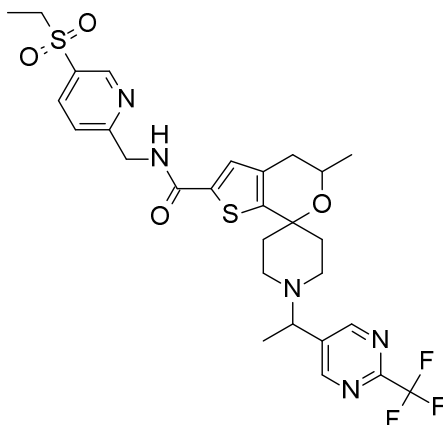
Disuelva 1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etanol (8.655 mmol, 1.663 g) y trifenilfosfina (12.98 mmol, 3.405 g) en DCM (86.55 mL) y añada N-bromosuccinimida (12.98 mmol, 2.311 g) a temperatura ambiente. Después de tres horas,
 20 concentre la reacción bajo presión reducida. Purifique el residuo resultante vía cromatografía en gel de sílice eluyendo con 10% EtOAc / hexanos para producir el compuesto del título (1.641 g, 74.34%). ¹H NMR (400.13 MHz, d₆-DMSO) δ 9.26 (s, 2H), 5.63 (q, J= 7.0 Hz, 1H), 2.09 (d, J= 7.0 Hz,
 25 3H).

Ejemplo 1

N-{[5-(Etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-
dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida

5

10



15

20

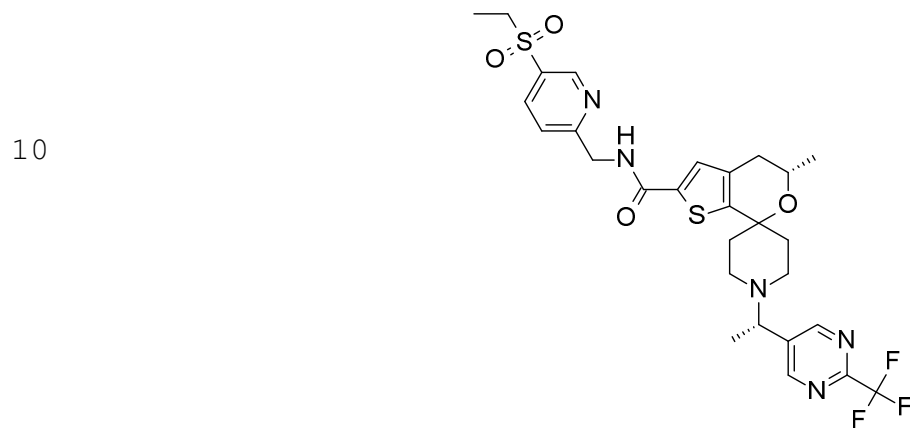
25

Disuelva diclorhidrato de N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-4',5',dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3,c]piran]-2'-carboxamida (1.12 g, 2.31 mmol) en acetonitrilo (11.6 mL) y diisopropiletilamina (2.42 mL, 13.9 mmol) y añada 5-(1-bromoetil)-2-(trifluorometil)pirimidina (0.71 g, 2.77 mmol). Caliente la mezcla a 60 °C durante 90 minutos, luego enfríe a temperatura ambiente y concentre bajo presión reducida. Disuelva la mezcla cruda en MeOH (5 mL), luego cargue sobre una columna SCX de 50 g. Enjuague con MeOH (150 mL) y luego eluya el producto con amoníaco 2 N/MeOH (150 mL). Concentre los lavados de amoníaco/MeOH bajo presión reducida a una espuma anaranjada. Someta a cromatografía el material crudo con cromatografía en gel de sílice eluyendo con un gradiente

de 100% DCM a 95% DCM/MeOH para producir el compuesto del título (1.54 g, 43%). Espectro de masas (m/z): 624 (M+H).

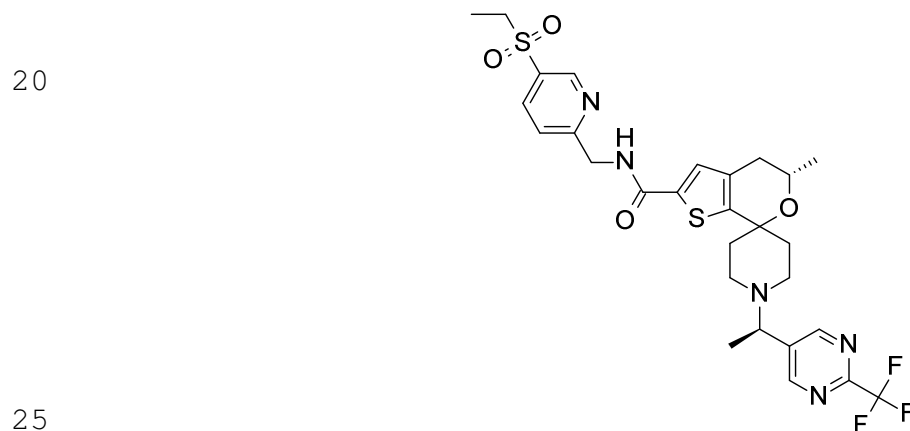
Ejemplo 2

(5S')-N-{[5-(Etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-
 {(1S)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-
 dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida



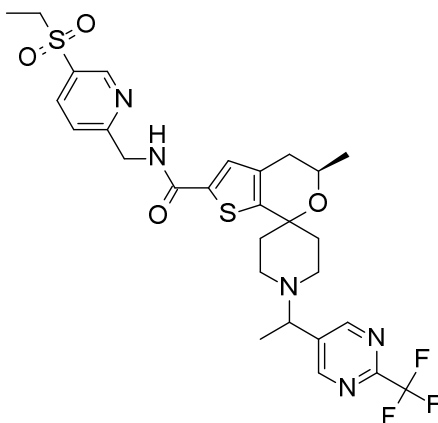
Ejemplo 3

(5S')-N-{[5-(Etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-
 {(1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-
 dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida



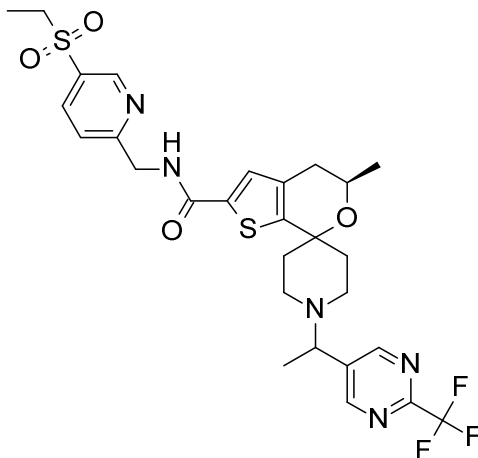
Ejemplo 4

(5R')-N-{[5-(Etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-
dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida
isómero 1



Ejemplo 5

(5R')-N-{[5-(Etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-
dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida
isómero 2



Disuelva N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida (1.28 g, 2.05 mmol) en MeOH (58.5 mL). Separe vía

5 cromatografía quiral por columna de SFC [AD-IC] (30 x 250 mm, 5 µ) y eluyendo con 50% IPA (NH₃ 20 mM) a 120 mL/minuto con una inyección de 4.5 mL (200 mg) cada 10 minutos para producir el Ejemplo 5, (5R')-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-

10 il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida isómero 2 y fracciones mezcladas que contienen, Ejemplo 2, (5S')-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{(1S)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-

15 C]piran]-2'-carboxamida, Ejemplo 3, (5S')-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{(1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida y Ejemplo 4, (5R')-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-

20 5'-metil-1-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida isómero 1. Concentre las fracciones mezcladas y disuélvalas en MeOH (55.5 mL). Separe la mezcla vía cromatografía quiral por columna SFC [OJ-H] (30 x 250 mm, 5 µ) y eluyendo con 22%

25 MeOH (NH₃ 20 mM) a 160 mL/minuto, inyección de 5.0 mL cada 5

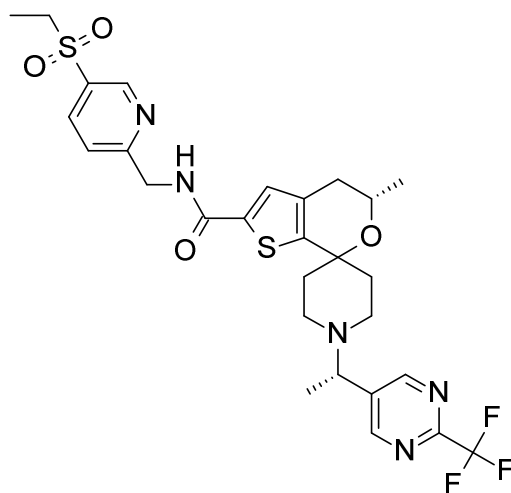
minutos para producir el Ejemplo 4, (5R')-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida
 5 isómero 1 y una mezcla del Ejemplo 3, (5S')-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{(1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida
 y Ejemplo 2, (5S')-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-
 10 5'-metil-1-{(1S)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida. Concentre las fracciones mezcladas y disuélvalas en MeOH (30.0 mL). Separe la mezcla vía cromatografía quiral por columna SFC [AD-H] (50 x 250 mm, 5 µ) y eluyendo con 50%
 15 IPA (NH₃ 20 mM) a 200 mL/min, inyección de 3.0 mL cada 32 minutos para producir el Ejemplo 2, (5S')-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{(1S)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida
 20 y Ejemplo 3, (5S')-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{(1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida. Concentre cada conjunto de fracciones puras, luego disuelva los productos separados en acetonitrilo (0.6
 25 mL), añada agua, congele a -78 °C, y liofilice para producir

el Ejemplo 2, 0.214 g, 16%, 99.5% ee, R_t = 2.94 minutos, espectro de masas (m/z): 624 (M+H). Ejemplo 3, 0.203 g, 15%, 98.9% ee, R_t = 2.75 minutos, espectro de masas (m/z): 624 (M+H). Ejemplo 4, 0.251 g, 17%, 98.3% ee, R_t = 4.75 minutos, espectro de masas (m/z): 624 (M+H). Ejemplo 5, 0.272 g, 18%, 100% ee, R_t = 4.33 minutos, espectro de masas (m/z): 624 (M+H). Condiciones analíticas: SFC (220 nm UV), columna: AD-IC 30 x 250 mm, 5 μ , fase móvil: 50% IPA (NH_3 20 mM). Condiciones analíticas de LC quiral: SFC (225 nm UV), columna Chirocel OJ-H, 20% MeOH (0.2% isopropilamina)/ CO_2 , 5 mL/min.

Preparación Alternativa del Ejemplo 2

(5S')-N-{[5-(Etilsulfonyl)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-
 {(1S)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-
 dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida

20

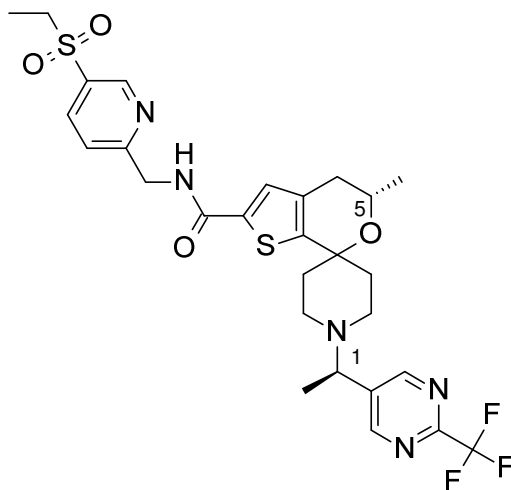


y Preparación Alternativa del Ejemplo 3

(5S')-N-{[5-(Etilsulfonyl)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-

{(1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-
dihidroespiro[piperidin-4,7'tieno[2,3-C]piran]-2'-carboxamida

5



10

Disuelva diclorhidrato de (5S')-N-{[5-(
(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-
4',5',dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3,c]piran]-2'-
carboxamida (28.28 g, 58.19 mmol) en acetonitrilo (280 mL) y
15 diisopropiletilamina (50 mL, 290.9 mmol) y añada 5-(1-
bromoetil)-2-(trifluorometil)pirimidina (0.71 g, 2.77 mmol),
luego agite a temperatura ambiente durante la noche.
Concentrate bajo presión reducida, luego disuelva la mezcla
cruda en DCM y purifique con cromatografía en gel de sílice
20 eluyendo con 100% EtOAc para producir la mezcla de compuestos
del título. Separe vía cromatografía quiral [Chiralpak IA
columna (8 x 40.5 cm, 225 nm) y eluyendo con 40%
acetonitrilo/60% alcohol isopropílico (con 0.2%
dimetiletilamina) a 400 mL/minuto, inyección de 20 mL (2000
25 mg). Concentre cada diastereómero bajo presión reducida,

luego disuelva en etanol caliente (250 mL), filtre en caliente, luego deje enfriar a temperatura ambiente, y enjuague con etanol frío. Seque el sólido en un horno de vacío a 55 °C para producir el Ejemplo 2, 9.94 g, 27%, 90.8 %
 5 ee, $R_t = 3.93$ minutos, espectro de masas (m/z): 624 ($M+H$) y Ejemplo 3, 9.42 g, 26%, 98.8% ee, $R_t = 9.25$ minutos, espectro de masas (m/z): 624 ($M+H$)) como material cristalino. Condiciones analíticas: columna Chiralpak IA (4.6 x 150 mm, 225 nm) y eluyendo con 40% acetonitrilo/60% alcohol
 10 isopropílico (con 0.2% dimetiletilamina) a 1 mL/minuto.

Difracción de Rayos X, Ejemplo 3

Monte un cristal único en una fibra delgada MiTeGen a 23 °C. Recolecte los datos usando una fuente de radiación
 15 de $CuK\alpha$ ($\lambda = 1.54178$ Å) y un difractómetro goniómetro de 3 círculos basado en Bruker D8 con un detector de área SMART 6000CCD (Bruker-AXS. SHELXTL (V2013 6.2) Madison, Wisconsin, EUA). Realice el refinamiento celular y reducción de datos usando el programa SAINT V8.32b (Sheldrick, G.M., (2008),
 20 *SHELXS-97*, *Acta Cryst.* A64, 112-122). Clasifique la células unitaria que tiene parámetros monoclinicos de $a = 10.1624(2)$ Å, $b = 9.9080(2)$ Å, $c = 15.1085(3)$ Å, y $\alpha = 90^\circ$, $\beta = 100.6879(14)^\circ$, $\gamma = 90^\circ$. El volumen de células de la estructura cristalina es $1494.87(5)$ Å³. La densidad calculada
 25 de la estructura es 1.386 g/cm³ a 23 °C. Resuelva la

estructura por métodos directos (Sheldrick, G.M., (2008), *SHELXS-97*, *Acta Cryst.* A64, 112-122). Todos los parámetros atómicos se refinaron independientemente. La elección de grupo espacial, es decir $P2_1$, se confirmó por convergencia exitosa del refinamiento de mínimos cuadrados de matriz completa en F^2 (Sheldrick, G. M., (2013), *SHELXL-2013*, Program for crystal structure refinement, Institute für anorg chemie, Göttingen, Alemania) con una bondad de ajuste final de 1.088. El factor residual final, R_1 , es = 0.0771 y el pico de diferencia más grande y agujero después del ciclo de refinamiento final fueron 0.315 y -0.333 ($e \cdot \text{\AA}^{-3}$), respectivamente. El parámetro de estructura absoluto se refinó a 0.072(17).

La estructura del Ejemplo 3 se determinó y la estructura molecular es consistente con la mostrada del Ejemplo 3. Se debe señalar que la estructura cristalina es de alta calidad y establece la estereoquímica absoluta de los centros quirales del Ejemplo 3 C5 como (S) y C1 como (R) fuera del grupo piperidina usando la contribución de dispersión anómala del átomo pesado (azufre) en la estructura. La configuración absoluta se determina de la estructura cristalina para ser la configuración de (5'S)-N-{[5-(etilsulfonil)piridin-2-il]metil}-5'-metil-1-{(1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil}-4',5'-dihidroespiro[piperidin-4,7'-tieno[2,3-c]piran]-2'-

carboxamida.

Ensayos Biológicos

Inhibidores de Unión a RORa, b, y g

5 El receptor huérfano alfa relacionado con RAR humano marcado con His (hRORa), receptor huérfano beta relacionado con RAR humano (hRORb), y receptor huérfano gamma relacionado con RAR humano (hRORg) se usan para los ensayos de unión de competición de receptor-ligando para determinar
10 valores K_i . Los procedimientos típicos se proporcionan a continuación.

Los ensayos de unión de competición de receptor se ejecutaron en un amortiguador integrado de DPBS (1 L) (Hiclone #SH30028.03), 2.2 g de Fracción v de BSA (Roche
15 #9048-46-8), 100 mL de glicerol (Fischer #56-81-5) y 40 mL de DMSO (grado reactivo). Las cavidades finales contienen 20 µg/mL de aprotinina y 20 µg/mL de leupeptina y Pefabloc 10 µM. Típicamente, los ensayos de unión de receptor incluyen ligandos radio-marcados, tal como [^3H]-25-hidroxicolesterol 7
20 nM para la unión alfa, ácido [^3H]-3-[[4-[[3-(2,6-diclorofenil)-5-isopropil-isoxazol-4-il]metoxi]-N,2-dimetil-anilino]metil]benzoico 20 nM para la unión beta, y [^3H]-25-hidroxicolesterol 6 nM para la unión gamma, y 0.5 µg de receptor RORa, 0.03 µg de receptor RORb, o 0.13 µg de
25 receptor RORg por cavidad. Los ensayos típicamente se

ejecutaron en formato de 96 cavidades. Los compuestos de
 prueba de competición se añadieron a varias concentraciones
 variando desde aproximadamente 0.4 nM a 25 μ M. La unión no
 específica se determinó en la presencia de 25-
 5 hidroxicolesterol 250 nM para unión de RORa y RORg, ácido 3-
 [[4-[[3-(2,6-diclorofenil)-5-isopropil-isoxazol-4-il]metoxi]-
 N,2-dimetil-anilino]metil]benzoico 250 nM para unión de RORb.
 Las soluciones de muestra, marca y receptor se combinaron en
 una placa de ensayo de 96 cavidades (Costar 3632) y se
 10 incubaron durante la noche a temperatura ambiente, luego 25
 μ l de perlas (Spa Beads marcadas con His de cobre Amersham
 YSi (2-5 micras), #RPNQ0096) para una concentración de perla
 final de 1 mg/cavidad se añadieron a cada reacción. Las
 placas se mezclaron durante 30 minutos en un agitador orbital
 15 a temperatura ambiente. Después de una incubación de 4 horas,
 las placas se leyeron en un contador Wallac MICROBETA®.

Los datos se usan para calcular una IC_{50} estimada
 usando un ajuste logístico de cuatro parámetros. La K_d de
 [^3H]-25-hidroxicolesterol para RORa y RORg, y ácido [^3H]-3-
 20 [[4-[[3-(2,6-diclorofenil)-5-isopropil-isoxazol-4-
 il]methoxi]-N,2-dimetil-anilino]metil]benzoico para la unión
 de RORb, se determinó por unión de saturación. Los valores de
 IC_{50} de los compuestos se convirtieron a K_i usando la ecuación
 de Cheng-Prushoff.

25 Los resultados de los siguientes compuestos

ejemplificados se muestran en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2

Ejemplo #	Ki de RORa (nM)	Ki de RORb (nM)	Ki de RORg (nM)
1	>20,400	>12500	12.0 $\pm$ 7.3, n=2
2	>20,400	>12500	6.24 $\pm$ 0.73, n=2
3	>20,400	>12500	16.6 $\pm$ 8.8, n=5
4	>20,400	2190	148 $\pm$ 40, n=2
5	>20,400	407	153 $\pm$ 25, n=2

Media $\pm$ SEM; SEM = error estándar de la media

Estos resultados demuestran que los compuestos de la Tabla 2 son selectivos para RORg versus RORa y RORb.

Ensayo de receptor-reportero de HEK293 RORg GAL4

Como un indicador de la actividad agonista inversa, un ensayo de receptor-reportero de receptor huérfano gamma relacionado con RAR (RORg) (RORg-GAL4/pGL4.31) se realizó en células HEK293. Las células HEK293 se co-transfectaron usando reactivo Fugene™. Un plásmido reportero que contiene un dominio de unión de GAL4 y un promotor adenoviral mínimo cadena arriba de un gen de luciferasa de luciérnaga se co-transfectó con un plásmido que expresa constitutivamente un dominio de unión de ligando de RORg fusionado al dominio de unión de ADN de levadura GAL4. Las células se transfectaron en matraces T150 cm² en medio MEM sin FBS. Después de 18 horas

de incubación, las células transfectadas se tripsinizaron, se colocaron en placas de microtitulación de 96 cavidades en 3:1 DMEM-F12 que contiene 10% FBS, se incubaron durante 4 horas y luego se expusieron a varias concentraciones de compuestos de prueba que varían desde aproximadamente 0.05 nM a 10 μ M. Después de 18 horas de incubaciones con compuestos, las células se lisaron y la actividad de luciferasa se cuantificó usando técnicas estándar. Los datos se ajustaron a un ajuste de 4 parámetros logístico para determinar los valores de IC₅₀.

Los resultados de los siguientes compuestos ejemplificados se muestran en la Tabla 3 a continuación.

Tabla 3

15

Ejemplo #	hIC ₅₀ (nM)
1	56.5 $\pm$ 39.4, n=2
2	45.8 $\pm$ 8.5, n=4
3	21.8 $\pm$ 7.03, n=7
4	97.9 $\pm$ 5.1, n=2
5	59.5 $\pm$ 1.3, n=2

20

Media $\pm$ SEM; SEM = error estándar de la media

Estos resultados demuestran que los compuestos de la Tabla 3 son agonistas inversos para el receptor ROR γ humano.

25

ELISA de Secreción de IL-17 de PBMC y Ensayo de Viabilidad de
Células TiterGlo

Las PBMC se aislaron de capas leucocitarias de sangre entera combinando primero capas leucocitarias frescas con volúmenes iguales de solución salina amortiguada con fosfato. Treinta y cinco ml de solución de PBS/capas leucocitarias luego se superpusieron suavemente en 15 ml de Ficoll en 50 ml de tubos cónicos. Después de la centrifugación durante 30 minutos a $500\times g$ (con aceleración y desaceleración lenta) la capa superior de plasma se desechó y la capa de células a lo largo de la interfaz de Ficoll se recolectó y se agrupó. Cada tubo de 250 ml se relleno a la parte superior con medio RPMI-1640 a temperatura ambiente. Los tubos se giraron durante 10 minutos a $500\times G$ (con aceleración y desaceleración lenta), el medio se removió por aspiración, y la etapa de lavado se repitió. Las células se resuspendieron en Medio de Congelación de Cultivo Celular de Recuperación enfriado en hielo de Life Technologies (Número de catálogo 12648-010) en hielo. La concentración celular se ajustó a 66.7 millones de células/ml. Las células se congelaron lento a $-1\text{ }^{\circ}\text{C/minuto}$ en viales con 100 millones de células y se almacenaron en nitrógeno líquido.

Estimulación de la Secreción de IL-17 y Adición de Compuesto

Las PBMC se llevaron a descongelación por

resuspensión con 1 ml de medio completo (RPMI-1640 que contiene HEPES 30 mM, 100 unidades/mL penicilina, 100 µg/mL de estreptomicina, L-Glutamina 3.25 mM, beta-mercaptoetanol 0.2 µM, y 10% FBS) seguido por la adición por goteo de 2 mL, 4 mL, 8 mL, y 16 mL de medio completo con agitación suave. Las células se giraron durante 5 minutos y la pellet celular se resuspendió en medio completo. Los grumos de células se dividieron corriendo la solución de células a través de una aguja de jeringa de calibre 23 y un colador de células 40 µM. Cien mil células por cavidad se añadieron a placas de fondo plano tratadas con cultivo de tejido de poliestireno de 384 cavidades en un total de 30 µl. El cóctel de estimulación que contiene anticuerpo CD3 anti-humano, anticuerpo CD28 anti-humano, IL-23 y compuestos preparados en medio completo se añadieron a las células simultáneamente en un volumen total de 30 µl. La concentración final de estimulantes añadidos es 160 ng/mL, 500 ng/mL, y 5 ng/mL para anticuerpo anti-CD3, anticuerpo anti-CD28, e IL-23 respectivamente y 0.3% para DMSO. Las placas se sellaron con película sellante AERASEAL® y se incubaron durante 48 horas a 37°C, 95% de humedad, y 5% CO₂.

Después del periodo de incubación, las placas se giraron a 200×g durante cinco minutos. Los sobrenadantes se diluyeron 1:1 con volumen igual de 1% BSA/PBS y se analizaron para IL-17 con un kit de ELISA de IL-17 humana de R&D system

(catálogo #D317E) de acuerdo con el protocolo proporcionado con el kit con una excepción - el sustrato calorimétrico OPD (diclorhidrato de o-fenilendiamina, Sigma Cat #P6912) se utilizó en lugar del sustrato suministrado en el kit. La
5 absorbancia a 492 nm se midió con el lector de placas de multi-marcas Envision. Los valores A492 se convirtieron a concentración de IL-17 con base en la curva estándar de IL-17 como se muestra a continuación:

pg/mL IL-17 = $EC50 * [((Superior-Inferior)/(A492-Inferior))] -$
10 $1](1/-Colina)$. Las IC_{50} de la inhibición de la secreción de IL-17 se calcularon con base en los valores convertidos usando un ajuste de 4 parámetros estándar con máxima inhibición determinada de los valores promedio de cavidades sin estimulantes añadidos ni compuestos y mínima inhibición
15 de los valores promedio de cavidades con estimulantes solos y sin compuesto añadido.

Volúmenes iguales de reactivo de prueba de viabilidad celular Cell TITERGLO® (Promega Cat# G7573) se añadieron a las células que permanecen en las placas, y
20 después de una incubación de quince minutos con agitación suave a temperatura ambiente, se midió la luminiscencia con el lector de placas de multi-marcas Envision. El porcentaje de muerte celular se calculó ajustando a 100% de actividad (muerte celular) a cero unidades de luminiscencia y mínima
25 actividad (número máximo de células viables) como las

unidades de luminiscencia promedio de cavidades que contienen estimulantes solos y sin compuesto añadido. Las IC_{50} se calcularon usando un ajuste de cuatro parámetros estándar.

Los resultados de los siguientes compuestos
ejemplificados se muestran en la Tabla 4 a continuación.

Tabla 4

Ejemplo #	ELISA de IL-17 de hPBMC (nM)	Viabilidad de Células TiterGlo (EC_{50})
1	77.3	>1.0 μ M
2	33.7 $\pm$ 33.1, n=6	>1.0 μ M
3	20.0 $\pm$ 12.6, n=12	>1.0 μ M
4	106	>1.0 μ M
5	30.5 $\pm$ 29.3, n=4	>1.0 μ M

Media $\pm$ SEM; SEM = error estándar de la media

Estos resultados muestran que los compuestos de la Tabla 4 inhiben la secreción de IL-17 estimulada por anti-CD3/anti-CD28/IL-23 en PBMC sin efecto citotóxico medible.

Modelo de artritis inducida por glucosa-6-fosfato isomerasa

(GPI):

El modelo de artritis inducida por GPI se adaptó de K. Iwanami et al *Arthritis Rheumatism* 58, 754-763, 2008 y D. Schubert et al. *J Immunology* 172, 4503-4509, 2004. Los ratones (ratones DBA/1 machos de 8-9 semanas de edad) (Harlan) se asignaron aleatoriamente en grupos de tratamiento

con base en los pesos corporales recolectados en el día de inmunización (día 0). En el día de inmunización (día 0), una mezcla 1:1 (v:v) de GPI humana recombinante (diluida a 4 mg/mL en PBS, Gibco) y adyuvante de Freund completo (CFA, Sigma) se mezcló en un homogenizador de alta velocidad (Omni) durante 40 minutos en una sala fría. Una concentración final de 2 mg/ml de GPI se logró en la emulsión. Los ratones se inyectaron en la base de la cola (2 sitios de inyección, subcutáneamente, 100 µl en cada sitio) con la emulsión de GPI. Los compuestos de prueba se dosificaron oralmente iniciando en el mismo día como la inmunización (día 0). Iniciando en el día 0, cada pata se marcó para la gravedad de inflamación de articulación con base en un sistema de puntuación de 0 a 3 (Ver K. Iwanami et al *Arthritis Rheumatism* 58, 754-763, 2008). La puntuación clínica representa la puntuación total de todas las 4 patas (puntuación máxima = 12). Las puntuaciones clínicas se evaluaron en los días 0, 2, 4, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18, y 21.

El AUC se calculó por un método trapezoide para la puntuación clínica con el tiempo desde el día de inmunización (día 0) al día 21. Los valores p de prueba se derivaron de la prueba t de Student.

Los tratamiento con Ejemplo 3 (1000 mg/Kg) y vehículo (1% HEC, 0.25% Polisorbato 80, y 0.05% Antiespuma en

agua purificada) (n=8/grupo) se iniciaron en el día 0 y se administraron oralmente una vez al día. El Ejemplo 3 reduce la gravedad de la inflamación de la pata y mantiene puntuaciones clínicas medias menores a través del curso de la enfermedad en comparación con el grupo de vehículo.

Este efecto resulta en el 75% de reducción en el AUC de puntuación clínica, una medida acumulativa de la inflamación de la pata con el tiempo que es estadísticamente significativa en comparación con el grupo de vehículo como se muestra en la Tabla 5.

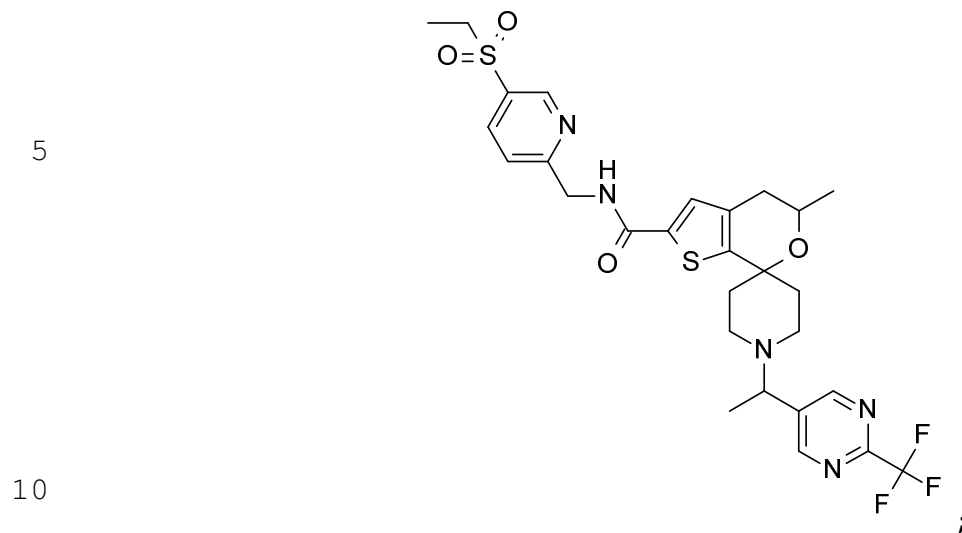
Tabla 5

Tratamiento	AUC de Puntuación Clínica (media $\pm$ SEM)
Vehículo	87.70 $\pm$ 4.88
Ejemplo 3	22.20 $\pm$ 8.68*

Los valores se muestran como media $\pm$ SEM. *p<0.05 vs. Vehículo (prueba t de Student). SeM = error estándar de la media.

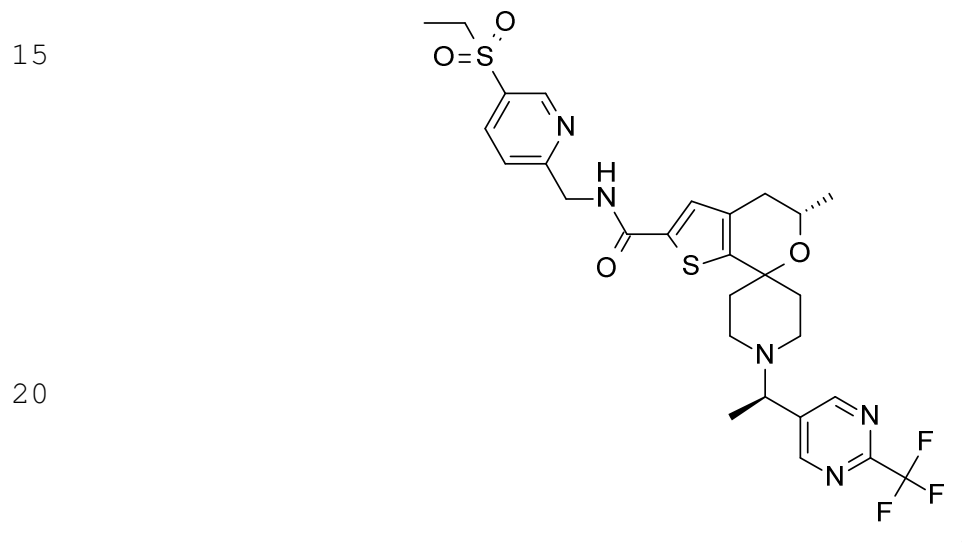
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula



o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

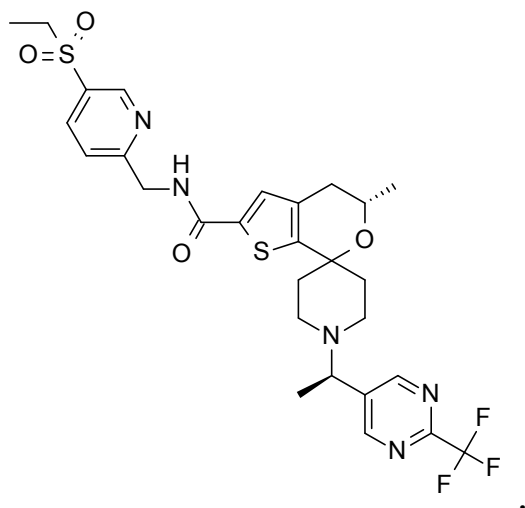
2. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque es de Fórmula 3.



o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

3. El compuesto de conformidad con las
25 reivindicaciones 1 o 2, caracterizado porque es de Fórmula

5



4. Una composición farmacéutica, caracterizada porque comprende un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con uno o más portadores, diluyentes, o excipientes farmacéuticamente aceptables.

5. La composición farmacéutica de conformidad con la reivindicación 4, caracterizada porque comprende uno o más agentes terapéuticos.

6. Un método para tratar psoriasis, caracterizado porque comprende administrar un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, a un paciente en necesidad del mismo.

7. Un método para tratar espondilartropatías seronegativas, caracterizado porque comprende administrar un compuesto de conformidad con cualquiera de las

reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, a un paciente en necesidad del mismo.

8. El método de conformidad con la reivindicación 7, caracterizado para tratar espondiloartritis axial, espondilitis anquilosante, o artritis psoriásica.

9. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, caracterizado para uso en terapia.

10. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, caracterizado para uso en el tratamiento de psoriasis.

11. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, caracterizado para uso en el tratamiento de espondilartropatías seronegativas.

12. Un compuesto, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, caracterizado para uso de conformidad con la reivindicación 11 en el tratamiento de espondiloartritis axial, espondilitis anquilosante, o artritis psoriásica.

13. El uso de un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la manufactura de un

medicamento para tratar psoriasis.

14. El uso de un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la manufactura de un
5 medicamento para tratar espondilartropatías seronegativas.

15. El uso de conformidad con la reivindicación 14, para la manufactura de un medicamento para tratar espondiloartritis axial, espondilitis anquilosante, o artritis psoriásica.

10

15

20

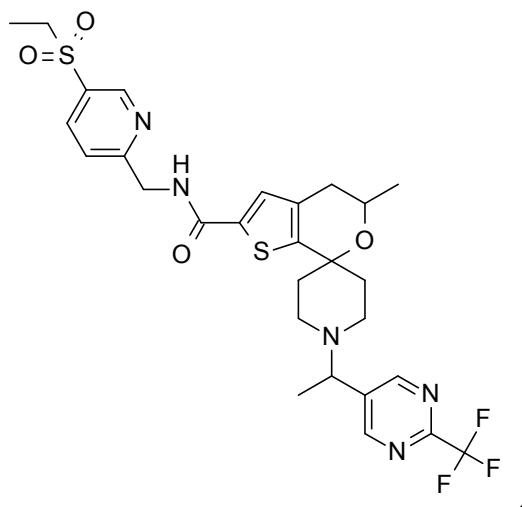
25

RESUMEN DE LA INVENCION

La presente invención proporciona nuevos inhibidores de ROR gamma-t y composiciones farmacéuticas de los mismos:

5

10



15

20

25